



## تاثیر افزودن سیترات بر روی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی دوغ حاوی آغازگرهای سیترات مثبت

مریم حسینی<sup>۱</sup>، جواد حصاری<sup>۲</sup>، سمیرا احمدزاده<sup>۳\*</sup> و حسین جدیری<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۹/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

<sup>۳</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۴</sup> مدیر تحقیق و توسعه پگاه آذربایجان شرقی

\*مسئول مکاتبه: Email: s.ahmadzade7@gmail.com

### چکیده

در این پژوهش با هدف افزایش آرومای کره‌ای دوغ صنعتی، از تری سدیم سیترات در غلظت‌های ۳۰، ۱۰ و ۵۰ ppm در فرمولاسیون دوغ استفاده شده و میزان دوفاز شدن، اسیدیته و دی‌استیل تولیدی در طی روزهای نگهداری (۱-۳۰ روز) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد افزودن سیترات باعث کاهش اسیدیته شد و با گذشت زمان میزان اسیدیته افزایش یافت. حداقل میزان اسیدیته برای تیمار ۵۰ ppm و ماکزیمم میزان آن مربوط به تیمار کنترل در روز اول دوره نگهداری بود. همچنین بین تیمارها در طول دوره نگهداری از نظر میزان اسیدیته اختلاف معنی‌دار بود ( $P < 0.05$ ). اختلاف آماری معنی‌داری در میزان دوفاز شدن بین همه تیمارها در دوره نگهداری ۳۰ روزه وجود داشت ( $P < 0.05$ ). حداقل میزان دوفاز شدن مربوط به تیمار با غلظت ۵۰ ppm در روز اول دوره نگهداری بود و بیشترین میزان دوفاز شدن نیز مربوط به تیمار کنترل در روز ۳۰ ام بود. همچنین با افزایش غلظت نمک تری سدیم سیترات، میزان دوفاز شدن در طی دوره‌های نگهداری کاهش یافت. میزان دی‌استیل تولیدی نیز با افزایش غلظت تری سدیم سیترات افزایش یافت که ماکزیمم میزان دی‌استیل تولیدی مربوط به نمونه ۵۰ ppm بود که ناشی از تاثیر مثبت تری سدیم سیترات، بر ویژگی‌های کیفی و آرومایی محصول بود.

**واژگان کلیدی:** آغازگر مزوفیل، تری سدیم سیترات، دوغ، ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی

### مقدمه

یا اسانس‌های طبیعی حاصل می‌گردد. امروزه با توجه به افزایش سطح آگاهی مردم و اهمیت مسائل تغذیه‌ای و رژیم غذایی و متعاقب آن مشخص شدن اثرات زیان‌بخش نوشابه‌های گازدار و پرکالری و تاثیر مستقیم آن بر شیوع بیماری‌های مزمن نظیر چاقی و دیابت، گرایش به

دوغ یکی از محبوبترین نوشیدنی‌های لبنی تخمیری می‌باشد که در ایران و برخی کشورهای اروپای شرقی و خاورمیانه، مصرف فراوانی دارد. این فراورده از اختلاط ماست، آب، نمک و برخی گیاهان معطر نظیر نعنای و پونه

