Archive of SID

Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 20, No. 2, Summer 2020, Pages 254-268

The Effect of Yeast *Kluyveromyces marxianus* as a Probiotic on the Microbiological and Sensorial Properties of Set Yoghurt during Refrigerated Storage

Homayouni-rad A[1], Oroojzadeh P*[1,2], Abbasi A[2]

1. Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition & Food Sciences, Nutrition Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
2. Student's Research Committee, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*** *Corresponding author.*** Tel: +984134242496, Fax: +984133340634, E-mail: oroojzadehp@tbzmed.ac.ir

Received: Aug 9, 2020 Accepted: Nov 12, 2020

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

ABSTRACT

Background & objectives: Probiotic dairy products as a functional food have a positive effect on the health of consumers that have been confirmed by scientific evidence. Yoghurt is considered as one of the most popular dairy foods in Iran, which the incorporation of the probiotics into the yoghurt matrix can improve their microbiological and sensory properties and subsequently will play a vital role in promoting the health of the community. The aim of this study was to investigate the effect of yeast *Kluyveromyces marxianus* on the microbial and sensorial properties of probiotic yoghurt during refrigerated storage.

Methods: In this *in vitro* study, the yeast *Kluyveromyces marxianus* PTCC=5189 was used to produce probiotic yoghurt and *Aspergillus parasiticus* PTCC=5018 (IR 63) and *Penicillium chrysogenum* PTCC=5074 were used as known pathogens and the main spoilage agents in yoghurt. Changes in the number of probiotic yeasts and spoilage species as well as the sensory acceptability of the samples during 28 days of storage at 4°C were evaluated and compared with the control samples.

Results: The population of both species, involved in yoghurt spoilage, during refrigeration were significantly reduced by the presence of *Kluyveromyces marxianus* (p<0.01). After 28 days of storage, the number of *Kluyveromyces marxianus* was at the recommended level of the International Dairy Federation with a 7.35 log CFU/g. The sensory evaluation results demonstrated that the control yoghurt samples were more acceptable.

Conclusion: *Kluyveromyces marxianus* has a significant effect on improving microbiological properties and can be used in the formulation and production of probiotic yoghurt with high storage capability and optimal sensory acceptability.

Keywords: Yoghurt; *Kluyveromyces marxianus*; *Aspergillus parasiticus*; *Penicillium chrysogenum*; Functional Food

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

تأثیر مخمر *کلوروماییسس مارکسیانوس* به عنوان یک پروبیوتیک بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک و حسی ماست قالبی طی نگهداری یخچالی

عزیز همایونی‌راد[۱]، پروین اروج‌زاده [۱،۲]، امین عباسی[۲]*

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، مرکز تحقیقات تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
۲. کمیته تحقیقات دانشجویان، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۱۳۴۲۴۲۴۹۶ فاکس: ۰۴۱۳۳۳۴۰۶۳۴ پست الکترونیک: oroojzadehp@tbzmed.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: محصولات لبنی پروبیوتیک از جمله غذاهای فراسودمند هستند که تاکنون تأثیر مثبت آن‌ها بر سلامت مصرف کنندگان توسط شواهد علمی به تأیید رسیده است. ماست به عنوان یکی از غذاهای فراسودمند لبنی پر طرفدار در ایران مطرح است که جای دادن پروبیوتیک‌ها در آن می‌تواند منجر به بهبود ویژگی‌های میکروبیولوژیک و حسی محصول شده و متعاقباً نقش حیاتی در ارتقا وضعیت سلامت جامعه داشته باشد. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر مخمر پروبیوتیک *کلوروماییسس مارکسیانوس* بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک و حسی ماست پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی است.

روش کار: در مطالعه حاضر از مخمر *کلوروماییسس مارکسیانوس* PTCC=5189 برای تولید ماست پروبیوتیک و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* (IR 63) PTCC=5018 و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* PTCC=5074 به عنوان عوامل بیماری‌زا شناخته شده و دخیل در فساد ماست در شرایط آزمایشگاهی استفاده گردید. تغییرات شمار مخمر پروبیوتیک و گونه‌های عامل فساد و همچنین مقبولیت حسی نمونه‌ها طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه‌ی سانتی‌گراد ارزیابی و با نمونه شاهد مقایسه شد.

یافته‌ها: جمعیت هر دو گونه عامل ایجاد فساد طی نگهداری یخچالی، تحت تأثیر حضور *کلوروماییسس مارکسیانوس* به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۱$). تعداد *کلوروماییسس مارکسیانوس* پس از ۲۸ روز نگهداری، با تعداد ۷/۳۵ log CFU/g در حد مطلوب و توصیه شده فدراسیون بین‌المللی لبنیات قرار داشت. نتایج ارزیابی حسی بیانگر این است که پس از ۲۸ روز نگهداری یخچالی، ماست معمولی پذیرش بیشتری نسبت به ماست پروبیوتیک داشت هرچند این اختلاف معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: *کلوروماییسس مارکسیانوس* تأثیر چشم‌گیری در بهبود ویژگی‌های میکروبیولوژیک داشته و می‌تواند در فرمولاسیون و تولید ماست پروبیوتیک با قابلیت نگهداری بالا و مقبولیت حسی قابل قبول مورد استفاده قرار گیرد.

واژه های کلیدی: ماست، *کلوروماییسس مارکسیانوس*، *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، *پنی‌سیلیوم نوتاتوم*، غذای فراسودمند

دریافت: ۱۳۹۹/۵/۱۹ **پذیرش:** ۱۳۹۹/۸/۲۲

مقدمه

در سال‌های اخیر توجه بیشتری به نقش ترکیبات غذایی در پیشگیری از بیماری‌ها و ارتقاءِ سلامت انسان شده است. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطان، ضدجهش‌زایی و ضدمیکروبی مثال‌هایی از نقش این ترکیبات غذایی می‌باشند [۳-۱]. غذاهایی که علاوه بر ویژگی‌های تغذیه‌ای پایه، دارای ویژگی سلامت‌بخش برای مصرف‌کننده باشد، به عنوان غذای فراسودمند

