

## بررسی اثر فعالیت پروتئولیتیکی و تولید اگزوپلی‌ساقارید توسط آغازگرهای بومی بر ویژگی‌های فیزیکو‌شیمیایی ماست‌های تولیدی

اللهه امانی<sup>۱</sup>، محمد هادی اسکندری<sup>۲\*</sup>، سید شهرام شکر فروش<sup>۳</sup>، محمد امین حنیف پور<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز

۲- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

۳- استاد بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز

۴- شرکت شیر پاستوریزه پگاه فارس، شیراز

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۸/۲۴)

### چکیده

یکی از مهم‌ترین ارکان در تولید ماست، انتخاب آغازگر مناسب است، از این رو شناسایی، حفظ و کاربرد آغازگرهای بومی در صنعت دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. در این پژوهش به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی و ارگانولوپتیکی ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای جدا شده از ماست‌های بومی ایران پرداخته شده است. یارده نمونه ماست با انتخاب ۵ جدایه لاكتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و دو جدایه استرپتوبکرکوس ترموفیلوس تولید شد. بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای در قدرت تولید اسید جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید (EPS) و جدایه‌هایی که تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید نبودند (NEPS) وجود نداشته است. همچنین جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا (جدایه‌های استفاده شده در نمونه‌های H و I) که فعالیت پروتئولیتیکی طی ۲۸ روز نگهداری به ۱ واحد می‌رسد) توانایی تولید اسید کمتری داشته‌اند و زنده مانی این جدایه‌ها طی دوره نگهداری نیز بیشتر از جدایه‌های دیگر بوده است. نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید، خصوصیات بافتی (قوام، آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب) بهتری نسبت به نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای NEPS نشان دادند. البته در نمونه‌های H و I به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا و نوع اگزوپلی‌ساقارید تولید شده خصوصیات بافتی مطلوبیت کمتری داشتند. آب اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری کاهش و ظرفیت نگهداری آب افزایش یافت. ولی روند سینزیس و ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های دیگر بوده است و در هفته چهارم روند تغییرات عوض شده و میزان سینزیس افزایش و ظرفیت نگهداری کاهش یافته است.

**کلید واژگان:** آغازگر بومی، اگزوپلی‌ساقارید، بافت، فعالیت پروتئولیتیکی

\* مسئول مکاتبات: eskandar@shirazu.ac.ir

## ۱- مقدمه

اگزوپلیساکارید است. در صنعت تولید ماست معمولاً از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلیساکارید برای جایگزینی پایدارکننده‌های طبیعی برای کاهش آب اندازی و بهبود ویسکوزیته و بافت استفاده می‌شود. بعضی از محققین بیان داشتند که ماست‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولیدکننده اگزوپلیساکارید (EPS)<sup>۵</sup> نسبت به آغازگرهایی که تولید کننده اگزوپلیساکارید نبودند (NEPS)<sup>۶</sup> ویسکوزیته بالاتر و آب اندازی کمتری داشتند [۷]. در ایران، سالیان دراز است که تولید و مصرف محصولات لبنی سنتی رواج دارد. این محصولات دارای عطر و طعم مطلوب و بافت مناسبی می‌باشند و با ذائقه مردم ایران سازگار هستند. اما تا کنون پژوهش‌جامعی که در آن سویه‌های آغازگر غالب در ماست‌های بومی ایران شناسایی شوند و سپس ویژگی‌های تکنولوژیک و ارگانولپتیک ماست‌های تولیدی از آنها ارزیابی شوند، صورت نگرفته است. از این رو، در این پژوهش به ارزیابی توانایی استفاده از آغازگرهای بومی برای استفاده در صنعت و همچنین بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی این آغازگرها و تاثیر آنها بر یکدیگر و خصوصیات فیزیکوشیمیایی ماست‌های تولیدی پرداخته شده است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد مورد نیاز

آگار (ساخت شرکت مرک آلمان)، محیط‌های ام-۱۷- آگار<sup>۷</sup> و ام آر اس- آگار<sup>۸</sup> (مرک آلمان)، پودر شیر خشک بدون چربی، شیر خشک پرچرب، پودر خامه (نهیه شده از کارخانه پگاه فارس، ایران)، فنل فتالین، تری کلورو استیک اسید، اتانول ۹۸٪، ۰- فتال دی آلدید، اسید کلریک، اسید سولفوریک، بتامر- کاپتواتانول، سدیم تترابورات، سدیم دودسیل سولفات، سدیم هیدروکسید (همه مواد نهیه شده از شرکت مرک آلمان).

ماست پرمصرف‌ترین فراورده تخمیری شیر در جهان است که توسط باکتری‌های لاکتیک اسید هموفرمتاتیو<sup>۱</sup> (استرپتوكوکوس ترموفیلوس<sup>۲</sup> و لاکتوپاسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس<sup>۳</sup>) تولید می‌شود [۱]. دلیل محبوبیت ماست طبیعی بودن، ویژگی ارگانولپتیکی (مزه ترش، عطر و طعم)، خواص تغذیه‌ای، درمانی و هزینه متوسط تولید (به دلیل تولید بالا) می‌باشد [۲]. در تولید ماست یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر کیفیت محصول نهایی نوع آغازگر مورد استفاده می‌باشد. مهم‌ترین ویژگی‌های آغازگرهای ماست شامل پروفایل اسیدی (سرعت اسیدی کردن، پس اسیدی شدن)، عطر و طعم (فعالیت پروتولیتیکی و تولید استالالهید)، بافت (تولید اگزوپلیساکارید، آب اندازی و سفتی ژل) و ویژگی‌های دیگر (مقاوت به فائز، ویژگی‌های رئولوژیکی) می‌باشد [۳]. روابط زیستی میان باکتری‌های آغازگر به صورت تقویت‌کننده‌گی زیستی و پادیاری زیستی می‌باشد. در حالت نخست رشد هر باکتری‌های دیگر است، حال آن‌که در حالت دوم باکتری‌های آغازگر اثر بازدارندگی بر رشد و یا فعالیت یکدیگر دارند [۴]. سلیک<sup>۴</sup> در سال (۲۰۰۷) به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی و ارگانولپتیکی ماست‌های تولید شده توسط جدایه‌های بومی پرداختند. نتایج نشان داد که ۴ جدایه استرپتوكوکوس ترموفیلوس و ۴ جدایه لاکتوپاسیلوس دلبرکی زیرگونه بولگاریکوس توانایی استفاده به عنوان آغازگر در صنعت لبیتیات را دارا می‌باشد [۵].

ویژگی‌های تکنولوژیکی مانند فعالیت پروتولیتیکی تاثیر زیادی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصول نهایی دارد. پروتولیز بیش از حد طی گرمخانه‌گذاری باعث افزایش آب اندازی در محصول می‌شود. همچنین افزایش آمینو اسید باعث ایجاد عطر نامطلوب شده که باعث کاهش مقبولیت توسط مصرف‌کنندگان می‌شود [۶]. یکی دیگر از خصوصیات تکنولوژیکی تولید

5.Exopolysaccharid

6. Non-Exopolysaccharid

7. M17 agar

8. MRS agar

1. Homofermentative

2. *Streptococcus thermophilus*

3. *Lactobacillus delbruekii subsp.bulgaricus*

4. Çelik

استرپتوكوکوس ترموفیلوس در محیط کشت ام-۱۷-آگار تحت شرایط هوایی به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند. سپس آغازگرها به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت ام آر اس-مایع<sup>۱</sup> برای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و ام-۱۷-مایع<sup>۲</sup> برای استرپتوكوکوس ترموفیلوس تلقیح و به مدت ۱۶ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند [۹]. سپس ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت حاوی آغازگرهای رشد کرده به ۹۰ میلی لیتر محیط کشت تازه افزوده و به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. CFU/ml تعداد هر یک از باکتری‌های آغازگر در مایه تلقیح  $\times 10^8$  در نظر گرفته شد. سپس سانتریفیوژ انجام شده (g  $\times 10,000, 4^\circ\text{C}$ ، ۲۰ دقیقه) (فروپلابو، مدل SW14R، ساخت کشور فرانسه) و سلول‌های ته نشین شده با آب مقطر استریل سه بار شستشو داده و به شیر تلقیح شد [۱۰]. نمونه کترل توسط آغازگر صنعتی ساکو ۴۸۰ تولید شد، که در آن هر دو آغازگر دارای توانایی تولید اگروپلی‌ساکارید می‌باشدند.