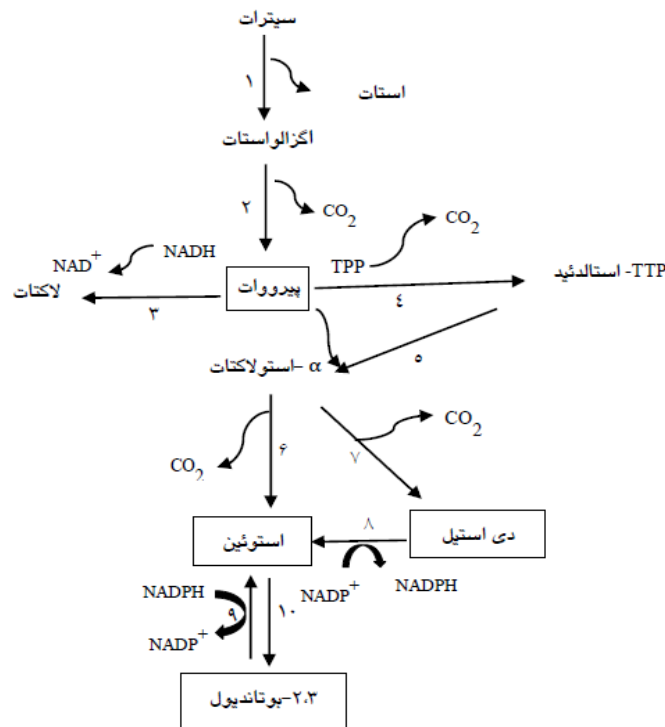
به صورت غیرآنزیمی تولید می‌شود چرا که سنتز آنزیم دی‌استیل هرگز در باکتری‌های اسیدلاکتیک نشان داده نشده است. بعلاوه دی‌استیل می‌تواند به استوئین و بوتاندیول به ترتیب توسط استوئین‌دهیدروژناز و بوتاندیول‌دهیدروژناز، احیاء شود. مخلوط استارترهای مزوفیلیک (مانند انواع L, DL, D که توسط لاکتوکوکس-ها تولید می‌شود) از سیترات استوئین بیشتری نسبت به دی‌استیل تولید می‌کنند. در مقابل گونه‌های خالص L اصلاً دی‌استیل و استوئین تولید نمی‌کنند (کوین تاینز و همکاران ۲۰۰۸). گزارش‌ها نشان می‌دهد، سیترات سبب ترغیب باکتری‌های لاکتیکی به تولید دی‌استیل شده و به عنوان پیش‌ساز تولید دی‌استیل در فراورده‌های لبنی تخمیری عمل می‌کند. با وجود شرایط هوادهی و با حضور اکسیژن کافی، افزودن نمک سیترات به محیط کشت تولید دی‌استیل و استوئین افزایش می‌یابد. ولی باید توجه داشت که افزودن سیترات بیشتر به زمان تخمیر طولانی‌تری نیازمند و بازده تبدیل زیستی سیترات به دی‌استیل و استوئین کاهش می‌یابد. دلیل کاهش تولید دی‌استیل، افزایش اثر بافری در غلظت‌های بالای سیترات است. با افزایش غلظت اولیه سیترات، pH افزایش می‌یابد و افزایش pH سبب کندشدن فعالیت آنزیم  $\alpha$ -استولاکتات می‌شود. با افزایش pH غلظت پیرووات خارج سلولی کاهش می‌یابد که این روند، فعالیت آنزیم  $\alpha$ -استولاکتات کاهش می‌دهد (الوندی و همکاران ۱۳۸۷).

در این پژوهش با هدف افزایش آرومای کره‌ای این فراورده، با افزودن تری سدیم سیترات در ۳ غلظت ۱۰، ۳۰ و ۵۰ ppm درمقایسه با دوغ فاقد سیترات سدیم (نمونه شاهد) یک‌سری ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی محصول نیز در کنار اندازه‌گیری میزان عطر و طعم، در طی دوره نگهداری ۳۰ روزه مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین در این مطالعه علاوه بر تلقیح استارترهای ترموفیل، از استارترهای مزوفیلی نیز جهت کمک به متابولیسم نمودن سیترات و تولید دی‌استیل مورد استفاده قرار گرفت. پژوهش‌های مختلفی، تاثیر سیترات در افزایش تولید دی‌استیل در محصولات کشت داده شده شیر با باکتری‌های لاکتیکی را تایید نمود (بومرداسی و همکاران ۱۹۹۷).

