مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهارم، شماره۴، زمستان ۱۳۸۸، صفحات ۳۲-۲۱

تولید نوشیدنی تخمیری بر پایه آب پنیر با استفاده از انواعی از میکروفلور کفیر و بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ارگانولپتیک آن

فرزانه عبدالملکی[۱] ، مهناز مظاهری اسدی[۲] ، مهشید جهادی[۱]

۱- دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بیوتکنولوژی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران پست الکترونیکی: mxmazaheriassadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۲۴ تاریخ پذیرش: ۸۸/۹/۹

چکیده

سابقه و هدف: کفیر یکی از قدیمی‌ترین نوشیدنی‌هایی است که از تخمیر لاکتیک – الکلی شیر به دست می‌آید و آب پنیر، حاوی مقادیر عظیمی ترکیبات ارزشمند است که در ایران در حال حاضر، نه تنها استفاده کاملی از آن به عمل نمی‌آید، بلکه محیط اطراف واحدهای تولیدی و به خصوص آب‌های سطحی و زیرزمینی را آلوده می‌کند. در این تحقیق، با استفاده از سویه‌های بومی کفیر در ایران از آب پنیر در تهیه نوشیدنی تخمیری استفاده شده است.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، از آب پنیر اسیدی برای تهیه نوشیدنی تخمیری استفاده شد به این ترتیب که از هر یک از سویه‌های خالص کفیر(باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های اسید استیک و مخمرها) با نسبت‌های متفاوت، مایه کشت تهیه شد و از مایه کشت‌های مذکور در تولید نوشیدنی با کیفیت مطلوب استفاده شد. با ثابت نگه‌داشتن عوامل زمان و دمای تخمیر (۲۴ ساعت و ۲۵°C)، نوع سوبسترا (آب پنیر پاستوریزه)، میزان تلقیح (۳٪ تا ۵٪) و دور همزن (۹۰ rpm)، نمونه‌هایی با نسبت‌های متفاوت از مایه‌های میکروبی تولید شد که از نظر میزان پروتئین، چربی، قند، الکل، ریبوفلاوین، دی‌اکسیدکربن، اسیدیته، دانسیته، ماده خشک و خاکستر آنالیز شدند. نمونه‌های به دست آمده پس از افزودن سه اسانس نعنا، شوید و آویشن مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در بررسی آزمایش‌های شیمیایی (اسیدیته و CO_2) ، نمونه‌های حاصل از تلقیح تک تک سویه‌ها، مجموعه *لاکتوباسیلوس*ها با هم، مجموعه *کوکوس*ها با هم، مجموعه مخمرها با هم، از میزان تلقیح ۳٪ استفاده شد و بعد از یافتن بهترین نسبت‌ها بین *لاکتوباسیلوس*ها با هم، *کوکوس*ها با هم و مخمرها با هم، در نمونه‌های حاصل از تلقیح مجموعه باکتری‌ها و مخمرها از میزان تلقیح ۳٪ و ۵٪ استفاده شد. در نهایت، از میان ۶۱ نمونه، ۸ نمونه از نظر آزمایش‌های ارگانولپتیک و اندازه‌گیری‌های شیمیایی مطلوب بودند.

نتیجه‌گیری: اسانس نعنا ازنظر رنگ، طعم و بو بهترین اسانس بود و نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و استوباکتر به میزان ۳٪ و مخمرها به میزان ۲٪ از نظر کیفیت و پذیرش عمومی مطلوب شناخته شدند.

واژگان کلیدی: نوشیدنی بر پایه آب پنیر ، میکروفلور کفیر، آب پنیر تخمیر شده

• مقدمه

کفیر یکی از قدیمی‌ترین نوشیدنی‌هایی است که از تخمیر لاکتیکی – الکلی شیر به دست می‌آید (۲). این محصول، بسته به نوع مایه، نوع شیر و مدت تخمیر دارای ۰/۱ تا ۳/۵ درصد گاز کربنیک، ۰/۱ تا ۲ درصد الکل، ۶/. تا ۱/۱ درصد اسیدیته و کمتر از ۲/۷ درصد پروتئین شیری است. اهالی قفقاز شمالی از تخمیر شیر حیوانات در کیسه‌های پوستی (پوست حیوانات) نوعی نوشیدنی به نام *آیران* (Ayran) تهیه می‌کردند. دانه‌های سفید رنگی که به صورت نامنظم در سطح داخلی کیسه‌ها قرار داشتند، عامل این فرمانتاسیون بودند. این شیر اسیدی و گاز دار وحاوی الکل بعدها کفیر نامیده شد.(۲۳)

سرزمین مادری این فراورده، پستی و بلندی‌های شمالی قفقازیه (Caucasian) تلقی می‌شود. از زمان‌های بسیار دور، مردمی که در این کوهستان‌ها زندگی

Archive of SID
www.SID.ir

می‌کردند، ساختن نوشابه‌ای مفرح از شیر گاو و بز را بلد بودند. و آغازگری را که برای ساختن این نوشابه نشاط‌آور به کار برده می‌شد، دانه‌های کفیر نامیدند.(۲۳)

Metchnikoff در سال ۱۹۰۶ تأثیر کفیر را بر بیماری‌های مختلفی (اگزما، انسداد رگ‌ها و سرطان) بررسی کرد و نتایج خوبی به دست آورد. طبق گزارش *Davidov* و همکاران مصرف کفیر به علت حضور دی‌اکسیدکربن و نمک‌های کلسیمی، ادرار را افزایش می‌دهد و دیگر فراورده‌های متابولیسم نیتروژن، کلریدها و فسفات‌ها نیز تا حد زیادی دفع می‌شود، طعم اسیدی کفیر و میکروفلورهای شاخص آن، ترشح بزاق آنزیم‌ها در معده و پانکراس را تسهیل می‌کند و حرکات دودی دستگاه گوارش را افزایش می‌دهد. کفیر در حرکت یکنواخت‌تر غذا در روده نقش دارد و حضور اسید لاکتیک و اسید استیک و مواد آنتی‌بیوتیکی از بروز عفونت در روده کوچک پیشگیری می‌کند(۲۳).

از اواخر قرن گذشته، میکروبیولوژی دانه‌های کفیر، توجه چندین محقق به نام‌های *Bijerink* ، *Freudenreich* و *Oral-Jensen* را به خود جلب کرد. تاکنون، مشخص شده است که میکروارگانیزم‌های تشکیل دهنده دانه‌های کفیر از یک طرف، باکتری‌های لاکتیک و از طرف دیگر، مخمرها هستند. تحقیقات نشان داده است که دانه‌های کفیر، میکروفلورهای بسیار متغیری دارند.(۲۳)

Foster و همکاران دریافتند که *Streptococus lactis* و *Lactobacillus bulgaricus* در اتحاد با مخمرها قادر به تخمیر لاکتوز هستند اما Kaminski در سال ۱۹۵۵ قبلاً این ترکیبات پیچیده را پیدا کرده بود *Streptococus lactis* ، *Streptococus cremoris* ، *Leuconostoc dextranicum* ، *Lactobacillus bulgaricus* ، *Saccharamyces fragilis* و *Saccharamyces cerevisiae* (۲۳، ۳).

اخیراً مشخص شده است که میکروفلورهای کفیر متشکل از گونه‌های لاکتیکی مزوفیل و ترموفیل و باسیلوس بیشتری نسبت به استرپتوکوکوس است. علاوه بر این، مخمرهایی که به دو گروه مخمرهای تخمیرکننده لاکتوز و غیر تخمیرکننده لاکتوز تقسیم می‌شوند و انواع باکتری‌های اسید استیک نیز وجود دارند. با تحقیقات *Rossi* و *Rosi* در سال ۱۹۷۸ میکروفلورهای کفیر شامل باکتری‌های اسید لاکتیک، باکتری‌های اسید استیک و مخمرها است باکتری‌های اسید لاکتیک شامل باسیل‌های مزوفیل(*Lactobacillus brevis* و *Lactobacillus casei*) استرپتوکوک‌های مزوفیل (*Leuconostoc mesentroids*) و استرپتوکوک‌های ترموفیل است. باکتری‌های اسید استیک شامل *Acetobacter aceti* و مخمرها شامل *Saccharamyces cerevisiae* و *Saccharamyces fragilis* هستند (۲۳).