#### ۴- تهیه ماست

به منظور تهیه شیر برای تولید ماست از شیر باز سازی استفاده شده که حاوی ماده خشک کل بین ۱۲-۱۴٪ و چربی ۲-۱/۵٪ بود. به این منظور شیر خشک کم چرب حاوی ۰/۱٪ درصد چربی، پروتئین ۲۵/۶٪، ماده جامد کل ۹۵/۵٪، اسیدیته ۷/۵ درجه دورنیک با پودر خامه حاوی ۵۷٪ چربی مخلوط کرده تا به محتوای چربی و ماده جامد مورد نظر رسانده شد. سپس شیر بازسازی شده هموژن شد و به منظور هیدراته شدن ۱۰ ساعت در سردخانه ۴ درجه سلسیوس قرار داده شد [۱۱]. برای آماده سازی شیر برای تهیه ماست بعد از هیدراته شدن شیر مرحله تیمار حرارتی (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) انجام شده و سپس تا درجه حرارت ۴۵ درجه سلسیوس سرد شده تا آغازگرها افزوده شوند. سپس در ظروف ۱۰۰ گرمی بسته بندی و در درجه حرارت ۴۲ درجه سلسیوس تا رسیدن به pH=۴/۶ سریعاً تا درجه حرارت ۴ درجه سلسیوس به منظور کاهش فعالیت آغازگرها و تولید اسید سرد شدند [۱۲].

1. MRS- broth  
2. M17- broth

#### ۲-۲- انتخاب جدایه‌ها

انتخاب آغازگرها از بین جدایه‌های مختلف لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس (Lb) و استرپتوكوکوس ترموفیلوس (St) جدا شده از ماستهای بومی مناطق مختلف ایران در دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش علوم و صنایع غذایی در سال ۱۳۹۰ انجام شده است [۸]. انتخاب این جدایه‌ها بر اساس اطلاعات بدست آمده از نتایج آزمایشات فنوتیپی و ژنتیکی انجام شده بر روی آن‌ها صورت گرفته است. در این پژوهش ترکیبی از جدایه‌ها استفاده شد، کد و ویژگی‌های مربوط به هر ترکیب در جدول ۱ نشان داده شده است، سپس ارزیابی‌های مورد نظر انجام شد.

جدول ۱ کد مربوط به ترکیب جدایه‌های انتخاب شده

ردیف	ترکیب آغازگرها	ویژگی‌های آغازگرها
	Lb (EPS), St (EPS)	کترل
	Lb (EPS), St (NEPS)	۸۸S <sup>a</sup> , ۳W <sup>a</sup>
	Lb (EPS), St (NEPS)	۸۸,۵
	Lb (EPS), St (NEPS)	۹۶,۳W
	Lb (EPS), St (NEPS)	۹۶,۵
	Lb (NEPS), St (NEPS)	۱۰۵,۳W
	Lb (NEPS), St (NEPS)	۱۰۵,۵
	Lb (EPS), St (NEPS)	۱۱۰p, ۳W
	Lb (EPS), St (NEPS)	۱۱۰p, ۵
	Lb (EPS), St (NEPS)	۱۲۲,۳W
	Lb (EPS), St (NEPS)	۱۲۲,۵

a شماره جدایه بومی

b کد مربوط به ترکیب آغازگرها

#### ۲-۳- تهیه آغازگر میکروبی

باکتری‌های جدا شده از ماستهای بومی ایران در فریزر با دمای -۸ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور تهیه آغازگر برای تلقیح به شیر، بعد از انتخاب جدایه‌ها باید از آن‌ها کشت تازه تهیه شود. بدین منظور لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس در محیط کشت ام آر اس-آگار تحت شرایط بی‌هوایی به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ °C و

گذاری در درجه حرارت اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۳۴۰ nm جذب اندازه‌گیری شد. جذب خوانده شده نشان‌دهنده میزان آمینو اسید آزاد شده است که بیانگر فعالیت پروتئولیتیکی طی زمان گرمخانه‌گذاری و نگهداری می‌باشد به منظور تهیه نمونه شاهد pH شیر تلقیح شده قبل از گرمخانه‌گذاری با استفاده از استیک اسید گلامیل به ۴/۵ رسانده و سانتریفیوژ شده ( $\times 4,000$ )، ۴ درجه سلسیوس، ۳۰ دقیقه) در نهایت مایع رویی فیلتر شد (۰/۴۵ میکرومتر). مایع فیلتر شده را نیز می‌توان تا زمان آزمون به مدت ۲-۱ هفته در درجه حرارت -۲۰ درجه سلسیوس نگهداری کرد [۱۷].

## ۹-۲- اندازه‌گیری اگزوپلیساکارید (EPS)

### تولید شده توسط جدایه‌ها

۵۰ گرم نمونه سانتریفیوژ شد ( $\times 11,000$ ، به مدت ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سلسیوس)، سپس مایع رویی (حاوی EPS) جمع و با ۲ حجم اتانول سرد ۹۸٪ مخلوط و در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۸-۲۰ ساعت نگهداری شد تا EPS رسوب کند و سپس مجددا سانتریفیوژ ( $\times 11,000$ ، ۴ درجه سلسیوس، ۱۵ دقیقه) انجام شده و ماده رسوب کرده با ۲۰ میلی لیتر آب مقطّر مخلوط شد و ۵۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۸۰٪ نیز به آن اضافه شده و به مدت ۱۸-۲۰ ساعت در ۴ درجه سلسیوس به منظور رسوب پروتئین قرار داده شد. سپس سانتریفیوژ ( $\times 20,000$ ، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سلسیوس) انجام شده و EPS در مایع رویی با ۲ حجم اتانول مخلوط شده و در ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۸-۲۰ ساعت نگهداری شده تا EPS رسوب کند و سپس سانتریفیوژ انجام داده شد ( $\times 2,000$ ، به مدت ۱۵ دقیقه در ۴ درجه سلسیوس) و مراحل رسوب پروتئین و رسوب دوباره اگزوپلیساکارید بار دیگر تکرار شد. اگزوپلیساکارید در نهایت با سانتریفیوژ کردن ( $\times 2,000$ ، ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه) به دست آمد و در آون تحت خلا با هوای گرم ۵۵ درجه سلسیوس خشک شده و در نهایت مقدار آن به صورت میلی گرم EPS در هر ۱۰۰ گرم ماست بیان شد [۱۷].

## ۲-۵- اندازه‌گیری pH

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (اوهاوس، مدل استارتر ۳۰۰۰، ساخت کشور امریکا) اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی سرعت تولید اسید توسط هر کدام از نمونه‌ها، pH هر یک ساعت طی زمان گرمخانه‌گذاری اندازه گرفته شد [۱۱].

## ۶- آزمون پس‌اسیدی شدن و اندازه‌گیری

### اسیدیته قابل تیتراسیون

pH توسط pH متر پس از ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد [۱۳] همچنین اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس درجه دورنیک با استفاده از سود ۰/۱ نرمال و فنل فتالین به عنوان نشانگر اندازه‌گیری شد [۱۴].

## ۷-۲- آزمون میکروبی

بررسی تعداد آغازگرها طی زمان نگهداری مطابق با روش IDF، 1997، 2003 به روش پور پلیت انجام شد و نتایج به صورت لگاریتم تعداد آغازگرها در هر میلی لیتر ( $\log CFU/mL$ ) در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ بیان شد [۱۵].

## ۸-۲- اندازه‌گیری فعالیت پروتئولیتیکی

فعالیت پروتئولیتیکی نمونه‌ها بر اساس میزان اسید آمینه آزاد تولید شده طی زمان نگهداری اندازه‌گیری شد. ابتدا مقداری نمونه را سانتریفیوژ کرده ( $\times 4,000$ ، ۴ درجه سلسیوس، ۳۰ دقیقه) سپس مایع رویی (فیلتر ۰/۴۵ میکرومتر) فیلتر شد. نمونه‌ها می‌توانند به مدت ۱-۲ هفته در درجه حرارت -۲۰ درجه سلسیوس تا زمان آزمایش نگهداری شوند. هنگام بررسی جذب و اندازه‌گیری میزان فعالیت پروتئولیتیکی ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۳ میلی لیتر معرف ۰- فتال دی آلدهید (این معرف با افزودن ۲۵ میلی لیتر از محلول ۱۰۰ میلی مولار سدیم تترaborات، ۲/۵ میلی لیتر از محلول سدیم دودسیل سولفات (wt/wt) ۲۰٪، ۴۰ میلی گرم O-فتال دی آلدهید (حل شده در ۱ میلی لیتر متانول)، ۱۰۰ میکرولیتر بتامرکاپتواتانول تهیه شده و با آب به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد) مخلوط شد. سپس به مدت ۵ ثانیه هم‌زده شده و پس از ۲ دقیقه گرمخانه-

## ۱۴-۲- آنالیز آماری

به منظور آنالیز آماری داده‌ها و بررسی اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مختلف، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون‌ها به صورت عمدۀ در سه تکرار انجام شده و سپس میانگین و انحراف معیار بدست آمد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹ صورت گرفت.

## ۳- نتایج و بحث

### ۱-۳- بررسی روند تغییرات pH و اسیدیته

#### طی ۲۸ روز نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتراسیون (بر اساس درجه دورنیک) طی دوره نگهداری در جدول ۲ نشان داده شده است. در همه نمونه‌های تولید شده توسط آغازگر-های بومی pH ۴/۳۸ تا ۴/۰۷ کاهش و اسیدیته تا ۱۲۶-۱۰۹ درجه دورنیک افزایش یافته است. در نمونه‌های B, C, J و K که حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید می‌باشند قادر به تولید اسید همانند نمونه‌های F و G (تولید شده با استفاده از آغازگر NEPS) بوده است. در این پژوهش فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولید کننده EPS و جدایه‌های NEPS مشابه بوده که می‌تواند دلیلی برای یکسان بودن توانایی تولید اسید این جدایه‌ها نیز باشد. آماتایکول<sup>۳</sup> و همکاران در سال (۲۰۰۶) بیان داشتند که جدایه‌های تولید کننده روپی اگزوپلی‌ساقارید قادر تولید اسید بیشتری نشان داده‌اند ولی آزر<sup>۴</sup> و آتسوی در سال (۲۰۰۲) بیان داشتند که باکتری‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید اسیدیته را کمتر تغییر می‌دهند. به دلیل اینکه گلوکز و گالاكتوز تولید شده توسط این آغازگرها به جای آنکه صرف تولید لاکتیک اسید شوند برای

## ۱۰-۲- اندازه‌گیری میزان آب اندازی

برای انجام این آزمون طبق روش ماتوموتو-پیترو<sup>۱</sup> و همکاران در سال (۲۰۱۱) از روش سانتریفیوژ استفاده شد [۱۸].

## ۱۱-۲- اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب

۲۵ گرم نمونه مخلوط شیر حاوی آغازگر قبل از گرمانه-گذاری در لوله سانتریفیوژ ریخته و بعد از گرمانه-گذاری در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد، و در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ پس از نگهداری به منظور بررسی میزان ظرفیت نگهداری آب سانتریفیوژ انجام شد (g × ۳۰۰۰ × ۱۰ دقیقه، ۴ درجه سلسیوس). سپس مایع رویی را وزن کرده و بر وزن اولیه نمونه تقسیم و نتایج به صورت درصد بیان شدند [۱۹].

## ۱۲-۲- آزمون بافت

بررسی بافت نمونه با استفاده از روش توصیه شده توسط اسپریتوسانتو و همکاران در سال (۲۰۱۲) با کمی اصلاحات انجام شد. این آزمون با استفاده از دستگاه تجزیه نیمرخ بافت<sup>۲</sup> (TA-XT) انجام شد. ۸۰ گرم نمونه را با استفاده از پروب سیلندری شکل (قطر ۳۸ میلی‌متر) با دو سرعت ۲ mm/s (قبل از تست) و ۲ mm/s (تست) و ۱۰ میلی متر عمق نفوذ مورد ارزیابی قرار داده شد. با استفاده از نتایج بدست آمده قوام نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۰].

## ۱۳-۲- آزمون خصوصیات حسی

آزمون حسی توسط روش توصیه شده توسط بیار و همکاران در سال (۲۰۱۱) با کمی تغییرات انجام شد. با انتخاب ۱۰ ارزیاب آزموده بر اساس سن (۵۰-۲۲ سال)، جنس (۵۰٪ زن و ۵۰٪ مرد) میزان مصرف ماست (حداقل یک بار در هفته) انجام شد. قبل از تست از آرلری نداشتند ارزیاب‌ها نسبت به شیر و محصولات تخمیری اطمینان حاصل شد. امتیازبندی در گستره ۱ (خیلی بد) و ۹ (بسیار عالی) انجام می‌شود و نمونه‌ها بر اساس طعم و مزه، عطر و رایحه، رنگ و ظاهر، بافت و دریافت کلی بعد از ۷ نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفتند [۲۱].

3. Amatayakul  
4. Özer

1. Matumoto-Pintro  
2. Texture analyzer

طی گرمانه‌گذاری و نگهداری باعث فراهم آوردن آمینو اسیدها و پپتیدهای مورد نیاز آغازگرها شده و در نتیجه باعث افزایش زندمانی آن‌ها در محصول می‌شود [۱۷]. همچنین می-توان زندمانی بیشتر این آغازگرها نسبت به نمونه‌های دیگر را به تولید اسید کمتر طی زمان نگهداری توسط آن‌ها مربوط دانست. تفاوتی در تعداد آغازگرها در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلیساقارید و نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای NEPS مشاهده نشد. همچنین تعداد استرپتوكوکوس‌ها بالاتر از لاكتوباسیلوس‌ها بوده است که با نتایج محققان دیگر نیز مطابقت دارد [۲۳]. ولی پژوهش بیرونلو<sup>۱</sup> و همکاران در سال (۲۰۰۰) نشان داد که تعداد لاكتوباسیلوس بولگاریکوس در ماست بالاتر از استرپتوكوکوس ترموفیلوس بوده است [۲].

### ۳-۳- تغییرات پروتئولیز طی نگهداری

مطابق با نتایج نشان داده شده در جدول ۴ در تمامی نمونه‌ها پروتئولیز طی زمان نگهداری افزایش یافته است. این روند افزایشی طی دوره نگهداری با نتایج محققان پیشین نیز مطابقت داشته است [۱۷]. بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی مربوط به نمونه‌های I و H بوده که به ۱ واحد در روز ۲۸ می‌رسد. همچنین نمونه کنترل از فعالیت پروتئولیتیکی کمتری نسبت به نمونه‌های دیگر برخوردار بوده است و به ۰/۲۹ واحد طی چهار هفته نگهداری می‌رسد. فعالیت پروتئولیتیکی نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای یومی بین ۰/۸۹-۰/۷۹ واحد طی ۲۸ روز نگهداری بوده است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان داشت که فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولید کننده (EPS) مشابه فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های NEPS بوده است. ولی رمچندران و شاه در سال (۲۰۱۰) بیان داشتند که فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولید کننده اگزوپلیساقارید بیشتر می‌باشد [۱۷].

تولید ترکیبات پلیساقاریدی استفاده می‌شوند [۲۲]. در این پژوهش همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلیساقارید با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های D، E و I توانایی تولید اسیدکمتری نسبت به نمونه‌های دیگر داشته‌اند. در این نمونه‌ها pH بعد از ۲۸ روز نگهداری به ترتیب به ۴/۳۱، ۴/۲۸، ۴/۳۶، ۴/۳۶ کاهش یافته و اسیدیته به ترتیب به ۱۰۹/۳۵، ۱۱۰/۴۵، ۱۱۰/۲۵ و ۱۰۹/۲۵ درجه دورنیک افزایش یافته است. در حالی که در نمونه‌های با فعالیت پروتئینی کم مانند نمونه‌های F و G بعد از ۲۸ روز نگهداری pH به ترتیب به ۴/۲۰ و ۴/۰۸ و اسیدیته به ۱۱۰/۲۵ و ۱۰۹/۲۵ رسیده است. نمونه کنترل نیز توسط سویه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی پائینی تهیه شده و قدرت تولید اسید پائینی نیز داشته است.

### ۲-۳- تغییرات تعداد آغازگرها طی نگهداری

نتایج مربوط به تعداد آغازگرها به صورت لگاریتمی در جدول ۳ نشان شده است. اگرچه استانداردهای متفاوتی برای تعداد آغازگرها در ماست وجود دارد ولی تعداد قابل قبول معمولاً حداقل  $10^7$  CFU/g برای هر دو آغازگر می‌باشد [۲۳]. بیشترین کاهش طی ۲۸ روز نگهداری در تعداد آغازگرها مربوط به نمونه‌های D و B (حاوی آغازگر تولید کننده EPS) و با فعالیت پروتئولیتیکی پائین (B) بوده است که تعداد استرپتوكوکوس‌ها به ترتیب به ۷/۸۰ و ۷/۸۱ و تعداد لاكتوباسیلوس‌ها به ۸/۴۰ و ۷/۶۰ log CFU/mL کاهش یافته است. تعداد آغازگرها در نمونه‌هایی که با استفاده از جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا تولید شده‌اند (نمونه‌های I، H، E، D و I) بیشتر از نمونه‌های دیگر بوده است. در نمونه‌های H و I که بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی را دارا بوده‌اند تعداد استرپتوكوکوس‌ها افزایش یافته و به log CFU/mL ۹/۲۹ در نمونه H و به ۹/۲۷ در نمونه I رسیده است و تعداد لاكتوباسیلوس‌ها نیز تغییر معنی داری طی زمان نگهداری نشان نداده‌اند ( $p > 0/05$ ). در واقع پروتئولیز