مصرف نوشیدنی‌های لبنی از جمله دوغ، افزایش یافته است (احتشامی و همکاران ۱۳۹۲). بطور طبیعی، دوغ کره به مایعی گفته می‌شود که در طی فرایند کره‌زنی از خامه جدا می‌شود. به منظور دستیابی به یک محصول با کیفیت ثابت، اغلب دوغ کره به طور مستقیم با تخمیر شیرپس چرخ یا باشیر با میزان جزئی چربی تولید می‌گردد. لاکتوکوکوس لاکتیس تولیدکننده بیشترین میزان اسیدلاکتیک است، درحالی که طعم کره‌ای دوغ نتیجه تولید دی‌استیل به وسیله میکروارگانسیم‌های معروف به باکتری مولد طعم نظیر نژادهای لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه *دی استی لاکتیس* و *لوکونوستوک مزنتروئیدیس* زیرگونه *کرموریس* ایجاد می‌گردد. اغلب باکتری‌ها، دی‌استیل را از کربوهیدرات‌ها و از طریق پیرووات تولید می‌نمایند. به هر حال نقش کلیدی پیرووات به عنوان گیرنده الکترون در باکتری‌های اسیدلاکتیک معمولاً نمی‌تواند برای این منظور اختصاص یابد، مگر اینکه یک منبع اضافه غیرکربوهیدراتی یا یک پذیرنده الکترون جایگزین، در محیط موجود باشد، متابولیسم سیترات می‌تواند این پیرووات اضافی را تامین نماید و منجر به تجمع دی‌استیل گردد. متابولیسم سیترات توسط باکتری‌های ترموفیل لاکتیکی انجام نمی‌شود و جزء خصوصیات مهم متابولیک باکتری‌های استارتر مزوفیل لاکتیکی محسوب می‌شود. برای رفع این نقص دوغ، از استارترهای سیترات مثبت مزوفیل که با تبدیل سیترات به استوئین و دی‌استیل عطر و طعم محصول را بهبود می‌بخشند، می‌توان استفاده کرد. تخمیر سیترات توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک منجر به تولید ترکیبات ۴ کربنه که عمدتاً شامل دی‌استیل، استوئین و بوتاندیول می‌باشد، می‌شود. متابولیسم سیترات به این صورت می‌باشد که سیترات ابتدا توسط سیترات‌لیاز به استات و اگزالواستات هیدرولیز می‌شود که در اثر دکربوکسیلاسیون به پیرووات تبدیل می‌شود. استولاکتات از پیرووات تشکیل می‌شود و از دکربوکسیلاسیون استولاکتات، استوئین تولید می‌شود که می‌تواند توسط آنزیم دهیدروژناز به بوتاندیول احیاء شود. بعلاوه دی‌استیل نیز به راحتی می‌تواند از استولاکتات تولید شود. برای اینکه بوتاندیول مولکول پایدار نمی‌باشد، به نظر می‌رسد که دی‌استیل

خصوصیات ژل تشکیل شده و میزان دی‌استیل تولیدی در نتیجه فعالیت استارترهای سیترات مثبت انجام گرفته است. در این مطالعه با هدف افزایش آرومای کره‌ای محصول مورد مطالعه، میزان پایداری فیزیکی محصول و اسیدیته نیز مورد بررسی قرار گرفت.

تأثیر مثبت افزودن فراورده‌های آب‌پنیر در تولید بیشتر دی‌استیل در مقایسه با شیرخشک در ماست و توسعه عطر و طعم آن بررسی شد (بیگ و همکاران ۱۹۹۶). تاکنون تحقیقات بسیار محدودی در زمینه اثر نمک تری سدیم سیترات بر میزان پراکنش کازئین و تأثیر این نمک بر



شکل ۱- متابولیسم سیترات و بیوسنتز ترکیبات چهارکربنه در باکتری‌های اسیدلاکتیک (کویین تاینز و همکاران ۲۰۰۸)

### مواد و روش‌ها

شیر مورد استفاده برای تولید دوغ مورد نیاز، از کارخانه پگاه آذربایجان شرقی تهیه گردید. مشخصات شیمیایی شیر مورد استفاده دارای pH = ۶/۷، اسیدیته ۱۵ درجه - درنیک، دانسیته ۲۹/۷، ماده خشک کل ۱۱/۱۴ و پروتئین ۲/۹۶٪ بود. نمک تری سدیم سیترات به مارک مرک<sup>۱</sup> آلمان، با فرمول شیمیایی  $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$  با جرم مولی ۲۹۴/۱۰ g/mol تهیه گردید. نمک تصفیه شده تبلور مجدد، مورد استفاده جهت تولید دوغ با نام تجاری تابان، از شرکت پگاه تهیه گردید.

مایه کشت های مورد استفاده از شرکت کریستین

هانسن دانمارک با کدهای تجاری زیر تهیه گردید:

استارترهای مزوفیل آروماتیک CHN-۲۲: لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه کرموریس، لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه دی استیل لاکتیس، لاکتوکوکوس مزنتریودیس زیرگونه کرموریس.

استارترهای ترموفیل ماست YC-۳۵۰: لاکتوباسیلیوس بولگاریکوس و استریپتوکوکوس ترموفیلوس.

### روش تولید دوغ

ابتدا شیرپاستوریزه و هموژنیزه به نسبت شیر به آب ۳ به ۲ مخلوط گردید، سپس دمای مخلوط شیر و آب جهت

<sup>1</sup> Merck

استفاده شد و در غلظت‌های مختلف به دستگاه تزریق گردید و منحنی به دست آمده به عنوان الگو جهت اندازه‌گیری میزان دی‌استیل تولیدی در منحنی به دست آمده از نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفت. مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل ۱۰۰۰ DANI ساخت آلمان، جنس ستون OMEGAWAX، دمای اولیه ستون  $40^{\circ}\text{C}$  و مدت زمان ۳ دقیقه دمای درجه تزریق  $200^{\circ}\text{C}$  بوده و دمای دتکتور  $260^{\circ}\text{C}$ ، طول ستون ۳۰ متر، قطر ستون  $0.25$  میلی‌متر، ضخامت فیلم  $0.5$  میکرومتر و گاز حامل هلیوم بوده است.