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

شناخته می‌شوند [۵,٤]. ماست از جمله غذاهای فراسودمندی محسوب می‌شود که محبوبیت بالای آن به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا و اثرات سودمند ناشی از حضور و فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد اما به دلیل فعالیت آبی بالا، مدت زمان نگهداری محدود (بین ۲۱ تا ۲۸ روز) دارد. آلودگی به کپک و مخمر یکی از مشکلات عمده در صنعت شیر و فرآورده‌های لبنی است. در مطالعات انجام شده بر روی تنوع قارچی در محصولات لبنی به روش ITS[1] شایعترین آلودگی مربوط به *پنی‌سیلیوم*، *دباروماسیس*، *کاندیدا* و *آسپرژیلوس* گزارش شد [۶]، که از بین کپک‌های فوق، گونه‌های *آسپرژیلوس* و *پنی‌سیلیوم* علاوه بر ایجاد فساد در محصول و کاهش مدت زمان نگهداری ماست، به دلیل تولید مایکوتوکسین‌ها، از عوامل اصلی تهدیدکننده ایمنی محصول و سلامت مصرف‌کننده به شمار می‌روند.

استفاده از فرآیند تخمیر یکی از روش‌های قدیمی نگهداری مواد غذایی است. باکتری‌های اسیدلاکتیک از دیرباز به عنوان آغازگر در طیف متنوعی از مواد غذایی تخمیری حضور داشته و در نتیجه متابولیسم خود، اسید و ترکیبات آروماتیک متنوعی را به وجود می‌آورند که تأثیر چشم‌گیری در خصوصیات حسی و تغذیه‌ای محصول غذایی ایجاد می‌کنند. در کنار این خواص طیف گسترده‌ای از ترکیبات طبیعی ضد میکروب تولید می‌کنند که باعث مهار رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد می‌شوند [۷]. مطالعات بسیاری به بررسی تأثیر برخی از سویه‌های لاکتوباسیلوس‌ها *(لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس هربیننسیس* و *رامنوسوس*) به عنوان پروبیوتیک و عامل ضدکپک در محصولات لبنی از جمله ماست پرداخته‌اند و نتایج نشان داد که استفاده از این سویه‌ها باعث کاهش فساد کپکی در ماست بدون ایجاد تغییرات قابل توجه در ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیایی محصول نهایی شد [۸]. اما تعداد کمتری از میکروارگانیسم‌های غیرباکتریایی، مانند مخمرها به‌عنوان پروبیوتیک مطالعه شده‌اند [۹]. در حال حاضر باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و مخمر *ساکارومیسس بولاردی* بهترین گونه‌های پروبیوتیک هستند. اگرچه تأثیرات متناقضی به‌صورت موردی گزارش شده است، اما به صورت کلی این پروبیوتیک‌ها را ایمن (GRAS)[2] می‌دانند [۱۰]. *ساکارومیسس بولاردی* پروبیوتیکی شناخته‌شده و با مصرف گسترده در موارد بالینی و صنعتی است، اما برخی محققان استفاده از سایر سویه‌های مخمر و جنس‌های دیگر را نیز پیشنهاد می‌کنند که زمینه انجام مطالعات بیشتر در این مورد را برای پژوهشگران فراهم می‌سازد. در دهه‌های اخیر، *کلورومایسس مارکسیانوس* به دلیل ویژگی‌های خاص خود مانند سرعت رشد بالا، تشکیل زیست توده بزرگ، مقاومت در برابر حرارت بالا و ایمن بودن در زمینه کاربردهای صنعتی مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. همچنین *کلورومایسس مارکسیانوس* یک مخمر پروبیوتیک بوده و نشان داده شده است که علاوه بر تأثیرات ضدمیکروبی، دارای خواص بالینی متعددی نیز می‌باشد[۱۲ و ۱۳] (جدول ۱). هانگ[3] و همکاران در مطالعه خود، از سیستم تخمیر ترکیبی[4] شامل باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمرها برای به دست آوردن یک ترکیب جدید از شیر بز تخمیری استفاده کردند. نتایج آن مطالعه نشان داد که، ماست تهیه شده از شیر بز توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک و *کلورومایسس مارکسیانوس* روش جدیدی را برای کاهش عطر و طعم نامطلوب (عطر و طعم بز) در شیر بز ایجاد می‌کند و گزینه جدیدی را برای کسانی که به پروتئین شیر حساسیت دارند و از عطر و طعم بز در شیر بیزارند فراهم می‌کند [۲۵]. اما می‌توان

[1] Internal Transcribed Spacer

[2] Generally Recognized as Safe
[3] Huang
[4] Multi-starters

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

گفت در خصوص استفاده جداگانه از این مخمر در محصولات غذایی برای افزایش مدت زمان نگهداری و مهار فساد، پژوهش‌های کمتری انجام شده است. از این‌رو در مطالعه حاضر به بررسی اثر پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک و حسی ماست پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی پرداخته شد.

جدول ۱. خواص بالینی مخمر پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس*

نام مخمر	اثر سلامت بخش	منبع
کلورومایسس مارکسیانوس	کاهش فشار خون	[۱٤]
کلورومایسس مارکسیانوس	تأثیرات آنتی اکسیدانی تولید پپتیدهای بازدارنده ACE[1]	[۱۶،۱۵]
کلورومایسس مارکسیانوس M3	کاهش سطح کلسترول خون و تری‌گلیسیریدها	[۱۸،۱۷]
کلورومایسس مارکسیانوس CIDCA8154	کنترل استرس اکسیداتیو و عفونت‌های روده‌ای	[۱۹]
کلورومایسس مارکسیانوس CIDCA8154	بازدارنده رشد *شیگلا سونی* در مدل *in vitro*	[۲۰]
کلورومایسس مارکسیانوس CBS1553	تعدیل کنندگی سیستم ایمنی	[۲۱-۲۳]
کلورومایسس مارکسیانوس Z17	تأثیرات کاهندگی فشار خون	[۲٤]

1. Angiotensin-Converting Enzyme

روش کار

مطالعه تجربی حاضر پس از طراحی و دریافت کد اخلاق از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز به شماره IR.TBZMED.REC.1397.920 در محل آزمایشگاه‌های کنترل کیفیت دانشکده تغذیه و علوم غذایی انجام شد.