## جدول ۲ تغییرات pH و اسیدیته (درجه دورنیک) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

اسیدیته						pH						تیمار*
روز نگهداری						روز نگهداری						تیمار*
۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱		۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱		تیمار*
۱۱۱/۱۰ <sup>a</sup> <sub>±۰/۱۹</sub>	۱۱۱/۱۰ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۸۹ <sup>dB</sup> <sub>±۱/۷۷</sub>	۱۰۱/۲۵ <sup>dB</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>	۸۷۷۵ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>		۴/۶ <sup>c</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۶ <sup>c</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۶ <sup>c</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۵ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	A	تیمار*
۱۱۷۸۰ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۱۷</sub>	۱۱۷۱۰ <sup>a</sup> <sub>±۱/۷۷</sub>	۱۱۰/۷۵ <sup>dB</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>	۱۰۴/۴۰ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۷</sub>	۷۷/۴۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>		۴/۱۵ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۱۷ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۱۸ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۲۹ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۵۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	B	
۱۲۱/۰۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۲۰/۱۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۱۱۵/۷۵ <sup>bB</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>	۱۰۷/۱ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۷</sub>	۸۲۳۵ <sup>dD</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>		۴/۱۱ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۱۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۱۹ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۳۱ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۵۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	C	تیمار*
۱۰۹۷۳۵ <sup>fA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۷/۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۷/۷۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۱/۲۵ <sup>dB</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>	۷۸۷۵ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>		۴/۳۱ <sup>bD</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۳۵ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۳۵ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۳۹ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۵۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	D	
۱۱۵/۴۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۱۰/۷۵ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۸/۴۵ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۳/۵ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۷۴۲۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۱۸</sub>		۴/۲۸ <sup>dF</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۲۸ <sup>dF</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۲۸ <sup>dBC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۴۰ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۵۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	E	تیمار*
۱۱۷۹۰ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۱۷</sub>	۱۱۴/۸۵ <sup>a</sup> <sub>±۱/۷۷</sub>	۱۱۱/۱۵ <sup>aA</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>	۹/۷۰ <sup>bB</sup> <sub>±۱/۷۷</sub>	۸۴۷۰ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>		۴/۲۰ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۲۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۲۹ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۳۱ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۵۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	F	
۱۲۰/۱۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۱۷۵۰ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۱۳/۸۵ <sup>c</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۰/۸۹ <sup>dD</sup> <sub>±۱/۱۷</sub>	۸۰/۵۵ <sup>bE</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>		۴/۰/۸ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۱۴ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۴/۲۱ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۳۲ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۵۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	G	تیمار*
۱۱۰/۲۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۱۴/۸۵ <sup>aA</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>	۱۱۳/۷۵ <sup>aA</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>	۹/۷۱ <sup>bB</sup> <sub>±۱/۷۷</sub>	۷۶/۲۵ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۸</sub>		۴/۳۱ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۲۷ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۲۸ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۳۹ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۵۴ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	H	
۱۰۹۷۳۵ <sup>fA</sup> <sub>±۰/۹۵</sub>	۱۰۵/۳۰ <sup>AB</sup> <sub>±۰/۱۰</sub>	۹/۷۶۵ <sup>c</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۷۰ <sup>dD</sup> <sub>±۱/۰۹</sub>	۷۱/۰/۰ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>		۴/۳۸ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۴۱ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۴۲ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۴۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۵۴ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	I	تیمار*
۱۲۰/۰/۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۱۱۶/۷۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۸/۰/۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۱۰۱/۱۵ <sup>dC</sup> <sub>±۱/۱۹</sub>	۸/۱/۴۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>		۴/۱۴ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۱۵ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۲۱ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۳۳ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۵۰ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	J	
۱۳۷۴۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۷</sub>	۱۲۴/۲۰ <sup>aA</sup> <sub>±۱/۰۰</sub>	۱۲۳/۷۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۷۳</sub>	۱۰۰/۸۰ <sup>aB</sup> <sub>±۱/۱۰</sub>	۷۸۷۵ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>		۴/۰/۷ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۰/۸ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۴/۱۸ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۳۱ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۴/۵۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	K	

\* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه ها می باشدند ( $p < 0.05$ ).- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار نمونه ها در روزهای مختلف نگهداری می باشدند ( $p < 0.05$ ).

## جدول ۳ تغییرات تعداد آغازگرها طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

Lb						St						تیمار*
روز نگهداری						روز نگهداری						تیمار*
۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱		۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱		تیمار*
۷/۷۸ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۸/۶۰ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۲۴</sub>	۸/۳۱ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۲۳</sub>	۹/۷۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۲۲</sub>	۹/۴۴ <sup>dAB</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>		۹/۷۸ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۸/۲۹ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۲۱</sub>	۹/۲۸ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۹/۰/۹ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۱۹</sub>	۹/۰۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	A	تیمار*
۸/۴۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۳۵</sub>	۹/۳۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۲۴</sub>	۸/۹۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۲۵</sub>	۹/۰/۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۹/۷۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>		۷/۸۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۲۸</sub>	۸/۷۴ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۲۶</sub>	۸/۸۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۳۱</sub>	۹/۰۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۶۱</sub>	۹/۷۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	B	
۷/۷۹ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۴۲</sub>	۸/۹۸ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۴۵</sub>	۸/۹۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۹۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۲۹</sub>	۹/۰/۷۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>		۷/۸۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۱</sub>	۸/۱۲ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۷/۹۲ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۷/۹۲ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۰</sub>	۸/۴۴ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	C	تیمار*
۸/۹۷ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۹۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۹۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۹/۰/۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۹/۱۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>		۸/۴۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۸/۹۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۹/۲۴ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۹/۰۴ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۳۷</sub>	۹/۲۳ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	D	
۹/۰/۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۹/۰/۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۸۴ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۸/۸۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۸/۵۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>		۸/۳۳ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۸/۴۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۸۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۸/۰۵ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۸/۷۷ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	E	تیمار*
۸/۸۷ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۸/۸۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۸/۸۱ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۸/۵۲ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۸/۷۲ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>		۸/۸۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۸/۷۰ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۱۰</sub>	۸/۰/۳ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۸/۸۳ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۸/۹۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	F	
۸/۸۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۷۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۸۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۸/۸۴ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۹/۰/۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>		۷/۹۸ <sup>dAB</sup> <sub>±۰/۱۵</sub>	۸/۸۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۱۵</sub>	۸/۷۴ <sup>aAB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۸/۷۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۴۲</sub>	۸/۷۷ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۳۲</sub>	G	تیمار*
۹/۷۷ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۹/۷۳ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۳</sub>	۹/۷۳ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۹/۰/۳ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۹/۴۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>		۹/۷۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۱۹</sub>	۹/۲۰ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۹/۲۸ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۹/۷۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۳۸</sub>	۹/۶۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	H	
۹/۱۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۸/۸۴ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۱۵</sub>	۸/۸۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۹/۴۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۹/۰/۹ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>		۹/۷۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۹/۲۲ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۷</sub>	۹/۲۳ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۹/۴۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۸/۹۱ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۱۸</sub>	I	تیمار*
۸/۸۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۹/۰/۸ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۸/۸۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۹/۰/۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۹/۱۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>		۸/۴۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۱۴</sub>	۹/۱۳ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۸/۸۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۸/۵۰ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۲۸</sub>	۸/۷۷ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۳۶</sub>	J	
۸/۸۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۹۴ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۷۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۸/۸۷ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۸/۸۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>		۸/۹۵ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۸/۷۸ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۸/۷۷ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۸/۵۰ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۲۸</sub>	۹/۱۳ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	K	

\* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه ها می باشدند ( $p < 0.05$ ).- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار نمونه ها در روزهای مختلف نگهداری می باشدند ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴ تغییرات پروتئولیز طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

روز نگهداری					تیمار*
۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱	
۰/۲۹ <sup>eA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۰/۲۸ <sup>gA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۲۷ <sup>fA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۲۷ <sup>eA</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۰/۱۸ <sup>eB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	A
۰/۸۰ <sup>cdA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۶۴ <sup>efB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۵۷ <sup>eC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۵۱ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۴۴ <sup>bD</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	B
۰/۸۱ <sup>cA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۷۷ <sup>bcB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۷۰ <sup>bc</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۰/۶۰ <sup>aD</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۵۰ <sup>aE</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	C
۰/۸۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۷۸ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۶۸ <sup>bc</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۶۰ <sup>aD</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۵۰ <sup>aE</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	D
۰/۸۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۷۳ <sup>cdB</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۶۳ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۵۴ <sup>bD</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۴۸ <sup>aE</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	E
۰/۸۰ <sup>cdA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۶۵ <sup>eB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۵۹ <sup>deC</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۴۸ <sup>cD</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۳۳ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	F
۰/۸۱ <sup>cA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۰/۷۳ <sup>cdB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۶۱ <sup>cc</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۵۱ <sup>bcD</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۳۴ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	G
۱/۰۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۰/۸۹ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۷۵ <sup>aC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۰/۵۷ <sup>abD</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۴۳ <sup>bE</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	H
۱/۰۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۰/۸۸ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۶۹ <sup>bc</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۰/۵۵ <sup>bD</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۰/۴۱ <sup>bcE</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	I
۰/۷۹ <sup>dA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۰/۶۱ <sup>fB</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۴۸ <sup>eC</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	۰/۴۳ <sup>cdD</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۰/۳۲ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	J
۰/۸۰ <sup>cdA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۷۰ <sup>dB</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۶۴ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۵۷ <sup>abD</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۰/۳۷ <sup>cE</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	K

\* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است.

- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه ها می باشدند ( $p < 0.05$ ).

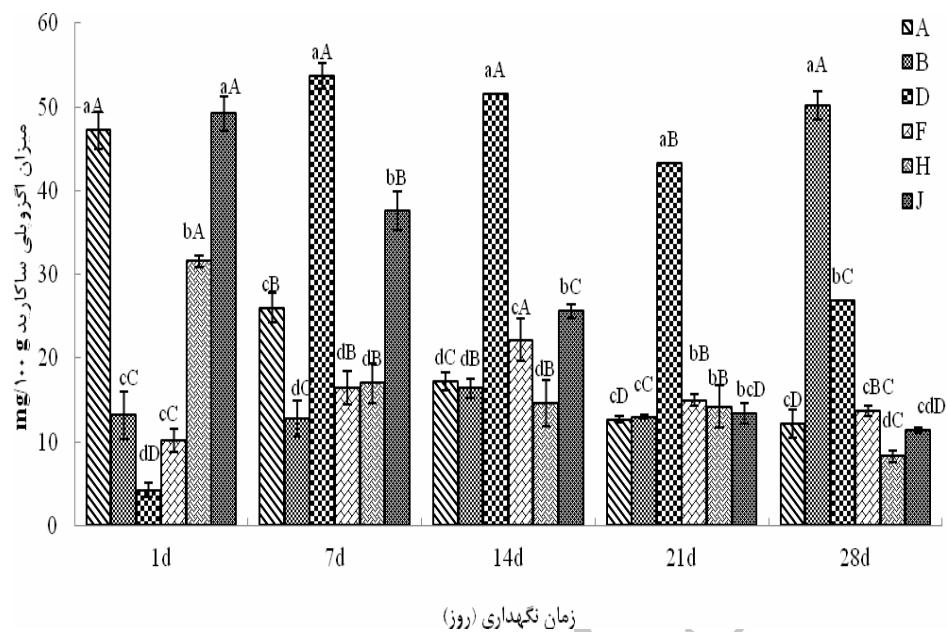
- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار نمونه ها در روزهای مختلف نگهداری می باشدند ( $p < 0.05$ ).

### ۴-۳- بررسی میزان اگزوپلیساقارید تولید شده

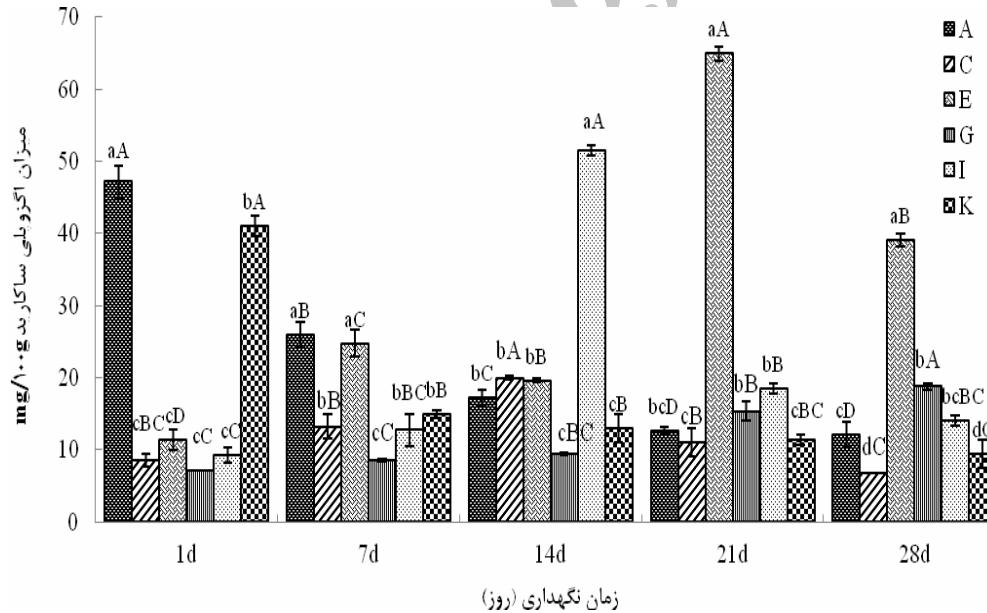
ا در محیط دچار کمبود مواد غذی شوند بنابراین از اگزوپلی- ساقارید تولید شده در محیط با استفاده از آنزیم های تجزیه کننده اگزوپلیساقارید به عنوان ماده غذی و منبع انرژی استفاده می کنند. پژوهشگران دیگر نیز بیان داشتند که ابتدا روند افزایشی و سپس روند کاهشی در میزان اگزوپلیساقارید طی زمان نگهداری مشاهده کردند [۲۵، ۲۴، ۱۷]. پورواندری<sup>۱</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۷ بیان داشتند که میزان اگزوپلی- ساقارید تولید شده توسط آغازگرها طی زمان نگهداری افزایش می- یابد [۲۵]. دولیز<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان داشتند که طی نگهداری میزان اگزوپلیساقارید ثابت می ماند. همچنین بیان داشتند که تفاوت در روش مورد استفاده، تفاوت در نوع اگزوپلیساقارید و تفاوت در نوع جدایه ها باعث ایجاد تفاوت در نتایج گزارش شده می شود [۲۶].

مطابق نتایج بدست آمده در شکل های ۱ و ۲ توانایی تولید اگزوپلیساقارید هر کدام از جدایه ها با یکدیگر متفاوت بوده و بین میزان اگزوپلیساقارید تولید شده توسط هر کدام از جدایه ها طی دوره نگهداری اختلاف معنی داری وجود داشته است ( $p < 0.05$ ). تولید اگزوپلیساقارید در همه نمونه ها به جزء نمونه B (روند افزایشی: از  $0/100\text{ mg}$  در روز ۱۳/۲۰ در روز اول به  $50/20\text{ mg}$  در روز ۲۸ رسیده است) و نمونه های H و K (کنترل (روند کاهشی) روند افزایشی و سپس کاهشی داشته است. نمونه E بیشترین میزان اگزوپلیساقارید را در مقایسه با نمونه های دیگر تولید کرده و به  $65\text{ mg}/100\text{ g}$  تراویز ۲۱ رسیده و سپس کاهش می یابد. دلیل روند کاهشی تولید اگزوپلیساقارید را اینگونه می توان بیان کرد که طی نگهداری بعد از تولید اگزوپلیساقارید ممکن است آغازگره

1. Purwandari  
2. Doleires



شکل ۱ میزان اگروپلی‌ساقارید تولید شده در ترکیب آغازگرهای بومی



شکل ۲ نمونه کنترل طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار گزارش شده است.

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در یک روز و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هر نمونه طی زمان نگهداری (p < 0.05).

می باشد [۱۷]. می توان فعالیت پروتئولیتیکی بالا در این نمونه ها را دلیل از هم پاشیدگی ساختار آن ها بعد از گذشت مدت مشخصی از زمان نگهداری مربوط دانست. ماست های تولید C شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده EPS مانند نمونه آب اندازی از ۶/۷۳٪ در روز اول به ۲/۷۱٪ در روز ۲۸ افزایش کاهش و ظرفیت نگهداری از ۶/۷۱٪ به ۷۵/۸۲٪ افزایش یافته است) نمونه D (آب اندازی از ۵/۰٪ در روز اول به ۲/۹۳٪ در روز ۲۸ کاهش و ظرفیت نگهداری از ۱۵/۶٪ به ۷۸/۰٪ افزایش یافته است) کمترین میزان آب اندازی و بیشترین ظرفیت نگهداری را در مقایسه با جدایه های دیگر داشته اند. در واقع ترکیبات پلی ساکاریدی به علت قابلیت جذب آب زیاد، افزایش گرانروی محصول، به تأخیر انداختن جدایی سرم باعث کاهش آب اندازی محصول طی دوره نگهداری را می شوند [۲۹، ۳۰]. همچنین ظرفیت نگهداری آب در نمونه های حاوی آغازگر تولید کننده EPS که فعالیت پروتئولیتیکی بالایی داشته اند کم بوده، همچنین آب اندازی این نمونه ها نیز بالا بوده است. مانند نمونه های H و I که در این نمونه ها به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا بعد از ۲۱ روز نگهداری دچار از هم پاشیدگی ساختار شده و روند تغییرات آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب معکوس شده است.