### طرح آماری

طرح آزمایشی از طرح کرتها‌های خرد شده در زمان و در قالب طرح اصلی کاملاً تصادفی انجام شد. میانگین‌ها با آزمون توکی با سطح احتمال خطای ۵ درصد مقایسه انجام شد. برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS استفاده شد و تمامی آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شده و گزارش گردید.

### بحث و نتیجه‌گیری

#### میزان پایداری فیزیکی (دوفاز شدن)

با توجه به جدول ۱ در خصوص پایداری دوغ‌های تولید شده در طول دوره نگهداری ۳۰ روزه بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیشترین میزان پایداری فیزیکی مربوط به تیمار ۵۰ ppm در روز اول دوره نگهداری و کمترین پایداری مربوط به تیمار شاهد در روز ۳۰ دوره نگهداری بود. در روز اول دوره نگهداری، با افزایش غلظت نمک تری سدیم سیترات، میزان پایداری افزایش یافت که این افزایش بین تیمارها با افزایش غلظت نمک تری سدیم معنی‌دار بوده و تنها بین تیمارهای با غلظت ۳۰ و ۵۰ ppm این اختلاف پایداری معنی‌دار نبود. با گذشت زمان در روز ۱۵ ام، با افزایش غلظت نمک‌ها میزان پایداری افزایش یافت و همچنین این افزایش پایداری بین تیمارها قابل توجه و

تلقیح استارترهای ترموفیلی و مزوفیلی به  $33^{\circ}\text{C}$  رسانده شد. بلافاصله و همزمان با افزودن استارترها، نمک تری سدیم سیترات در ۳ سطح ۱۰، ۳۰، ۵۰ ppm طبق طرح آزمایشی به شیر اضافه گردید. نسبت استارترهای مزوفیل به ترموفیل تلقیحی ۲ به ۱ بوده و سپس، نمک به میزان ۰/۵ درصد افزوده شد و در ظروف پلی اتیلن ترفتالات (PET) پر شده و بسته‌بندی گردید. بعد از طی گرمخانه‌گذاری و رسیدن به  $\text{pH}=4/4$  به سردخانه منتقل و برای انجام آزمایش‌های مربوطه در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ ذخیره گردید.

#### اندازه‌گیری اسیدیته

با استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ و به روش تیتراسیون با هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین انجام گرفت و اسیدیته بر حسب درصد اسیدلاکتیک به دست آمد.

#### اندازه‌گیری میزان پایداری فیزیکی (دوفاز شدن)

به منظور تعیین میزان پایداری فیزیکی دوغ، از استوانه‌های مدرج ۵۰ میلی‌لیتری استفاده شد. بدین صورت که به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر دوغ درون استوانه‌ها ریخته شد و با ورق آلومینیوم درب‌بندی شد و طی روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ میزان پایداری فیزیکی با استفاده از فرمول زیر تعیین شد:

$$\text{میزان دوغ فاز شدن} = \frac{\text{حجم سرم} - \text{حجم اولیه دوغ}}{\text{حجم اولیه دوغ}} \times 100$$

#### اندازه‌گیری دی‌استیل

برای اندازه‌گیری دی‌استیل، ۰/۶ gr از چربی دوغ با استفاده از روش استخراج مایع - مایع توسط حلال کلروفرم جدا شده و با ۱۰۰ سی‌سی استون به مدت ۱ دقیقه مخلوط و ورتکس گردید، بعد از ۵ دقیقه سانتریفیوژ در  $4000\text{g}$  و به دست آوردن محلول دوفازی، از فازبالایی به میزان ۱ میکرولیتر توسط سرنگ همپلتون برداشته شده و به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق گردید (ماکولیا و همکاران ۲۰۰۸). جهت اندازه‌گیری دقیق میزان دی‌استیل از ۲،۳ پنتادیون<sup>۱</sup> به عنوان استاندارد خارجی