میکروارگانیسم‌های مورد استفاده و آماده‌سازی آن‌ها

در این مطالعه تجربی برای تهیه ماست پروبیوتیک از باکتری‌های آغازگر معمول ماست *(استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه بولگاریکوس) که به صورت DVS[1] از شرکت هنسن تهیه شده بود، به همراه *کلورومایسس مارکسیانوس* PTCC=5189(CBS 397) که به صورت لیوفیلیزه از مرکز میکروب‌های صنعتی تهیه شده بود در شرایط آزمایشگاهی استفاده گردید. برای ایجاد آلودگی میکروبی در نمونه‌های موردنظر نیز از *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* PTCC=5018(IR 63) و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* PTCC=5074 که به صورت لیوفیلیزه از مرکز میکروب‌های صنعتی تهیه شده بودند، استفاده شد. برای آماده‌سازی پروبیوتیک مورد استفاده، طبق دستورالعمل مرکز میکروب‌های صنعتی، آمپول لیوفیلیزه از قسمت باریک حرارت داده شد و چند قطره آب مقطر استریل به آن اضافه شد تا ترک بردارد. سپس با پنس استریل پنبه نسوز خارج شده و حدود ۰/۵ میلی‌لیتر از محیط کشت Sabouraud Dextrose Broth به ماده خشک درون آمپول اضافه و مخلوط شد تا سوسپانسیون یکنواختی تهیه شود. پس از تهیه سوسپانسیون میکروبی، مقداری از آن به محیط Sabouraud Dextrose Agar تلقیح شده و پلیت‌ها در دمای ۲۵-۲۳ به مدت ٤ تا ۵ روز انکوبه شدند. برای آماده‌سازی عوامل آلودگی نیز از روش مشابه و مطابق دستورالعمل مرکز میکروب‌های صنعتی استفاده شد. پس از طی مراحل اولیه، از محیط کشت Sabouraud Dextrose Broth به آمپول حاوی *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و محیط کشت Potato

[1] Direct Vat Set

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

Dextrose Broth به آمپول حاوی *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* اضافه شد. سوسپانسیون‌های تهیه شده به محیط‌های Sabouraud Dextrose Agar و Potato Dextrose Agar تلقیح شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز انکوبه شد. این عمل چندین بار تکرار شد تا تعداد میکروارگانیسم‌ها افزایش یابد. زمانی که سوسپانسیون به میزان کافی رسید، رسوب حاصل توسط سانتریوفوژ (UNIVERSAL320)، با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد جداسازی شد و به صورت درصد وزنی در شرایط استریل مورد استفاده قرار گرفت. جهت فعال‌سازی آغازگرهای ماست نیز از شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان‌شرقی استفاده شد که پس از اعمال فرآیند حرارتی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، یک بسته ۵۰ واحدی از آغازگر مورد استفاده طبق دستورالعمل شرکت سازنده به یک لیتر آن افزوده شده و در مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به طور کامل حل شد و در زمان تلقیح به صورت حجمی استفاده شد.

آماده‌سازی نمونه‌های ماست

طبق استاندارد تهیه ماست، در ابتدا شیر (کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان شرقی)، دریافت شده و استاندارد کردن ماده خشک از طریق افزودن شیرخشک بدون چربی (کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان شرقی)، به میزان ۲/۵ درصد انجام شد. سپس شیر استاندارد شده در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شده و پس از آن تا دمای ٤۳ درجه سانتیگراد خنک شد، در این دما آغازگر به میزان ۲ درصد حجمی- حجمی افزوده شده و برای ماست پروبیوتیک قبل از بسته‌بندی افزودن پروبیوتیک به تعداد تقریبی 10^{8} CFU/g انجام شد [۲۶]. بعد از افزودن پروبیوتیک، گرمخانه‌گذاری ماست تا رسیدن به pH=٤/۷ انجام شده و سپس تا دمای ۵-٤ درجه سانتی‌گراد سرد شد. تلقیح عوامل آلودگی میکروبی نیز پس از تولید ماست، در محیط آزمایشگاهی و به تعداد تقریبی 10^{5} CFU/g انجام شد [۲۷]. در مجموع شش نمونه ماست از جمله ماست معمولی، ماست معمولی دارای *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، ماست معمولی دارای *پنی‌سیلیوم نوتاتوم*، ماست پروبیوتیک، ماست پروبیوتیک دارای *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، ماست پروبیوتیک دارای *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* تولید شد. نمونه‌برداری در روزهای اول، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، انجام شد. قسمتی از ماست پروبیوتیک تولیدی نیز بدون تلقیح عوامل آلودگی جهت بررسی روند زنده‌مانی *کلورومایسس مارکسیانوس* طی روزهای اول، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت.

شاخص‌های مورد آزمون

رشد و بقای میکروبی

تعداد *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* موجود در نمونه‌های ماست پروبیوتیک و ماست معمولی، در مدت زمان نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و در روزهای یکم، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم شمارش گردید. برای شمارش تعداد قارچ‌ها از روش رقت‌های متوالی استفاده شد. بنابراین یک میلی‌لیتر از نمونه ماست را در نه میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد رقیق کرده و رقت‌سازی تا میزان 10^{-10} ادامه پیدا کرد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از رقت‌ها در سه تکرار به داخل پلیت‌های یکبار مصرف که حاوی محیط کشت SDA[1] بوده منتقل شده و کشت سطحی انجام شد. گرمخانه‌گذاری (Scientific Stuart)، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ روز انجام شده و سپس پلیت‌های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی شمارش و تعداد حاصله به صورت log CFU در گرم محصول گزارش شد. تعداد مخمرهای پروبیوتیک موجود در

[1] Sabouraud Dextrose Agar

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

نمونه‌های مورد مطالعه در مدت زمان نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و در روزهای یکم، هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم شمارش گردید. برای شمارش تعداد مخمر از روش رقت‌های متوالی استفاده شد. بر این اساس ۱ میلی‌لیتر از نمونه ماست را در ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد رقیق کرده و رقت‌سازی تا میزان 10^{-10} ادامه پیدا کرد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از هر یک از رقت‌ها در سه تکرار به داخل پلیت‌های یکبار مصرف که حاوی محیط کشت YGC بوده منتقل شده و کشت سطحی انجام شد. گرمخانه‌گذاری (Scientific Stuart)، در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ تا ۷۲ ساعت انجام شده و سپس پلیت‌های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی شمارش و تعداد حاصله به صورت log CFU در گرم محصول گزارش شد.