آب پنیر مایعی زرد مایل به سبز است که پس از انعقاد شیر به وسیله اسید یا آنزیم پروتئولیتیک (Proteolytic enzyme) در مرحله آب‌گیری از دلمه شیر جدا می‌شود و بسته به روش تولید و درصد ماده خشک پنیر ۶۰ تا ۹۰ درصد وزن شیر را تشکیل می‌دهد (۲۲) آب پنیر مواد آلی مفیدی دارد که در فرایند تولید پنیر، از شیر وارد آن می‌شود. به دلیل وجود این مواد، آب پنیر دارای COD (Chemical Oxygen Demand) بسیار بالا و حدود ppm ۷۶۰۰۰ و BOD (Biological Oxygen Demand) در حدود ppm ۴۰۰۰۰ است که به عنوان پساب بسیار آلوده در نظر گرفته می‌شود (۳۰، ۲۰).

از آب پنیر برای تولید انواع نوشیدنی‌های تخمیری و غیرتخمیری استفاده می‌شود. در تولید نوشیدنی در صورتی که مرحله تغلیظ آب پنیر حذف شود، تولید نوشیدنی از نظر اقتصادی، توجیه‌پذیر است؛ اما در تولید بعضی از نوشیدنی‌ها علاوه بر تغلیظ، فرایند دیگری نیز در تولید آنها پیشنهاد شده است که تولید آنها را از نظر اقتصادی غیر قابل قبول می‌کند(۲۸). بیشترِ تحقیقات انجام شده در زمینه تولید نوشیدنی در کشورهای اروپایی و روسیه صورت گرفته است و مصرف نوشابه‌های تولید شده در این کشورها تا حدی رایج شده است. در سال‌های اخیر، تولید نوشیدنی از آب پنیر در سطح تجارتی در چند کشور اروپایی (آلمان، هلند، سوئیس) گسترش قابل ملاحظه‌ای یافته است (۱۵، ۱).

Archive of SID

www.SID.ir

در این تحقیق سعی شده است که از آب پنیر، در تهیه نوشیدنی تخمیری با حداقل الکل (کمتر از ۰/۵ درصد) استفاده شود . نوشابه به دست آمده از آب پنیر علاوه بر شباهت مزه با انواع دوغ‌های گازدار موجود در کشور، به علت اینکه گاز CO_2 موجود در آن تخمیری بوده و حاصل واکنش تخمیری میکروارگانیسم‌های موجود در نوشابه است، نیازی به تزریق CO_2 ندارد و از نظر اقتصادی مقرون به صرفه است.

هدف این تحقیق، استفاده از آب پنیر برای تهیه نوشیدنی تخمیری با الکل کمتر از ۰/۵ درصد بود. بنابراین، از هر یک از سویه‌های باکتری‌های لاکتیک و استوباکتر و مخمرها به تنهایی و به صورت مخلوط‌های دو، سه، چهار، پنج تایی و بیشتر، با نسبت‌های متفاوت، مایه کشت تهیه شد. لازم به ذکر است که در نمونه‌های حاصل از تلقیح تک تک سویه ها، مجموعه *لاکتوباسیلوس*ها با هم، مجموعه *کوکوس*ها با هم و مجموعه مخمرها با هم، از تلقیح ۳٪ استفاده شد و بعد از یافتن بهترین نسبت‌ها بین *لاکتوباسیلوس*ها با هم، *کوکوس*ها با هم و مخمرها با هم، در نمونه‌های حاصل از تلقیح مجموعه باکتری‌ها و مخمرها از تلقیح ۳٪ و ۵٪ استفاده شد. نمونه‌هایی تولید شده از نظر میزان پروتئین، چربی، قند، ریبوفلاوین، الکل، دی‌اکسیدکربن، اسیدیته، دانسیته، ماده خشک و خاکستر آنالیز شدند.

• مواد و روش‌ها

در این تحقیق، برای تهیه نوشیدنی از آب پنیر با ترکیبات شیمیایی مطابق با جدول ۱ از کارخانه *کالبر* اراک، استفاده شد و سپس ترکیبات آب پنیر استاندارد شد (۲۱) و آزمون‌های شمارش کلی میکروب‌ها و کلیفرم‌ها صورت گرفت (۱۴).

تهیه و آماده سازی کشت‌های میکروبی: کلیه میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این تحقیق از کلکسیون بخش بیوتکولوژی *سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران* (PTCC Persian Type Culture Collection) تهیه شد. کلیه میکروارگانیسم‌های خالصِ دانه کفیر به صورت آمپول، حاوی محیط کشت حاوی شیر بدون چربی (skim milk) و گلیسرول در فریزر ۷۰°C- نگهداری شدند.این میکروارگانیسم‌ها عبارت بودند از:

الف) باکتری‌های لاکتیک شامل: لاکتوباسیل‌های مزوفیل *L. brevis, L. kefir L. plantarum, L. casei* استرپتوکوک *Str.lactis* لوکونوستوک *Leu. mesenteroides*

ب) باکتری‌های استیک *A. aceti*

ج) مخمرها شامل: *Sacc. lactis , Sacc. fragilis, Can. kefir*

بعد از تهیه کشت‌های تازه میکروبی، برای نگهداری کوتاه مدت جهت کشت مخمرها از محیط کشت Malt extract Agar و گرمخانه‌گذاری در۲۶°C ، برای *لاکتوباسیلوس‌ها* و *استرپتوکوکوس‌ها* از محیط کشت MRS Agar و گرمخانه‌گذاری در ۳۰°C، برای *لوکونوستوک‌ها* از محیط کشت Tomato juice Agar و گرمخانه‌گذاری در ۲۶°C و برای *استوباکتر* از محیط کشت Manitol Agar و گرمخانه‌گذاری در۲۶°C استفاده شد (۵).

جدول۱- ترکیبات شیمیایی نمونه‌های آب پنیر

ترکیبات	pH	دانسیته	خاکستر (٪)	ماده خشک (٪)	لاکتوز (٪)	پروتئین (٪)	چربی (٪)
محدوده	۴/۷-۴/۸	۱/۰۰۵-۱/۰۲	۰/۴۰-۰/۵۲	۵/۷-۶/۲	۴/۰۱-۴/۶۲	۰/۷۵-۰/۹۵	۰/۴۵-۰/۶۱

Archive of SID

www.SID.ir

تولید نوشیدنی: برای تولید نوشیدنی از آب پنیر پاستوریزه استفاده شد که قبل از افزودن مایه، دمای آب پنیر به حدود ۲۵°C-۲۲ رسانده شد. در این روش از این غلظت‌های میکروبی استفاده شد:

مخمرها 10^{8}-10^{7} سلول در میلی‌لیتر، لاکتوباسیلوس‌ها 10^{8}-10^{7} سلول در میلی‌لیتر، استرپتوکوکوس‌ها 10^{8} سلول در میلی‌لیتر، لوکونوستوک‌ها 10^{8}-10^{7} سلول در میلی‌لیتر و *استوباکتر* 10^{6}-10^{5} سلول در میلی‌لیتر(۲۹).