<sup>1</sup> 2,3- pantanedione

به امولسیون کردن چربی با پروتئین‌ها نیز اشاره کرد که باعث افزایش میزان پایداری محصولات لبنی می‌گردد (احتشامی و همکاران ۱۳۹۲). برخی محققین معتقدند اگرچه فسفات‌ها و سیترات‌ها گروهی از نمک‌های امولسیون‌کننده هستند، اما این دسته از نمک‌ها، امولسیون‌کننده واقعی نیستند بلکه با تغییراتی که در ساختمان کازئین بوجود می‌آورند، سبب تغییراتی در ظرفیت نگهداری آب پروتئین در ساختمان ژل و همچنین قابلیت امولسیون‌کنندگی چربی بوسیله کازئین می‌گردند (احتشامی و همکاران ۱۳۹۲). همچنین این محققین اعلام نمودند، در محیط کشت حاوی لاکتوز و سیترات سدیم، محدود نمودن میزان لاکتوز، رشد این دو باکتری را بیشتر تحت تاثیر قرار می‌دهد تا محدودیت سیترات سدیم. همچنین افزودن سیترات سدیم به محیط کشت حاوی لاکتوز محدود شده منجر به افزایش فراورده‌های باکتری‌ها گردید، این افزایش فقط ناشی از افزایش متابولیسم سیترات بود نه از فعالیت متابولیک دیگری. باکتریهای اسیدلاکتیک مزوفیلیک تنها سیترات را متابولیزه نمیکنند بلکه همچنین قندها را نیز متابولیزه نموده که در حضور این قندهای تخمیری، سیترات سریعتر شکسته می‌شود (تمیم ۲۰۰۶).

معنی‌دار بود و بالاخره در روز ۳۰ام دوره نگهداری دوغ-ها، با افزایش غلظت نمک تری سدیم سیترات، میزان پایداری افزایش یافت و این افزایش پایداری بین همه تیمارها به جزء غلظت‌های ۱۰ و ۳۰ ppm معنی‌دار بود. افزایش پایداری در غلظت بالای سیترات سدیم به دلیل آبدوست بودن نمک تری سیترات سدیم بوده که این پایداری در روزهای اول دوره نگهداری قابل توجه‌تر بوده و با گذشت زمان با افزایش اسیدیته، پروتئین‌ها به نقطه ایزوالکتریک خود بیشتر نزدیک شده و در نتیجه شروع به تجمع و رسوب نموده که این امر سبب افزایش ناپایداری نسبت به روزهای اول دوره نگهداری می‌باشد (احتشامی و همکاران ۱۳۹۲). در زمینه بافت نوشیدنی-های تخمیری، شاخص دوفازی شدن از اهمیت بالایی برخوردار است. در دوغ به دلیل pH پایین و اسیدیته بالا، پروتئین‌ها به نقطه ایزوالکتریک خود نزدیک می‌شوند و در نتیجه شروع به تجمع و رسوب می‌کنند که این امر سبب ناپایداری و ایجاد حالت دوفازی بعد از تولید و در حین نگهداری می‌شود (ابراهیم زادگان و همکاران ۱۳۹۱). از جمله نقش‌هایی که برای نمک‌هایی همچون تری سدیم سیترات در منابع مختلف ذکر شده است، می‌توان

جدول ۱- نتایج مربوط به پایداری فیزیکی دوغ (%)

تیمار	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
دوغ فاقد سیترات	۶۸±۰/۷۹ <sup>Ac</sup>	۴۹/۳۳±۰/۱۱ <sup>Bd</sup>	۳۷/۵±۰/۶ <sup>Cc</sup>
دوغ حاوی ۱۰ ppm سیترات	۷۰/۱±۰/۲۶ <sup>Ab</sup>	۵۲/۷±۰/۳ <sup>Bc</sup>	۴۰/۶۶±۰/۴۷ <sup>Cb</sup>
دوغ حاوی ۳۰ ppm سیترات	۷۳/۲±۰/۲۰ <sup>Aa</sup>	۵۵/۳۶±۰/۲۸ <sup>Bb</sup>	۴۱/۴±۰/۵۲ <sup>Cb</sup>
دوغ حاوی ۵۰ ppm سیترات	۷۳/۲۳±۰/۲۵ <sup>Aa</sup>	۵۹/۰۳±۰/۲۰ <sup>Ba</sup>	۴۵/۱±۰/۳۶ <sup>Ca</sup>

در هر ردیف و هر ستون، به ترتیب حروف کوچک و حروف بزرگ غیرمشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

### اسیدیته

با بررسی نتایج مربوط به میزان اسیدیته از جدول ۲، در کل دوره ماندگاری ۳۰ روزه، در همه نمونه‌ها با افزایش معنی‌دار میزان اسیدیته مواجه بودیم. در روز نگهداری اول، بالاترین میزان اسیدیته مربوط به تیمار شاهد بود و با افزایش غلظت سیترات سدیم میزان اسیدیته کاهش