ارزیابی ویژگی‌های حسی

برای ارزیابی حسی یک گروه ارزیابان شامل ۸ نفر از افراد آموزش‌دیده انتخاب شدند که دارای تجربه در ارزیابی فرآورده‌های لبنی با استفاده از آزمون امتیازدهی بودند و نمونه‌های ماست (ماست معمولی و ماست پروبیوتیک حاوی *کلورومایسس مارکسیانوس*) را به طور جداگانه در محل آزمایشگاه کنترل کیفیت دانشکده تغذیه و علوم غذایی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مورد ارزیابی قرار دادند. این ارزیاب‌ها پیشتر آموزش‌های لازم را در زمینه چگونگی ارزیابی ویژگی‌های ماست طی کرده بودند و برای این تحقیق بر اساس علاقه انتخاب شدند. این ارزیابی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۶۹۵ [۲۸]، بر اساس یک سری از مشخصات مهم از قبیل رنگ (رنگ سفید و یکنواخت با سطح براق و درخشان)، طعم (فاقد هرگونه طعم غیرطبیعی)، بافت (قابلیت قاشق زنی مطلوب و آب اندازی اندک) و پذیرش کلی سنجیده شد و امتیازها از ۱ تا ۵ براساس هدونیک ۵ نقطه‌ای به ترتیب از بسیار ضعیف تا بسیار خوب برای نمونه‌ها بررسی گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه اطلاعات به دست‌آمده از آزمایش‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS-25 و Minitab-18 مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از شاخص‌های چولگی[1] و کشیدگی[2] و مقایسه انحراف معیار با نصف میانگین استفاده شد. برای تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح اطمینان ۹۵٪ استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌های یک گروه در زمان‌های مختلف از آزمون تی دوطرفه[3] استفاده شد. میانگین‌ها و خطای معیارها براساس داده‌های حاصل از سه تکرار بود. برای رسم شکل‌ها و نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه تأثیر پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* بر مهار رشد و توسعه *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* و *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال بررسی و با نمونه شاهد مقایسه شد. هم‌چنین روند زنده‌مانی پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* در ماست پروبیوتیک طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال بررسی شد. شکل ۱ بیانگر روند تغییرات شمار *آسپرژیلوس پارازیتیکوس*، در نمونه‌های ماست پروبیوتیک و ماست شاهد مورد آزمون است. طبق نمودار ماست شاهد، تعداد اولیه *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* برابر با ٤/٦٠ log CFU/g بود که طی ۲۸ روز نگهداری تغییر چندانی نشان نداد و در روز ۲۸ مقدار آن برابر با ٤/۳۰ log CFU/g بود. این مقدار در روزهای ۷، ١٤ و ۲۱ نیز به ترتیب برابر با ٤/۳۰، ٤/٤١ و ٤/٤٧ log CFU/g بود. اما در ماست پروبیوتیک، کاهش معنی‌داری در تعداد *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* مشاهده شد ($p<0/01$). طبق نمودار مربوطه، تعداد از ٥/٣٤ log CFU/g در

[1] Skewness
[2] Kurtosis
[3] Paired T-Test

www.SID.ir

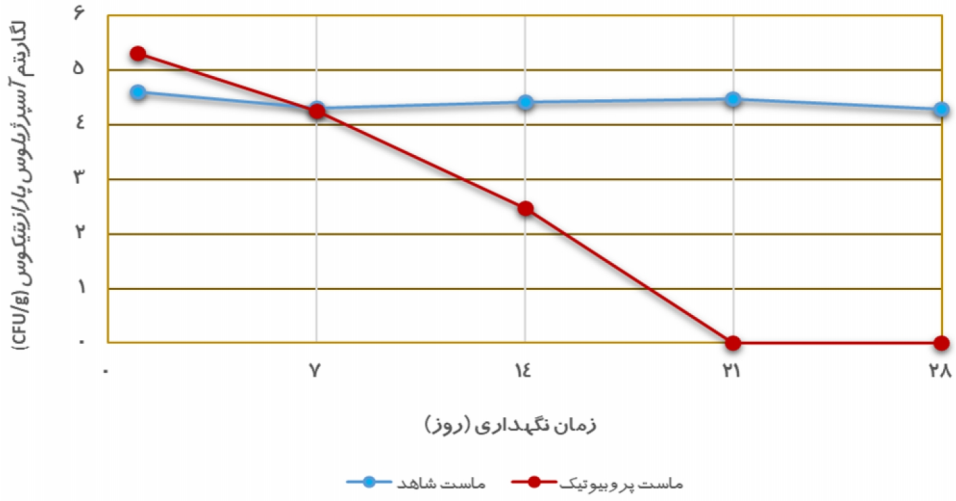
Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

روز اول با کاهش ۱/۰٤ به ٤/۳۰ log CFU/g در روز هفتم رسید، این روند کاهش با سرعت بیشتر و کاهش ۱/۵۳ log CFU/g نسبت به روز هفتم به ۲/٤۷ log CFU/g در روز چهاردهم رسید و از روز بیست و یکم نیز این مقدار عدد نزدیک صفر را نشان داد.

شکل ۲ بیانگر روند تغییرات *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک و ماست شاهد مورد آزمون است. طبق نمودار ماست شاهد، تعداد اولیه *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* برابر با ۵/٤۷ log CFU/g بود که طی ۲۸ روز نگهداری تغییر چندانی نشان نداد و در روز ۲۸ مقدار آن برابر با ۵/۳۶ log CFU/g بود. این مقدار در روزهای ۷، ۱٤ و ۲۱ نیز به ترتیب برابر با ۵/۹۰، ۵/۲۰ و ۵/۵۹ log CFU/g بود. اما در ماست پروبیوتیک، کاهش معنی‌داری در تعداد *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* مشاهده شد ($p<۰/۰۱$). طبق نمودار مربوطه، این تعداد از ٤/۶۰ log CFU/g در روز اول، به ٤/۰۰ log CFU/g در روز هفتم رسید که بیانگر کاهش به میزان ۰/۶ log CFU/g است، این روند کاهشی ادامه یافت و با ۱/۸۹ log CFU/g کاهش نسبت به روز هفتم به ۲/۱۱ log CFU/g در روز چهاردهم رسید و از روز بیست و یکم نیز این مقدار عدد نزدیک صفر را نشان داد.