در این تحقیق با ثابت نگه داشتن عوامل زمان و دمای تخمیر (۲۴ ساعت و ۲۵°C)، نوع سوبسترا (آب پنیر پاستوریزه)، میزان تلقیح (۳٪ تا ۵٪) و دور همزن (۹۰rpm) نمونه‌های تولید شده فقط با تغییر نسبت‌های مختلف کشت‌های مایه‌های میکروبی بررسی شد (۵). به این ترتیب که هریک از سویه‌های میکروبی به تنهایی و به صورت مخلوط‌های دو، سه، چهار، پنج تایی و بیشتر، با نسبت‌های مختلف به آب پنیر تلقیح شدند. لازم به ذکر است که در نمونه‌های حاصل از تلقیح تک تک سویه‌ها، مجموعه لاکتوباسیلوس‌ها با هم، مجموعه کوکوس‌ها با هم و مجموعه مخمرها با هم، از تلقیح ۳٪ استفاده شد و بعد از یافتن بهترین نسبت‌ها بین لاکتوباسیلوس‌ها با هم، کوکوس‌ها با هم و مخمرها با هم، در نمونه‌های حاصل از تلقیح مجموعه باکتری‌ها و مخمرها از تلقیح ۳٪ و ۵٪ استفاده شد. لازم به ذکر است که تولید کلیه نمونه‌ها طی تکرارهای متوالی صورت پذیرفت (۵).

سپس ارلن‌های محتوی آب پنیر و مایه تلقیح شده در شیکر در دمای ۲۵°C و دور ۹۰rpm به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و بعد از گذشت ۲۴ ساعت، pH و خصوصیات ارگانولپتیک مورد بررسی قرار گرفت. سپس دمای نمونه‌ها به سرعت به دمای ۸°C-۶ رسانده شد. به منظور یکنواخت شدن نمونه‌ها آنها را با صافی معمولی صاف کرده و در بطری‌های شیشه‌ای قهوه‌ای رنگ به نسبت مساوی با آب مخلوط شدند. نمک و شکر هر کدام به میزان ۱٪ به آن افزوده و نهایتاً دربندی شدند. برای رسیدن محصول (agening) نمونه‌ها به مدت یک هفته در دمای اتاق گذاشته و در دمای ۵°C-۲ نگهداری شدند.لازم به ذکر است که در نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌ها و مخمرها ابتدا باکتری‌های لاکتیک و سپس بعد از گذشت ۸ ساعت، مخمرها یا مخمرها و باکتری‌های استیک تلقیح می‌شدند. باکتری *استوباکتراستی* توانایی تخمیر قند لاکتوز را ندارد. بنابراین، زمانی می‌تواند در محیط‌های حاوی لاکتوز رشد کند که لاکتوز به وسیله باکتری‌های لاکتیک هیدرولیز شده باشد. در ضمن، تجمع اسید لاکتیک، شرایط مطلوب‌تری را برای رشد آنها ایجاد می‌کند. به همین دلیل، در مرحله دوم تخمیر به نوشیدنی‌های تخمیری اضافه شد (۵).

روش انجام آزمون‌های شیمیایی: اسیدیته نمونه‌های آب پنیر و نوشیدنی‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۹۷۵/۰۵ ، چربی نمونه‌ها براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۰۰۰/۱۸، پروتئین نمونه ها بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره۹۷۵/۱۷ و ماده خشک نمونه‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران شماره۱۹۹۰/۱۹ AOAC اندازه‌گیری شد (۶).

خاکستر نمونه‌ها براساس روش سوزاندن در کوره الکتریکی(۲۹)، لاکتوز نمونه‌ها با روش لین – آینون (۲۹) و وزن مخصوص نمونه‌ها بر اساس استفاده از پیکنومتر(۲۹) اندازه‌گیری شد.

ریبوفلاوین نمونه‌ها با روش فتوفلوریمتری (۱۷) و CO_2 نمونه‌ها با استفاده از دستگاه CO_2 متر مدل Oxybaby M CO_2 ساخت شرکت Witt کشور انگلستان اندازه‌گیری شد (۱۲).

برای اندازه‌گیری میزان دقیق الکل نوشیدنی‌ها از دستگاه گاز کروماتوگراف مدل Shimadzu GC-15A ساخت شرکت Shimadzu ژاپن استفاده شد .

انتخاب نمونه مطلوب با توجه به ذائقه و پذیرش عمومی افراد جامعه: برای انتخاب نمونه مطلوب به توجه به ذائقه و پذیرش عمومی، نوشیدنی‌های تولیدی را پس از بسته‌بندی در بطری‌های تیره ۲۸۰ میلی‌لیتری و بعد از مدت زمان لازم جهت رسیدن، توسط ۶ داور مورد آزمون ارگانولپتیک قرار دادیم. ابتدا ۲۰ نفر انتخاب شدند و پس از بیان هدف آزمون حسی و تعریف ویژگی‌های مورد ارزیابی، نمونه‌های مورد نظر در چند نوبت و با غلظت‌های مختلف به آنها ارائه شد. در نهایت ۶ نفر که بیشترین دقت ارزیابی را داشتند، جهت داوری آزمون نهایی انتخاب شدند (۱۶).

Archive of SID

www.SID.ir

درجه مطلوبیت هریک از این ویژگی‌های کیفی را با اعداد ۵، ۴، ۳، ۲، ۱ به ترتیب برای خیلی خوب ، خوب، متوسط ، بد و بسیار بد نشان دادیم و برای ارزیابی نتایج از روش رتبه‌ای استفاده کردیم.

تجزیه و تحلیل آماری نتایج: در این تحقیق برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از طرح فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی (Randomized complete Block Design) و طرح آماری کاملاً تصادفی (Compeletly Randomized Design) با استفاده از نرم افزار آماری SAS و SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن (Duncan) صورت گرفت.

• یافته‌ها

ابتدا نمونه‌های حاصل از تلقیح ۹ سویه میکروبی (باکتری‌های لاکتیک و مخمرها) به تفکیک مورد بررسی قرار گرفت. درصد، ترکیب میکروبی نمونه‌ها، مقادیر اسیدلاکتیک و گاز کربنیک این نمونه‌ها در جدول ۲ مشخص شده است.

سپس نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط دو سویه باکتری‌های لاکتیک و همچنین مخلوط دو سویه مخمرها با نسبت‌های مساوی ۲:۱ و ۱:۲ مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۳ مشخص شده است.

با توجه به نتایج آزمایش‌های نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط دوتایی سویه‌ها، یک سری از نمونه‌ها حذف شدند و نمونه‌های مطلوب برای مرحله بعد (مخلوط سه تایی سویه‌ها) انتخاب شدند. به عبارت دیگر نسبت‌های میکروبی به کار رفته در این مرحله با توجه به نتایج تلقیح مخلوط دوتایی سویه‌ها تعیین شد. در این مرحله باکتری‌های *لاکتوباسیلوس هموفرمانتاتیو* با هم و همچنین مخلوط باکتری‌های *لاکتوباسیلوس هتروفرمانتاتیو* در کنار یکدیگر مورد بررسی قرار گرفتند. درصد و ترکیب میکروبی نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط سه تایی سویه‌ها و همچنین مقادیر اسیدیته و گاز کربنیک آنها در جدول ۴ مشخص شده است.

با توجه به نتایج مربوط به نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط سه تایی سویه‌ها، نسبت‌های میکروبی مورد نظر جهت تلقیح مخلوط چهارتایی سویه‌ها تعیین شد. درصد و ترکیب میکروبی نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط چهارتایی سویه‌ها و مقادیر گازکربنیک و اسیدیته آنها در جدول ۵ ملاحظه می‌شود.

با بررسی نتایج مربوط به نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد، مخلوط دوتایی سویه‌ها، مخلوط سه‌تایی سویه‌ها و مخلوط چهارتایی سویه‌ها، نسبت‌های مناسب میان ۴ لاکتوباسیلوس، ۲ کوکسی و ۳ مخمر مشخص شد.