یافت و این کاهش اسیدیته در بین تیمارها معنی‌دار بود. همچنین در روز ۱۵ دوره نگهداری، باز تیمار شاهد بالاترین میزان اسیدیته را داشت و با افزایش میزان سیترات سدیم، تاثیر ماندگاری در میزان اسیدیته مشاهده نشد و در نهایت در روز ۳۰ دوره ماندگاری با افزایش میزان سیترات سدیم، میزان اسیدیته در تیمار شاهد بالاترین میزان بود و تفاوت معنی‌دار و قابل

تجزیه لاکتوز و افزایش تولید اسیدلاکتیک می‌گردد (توکلی و همکاران ۱۳۹۲: رضایی ۱۳۹۰). همچنین به دلیل ماهیت بافری سیترات سدیم، افزایش غلظت سیترات سدیم، سرعت اسیدی شدن را کاهش می‌دهد (حاجی محمدی و همکاران ۱۳۸۸). نتایج به دست آمده برهمکنش بین ماهیت بافری سیترات سدیم و میزان تولید شده اسیدلاکتیک را نشان داد.

ملاحظه‌ای بین تیمارهای ۱۰ ppm و ۵۰ وجود نداشت. همچنین غلظت ۳۰ ppm در مقایسه با تیمارهای ۵۰ و ۱۰ ppm در میزان اسیدیته اختلاف معنی‌داری نداشته، اما بین غلظت‌های ۱۰ ppm و ۵۰ اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. غلظت ۳۰ ppm تنها با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌دار و قابل توجه بود. علت افزایش اسیدیته فعالیت باکتری‌های سنتی موجود در ماست می‌باشد که سبب افزایش تعداد باکتری‌های زنده و در نتیجه

جدول ۲- نتایج مربوط به میزان اسیدیته (% اسیدلاکتیک)

تیمار	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
دوغ فاقد سیترات	۴۱/۸۵±۰/۴۰ Ca	۴۳/۰۳±۰/۳۰ Ba	۴۸/۱±۰/۷۸ Aa
دوغ حاوی ۱۰ ppm سیترات	۳۸/۶۶±۰/۴۷ Cb	۴۱/۹۶±۰/۸۶ Bb	۴۵/۹±۰/۲۶ Ab
دوغ حاوی ۲۰ ppm سیترات	۳۸/۲۲±۰/۲۵ Cb	۴۱/۸۳±۰/۸۵ Bb	۴۵/۳۳±۰/۶۶ Abc
دوغ حاوی ۵۰ ppm سیترات	۳۷/۵±۰/۳۴ Cc	۴۱/۵±۰/۳۶ Bb	۴۵±۰/۴۳ Ac

در هر ردیف و هرستون، به ترتیب حروف کوچک و حروف بزرگ غیرمشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

### دی استیل

دی‌استیل عامل آرومای کره‌ای بوده و این ترکیب از موثرترین ترکیبات عامل طعم و نگهدارنده است و برخلاف اکثر ترکیبات دیگر بر روی باکتری‌های گرم منفی و قارچ‌ها بیش از باکتری‌های گرم مثبت موثر است. هدف عمده از انجام این تحقیق بررسی میزان دی‌استیل تولید شده در تیمارهای مختلف بود که میزان دی‌استیل تنها در روز ۳۰ ام دوره ماندگاری، توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی انجام شد. با تزریق غلظت‌های مختلف دی‌استیل خالص به دستگاه به عنوان استاندارد خارجی، منحنی کالیبراسیون این ماده رسم شد. سپس با آماده‌سازی نمونه‌ها، نمونه آماده شده به دستگاه تزریق شد. بهترین زمان ماندگاری<sup>۱</sup> برای فاز متحرک در فاز سکون که بالاترین مساحت را داشت در میزان ۵/۷ دقیقه به دست آمد. فرمول به دست آمده برای به دست آوردن غلظت دی‌استیل در سطح زیر نمودار منحنی‌های به دست آمده  $Y = 1/825X + 1/765$  بود، که در آن X نشان‌دهنده غلظت دی‌استیل تولیدی و Y نشان‌دهنده