شکل ۳ بیانگر روند تغییرات کلورومایسس مارکسیانوس طی ۲۸ روز نگهداری در ماست پروبیوتیک است. طبق نمودار مربوطه، تعداد پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* از ۶/۰۷ log CFU/g به ۷/٤۱ log CFU/g در روز هفتم رسید که افزایش ۱/۳٤ log CFU/g نشان می‌دهد. این روند افزایش تا روز بیست و یک ادامه داشت و به ۸/۵٤ log CFU/g در روز چهاردهم و ۸/۵۹ log CFU/g در روز بیست و یکم رسید. ولی این مقدار در روز بیست و هشتم با کاهش ۱/۲٤ log CFU/g نسبت به روز بیست و یکم به ۷/۳۵ log CFU/g رسید. علیرغم این کاهش در دوره آخر نگهداری، پس از ۲۸ روز تعداد پروبیوتیک‌ها در حد مطلوب برای ارائه یک محصول پروبیوتیک لبنی و توصیه شده فدراسیون بین‌المللی لبنیات قرار داشت ($۱۰^{۷}$CFU/g) [۲۹،۳۰].

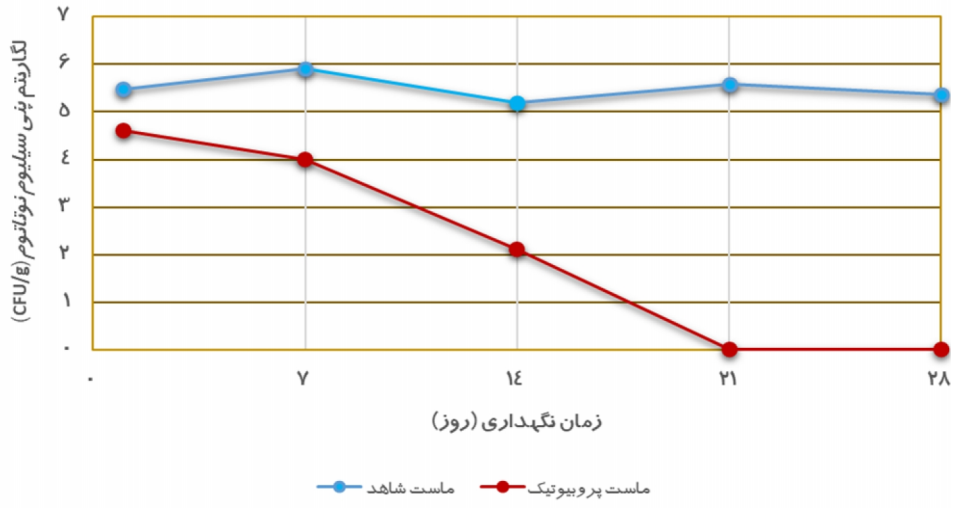


شکل ۱. نمودار روند تغییرات تعداد *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* در نمونه‌های ماست مورد مطالعه (Log CFU/g)

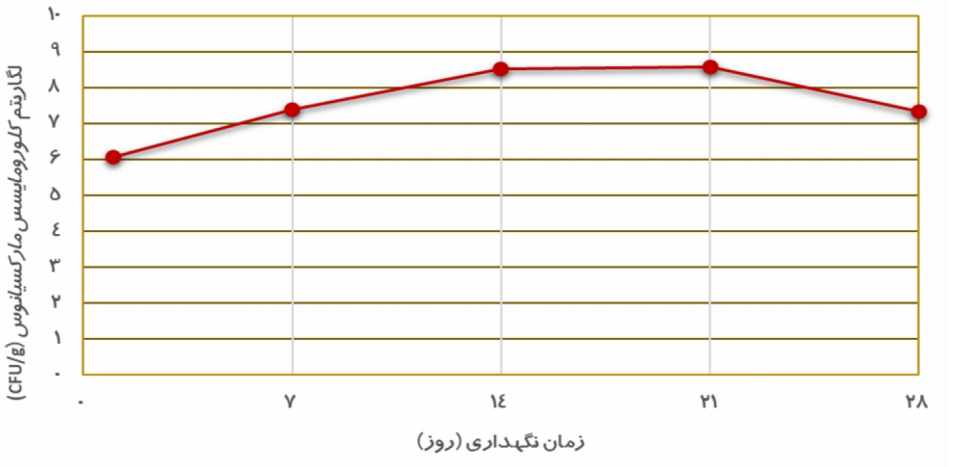
www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021



شکل ۲. نمودار روند تغییرات تعداد *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* در نمونه‌های ماست مورد مطالعه (Log CFU/g)



شکل ۳. نمودار روند تغییرات تعداد *کلورومایسس مارکسیانوس* در ماست پروبیوتیک (Log CFU/g)

یافته‌های نتایج ارزیابی حسی

کیفیت محصولات تخمیری لبنی به طور عمده وابسته به ادراک حسی است. ادراک حسی، فرآیند پیچیده‌ای است که تحت تأثیر عوامل متعددی مانند میزان ترکیبات طعمی، بافت و ظاهر واقع می‌شود. درک حسی به شکل رخداد حسی از تجمع یا تفسیر سیگنال‌های تولید شده از مواد شیمیایی حسی به وسیله بوییدن، چشیدن و ارزیابی ظاهری غذاها تعیین می‌شود. بنابراین تعادل ترکیبات طعمی در محصولات غذایی به طور گسترده‌ای مطلوب یا نامطلوب بودن محصول نهایی را تعیین می‌کند [۳۱]. بر اساس استاندارد ملی ایران (شماره ۶۹۵)، خصوصیات حسی ماست به طور کلی در سه دسته خواص ظاهری، خواص بافتی و خواص عطر و طعمی قرار می‌گیرند که در ادامه به نتایج به‌دست آمده اشاره می‌گردد.