در مرحله بعد، نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها از نظر شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند. درصد و ترکیب میکروبی این نمونه‌ها و همچنین مقادیر CO_2 و اسیدیته آنها در جدول ۶ مشاهده می‌شود.

بررسی نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها نشان داد که تلقیح ۳٪ جهت مطلوبیت نمونه‌ها از نظر اسیدیته و گاز کربنیک مناسب نیست. به همین دلیل از تلقیح ۵٪ (۳٪ باکتری‌ها و ۲٪ مخمرها) استفاده شد که نتایج آن در جدول۷ گنجانده شده است.

بررسی آزمایش‌های شیمیایی نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد(اسیدیته و CO_2)، مخلوط دوتایی سویه‌ها، مخلوط سه‌تایی سویه‌ها، مخلوط چهارتایی سویه ها، مخلوط باکتری‌های لاکتیک و مخمرها با درصد تلقیح ۵٪ و ۳٪ نشان داد که از میان ۶۱ نمونه، ۸ نمونه از نظر آزمایش‌های ارگانولپتیک و اندازه‌گیری‌های شیمیایی مطلوب بودند. در این نمونه‌ها از تلقیح ۵٪ (۳٪ مخلوط باکتری‌ها و ۲٪ مخلوط مخمرها) استفاده شده که نسبت‌های میکروبی به کار رفته در جدول ۸ مشخص شده است.

بررسی نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها نشان داد که تلقیح ۳٪ جهت مطلوبیت نمونه‌ها از نظر ارگانولپتیک و همچنین اسیدیته و گاز کربنیک مناسب نیست. به همین دلیل از میزان تلقیح ۵٪ (۳٪ باکتری‌ها و ۲٪ مخمرها) استفاده شد. در نهایت ۸ نمونه، به‌عنوان نمونه‌هایی نهایی در نظر گرفته شدند و مورد ارزشیابی حسی (Taste Panel) قرار گرفتند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد

شماره نمونه	درصد تلقیح	ترکیب میکروب	اسیدیته (٪ اسیدلاکتیک)	٪CO_2
۱	۳	*L. brevis*	۰/۶۶۳ bc	۲/۴۰۰ bc
۲	۳	*L. kefir*	۰/۶۶۳ bc	۲/۴۰۰ bc
۳	۳	*L. casei*	۰/۶۸۷ b	۲/۱۰۰ dc
۴	۳	*L .plantarum*	۰/۶۹۰ b	۲/۱۰۰ dc
۵	۳	*Str. lactis*	۰/۷۴۷ a	۱/۸۰۰ d
۶	۳	*Leu. mesenteroides*	۰/۶۴۷ c	۲/۵۶۷ b
۷	۳	*Can. kefir*	۰/۵۸۰ d	۳/۳۶۷ a
۸	۳	*Sacc. lactis*	۰/۶۰۰ d	۲/۶۷ a
۹	۳	*Sacc. fragilis*	۰/۶۰۳ d	۳/۳۰۰ a

جدول ۳- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های حاصل از تلقیح دوتایی سویه‌ها

شماره نمونه	درصد تلقیح	ترکیب میکروبی	نسبت میکروبی	اسیدیته (٪ اسیدلاکتیک)	%CO_2
۱	۳	*L.plantarum: L.casei*	۱:۱	۰/۷۳۰ d	۱/۹۰ kl
۲	۳	*L.plantarum: L.casei*	۲ : ۱	۰/۸۷۳ a	۱/۷۰ l
۳	۳	*L.plantarum:L.casei*	۱:۲	۰/۸۲۳ bc	۱/۷۰ l
۴	۳	*L.brevis:L.casei*	۱:۱	۰/۶۶۳ e	۲/۳۰ jhi
۵	۳	*L.brevis:L.casei*	۲:۱	۰/۶۶۳ e	۲/۹۰ ef
۶	۳	*L.brevis:L.casei*	۱:۲	۰/۶۹۳ e	۲/۷۰ fg
۷	۳	*L.kefir:L.casei*	۱:۱	۰/۶۶۷ e	۲/۷۰ fg
۸	۳	*L.kefir: L.casei*	۲:۱	۰/۶۶۰ e	۲/۷۰ fg
۹	۳	*L.kefir:L.casei*	۱:۲	۰/۶۸۷ e	۲/۸۸ ef
۱۰	۳	*L.brevis:L.plantarum*	۱:۱	۰/۷۳۰ d	۲/۱۰ igk
۱۱	۳	*L.brevis:L.plantarum*	۲:۱	۰/۸۰۰ c	۲/۲۳ hij
۱۲	۳	*L.brevis:L.plantarum*	۱:۲	۰/۸۷۰ a	۲/۰۰ jkl
۱۳	۳	*L.kefir:L.plantarum*	۱:۱	۰/۷۴۳ d	۲/۲۷ hij
۱۴	۳	*L.kefir:L.plantarum*	۲:۱	۰/۷۶۳ d	۲/۵۰ gh
۱۵	۳	*L.kefri:L.plantarum*	۱:۲	۰/۸۵۷ ab	۲/۳۰ hij
۱۶	۳	*L.kefir:L.brevis*	۱:۱	۰/۶۸۷ e	۲/۵۰ gh
۱۷	۳	*L.kefir:L.brevis*	۲:۱	۰/۶۹۰ e	۲/۳۳ hij
۱۸	۳	*L.kefir:L.brevis*	۱:۲	۰/۶۸۳ e	۲/۴۳ ghi
۱۹	۳	*Leu.mesenteroides: Str.Lactis*	۱:۱	۰/۶۹۰ e	۲/۲۰ jk
۲۰	۳	*Leu.mesenteroides: Str.Lactis*	۲:۱	۰/۶۸۰ e	۳/۱۳ cde
۲۱	۳	*Leu.mesenteroides: Str.Lactis*	۱:۲	۰/۷۴۳ d	۲/۲۰ hijk
۲۲	۳	*Sacc.lactis:Candida kefir*	۱:۱	۰/۶۰۰ fgh	۳/۴۷ ab
۲۳	۳	*Sacc.lactis:Candida kefir*	۲:۱	۰/۵۸۰ ghi	۳/۵۰ ab
۲۴	۳	*Sacc.lactis:Candida kefir*	۱:۲	۰/۵۶۳ hi	۳/۵۰ ab
۲۵	۳	*Sacc.fragilis:Candida kefir*	۱:۱	۰/۶۱۳ fg	۳/۲۷ bcd
۲۶	۳	*Sacc.fragilis:Candida kefir*	۲:۱	۰/۶۰۰ fgh	۳/۴۰ abc
۲۷	۳	*Sacc.fragilis:Candida kefir*	۱:۲	۰/۵۵۷ i	۳/۶۰ a
۲۸	۳	*Sacc.fragilis:Sacc.lactis*	۱:۱	۰/۶۲۳ f	۳/۱۰ cde
۲۹	۳	*Sacc.fragilis:Sacc.lactis*	۲:۱	۰/۶۲۰ f	۳/۰۳ de
۳۰	۳	*Sacc.fragilis:Sacc.lactis*	۱:۲	۰/۶۱۳ fg	۳/۳۰ abcd