مساحت زیرمنحنی می‌باشد. همچنین فرمول به دست آمده دارای بالاترین ضریب تبیین  $R^2 = 0/99$  بود، که نشان‌دهنده اعتبار بالای مدل به دست آمده می‌باشد. همان‌طور که از جدول ۳ پیداست، میزان دی‌استیل با افزایش غلظت تری سیترات سدیم افزایش یافت. حداقل میزان دی‌استیل مربوط به نمونه شاهد با میزان کمتر از ۰/۵ ppm و حداکثر میزان دی‌استیل برای تیمار ۵۰ ppm در حدود ۱۰ ppm به دست آمد. با افزودن تری سیترات سدیم به دوغ در کنار استارترهای مزوفیل افزوده شده متابولیسم سیترات افزایش یافته و منجر به تولید دی‌استیل و استوئین می‌گردد (تمیم ۲۰۰۶). به دلیل پایین بودن میزان سیترات طبیعی موجود در شیر، از تجزیه این نمک توسط فلور طبیعی شیر و ترکیبات تولید شده مانند پرووات تنها برای رشد و تکثیر خود استفاده می‌نمایند و متابولیسم سیترات به طور کامل انجام نشده و محصولات حد واسط تولیدی توسط استارترها و فلور میکروبی مصرف می‌شود. با افزودن نمک تری سدیم سیترات در ۳ غلظت گفته شده، می‌توان علاوه بر اصلاح و بالابردن آرومای

<sup>۱</sup> retention time

نتایج این تحقیق نشان داد، بین تیمارها در طی دوره نگهداری ۳۰ روزه در افزایش میزان اسیدیته اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت ( $P < 0/05$ ). پایداری فیزیکی در بین همه تیمارها در کل دوره نگهداری ۳۰ روزه نیز معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). همچنین با افزایش غلظت نمک تری سدیم سیترات، پایداری فیزیکی در طی دوره نگهداری، افزایش و میزان اسیدیته افزایش یافت. میزان دی‌استیل اندازه‌گیری شده نیز نشان داد با افزایش غلظت تری سدیم سیترات میزان دی‌استیل تولیدی نیز افزایش یافت. با توجه به تاثیر مثبتی که افزودن نمک تری سدیم سیترات در افزایش پایداری فیزیکی و افزایش عطر و طعم کره‌ای دوغ داشت، پیشنهاد می‌شود استفاده از این نمک در بهبود خواص فیزیکی شیمیایی دوغ با توجه به میزان استاندارد آن در صنعت بیشتر مورد توجه قرار گیرد.

محصول، تکثیر میکروبی و خواص فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ را در جهت مثبت هدایت نمود. مطالعات نشان داد در محیط کشت بر پایه پودر آب‌پنیر که به آن نمک سیترات سدیم افزوده شده است، میزان دی‌استیل تولیدی بالاتر از سایر محیط‌های کشت بود و علاوه بر این استراتر مخلوط لاکتیکی در محیط کشت مذکور از توانایی بیشتری جهت تولید دی‌استیل برخوردار است (الوندی ۱۳۸۷؛ کاکویی و همکاران ۱۳۸۶).

جدول ۳- میزان دی‌استیل تولیدی در روز ۳۰ام دوره نگهداری

تیمار	روز ۱	روز ۱۵	روز ۳۰
دوغ فاقد سیترات	-	-	۲/۵±۰/۳۱ <sup>a</sup>
دوغ حاوی ۱۰ ppm سیترات	-	-	۴/۰±۰/۴۵ <sup>b</sup>
دوغ حاوی ۳۰ ppm سیترات	-	-	۱۰/۰±۰/۶۶ <sup>c</sup>
دوغ حاوی ۵۰ ppm سیترات	-	-	۱۹/۸±۰/۷۳ <sup>d</sup>

در هر ردیف و هر ستون، به ترتیب حروف کوچک و حروف بزرگ غیرمشترک بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

## نتیجه گیری

### منابع مورد استفاده

- ابراهیم‌زادگان س، زمردی ش و خسروشاهی اصل الف، ۱۳۹۲. ماندگاری بیوفیدوباکتریوم لاکتیس B۹۴-آزاد و کپسوله شده و تاثیر آن بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ ایرانی. نوآوری در علوم و فناوری غذایی، ۵، ۱۱۴-۱۰۵.
- الوندی ه، آذر م، شجاع‌الساداتی س.ع، ۱۳۸۷. تولید دی‌استیل در فرآیند تخمیر غیرمداوم با استفاده از کشت‌های آغازگر لاکتیکی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۵، ۳۹-۲۷.
- امیری عقدایی س و اعلمی م، ۱۳۹۰. تاثیر موسیلاژ دانه ریحان بر ویژگی‌های رئولوژیکی و پایداری دوغ، مجله علوم و فناوری غذایی، ۳، ۱۷-۲۴.
- احتشامی م، عزت پناه ح، عباسی س و گیویان‌راد م، ۱۳۹۲. تاثیر نمک‌های امولسیون‌کننده بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زمان تشکیل لخته آنزیمی شیر بدون چربی، فصلنامه علوم غذایی و تغذیه، ۱۰، ۱۴-۵.
- استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳، ۱۳۷۳. دوغ ساده - ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.
- اسلامی ع، خسروی دارانی ک و مزینانی ص، ۱۳۹۳. بررسی اثر افزودن پودر ریزجلبک /سپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعناع، مجله علوم و فناوری‌های نوین غذایی، ۱، ۷۰-۵۹.
- حاجی محمدی ر، حبیبی‌نجفی م و رضوی م.ع، ۱۳۸۹. بهینه‌یابی فرمولاسیون پنیر پیتزای پروسس با استفاده از طرح آزمایشی مخلوط محدودشده، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۷، ۲۳-۱۱.