### ۳-۵- آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب

نتایج مربوط به آب اندازی نمونه های مختلف طی زمان نگهداری در جدول ۵ آورده شده است. ظرفیت نگهداری آب در ارتباط با آب اندازی می باشد. نتایج نشان می دهد که آب اندازی بیشتر نمونه ها به طور معنی داری طی دوره نگهداری کاهش یافته است و میزان کاهش با توجه به نوع جدایه متفاوت بوده است. همچنین ظرفیت نگهداری آب نمونه ها طی دوره نگهداری افزایش یافته است. کاهش آب اندازی و افزایش ظرفیت نگهداری آب طی زمان نگهداری را می توان به فعالیت متابولیکی آغازگرهای و کاهش فشار در شبکه پروتئینی مربوط دانست [۲۷]. در پژوهش های دیگر بیان شده آب اندازی نمونه ها طی زمان نگهداری افزایش می یابد [۲۸]. در نمونه های E و I آب اندازی تا روز ۲۱ روند کاهشی داشته و در روز ۲۸ افزایش یافته است. همچنین ظرفیت نگهداری این نمونه ها نیز تا روز ۲۱ روند افزایشی نشان داده و سپس کاهش یافته است. رمچندران و شام در سال ۲۰۰۹ نیز نشان دادند که آب اندازی طی زمان نگهداری تا روز ۱۴ کاهش می یابد که نشان دهنده بازیابی سریع بافت بعد از تخریب ساختار می باشد ولی در روز ۲۱ روند افزایشی نشان داده شده است که نشان دهنده از هم پاشیدگی ساختار

جدول ۵ تغییرات سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب (گرم مایع جدا شده در ۱۰۰ گرم نمونه) طی روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

	ظرفیت نگهداری آب					آب تلایی					تبلیغ*
	روز نگهداری					روز نگهداری					
	۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱	۲۸	۲۱	۱۴	۷	۱	
۷۷/۰۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۳۰</sub>	۷۵/۳۰ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۸۲</sub>	۷۴/۱۷ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۷۰/۰۹ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۶۴/۴۵ <sup>eE</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۳/۴۳ <sup>fF</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۴/۱۷ <sup>gG</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۴/۹۱ <sup>hH</sup> <sub>±۰/۲۵</sub>	۵/۱۷ <sup>iI</sup> <sub>±۰/۱۳</sub>	۷/۰۳ <sup>jJ</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	A	
۷۳/۱۹ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۴۹</sub>	۷۲/۳۳ <sup>cA</sup> <sub>±۰/۴۸</sub>	۶۸/۹ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۷۶</sub>	۷۰/۰۷ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۳۱</sub>	۶۱/۹۱ <sup>hC</sup> <sub>±۰/۱۱</sub>	۳۲/۵ <sup>gC</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۳۲/۹۱ <sup>gC</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۴/۹۱ <sup>AB</sup> <sub>±۰/۱۰</sub>	۴/۸۱ <sup>aAB</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۵/۳۳ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	B	
۷۰/۰۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۷۱</sub>	۷۴/۱۱ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۲۲</sub>	۷۷/۲۴ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۶۹/۸۹ <sup>dD</sup> <sub>±۰/۱۰</sub>	۷/۱۱ <sup>HE</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۲/۸۱ <sup>IC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۳/۱۵ <sup>IC</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۵/۱۷ <sup>HB</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۷/۲۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۷/۳۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	C	
۷۷/۰۸ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۴</sub>	۷۶/۰۵ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۷۰</sub>	۷۲/۷۵ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۳۵</sub>	۷۲/۸۵ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۴۹</sub>	۶۹/۸۵ <sup>D</sup> <sub>±۰/۲۱</sub>	۲/۹۱ <sup>ED</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۳/۳۵ <sup>ED</sup> <sub>±۰/۲۱</sub>	۳/۵۷ <sup>EC</sup> <sub>±۰/۲۴</sub>	۴/۰۰ <sup>FB</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۵/۰۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	D	
۷۷/۲۹ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۳۴</sub>	۷۷/۱۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۷۱/۳۱ <sup>bAB</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۷۱/۱۱ <sup>abAB</sup> <sub>±۰/۷۴</sub>	۶۹/۸۴ <sup>DB</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۸/۰۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۳/۷۳ <sup>aC</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۴/۸۵ <sup>aC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۶/۲۰ <sup>bDC</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۵/۴۳ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	E	
۷۶/۲۲ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۴۵</sub>	۷۳/۴۲ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۶۱</sub>	۷۰/۹۸ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۴۴</sub>	۷۰/۹۸ <sup>aD</sup> <sub>±۰/۲۵</sub>	۶۴/۸ <sup>DE</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۳/۹۰ <sup>dE</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۴/۰۱ <sup>bBC</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۴/۴۳ <sup>aC</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۵/۳۲ <sup>aAB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۷/۷۸ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۱</sub>	F	
۷/۸۳ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۲</sub>	۷۹/۲۹ <sup>dAB</sup> <sub>±۰/۳۵</sub>	۷/۷۳ <sup>bBC</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۷۷/۳۸ <sup>bBC</sup> <sub>±۰/۴۸</sub>	۶۵/۶ <sup>bD</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۴/۵۵ <sup>AB</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۲/۴۹ <sup>AB</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۵/۰۳ <sup>aAB</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۷/۷۹ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۷/۵۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	G	
۷۰/۷۴ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۱۱</sub>	۷۴/۳۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۷۷/۹۱ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۷۰/۰۷ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۲۹</sub>	۷۰/۰۷ <sup>EC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۵/۱۲ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۳/۸۷ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۳/۹۸ <sup>AB</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۵/۳۱ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۷</sub>	۵/۴۷ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	H	
۶۷۳۰ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۷۸</sub>	۶۹/۸۵ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۱۶</sub>	۶۶/۷۸ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۴۸</sub>	۶۵/۷۴ <sup>bC</sup> <sub>±۰/۲۹</sub>	۶۴/۹۵ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۴/۸۷ <sup>IM</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۳/۹۳ <sup>IB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۴/۰۴ <sup>EB</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۴/۸۸ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۵/۱۹ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	I	
۷۴/۴۱ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۷۰</sub>	۷۴/۲۹ <sup>aB</sup> <sub>±۰/۴۶</sub>	۷۷/۵۰ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	۷۱/۷۷ <sup>abC</sup> <sub>±۰/۰۹</sub>	۶۵/۱۳ <sup>aBD</sup> <sub>±۰/۰۳</sub>	۳/۱۰ <sup>ED</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۳/۸۳ <sup>ED</sup> <sub>±۰/۰۰</sub>	۳/۷۴ <sup>IC</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۴/۳۳ <sup>FB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۵/۳۳ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	J	
۷/۸۷ <sup>aA</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۷/۸۰ <sup>GB</sup> <sub>±۰/۵۶</sub>	۷۷/۴۳ <sup>bB</sup> <sub>±۰/۴۰</sub>	۷۶/۸۳ <sup>cC</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۷۳/۵۴ <sup>EC</sup> <sub>±۰/۰۴</sub>	۳/۸۳ <sup>dC</sup> <sub>±۰/۰۶</sub>	۴/۳۴ <sup>aC</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۵/۳۴ <sup>HB</sup> <sub>±۰/۰۵</sub>	۵/۹۹ <sup>aAB</sup> <sub>±۰/۰۸</sub>	۷/۷۹ <sup>bA</sup> <sub>±۰/۰۲</sub>	K	

\* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

-اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف میانگین شده است.

-حرروف کوچک متفاوت در هر سطون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه ها می باشدند ( $p < 0.05$ ). (p).

-حرروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه ها در روزهای مختلف نگهداری می باشدند ( $p < 0.05$ ). (p).

## ۶-۳- قوام

پروتئین‌ها، اگزوپلی‌ساقارید و پروتئین‌ها دارای بار مشابه می‌باشند که باعث جلوگیری از اتصال آن‌ها با یکدیگر و حتی اتصال پروتئین‌ها با هم و در نتیجه باعث تفاوت در مکانیسم رسوب پروتئین‌ها می‌شود [۲۱]. اسپریتوسانتو و همکاران در سال ۲۰۱۲ [۲۰] بیان داشتند ماست تولید شده با استفاده از جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساقارید دارای بافت یکنواخت‌تر و ویسکوزیته ظاهری بیشتر بعد از ۵ روز بوده است که نشان دهنده این است که اگزوپلی‌ساقارید از ایجاد نقص در بافت در اثر جابجایی و عوامل مکانیکی جلوگیری می‌کند ولی سفتی ماست تهیه شده کمتر می‌باشد به دلیل اینکه اگزوپلی‌ساقارید‌ها در ایجاد شبکه پروتئینی تداخل ایجاد کرده و باعث ایجاد ژلی ضعیف و در نتیجه بافتی نرم‌تر می‌شوند [۱۳]. با این حال پورونداری و همکاران در سال ۲۰۰۷ [۲۰] بیان داشتند که ارتباط ضعیفی بین میزان اگزوپلی‌ساقارید و خصوصیات بافتی وجود دارد [۲۵]. این تفاوت در نتایج را می‌توان به تفاوت در درجه روبی بودن، ترکیب قند و میزان شاخه‌ای بودن اگزوپلی‌ساقارید‌های تولید شده توسط آغازگرگارها مربوط دانست در واقع نوع اتصال پروتئین و اگزوپلی‌ساقارید بر بافت تاثیر می‌گذارد [۳۲]. همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرگاری با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های H و I دارای بافت ضعیفتری نسبت به نمونه‌های دیگر بوده‌اند.