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط سه‌تایی سویه ها

شماره نمونه	درصد تلقیح	ترکیب میکروبی	نسبت میکروبی	اسیدیته (٪ اسیدلاکتیک)	$\%CO_2$
۱	۳	*L.brevis: (L.plantarum+L.casei)*	۱:۱	۰/۸۹۳ ^{a}	۲/۴۰۰ ^{bc}
۲	۳	*L.brevis: (L.plantarum+L.casei)*	۲:۱	۰/۸۷۳ ^{a}	۲/۱۰۰ ^{c}
۳	۳	*L.kefir: (L.plantarum+L.casei)*	۱:۱	۰/۷۳۰ ^{d}	۲/۱۰۰ ^{c}
۴	۳	*L.kefir: (L.plantarum+L.casei)*	۲:۱	۰/۷۱۳ ^{d}	۲/۱۳۳ ^{c}
۵	۳	*L.casei: (L.kefir+L.brevis)*	۱:۱	۰/۸۷ ^{ab}	۲/۲۰۰ ^{c}
۶	۳	*L.casei: (L.kefir+L.brevis)*	۱:۲	۰/۸۵۷ ^{ab}	۲/۱۳۳ ^{c}
۷	۳	*L.plantarum: (L.kefir+L.brevis)*	۱:۱	۰/۸۳۳ ^{b}	۲/۶۰۰ ^{b}
۸	۳	*L.plantarum: (L.kefir+L.brevis)*	۱:۲	۰/۷۸۳ ^{c}	۲/۷۰۰ ^{b}
۹	۳	*Candida kefir: (Sacc.fragilis+Sacc.lactis)*	۱:۱	۰/۶۰۰ ^{e}	۳/۵۰۰ ^{a}
۱۰	۳	*Candida kefir: (Sacc.fragilis+Sacc.lactis)*	۲:۱	۰/۵۹۷ ^{e}	۳/۶۰۰ ^{a}

جدول ۵- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط چهارتایی سویه ها

شماره نمونه	درصد تلقیح	ترکیب میکروبی	نسبت میکروبی	اسیدیته (٪ اسیدلاکتیک)	$\%CO_2$
۱	۳	*(L.plantarum+L.casei): (L.kefri+L.brevis)*	۱:۱	۰/۷۵ ^{b}	۲/۴
۲	۳	*(L.plantarum+L.casei): (L.kefri+L.brevis)*	۱ : ۲	۰/۸۱ ^{a}	۲/۵

جدول۶- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها

شماره نمونه	درصدکل تلقیح	درصد تلقیح باکتری‌های لاکتیک	نسبت لاکتوباسیلوس‌ها به کوکوس‌ها	درصدتلقیح مخمرها	اسیدیته (٪اسیدلاکتیک)	$\%CO_2$
۱	۳	۲	۱:۱	۱	۰/۷۳ ^{a}	۲/۲ ^{b}
۲	۳	۲	۱ : ۲	۱	۰/۶۹ ^{b}	۲/۶ ^{ab}
۳	۳	۲	۲: ۱	۱	۰/۷۳ ^{a}	۲/۴ ^{ab}
۴	۳	۲	لاکتوباسیل‌ها	۱	۰/۸۱ ^{c}	۲/۹ ^{a}

جدول ۷- نتایج اندازه گیری اسیدیته و CO_2 در نمونه‌های تولید شده نهایی

شماره نمونه	درصد باکتری‌ها	نسبت لاکتوباسیلوس‌ها به کوکوس‌ها	درصد تلقیح مخمر	باکتری استوباکتراستی	اسیدیته (٪اسیدلاکتیک)	$\%CO_2$
۱	۳	۲: ۱	۲	___	۰/۷۸	۲/۸
۲	۳	۱:۱	۲	___	۰/۷۷	۲/۶
۳	۳	۱: ۲	۲	___	۰/۷۹	۲/۷
۴	۳	۱:۰	۲	___	۰/۷۵	۳/۲
۵	۲/۵	۲: ۱	۲	۰/۵	۰/۸۰	۳
۶	۲/۵	۱:۱	۲	۰/۵	۰/۷۸	۲/۶
۷	۲/۵	۱: ۲	۲	۰/۵	۰/۸۱	۲/۸
۸	۲/۵	۱:۰	۲	۰/۵	۰/۷۸	۲/۹

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۸- نتایج آزمایش‌های شیمیایی انجام شده بر روی نمونه‌های تولیدی

شماره نمونه	ترکیبات شیمیایی									
	اسیدیته	چربی (g/۱۰۰g)	پروتئین (g/۱۰۰g)	لاکتوز (g/۱۰۰g)	خاکستر (g/۱۰۰g)	ماده‌خشک (g/۱۰۰g)	CO_2	الکل(درجه‌الکلی) w/w%	وزن مخصوص	ریبوفلاوین (mg/۱۰۰g)
۱	۰/۷۸۰ ^{bc}	۰/۵۵ ^{a}	۰/۸۱ ^{b}	۱/۱۷	۰/۴۰۰ ^{c}	۲/۸۴۷ ^{b}	۲/۶۰۰ ^{c}	۰/۶۷۱ ^{C}	۱/۰۰۲۸	۰/۰۸۹ ^{ab}
۲	۰/۷۶۶ ^{bc}	۰/۵۱۰ ^{b}	۰/۸۲ ^{b}	۱/۱۵	۰/۴۰۷ ^{bc}	۲/۴۰۳ ^{e}	۲/۸۰۰ ^{abc}	۰/۷۲۱ ^{b}	۱/۰۰۲۶	۰/۰۸۸ ^{ab}
۳	۰/۷۸۷ ^{ab}	۰/۵۰۰ ^{b}	۰/۸۴ ^{b}	۱/۲۰	۰/۳۹۷ ^{c}	۲/۸۱۷ ^{b}	۲/۷۰۰ ^{bc}	۰/۶۵۲ ^{d}	۱/۰۰۳۰	۰/۰۹۱ ^{a}
۴	۰/۷۵۳ ^{c}	۰/۵۴۶ ^{a}	۰/۹۰ ^{a}	۱/۰۵	۰/۴۵۰ ^{ab}	۲/۵۰۳ ^{dc}	۳/۱۹۷ ^{a}	۰/۷۸۱ ^{a}	۱/۰۰۲۴	۰/۰۸۵ ^{b}
۵	۰/۸۰۰ ^{a}	۰/۴۵۳ ^{c}	۰/۹۱ ^{a}	۱/۳۰	۰/۴۸۷ ^{a}	۲/۹۴۰ ^{a}	۲/۶۰۰ ^{c}	۰/۳۷۰ ^{f}	۱/۰۰۲۸	۰/۰۷۹ ^{c}
۶	۰/۷۸۰ ^{abc}	۰/۴۶۰ ^{c}	۰/۹۲ ^{a}	۱/۲۴	۰/۴۵۷ ^{a}	۲/۵۴۷ ^{c}	۳/۰۳۳ ^{ab}	۰/۳۷۲ ^{f}	۱/۰۰۲۸	۰/۰۷۵ ^{c}
۷	۰/۸۰۶ ^{a}	۰/۵۴۷ ^{a}	۰/۹۰ ^{a}	۱/۳۱	۰/۴۴۷ ^{ab}	۲/۵۹۳ ^{c}	۲/۸۳۳ ^{abc}	۰/۳۱۴ ^{g}	۱/۰۰۳۰	۰/۰۷۸ ^{c}
۸	۰/۷۸۰ ^{abc}	۰/۵۰۷ ^{b}	۰/۸۴ ^{b}	۱/۲۳	۰/۴۶۰ ^{a}	۲/۴۵۳ ^{be}	۲/۹۰۰ ^{abc}	۰/۳۹۱ ^{e}	۱/۰۰۲۶	۰/۰۷۴ ^{c}

جدول ۹- تجزیه واریانس ارزشیابی حسی نمونه‌های نهایی

منابع تغییر	درجات آزادی	میانگین مربعات		
		رنگ	بو	طعم
تکرار	۵	۱/۶۹۰۳ **	۱/۸۹۰۲۸ **	۰/۹۴۰۳ **
اسانس	۲	۰/۹۲۳۶ **	۱/۱۷۳۶۱ *	۱/۸۸۱۹ **
نمونه	۷	۰/۱۴۱۸۶	۰/۵۲۲۸	۱/۶۵۷۷ **
اسانس نمونه	۱۴	۰/۱۲۹۹۶	۰/۱۱۸۰۵	۰/۱۹۹۴
خطا	۱۱۵	۰/۱۷۷۲۳	۰/۲۰۹۸۴	۰/۲۰۹۸
ضریب تغییرات٪		۱۳/۵۴۳	۱۱/۴۳۲	۱۲/۲۳۳۰