رنگ

از نظر ویژگی ظاهری رنگ ماست، مقایسه‌ها نشان می‌دهد که رنگ سفید یکنواخت در ماست پروبیوتیک، بیشتر مشاهده شد که در نتیجه موجب احراز امتیاز بیشتری نسبت به ماست معمولی گردید. با این حال این اختلاف امتیاز در رنگ معنی‌دار نبود.

عطر و طعم

وجود طعم مطلوب در ماست با عدم وجود طعم‌های خارجی، طعم ترشی، طعم تندشدگی و طعم کپک‌زدگی

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

مرتبط است. به‌طور کلی ماست معمولی نسبت به ماست پروبیوتیک طعم ترش کمتری نشان داده و مقبولیت بیشتری داشت. با این حال، این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

بافت

مشاهده بافت منسجم، عدم آب‌اندازی پس از قاشق‌برداری، حفظ قالب برداشته شده و چسبندگی مناسب به قاشق، یکدست و شفاف بودن سطح برش خورده با قاشق، موجب احراز امتیاز بالاتر توسط ماست معمولی شد. طبق نتایج حاصله اختلاف بین بافت دو نوع ماست تهیه شده به لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

پذیرش کلی

پذیرش کلی به نوعی، ارزیابی کلی از لحاظ خواص ظاهری، عطر و طعمی و بافتی ماست است. طبق نتایج حاصله ماست معمولی مقبولیت بیشتری نسبت به ماست پروبیوتیک کسب کرد. با این حال، این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲)، اما طبق نمودار در روز هفتم نگهداری، ماست پروبیوتیک مقبولیت بیشتری را از دیدگاه ارزیابان کسب کرده بود. با توجه به این‌که در مورد محصول لبنی ماست، به طور معمول روز هفتم بالاترین میزان فروش را دارد، لذا محصول ماست پروبیوتیک تولید شده در این مطالعه نیز در روز هفتم مقبولیت قابل قبولی را کسب کرده است و تولید آن می‌تواند صرفه اقتصادی داشته باشد (شکل ٤).

جدول ۲. امتیازات مربوط به ارزیابی حسی نمونه های ماست به همراه آنالیز واریانس متغیرها

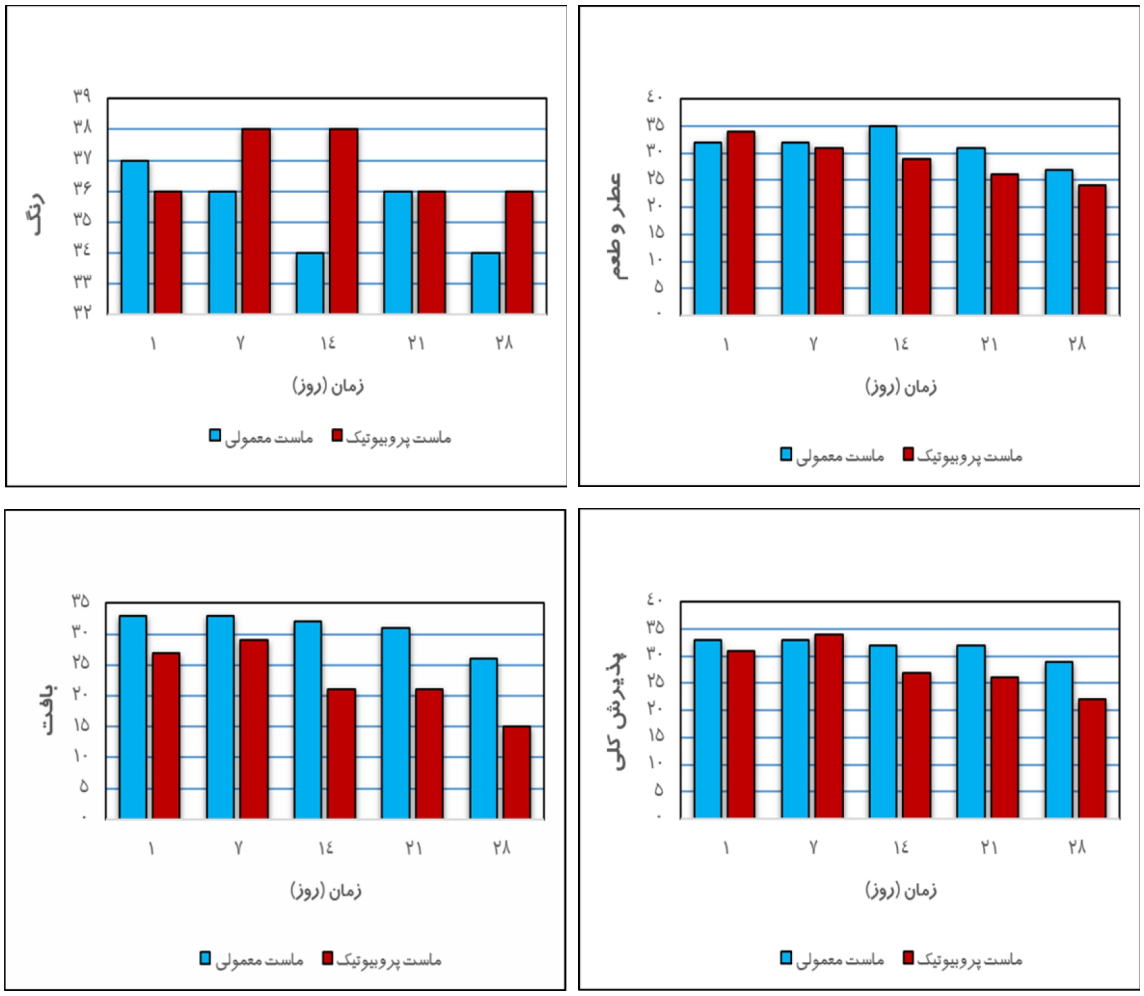
روز	نمونه	متغیر			
		رنگ	طعم	بافت	پذیرش کلی
۱	A1	۳۷	۳۲	۳۳	۳۳
	A2	۳۶	۳٤	۲۷	۳۱
۷	A1	۳۶	۳۲	۳۳	۳۳
	A2	۳۸	۳۱	۲۹	۳٤
۱٤	A1	۳٤	۳۵	۳۲	۳۲
	A2	۳۸	۲۹	۲۱	۲۷
۲۱	A1	۳۶	۳۱	۳۱	۳۲
	A2	۳۶	۲۶	۲۱	۲۶
۲۸	A1	۳٤	۲۷	۲۶	۲۹
	A2	۳۶	۲٤	۱۵	۲۲
	ارزشP	۰/۱۰۸	۰/۲۶۹	۰/۰۱۷	۰/۱۲۲