جدول ۶ تغییرات قوام (g.S) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

تیمار*	۱	۷	۱۴	۲۱	۲۸
روز نگهداری					
A	۵۳۷/۹۱ <sup>aB</sup> ±۱۲/۰۲	۵۳۸/۹۱ <sup>bB</sup> ±۱۲/۶۴	۵۷۶/۳۸ <sup>aA</sup> ±۲/۴۶	۴۲۴/۲۹ <sup>dB</sup> ±۸/۰۷	۵۱۱/۴۲ <sup>aA</sup> ±۷/۵۸
B	۳۸۷/۳۶ <sup>dC</sup> ±۶/۷۷	۴۰۰/۵۰ <sup>fC</sup> ±۳/۵۳	۴۰۰/۴۰ <sup>aA</sup> ±۱۲/۷۷	۵۲۷/۹۸ <sup>aB</sup> ±۸/۵۱	۴۲۲/۸۳ <sup>cC</sup> ±۷/۷۶
C	۵۲۸/۱۸ <sup>aB</sup> ±۱۱/۵۶	۳۹۵/۵۰ <sup>fgC</sup> ±۷/۷۷	۳۵۲/۹۳ <sup>fD</sup> ±۱/۸۰	۴۳۴/۰۹ <sup>bcb</sup> ±۵/۵۲	۴۵۷/۹۴ <sup>bA</sup> ±۴/۳۲
D	۳۸۷/۱۵ <sup>dC</sup> ±۱۵/۴۰	۴۳۰/۲۶ <sup>eB</sup> ±۱۰/۹۵	۴۰۰/۳۳ <sup>cdAB</sup> ±۰/۴۵	۴۴۳/۰۰ <sup>bAB</sup> ±۶/۰۸	۴۵۲/۲۷ <sup>bA</sup> ±۱۱/۷۶
E	۴۲۷/۳۵ <sup>cB</sup> ±۱۰/۳۸	۳۸۹/۰۴ <sup>fgA</sup> ±۱۲/۷۸	۳۵۸/۲۴ <sup>fB</sup> ±۷/۹۸	۲۹۷/۸۴ <sup>fC</sup> ±۱۲/۳۱	۳۷۹/۱۲ <sup>dAB</sup> ±۱۲/۵۵
F	۲۸۲/۳۹ <sup>fC</sup> ±۷/۹۳	۲۸۲/۳۹ <sup>fC</sup> ±۷/۹۳	۳۵۸/۲۴ <sup>fB</sup> ±۷/۹۸	۳۶۷/۸۴ <sup>dAB</sup> ±۷/۶۸	۳۸۲/۰۱ <sup>dA</sup> ±۸/۹۴
G	۳۳۸/۶۵ <sup>eC</sup> ±۱۱/۰۲	۳۴۰/۰۹ <sup>HC</sup> ±۱۵/۴۲	۳۵۰/۲۹ <sup>fBC</sup> ±۱/۰۱	۴۱۵/۷۲ <sup>cB</sup> ±۷/۷۴	۳۶۲/۵۲ <sup>dC</sup> ±۱۲/۱۸
H	۴۶۲/۲۸ <sup>bA</sup> ±۷/۴۶	۴۶۶/۷۱ <sup>dA</sup> ±۱/۹۶	۴۰۰/۴۸ <sup>cA</sup> ±۱۲/۶۰	۳۳۴/۵۰ <sup>eC</sup> ±۷/۷۷	۲۸۷/۶۶ <sup>eD</sup> ±۴/۹۹
I	۴۸۳/۴۸ <sup>bb</sup> ±۴/۴۱	۴۹۲/۷۹ <sup>cB</sup> ±۳/۲۶	۴۲۱/۷۷ <sup>eB</sup> ±۱۰/۴۰	۳۷۴/۴۸ <sup>dC</sup> ±۱۲/۵۶	۳۹۱/۶۶ <sup>dC</sup> ±۸/۲۵
J	۴۵۹/۱۵ <sup>bA</sup> ±۱۰/۰۵	۴۴۰/۲۸ <sup>eAB</sup> ±۷/۳۸	۳۸۱/۱۸ <sup>eB</sup> ±۱۵/۹۵	۴۴۳/۹۹ <sup>bA</sup> ±۱۵/۸۸	۴۶۳/۶۳ <sup>bA</sup> ±۱۴/۱۰
K	۳۴۵/۳۶ <sup>eC</sup> ±۱۳/۲۶	۳۷۶/۵۲ <sup>gB</sup> ±۸/۵۲	۳۸۱/۱۸ <sup>eB</sup> ±۱۵/۹۵		

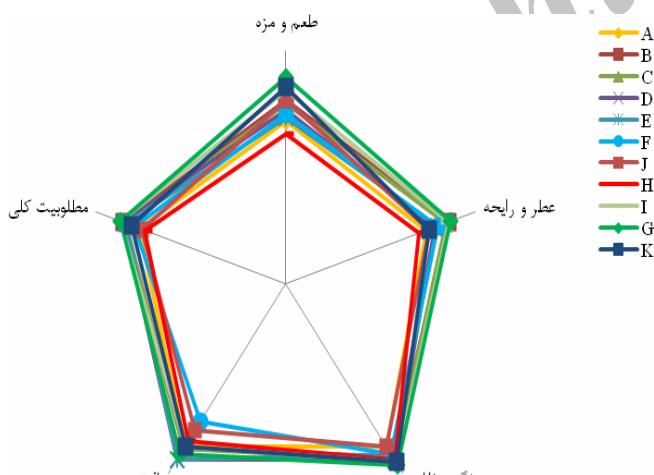
\* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین نمونه‌ها می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشد ( $p < 0.05$ ).

نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی ساکارید و نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگر NEPS مشاهده نشد. همچنین تعداد استرپتوکوکوس‌ها بالاتر از لاكتوباسیلوس‌ها بوده است. تعداد آغازگرهای جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالاتر بیشتر بوده به دلیل این‌که آمینواسیدهای لازم برای رشد آن‌ها به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا فراهم شده است. قوام نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی ساکارید بالاتر از نمونه‌های تولید شده توسط آغازگر NEPS بوده است. البته به جزء در نمونه‌های H و I که به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا خصوصیات بافتی مطلوبیت کمتری نشان داده‌اند. آب اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری کاهش و ظرفیت نگهداری آب افزایش یافته است ولی در نمونه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های H و I آب اندازی تا روز ۲۱ روند کاهشی داشته و در روز ۲۸ افزایش یافته است همچنین ظرفیت نگهداری در این نمونه‌ها تا روز ۲۱ افزایش و سپس کاهش می‌یابد. بررسی خصوصیات حسی نمونه‌ها نیز نشان داده است که نمونه‌های تولید شده دارای ویژگی‌های ارگانولپتیکی مشابه و حتی بهتر از نمونه کنترل بوده‌اند و پتانسیل استفاده در صنعت را دارا می‌باشند.



شکل ۳ خصوصیات حسی طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس

### ۷-۳- خصوصیات حسی

به طور کلی کیفیت و مقبولیت محصولات تخمیری مانند ماست در نهایت توسط آزمون حسی مشخص می‌شود و تحت تاثیر عواملی مانند میزان ترکیبات آroma، بافت و ظاهر محصول می‌باشد [۳۳]. به طور کلی بین نمونه‌های تولید شده از نظر طعم و مزه، عطر و رایحه، رنگ و ظاهر، بافت و مطالوبیت کلی تفاوت معنی داری از نظر میانگین آماری وجود نداشته است ( $p < 0.05$ ). نمونه‌ها امتیاز ۵ - ۶ را در تمامی خصوصیات حسی از نظر ارزیاب‌ها دریافت کرده‌اند که بیان کننده خوب تا قابل قبول بودن نمونه‌ها می‌باشد. همچنین نمونه کنترل نیز در همه خصوصیات حسی امتیاز ۵ (قابل قبول) دریافت کرده است. مقایسه بین نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی و آغازگر صنعتی نشان می‌دهد که این آغازگرهای بومی از نظر خصوصیات حسی مانند آغازگرهای های صنعتی عمل کرده و مقبولیت نمونه‌های تولید شده توسط آن‌ها مانند نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای صنعتی بوده است. نمونه‌های تولید شده با استفاده از جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی ساکارید از نظر بافتی مقبولیت بالاتری داشته‌اند ولی از نظر دیگر خصوصیات حسی مانند نمونه‌های حاوی NEPS بوده‌اند. همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای با فعالیت پروتئولیتیکی خیلی بالا مانند نمونه‌های H و I در تمام خصوصیات حسی مقبولیت کمی داشته‌اند.