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪

جدول ۱۰- مقایسه میانگین ارزشیابی حسی اسانس‌ها

نوع اسانس	رنگ	بو	طعم
اسانس نعنا	۴/۴۵۸ ^{a}	۴/۲۲۹ ^{a}	۴/۲۰۸ ^{a}
اسانس شوید	۴/۴۳۷ ^{a}	۴/۰۸۳ ^{ab}	۴/۰۰۰ ^{b}
اسانس آویشن	۴/۲۰۸ ^{b}	۳/۹۱۷ ^{b}	۳/۸۱۲ ^{c}

جدول ۱۱- مقایسه میانگین ارزشیابی حسی نمونه‌ها

شماره نمونه	رنگ	بو	طعم
۱	۴/۳۳۳	۴/۰۰۰	۴/۱۶۷ ^{abc}
۲	۴/۴۲۲	۴/۱۱۱	۴/۰۰۰ ^{c}
۳	۴/۴۴۴	۳/۱۴۴	۳/۶۱۱ ^{d}
۴	۴/۳۳۳	۴/۳۳۳	۴/۳۸۹ ^{a}
۵	۴/۴۴۴	۴/۲۲۲	۳/۹۴۴ ^{c}
۶	۴/۵۰۰	۴/۲۲۲	۴/۳۳۳ ^{ab}
۷	۴/۳۳۳	۳/۸۸۹	۳/۵۵۶ ^{d}
۸	۴/۳۳۳	۳/۸۸۹	۴/۰۵۶ ^{bc}

• بحث

در این تحقیق، ابتدا نمونه‌های حاصل از تلقیح ۹ سویه میکروبی (باکتری‌های لاکتیک و مخمرها) به تفکیک مورد بررسی قرار گرفت.

بررسی آزمایش‌های شیمیایی در نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد با توجه به جدول ۲ نشان می‌دهد که تلقیح میکروارگانیسم‌های مورد نظر هیچ کدام به تنهایی نمی‌تواند در تولید محصول مطلوب، نقش داشته باشند. غلظت این نمونه‌ها نامطلوب است و از نظر طعم و بو برخی از میکروارگانیسم‌ها اثرات مثبت و تعدادی دیگر نیز اثرات منفی به جا می‌گذارند. از نظر اسیدیته، مخمرها اسید کمتر و باکتری‌های لاکتیک، اسید بیشتری تولید می‌کنند. از نظر گاز کربنیک، مخمرها گاز بیشتر و باکتری‌های لاکتیک گاز کمتری تولید می‌کنند. نتایج این تحقیق، مشابه تحقیقات دانشمندان زیر مشابه نتایج می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

Reiter در فرایندی برای تولید نوشیدنی از مخمر *Geotrichum* استفاده کرد ومدت ۵ الی ۹ ساعت نوشابه را در۲۸°C نگهداری کرد تا مراحل تخمیر پایان یابد(۲۴).

سپس نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط دوسویه باکتری‌های لاکتیک و همچنین مخلوط دو سویه مخمرها با نسبت‌های مساوی ۲:۱ و ۱:۲ مورد بررسی قرار گرفتند. بررسی نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط دوتایی سویه‌ها (جدول ۳) نشان می‌دهد که نسبت‌های مساوی *لاکتوباسیلوس‌های هموفرمانتاتیو*، نسبت‌های مساوی و ۱:۲ *لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتاتیو* به *هموفرمانتاتیو*، نسبت‌های مساوی *لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتاتیو*، نسبت مساوی *لوکونوستوک* و *استرپتوکوکوس* و همچنین نسبت‌های مساوی و ۱:۲ *کاندیدا* کفیر با هریک از مخمرهای *ساکارومیسس لاکتیس* و *ساکارومیسس فراژیلیس* از نظر ارگانولپتیک مطلوب هستند. از نظر اسیدیته، استفاده از مخلوط دوتایی باکتری‌های لاکتیک مناسب‌تر بوده و ازنظر گاز کربنیک، مخمرها با نسبتهای به کار برده شده گاز بیشتری تولید می‌کنند.

Guan برای تهیه نوشیدنی به آب پنیرغیر اسیدی و شیر پس چرخ گاو ۲/۵ درصد ساکارز افزود. سپس مقدار ۵ الی ۱۰ درصد از *Str.lactis* یا *bulgaricus Lactobacillus* و *Kloveromyces lactis* به آن افزوده و در دمای ۲۶ °C نگهداری کرد تا زمانی که اسیدیته قابل تیتراسیون تا ۱٪ افزایش یابد(۹).

با توجه به نتایج آزمایش‌های نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط دوتایی سویه‌ها، یک سری از نمونه‌ها حذف شدند و نمونه‌های مطلوب برای مرحله بعد که مخلوط سه‌تایی سویه‌ها به کار می‌رود، انتخاب شدند. به عبارت دیگر، نسبت‌های میکروبی به کار رفته در این مرحله با توجه به نتایج تلقیح مخلوط دوتایی سویه‌ها تعیین شد.

در مورد نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط سه‌تایی سویه‌ها (جدول ۴) لازم به ذکر است که نسبت‌های مساوی هریک از *لاکتوباسیلوس‌های هتروفرمانتاتیو* با دو *لاکتوباسیلوس هموفرمانتاتیو*، همچنین نسبت‌های مساوی هریک از *لاکتوباسیل‌های هموفرمانتاتیو* با دو *لاکتوباسیل هتروفرمانتاتیو* و همچنین نسبت ۱:۲ کاندیدا کفیر به دو مخمر دیگر از نظر ارگانولپتیک مطلوب است. از نظر اسیدیته، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها در سطح احتمال ۰/۰۱ مشاهده می‌شود و مخلوط سه‌تایی لاکتوباسیل‌ها در مقایسه با مخلوط دوتایی اسید بیشتری تولید می‌کنند، ولی در مورد مخمرها تغییر خاصی ملاحظه نمی‌شود . از نظر گاز کربنیک، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها در سطح احتمال ۰/۰۱ مشاهده می‌شود و نتایج مانند نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد و مخلوط دوتایی سویه‌ها است. با توجه به این نتایج ، نسبت‌های میکروبی مورد نظر جهت تلقیح مخلوط چهارتایی سویه‌ها تعیین می‌شود.

بررسی نمونه‌های حاصل از تلقیح مخلوط چهارتایی سویه‌های *لاکتوباسیل* (جدول ۵) نشان می‌دهد که نسبت مساوی دو *لاکتوباسیلوس هموفرمانتاتیو* به دو *لاکتوباسیلوس هتروفرمانتاتیو* از نظر ارگانولپتیک مطلوب است و از نظر میزان اسیدیته، مناسب است این نمونه‌ها از نظر گازکربنیک، تفاوتی با نمونه‌های قبلی ندارند.

با بررسی نتایج مربوط به نمونه‌های حاصل از تلقیح سویه‌های منفرد، مخلوط دوتایی، سه‌تایی و چهارتایی سویه ها، نسبت‌های مناسب میان ۴ *لاکتوباسیلوس*، ۲ *کوکسی* و ۳ مخمر مشخص می‌شود. در مرحله بعد، نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها از نظر ارگانولپتیک و شیمیایی مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌های لاکتیک و مخمرها (جدول ۶) نشان می‌دهد که نسبت ۲ : ۱ لاکتوباسیل‌ها به کوکسی‌ها همراه با تلقیح ۱٪ مخمرها از نظر ارگانولپتیک مطلوب است. اسیدیته این نمونه هم مناسب است. نمونه‌ای که از تلقیح ۲٪ *لاکتوباسیلوس‌ها* به همراه ۱٪ مخمرها حاصل شده است، گازکربنیک بیشتری تولید می‌کند. باکتری‌های لاکتیک در pH پایین در تولید گازکربنیک مؤثر هستند که البته انواع هتروفرمانتاتیو نقش بیشتری دارند.