A1: ماست معمولی A2: ماست پروبیوتیک

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021



شکل ٤. مقایسه پارامترهای رنگ، عطر و طعم، بافت و پذیرش کلی، بین ماست معمولی و ماست پروبیوتیک

بحث

با توجه به این که موضوع محصولات غذایی پروبیوتیک یکی از مباحث چالش برانگیز علمی در ایران است، شناخت هر چه بیشتر ظرایف تولید و نگهداری چنین محصولاتی گشاینده دریچه‌های بیشتری به سوی بهبود بخشیدن ویژگی‌های کیفی و ایمنی، صنعتی شدن آن و ارتقای سطح سلامتی جامعه خواهد بود، مطالعه حاضر در ادامه پژوهش‌های سال‌های اخیر و با هدف ارزیابی نوعی محصول فراسودمند و سلامت بخش لبنی، مطابق با ذائقه ایرانی طراحی و انجام شد. مطالعه حاضر نشان داد که می‌توان از مخمر *کلورومایسس مارکسیانوس* برای تولید ماست پروبیوتیک با قابلیت نگهداری مطلوب استفاده کرد. به این ترتیب بقای این مخمر طی ۲۸ روز نگهداری، مناسب ارزیابی شد و ماست پروبیوتیک تولیدی توانست تعداد پروبیوتیک‌ها را در مدت زمان مذکور در حد مطلوب توصیه شده فدراسیون بین‌المللی لبنیات حفظ کند ($۱۰^۷$ CFU/g). طبق نتایج مطالعه حاضر، رشد *پنی‌سیلیوم نوتاتوم* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* به عنوان دو عامل اصلی فساد در ماست، در حضور پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* به طور چشم‌گیری کاهش یافت. قابل تأمل است که توانایی *کلورومایسس مارکسیانوس* در کنترل رشد انواع گونه‌های قارچی و برخی باکتری‌ها، مربوط به تولید توکسین‌های کشنده‌ای است که با نام مایکوتوکسین شناخته شده که توسط اکثر گونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

مخمری نیز تولید می‌شود [۳۲]. یکی دیگر از سازوکارهای مهم *کلوروماپسس مارکسیانوس* در مهار رشد عوامل میکروبی دخیل در فساد ماست، مربوط به سرعت رشد و رقابت برای استفاده از مواد مغذی محیط است که در این رابطه *کلوروماپسس مارکسیانوس* به دلیل سرعت رشد ذاتی بالا [۱۱] و تحمل شرایط اسیدی، قابلیت رشد و تکثیر بیشتری در محیط اسیدی ماست را داشته و فرصت رشد را از دیگر عوامل میکروبی عامل فساد می‌گیرد [۳۳]. در مطالعه حاضر نیز، *کلوروماپسس مارکسیانوس* بعد از تلقیح در ماتریکس ماست رشد و تکثیر خود را آغاز کرده و تا روز نهایی آزمون زنده‌مانی خود را در محیط اسیدی ماست حفظ نموده و ضمن بروز اثرات ضدمیکروبی و افزایش مدت‌زمان نگهداری محصول، تعداد *کلوروماپسس مارکسیانوس* نیز در حد مطلوب و پذیرش‌شده جهت یک محصول غذایی پروبیوتیک قرار داشت. همچنین طبق نتایج حاصله از مطالعات برون‌زی[1] و درون‌زی[2]، پپتیدهای زیست‌فعال مشتق‌شده از *کلوروماپسس مارکسیانوس* دارای فعالیت‌های زیستی متعددی از جمله فعالیت ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطان و ضد فشار خون هستند [۳٤،۳۵] که در سال‌های اخیر مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته‌اند. در این رابطه، میرزایی و همکاران در مطالعه خود به بررسی استفاده از *کلوروماپسس مارکسیانوس* به عنوان عصاره مخمری با خصوصیات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی پرداختند. همچنین در آن مطالعه جهت جداسازی و شناسایی پپتیدهای زیست‌فعال مشتق‌شده از *کلوروماپسس مارکسیانوس* از تکنیک‌های کروماتوگرافی مایع فاز معکوس با کارایی بالا (RP-HPLC[3]) و طیف سنجی جرمی MALDI-TOF[4] استفاده گردید [۱۵]. نتایج مطالعات دیگر بیانگر مؤثر واقع شدن راهبرد استفاده از مخمر پروبیوتیک *کلوروماپسس مارکسیانوس* در کنترل آلودگی‌های قارچی و باکتریایی پس از برداشت در میوه‌هایی مثل هلو، انبه، گیلاس و بادام می‌باشد [۳۶]. از سوی دیگر، خواص حسی یا ارگانولپتیک از عوامل اصلی پذیرش یا رد بسیاری از فرآورده‌های غذایی و کسب رضایت از مصرف آن‌ها است. هر کدام از خواص حسی ماست متأثر از عوامل مختلفی از قبیل حضور گونه‌های مختلف پروبیوتیک و متعاقباً فعالیت زیستی مختلف هر کدام و تولید مواد جانبی با خصوصیات منحصر به فرد، میزان چربی و تثبیت کننده‌های بافت مانند ژلاتین و اعمال فرآیندهای مختلف (از جمله فرآیند حرارتی) است [۳۷]. پژوهش حاضر نشان داد که با درنظر گرفتن اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر میزان رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی، ماست معمولی پذیرش بیشتری نسبت به ماست پروبیوتیک داشت که همسو با نتایج مطالعه چکماکچی[5] و همکاران [۳۸] می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر رنگ سفید یکنواخت در ماست پروبیوتیک، بیشتر مشاهده شد که در نتیجه موجب احراز امتیاز بیشتری نسبت به ماست معمولی گردید. با این حال، با توجه به جدول آنالیز واریانس، اختلاف امتیاز در رنگ معنی‌دار نبود. رنگ مطلوب‌تر در ماست پروبیوتیک در مطالعات سرور[6] و همکاران نیز گزارش شده است که با هدف بررسی ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و خواص حسی ماست تولید شده با استفاده از مخمر پروبیوتیک *ساکاروماپسس بولاردی* انجام شد. بر اساس نتایج، رنگ سفیدتر در ماست پروبیوتیک نسبت به ماست معمولی و ماست سین‌بیوتیک مشاهده شد که این اختلاف در رنگ نیز معنی‌دار نبود [۳۹]. رنگ سفیدتر در ماست موجب