### ۴- نتیجه‌گیری کلی

نتایج بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیابی نمونه‌ها نشان داده که با توجه به خصوصیات تکنولوژیکی هر آغازگر خصوصیات فیزیکوشیمیابی محصولات تولید شده نیز با یکدیگر متفاوت بوده است. آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی ساکارید قادر به تولید اسید مشابه آغازگرهای NEPS داشتند به جزء نمونه‌های H، D، E، H (حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی ساکارید) که دارای فعالیت پروتئولیتیکی بالایی بوده و قادر به تولید اسید کمتری داشته‌اند. تفاوتی در تعداد آغازگرها در

- some cheeses. *Journal of Food Microbiology*, 27, 253-261.
- [9] RoushanZadeh, S., Eskandari, M. H., Shekarforoush, S. S., Hosseini, A. 2014. Phenotypic and genotypic diversity of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional yoghurts produced by tribes of Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 15(4), 347-352.
- [10] Lim, O., Suntornsuk, W., Suntornsuk, L. 2009. Capillary zone electrophoresis for enumeration of *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yogurt. *Journal of Chromatography*, 877, 710-718.
- [11] Marafon, A., Sumi, P. A., Alcântara, M. R., Tamime, A. Y., de Oliveira, M. 2011. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. *Food Science and Technology*, 44, 511-519.
- [12] Ramirez-Santiago, C., Ramos-Solis, L., Lobato-Calleros, C., Peña-Valdivia, C., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramírez, J. 2010. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from *Pachyrhizus erosus* L . Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. *Journal of Food Engineering*, 101, 229-235.
- [13] Espírito Santo, A. P.d., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M. N.. 2012. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. *Food Science and Technology*, 47, 393-399.
- [14] Fadela, C., Abderrahim, C., Ahmed, B. 2009. Sensorial and Physico-Chemical Characteristics of Yoghurt Manufactured with Ewe's and Skim Milk. *Journal of Dairy Sciences*, 4, 136-140.
- [15] IDF. 1997. Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (lab)–Standard of identity. IDF Standard No. 149A. Federation International Dairy, Brussels, Belgium.
- [16] IDF. 2003. Yoghurt/enumeration of characteristic microorganisms–Colony count technique at 37°C. IDF Standard No. 117. Federation International Dairy, Brussels, Belgium.

## ۵- تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شیراز جهت تامین هزینه های این پژوهش سپاسگزاری می شود. همچنین از شرکت شیر پاستوریزه پگاه فارس و بخش بهداشت دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز جهت حمایتها و در اختیار گذاشتن مواد و دستگاههای مورد نیاز تحقیق تشكیر و قدردانی می گردد.

## ۶- منابع

- [1] De Brabandere, A. G., and De Baerdemaeker, J. G. 1999. Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation,. *Journal of Food Engineering*, 41, 221-227.
- [2] Birollo, G. A., Reinheimer, J. A., Vinderola, C. G. 2000. Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. *Food Research International*, 33, 799-805.
- [3] Yildiz, F. 2010. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Copyright Clearance Center, Inc.
- [4] Zourari, A., Accolas, J. P., Desmazeaud, M. J. 1992. Metabolism biochemical characteristics of yogurt bacteria. review . *Food Science and Technology*, 72, 1-34.
- [5] Çelik, E. S. 2007. Determination of Aroma Compounds and Exopolysaccharids Formation by Lactic acid Bacteria Isolated from Traditional Yoghurts. Thesis (Msc). School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology. Turkish. 111pp.
- [6] Slocum, S. A., Janisksi, E. M., Kilara ,A. 1988. Processing Variables Affecting Proteolysis in Yogurt During Incubation. *Journal of Dairy Sciences*, 71, 596-603.
- [7] Folkenberg D. M., Dejmek, P. Skriver, A., Guldager, H. S., Ipsen, R. 2006. Sensory and rheological screening of exopolysaccharide producing strains of bacterial yogurt cultures. *International Dairy Journal*, 16, 111–118.
- [8] Bianchi-Salvadori, B., Camaschella, P., Cislagli, S. 1995. Rapid enzymatic method for biotyping and control of lactic acid bacteria used in the production of yogurt and

- and rheological properties of set-type yogurt. International Dairy Journal, 17, 1344–1352.
- [26] Doleires, Y., Schaub, L., Lacroix, C. 2005. Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced *in situ* or added as bioingredients on yogurt properties. Journal of Dairy Sciences, 88, 4146–4156.
- [27] La Torre, L., Tamime, A. Y., Muir, D. D. (2003). Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter culture. Journal of Dairy Technology, 56, 163–170.
- [28] Aryana, K. J. and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. Food Science and Technology, 40, 1808–1814.
- [29] Welman, A. D., Maddox, I. S., Archer, R. H. 2003. Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Journal of Food Microbiology, 95, 1200–1206.
- [30] Prasanna, P. H. P., Grandison, A. S., Charalampopoulos, D. 2011. Effect of dairy based protein sources and temperature on growth, acidification and exopolysaccharide production of *Bifidobacterium* strains in skim milk. Food Research International, 47, 6–12.
- [31] Damin, M. R., Alcantara, M., Nunes, R., Oliveira, M. N. 2009. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. Food Science and Technology, 42, 1744–1750.
- [32] Hassan, A. N., Corredig, M., Frank, J. F. 2002. Capsule formation by non ropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yogurt during structure formation. Journal of Dairy Sciences, 85, 716–720.
- [33] Smit, G., Smit, B. A., Engels, W. J. M. 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. FEMS Microbiology. Reviews, 29(3), 591–610.
- [17] Ramchandran, L., Shah, N. P. 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. Food Science and Technology, 43, 819–827.
- [18] Matumoto-Pintro, P. T., Rabiey, L., Robitaille, G., Britten, M. 2011. Use of modified whey protein in yoghurt formulations. International Dairy Journal, 21, 21–26.
- [19] Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., Lyng, J. G. 2009. The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. Food Chemistry, 114, 905–911.
- [20] Bayarri, S., Carbonell, I., Barrios, E. X., Costell, E. 2011. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. International Dairy Journal, 21, 111–118.
- [21] Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., Shah, N. P. 2006. Physical characteristics of yogurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal, 16, 40–51.
- [22] Özer, B and Atasoy, F. 2002. Effect of addition of amino acids, treatment with  $\beta$ -galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. International Journal of Dairy Technology, Vol 55, No. 4.
- [23] Irkin, R., and Eren, U. V. 2009. A Research about Viable *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* Numbers in the Market Yoghurts. World J. Dairy & Food Science, 3, 25–28.
- [24] Degeest, B., Mozzi, F., De Vuyst, L. 2002. Effect of medium composition and temperature and pH changes on the exopolysaccharide yields and stability during *Streptococcus thermophilus* LY03 fermentation. Journal of Food Microbiology, 79, 161–174.
- [25] Purwandari, U., Shah, N. P., Vasiljevic, T. 2007. Effects of exopolysaccharideproducing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological

## **Investigation the effects of proteolytic activity and exopolysaccharide production by native starter bacteria on technological and organoleptic properties of yogurts**

**Amani, E. <sup>1</sup>, Eskandari, M. H. <sup>2\*</sup>, Shekarforoush, Sh. <sup>3</sup>, Hanif Pour, M. A. <sup>4</sup>**

1. Educated of department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz University  
2. Associate Professor of department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz

University

3. Professor of department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University

4. Pegah Fars Dairy Company, Shiraz

**(Received: 94/1/31 Accepted: 94/8/24)**

One of the most important points for yogurt production is the selection of starter culture, and also because of the necessity to preserve our natural starter cultures and to increase the availability of them for industrial use, the aim of this project was to determine the technological and organoleptic properties of yogurts produced by starter culture isolated from Iranian native yogurts. Eleven different yogurt samples were produced using 5 *Lactobacillus delbruekii subsp.bulganicus* and 2 *Streptococcus thermophiles* isolates. Results showed there were no significant differences between acidifying activity of EPS-producing and non-EPS-producing starter cultures. Also isolates with a high proteolytic activity (isolates used in the examples H and I that proteolytic activity reaches during 28 days to 1 unit) have less the ability to produce acid during storage and viability of these isolates had been more than other strains. Samples that produced by EPS-producing starter culture exhibited better texture properties (consistency, syneresis and water holding capacity) than samples that produced using NEPS-producing starter culture. However, H and I samples due to high proteolytic activity and type of the exopolysaccharide is produced had less desirable textural properties. Syneresis reduced during storage and water holding capacity increased. But the syneresis and water holding capacity of the samples produced using starters with high proteolytic activity, such as samples E, H, I similar to other samples until day 21, and in the fourth week the trend of changes has was reversed and the amount of syneresis increased and water holding capacity is reduced.

**Keywords:** Native starter culture, Exopolysaccharide, Texture, Proteolytic activity

\* Corresponding Author E-Mail Address: eskandar@shirazu.ac.ir