جداسازی سویه‌های میکروبی بومی کفیر در ایران، امکان تهیه مایه‌های کشت را فراهم آورد و در این تحقیق از نسبت‌های مختلف مایه‌های کشت (۶۱ نمونه) طی تکرارهای متوالی جهت تولید نوشیدنی استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

استفاده از کشت‌های مخلوط نسبت به کشت‌های مجزا برتری دارد. به عنوان مثال، در بررسی انجام شده توسط *Besserezhnor* در سال۱۹۶۹ برای تهیه نوشیدنی مناسب، از مخلوط *لاکتوباسیلوس‌ها (L.bulgaricus، L.acidophilus، L.casei، L.helveticus)* و همچنین *استرپتوکوک (St.thermophilus)* استفاده شد (۲۵، ۸). *Kar* در سال ۱۹۹۸ برای تهیه نوشیدنی مطلوب از مخلوط ۲ ٪ هر کدام از باکتری‌های *Lactobacillus bulgaricus* و *Streptococcus thermophilus* استفاده کرد (۱۸).

نتایج کار این محققان نشان داد که باکتری‌های لاکتیک یا استرپتوکوک‌ها یا مخمرها به تنهایی نمی‌توانند به عنوان کشت مایه، برای تولید محصول مطلوب مورد استفاده قرار گیرند، بنابراین، باید مخلوط این سه گروه از میکروارگانیسم‌ها به کار برده شود. بررسی‌های انجام شده توسط سایر محققان نیز مؤید این مطلب است (۲۸، ۲۷).

در این تحقیق هم از مخلوط باکتری‌های لاکتیک و مخمرها به عنوان مایه جهت تولید کفیر استفاده شد. نتایج آزمایش‌های ارگانولپتیک و شیمیاییِ نمونه‌های حاصل از تلقیح باکتری‌ها و مخمرها به میزان ۳٪ نشان می‌دهد که این نمونه‌ها از نظر طعم و بو نامطلوب، ولی از نظر غلظت، مطلوب هستند. از نظر اسیدیته، ترشی ملایمی دارند و همچنین حاوی مقدار کمی گاز کربنیک هستند. بنابراین، تلقیح ۳٪ جهت تولید کفیر با کیفیت مطلوب، مناسب نیست. به همین دلیل از میزان تلقیح ۵٪ استفاده شد.

در نمونه‌های حاصل از میزان تلقیح ۵٪ (۳٪ باکتری‌ها و ۲٪ مخمرها) نتایج آزمایش‌های شیمیایی مطلوب بود و در نهایت ۸ نمونه، به عنوان نمونه‌هایی نهایی در نظر گرفته شدند و مورد ارزشیابی حسی و آزمایش‌های شیمیایی قرار گرفتند.

ارزشیابی حسی: با توجه به نتایج ارزشیابی حسی، (جدول ۱۰) ۸ نمونه نهایی با سه اسانس (نعنا، شوید و آویشن) بر اساس طرح آماری فاکتوریل با طرح پایه بلوک‌های کامل تصادفی مشخص می‌شود که :

الف) از نظر رنگ، اسانس نعنا و شوید در رتبه اول و اسانس آویشن در رتبه دوم قرار دارد (α=۰/۰۱).

ب) از نظر بو، اسانس نعنا در رتبه اول و اسانس آویشن در آخرین رتبه قرار دارد (α=۰/۰۱) بنابراین، اسانس‌های مختلف روی بو تأثیر دارند.

ج) از نظر طعم، اسانس نعنا در رتبه اول و اسانس آویشن در آخرین رتبه قرار دارد (α =۰/۰۱) بنابراین، اسانس‌های مختلف، روی طعم تأثیر دارند.

با توجه به نسبت‌های مختلف کشت‌های میکروبی مشخص می‌شود که:

الف) هیچ اختلاف معنی‌داری در رنگ نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود (α =۰/۰۱) بنابراین، نسبت‌های مختلف کشت‌های میکروبی تأثیری روی رنگ نوشیدنی‌ها ندارد.

ب) اختلاف معنی‌داری در بوی نمونه‌ها مشاهده نمی‌شود (α=۰/۰۵) بنابراین، نسبت‌های مختلف کشت میکروبی تأثیری روی بو ندارد.

ج) از نظر طعم، نمونه ۴ در رتبه اول و نمونه‌های ۳ و ۷ در آخرین رتبه قرار می‌گیرند (α =۰/۰۱). بنابراین، نسبت‌های مختلف کشت‌های مایه میکروبی می‌تواند روی طعم محصولات اثر بگذارد. نسبت‌های مختلف تلقیح سویه‌های میکروبی کفیر روی رنگ و بوی نوشیدنی بی‌تأثیر ولی بر طعم نوشیدنی موثر هستند. این نتایج مطابق با نتایج بررسی Duitschaever و همکاران (۱۱) است. این محقق توانست با تلقیح نسبت‌های مختلف سویه‌های میکروبی کفیر در شیر، نوشیدنی مناسبی تهیه کند.

اندازه‌گیری شیمیایی: با توجه به نتایج اندازه‌گیری‌های شیمیایی (جدول ۸) براساس طرح آماری کاملا تصادفی، مشخص می‌شود که:

۱ – از نظر اسیدیته، نمونه‌های ۷ و ۵ در رتبه اول و نمونه ۴ در آخرین رتبه قرار می‌گیرند(α =۰/۰۵)بنابراین، نسبت‌های مختلف کشت‌های میکروبی، روی اسیدیته نوشیدنی‌ها تأثیر می‌گذارند و باکتری‌های اسیدلاکتیک و اسیداستیک نقش مؤثرتری دارند. این نتایج مطابق با تحقیقات *اسدی* (۵) و همکاران در سال ۲۰۰۰ است. در

Archive of SID

www.SID.ir

این تحقیق از ۵ ٪ دانه کفیر که به شیر اضافه شده است، برای تهیه کفیراستفاده شد.

۲- از نظر چربی، نمونه‌های ۱، ۴ و ۷ در رتبه اول و نمونه‌های ۵ و ۶ در رتبه آخر قرار می‌گیرند (α =۰/۰۱). همچنین، چربی آب پنیر اولیه کاهش یافته است. نتایج بررسی محققانی مانند *Alm*(۱) ، *Gambelli* (۱۳) *Yun* و همکاران (۱۰) مشابه این نتایج است. این محققان از شیر برای تهیه کفیر استفاده کردند و علت کاهش چربی را مربوط به لیپاز تولید شده به وسیله میکروارگانیسم‌ها دانستند.

۳- از نظر پروتئین، نمونه‌های ۶، ۵، ۴ و ۷ در رتبه اول و نمونه‌های ۳، ۸، ۲ و ۱ در رتبه دوم قرار می‌گیرند (α =۰/۰۱). بنابراین، نسبت‌های مختلف کشت‌های میکروبی بر مقدار پروتئین نمونه‌ها تاثیر دارد و میزان پروتئین سلول میکروارگانیسم‌ها روی پروتئین نوشیدنی موثر است. نتایج تحقیقات *Gambelli* (۱۳). مشابه این نتایج است.

۴- از نظر خاکستر، نمونه‌های ۵، ۸ و ۶ در رتبه اول اولین رتبه و نمونه‌های ۱ و ۳ در رتبه آخر قرار می‌گیرند (α =۰/۰۱). این نتایج مطابق نتایج *Duitschaever* و همکاران است(۱۱).