کاکویی ح، احسانی م ر و مظلومی م ت، ۱۳۸۶. بررسی تغییرات دی‌استیل و ویژگی‌های حسی ماست‌های غنی شده با کنسانتره پروتئینی آب‌پنیر در جایگزینی شیر خشک، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران، ۴، ۳۱-۳۸.

علیزاده م، ۱۳۸۴. کاربرد روش سطح پاسخ به منظور بهینه‌سازی ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی پنیر سفید ایرانی، رساله دکتری، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

Allgeyer LC, Miller MJ and lee SY, 2010. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. *Journal of Dairy Science* 10: 4471-4479.

Kök Taş T and Güzel-seydim Z, 2010. Çeşitli Yağ İkame Maddeleri Ve Probiyotik Kullaniminin Ayran Kalite Kriterleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. *i.GIDA* 2:105-111.

Macciola V, Candela G and Deleonardis A, 2008. Rapid gas-chromatographic method for the determination of diacetyl in milk, fermented milk and butter. *Food Control journal* 9: 873-878.

Marjo C, Starrenburg A, and Hugenholtz J, 1991. Citrate fermentation by *Lactococcus* and *Leuconostoc spp.* *Applied and Environmental Microbiology* 12: 3535-3540.

Martin-Diana AC and Requena T, 2003. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *International Dairy Journal* 10: 827-833.

Ozcan T, Lee JW and Horne D, 2007. Effect of trisodium Citrate on Rheological and Physical Properties and Microstructure of Yogurt. *Dairy Science Journal* 40: 1644-1652.

Quintans NG, Blancato V and Lopez P 2008. Molecular aspects of lactic acid bacteria for traditional and new applications. 2<sup>nd</sup> ed. Vol.III. Research Signpost press, Kerale India.

Tamime Ay 2006. Fermented milks. Pp. 156-171. Blackwell Science Ltd, Oxford, England. First ed.



## The effect of addition of citrate on physico-chemical properties of dough containing citrate positive starters

M Hosseini<sup>1</sup>, J Hesari<sup>2</sup>, S Ahmadzadeh<sup>3\*</sup> and H Jodeiri<sup>4</sup>

Received: December 5, 2016

Accepted: February 5, 2018

<sup>1</sup>MSc, Department of Food Science and Technology, Faculty and Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty and Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>3</sup>MSc, Department of Food Science and Technology, Faculty and Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

<sup>4</sup>Director of Research and Development of Pegah East Azarbaijan, Tabriz, Iran

\*Corresponding author E-Mail Adress: s.ahmadzade7@gmail.com

### Abstract

In this study, with the aim of increasing of butter aroma of industrial dough, tri-sodium citrate was used in dough formulation at concentrations of 10, 30 and 50 ppm, and the amount of phase separation, acidity and production of diacetylene during storage days (1-30day) was studied. The results showed that adding citrate reduced the acidity and by passing time, acidity increased. Minimum value of acidity for treatment was 50ppm and maximum amount was regarding for control treatment on the first day of storage. Also, the acidity was statically significant ( $P<0.05$ ). A significant difference in the phase separation between all treatments, there was in a 30-day maintenance period ( $P<0.05$ ). Minimum and maximum amount of phase separation was regarding to the treatment which was 50ppm concentration in the first day of storage period and control treatment in the 30th day, respectively. Also, by increasing the concentration of tri-sodium-citrate, phase separation during storage period decreased. The amount of diacetyl production induced up to 10ppm, by increasing tri-sodium-citrate concentration and maximum amount of diacetyl production was regarded to the 50ppm sample, which indicated a positive effect of tri-sodium-citrate on quality and aroma properties of the product.

**Key Word:** Mesophilic starter, tri-sodium citrate, Dough, physicochemical properties