۵- در لاکتوز نمونه‌ها هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود(α =۰/۰۱) بنابراین، نسبت‌های مختلف تلقیح سویه‌های میکروبی روی میزان مصرف لاکتوز طی تخمیر تأثیر نمی‌گذارند. همچنین، مقدار لاکتوز آب پنیر اولیه به میزان ۲۰ تا ۲۵٪ درصد کاهش می‌یابد این یافته‌ها با تحقیقات *اسدی* (۵) و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. در این تحقیق از ۵ ٪ دانه کفیر که به شیر اضافه شده است. برای تهیه کفیر استفاده شد. همچنین، نتایج تحقیقات *Alm* (۱) مشابه این نتایج است.

۶- از نظر ماده خشک، نمونه ۵ در اولین رتبه و نمونه ۲ در آخرین رتبه قرار می‌گیرند(α =۰/۰۱) نتایج تحقیقات *Gambelli* مشابه این نتایج است. این محققان برای تهیه کفیر، ۵ ٪ دانه کفیر را به شیر اضافه کردند(۱۳).

۷- از نظر گاز کربنیک، نمونه ۴ در رتبه اول و نمونه‌های ۲ و ۶ در رتبه آخر قرار می‌گیرند (α=۰/۰۱) بنابراین، نسبت‌های مختلف تلقیح سویه‌های میکروبی روی گاز کربنیک نوشیدنی‌ها تأثیر می‌گذارند و باکتری‌های اسیدلاکتیک، به ویژه *لاکتو باسیل‌های هتروفرمانتاتیو* تأثیر بیشتری دارند.

۸- از نظر دانسیته، هیچ اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (α = ۰/۰۵) بنابراین، نسبت‌های مختلف تلقیح سویه‌های میکروبی بر دانسیته تأثیری ندارد.

۹-از نظر ریبوفلاوین، نمونه ۳ در اولین رتبه و نمونه‌های ۵، ۷، ۶ و ۸ در آخرین رتبه قرار می‌گیرند (α =۰/۰۱)، بنابراین، در نوشیدنی تخمیری با تلقیح باکتری‌های اسیدلاکتیک میزان ریبوفلاوین کاهش می‌یابد که این نتیجه مطابق گزارش *Duitschaever* و همکاران است(۱۱).

با جمع‌بندی نتایج فوق می‌توان گفت که از لحاظ آنالیز شیمیایی، نمونه‌های ۵ و ۷ در اولین رتبه قرار می‌گیرند.

مقایسه نتایج اندازه‌گیری‌های شیمیایی نشان می‌دهد که این نتایج مطابق با نتایج بررسی *مظاهری اسدی* و همکاران (۴) در ایران است. این محقق با استفاده از دانه‌های کفیر از شیر، یک نوشیدنی تخمیری تهیه و با تلقیح درصدهای مختلفی ازدانه‌های کفیر، نوشیدنی مناسبی از نظر ترکیبات شیمیایی تهیه نمود.

نتایج کار این بررسی نشان داد که *لاکتوباسیلوس‌ها* یا *استرپتوکوک‌ها* یا *مخمرها* به تنهایی نمی‌توانند به عنوان مایه کشت برای تولید محصول مطلوب مورد استفاده قرار گیرند و استفاده از کشت‌های مخلوط نسبت به کشت‌های مجزا برتری دارد. بنابراین، در این تحقیق از مخلوط باکتری‌های لاکتیک و مخمرها به‌عنوان مایه جهت تولید نوشیدنی استفاده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Alm L. Effect of fermentation on milk fat of Swedish fermented milk products. J. Dairy Sci1982; 65: 521–532.

2.Anliag A, Gracigla LD. Characterization of kefir grains grown in cows milk and in soya milk . J. Dairy Res 1999; 66: 327-333.

3.Angulo L, Lopez E, Lena Cesar E. Microflora present in kefir grains of the Galician region (north – west of spain). J. Dairy Res 1993; 60: 263-267.

4.Assadi MM, Jazayeri H, Rashedi H. Formulation and design of kefir fermented beverage production of whey[dissertation]. Teharan: Science & industry University. Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology; 1999 [in Persian] .

5-Assadi MM, Pourahmad R, Moazami N. Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. World J. microbiol. Biotechnol 2000;16: 541 – 543.

6.Association of official analytical chemists. official methods of analysis . AOAC: Association of Official Analytical Chemists; Washington , Dc . 2000.

7.Bambha PP, Setty PAS, Nambudripad VKN. "Whevit" – anourishing soft drink. Indi. Dairyman1972; 24(7): 153.

8.Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeast characteristics and identification, 2nd ed. Cambridge University press; 1990.

9.Buch Kristensec JM. Utilization of the components of milk in the food Industry .J. Dan. Dairy Food Ind 1988 :215-221.

10.Ching-Yun K, Ching-Wen L. taiwanese kefir grains: Their growth, microbial and chemical composition of fermented milk. Aus. J. Dairy Technol 1999; 54: 19–23.

11.Duitschaever CL, Kemp N, Emmons D. pure culture formulation and procedure for the production of kefir. Milch. schaft 1987; 42: 80-82 .

12.Egan H, Hirk S, Sawyer R. Pearsons chemical analysis of food. 8th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone 1988; p. 432-506.

13.Gambelli L, Manzi P, Panfili G, Vivanti V, Pizzoferrato L. Constituents of nutritional relevance in fermented milkproducts commercialized in Italy. Food Chem 1999; 66: 353–358.

14.Grace V, Hought GA, Rudnick H, Whaley K, Lindamood J. Sampling Dairy and Related products: In RT, editor. Marshal. Standard method for the examination of dairy products. Washington DC: American Public Health Association; 1992; p. 59-84.

15.Holsinger VH, Posati LP, Devilbiss ED. whey beverage: a review. J. Dairy Sci 1984;57(8): 849-859.

16.IDF. Sensory Evalvation of Dairy product standard 99: A, International Dairy Federation, Brussels 1987.

17.Jelen P. The importanse of whey and whey components in food and Nutrition. Int. dairy J 2003;13: 564-575.

18. Kar T. Enhancement and stabilization of flavour in fermented whey beverage. Food sci. technol. Today 2000;14(1): 29-32.

19.Klupsch HJ. Method of making kefir. European Patent Appl.1985.Vol 1,EP 0148 300 A1,p.16.

20.Maiorella BL, Castillo FJ. Ethannol, biomass and enzyme production for whey waste abatement. process Biochem1984: 157-161.

21.Motaghi MM, Mazaheri Assadi M, Moazami N, Farkhondeh A, Fooladi A, Goltapeh EM. Kefir production in Iran. World J. Microbiol. Biotechnol 1997;13: 579-581.

22.Pablo S.R and Analia G.A. Polysaccharide production by kefier grains during whey fermentation. Journal of Dairy Research, 2001. 68: 653-661.

23.Rehm HJ, Reed G. Biotechnology. 1st Edition.Weinheim, Elsevier,1983. p.315-363.

24.Reiter F. Production of imitation beer and other drinks from whey using the Moltra process. Neue Molk. Hildesh1947;2(11):105.

25.Robinson RK. Therapeutic properties of fermented milks. London: Elsevier; 1991.p. 160-161.

26.Schulz ME. The stability of vitamin C in acid whey beverages. Deut: Molk 1942; 63: 492.

27.Schulz ME, Drache KD. Fruit whey beverages. Milchwissen schaft 1942; 2: 276.

28.Schulz ME, Fackelmeier K. Fermentation beverages from plant extracts and whey. Brauwissenschaft, P. 43: Chem Abstr. 1948.44: 6572c.

29.Vida P.Quailty control and chemical expriments of food products. Tehran: Tehran University. Press;1995. p 70-110. [in Persian]

30.Zall RR. Source and Composition of whey and permeate In: Zadow, JG editor. whey and lactose processing England :Elsevier; 1992 P. 1-72.

Archive of SID

www.SID.ir