[1] *In vitro*
[2] *In vivo*
[3] Reverse-Phase High-Performance Liquid Chromatography
[4] Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight
[5] Çakmakci
[6] Sarwar

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

احراز امتیاز بالاتر و افزایش مشتری‌پسندی محصول می‌شود. لذا با افزودن مخمر پروبیوتیک در مقدار مناسب به ماست، می‌توان باعث افزایش فروش محصولات پروبیوتیک شد.

در قسمت عطر و طعم، ماست معمولی نسبت به ماست پروبیوتیک طعم ترش کمتری نشان داد و مقبولیت بیشتری داشت. اما این اختلاف معنی‌دار نبود. احساس طعم ترش بیشتر در ماست پروبیوتیک نسبت به ماست معمولی به دلیل اسیدیته بالاتر در نتیجه تولید دی اکسیدکربن بود که علاوه بر تأثیر باکتری‌های آغازگر در نتیجه فعالیت مخمر پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* ایجاد شده بود. نتایج این پژوهش همسو با مطالعه صورت گرفته توسط الغیر[1] و همکاران می‌باشد. نتایج پژوهش آنها نیز نشان داد که ماست پروبیوتیک تولید شده طعم ترش‌تر و اسیدیته بالاتری دارد که این اختلاف در طعم بین ماست پروبیوتیک و ماست معمولی معنی‌دار بود [۴۰].

در ارزیابی بافت ماست پروبیوتیک تولیدی، نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که یکدست و شفاف بودن سطح برش خورده با قاشق در ماست معمولی نسبت به ماست پروبیوتیک، موجب احراز امتیاز بالاتر توسط ماست معمولی شد به طوری که اختلاف بین بافت در دو نوع ماست، معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). بافت ضعیف‌تر در ماست پروبیوتیک به‌دلیل تخمیر قندهای در دسترس توسط مخمر است که در مطالعات سرور و همکاران نیز گزارش شده است. همچنین بافت ماست می‌تواند تحت تأثیر میزان اسیدلاکتیک تولید شده در جریان تخمیر باشد [۳۷]. ساکارو[2] و همکاران در ارزیابی استحکام بافت چند نوع ماست پروبیوتیک نتیجه گرفتند که میزان استحکام بافتی ماست پروبیوتیک از ماست معمولی بالاتر بوده و استحکام بافت ماست پروبیوتیک با توجه به نوع میکروارگانیسم‌های به‌کار گرفته شده متفاوت است. همچنین نتایج مطالعه آنان نشان داد بهترین استحکام بافتی در پایان دوره نگهداری مربوط به ماست پروبیوتیک حاوی گونه‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتر* بوده است و عدم حضور *بیفیدو باکترها* در یکی از تیمارها در مقایسه با سایر تیمارها منجر به ضعف استحکام ماست در پایان دوره نگهداری گردید [۴۱]. نتایج مطالعه حاضر ناهمسو با مطالعه ساکارو و همکاران می‌باشد که می‌تواند علت آن به دلیل نوع متفاوت پروبیوتیک‌های مورد استفاده و متعاقباً عملکرد زیستی متفاوت آن‌ها در ماتریکس ماست بوده که نهایتاً موجب ضعیف شدن بافت ماست مورد ارزیابی شده است. با این حال، بافت ضعیف در ماست پروبیوتیک را می‌توان با استفاده از پری‌بیوتیک‌ها بهبود بخشید و ماست سین‌بیوتیک با قوام مطلوب به بازار عرضه کرد [۳۹].

در ارزیابی پذیرش کلی ماست پروبیوتیک تولیدی، نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان داد که ماست معمولی به‌دلیل طعم ترش کمتر، قوام و سفتی بیشتر، احساس دهانی مطلوب‌تر و آب‌اندازی کمتر مقبولیت بیشتری نسبت به ماست پروبیوتیک دارد، هر چند این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. نتایج این پژوهش همسو با نتایج مطالعات کالکان[3] و همکاران است که با هدف بررسی برخی ویژگی‌های کیفی ماست پروبیوتیک تولید شده با استفاده از مخمر پروبیوتیک *ساکارومایسس سرویزیه* انجام شد. نتایج آن پژوهش نشان داد پس از طی ۲۱ روز نگهداری، ماست معمولی نسبت به ماست پروبیوتیک مقبولیت بیشتری دارد که این تفاوت در پذیرش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود [۴۲]. با بهینه‌سازی میزان افزودن مخمر پروبیوتیک به ماست، همچنین با استفاده از افزودن پری‌بیوتیک‌ها و تولید محصولات سین‌بیوتیک، می‌توان خواص حسی محصول را بهبود بخشید که به نوبه خود منجر به افزایش

[1] Allgeyer
[2] Saccaro
[3] Kalkan

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

مشتری‌پسندی و فروش بیشتر محصول می‌گردد [۴۳]. بررسی تاثیر دماهای متفاوت وpH های مختلف درگرمخانه‌گزاری بر زنده‌مانی مخمر پروبیوتیک مورد استفاده، می‌توانست بر غنای این مطالعه بیفزاید که به‌دلیل محدودیت‌های موجود بررسی نگردید.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصله از مطالعه حاضر، می‌تواند گواهی بر ایمنی و کارایی این مخمر در صنعت غذایی به خصوص در بخش لبنیات باشد که ضمن تولید محصول غذایی فراسودمند، نقش کلیدی در کنترل آلودگی میکروبی، ارتقاء مدت زمان نگهداری و بهترین زمان مصرف محصول[1] داشته و متعاقباً تولید چنین محصولی می‌تواند با ارتقاء وضعیت سلامت عموم افراد جامعه ارتباط مستقیم و مثبتی داشته باشد. همچنین سایر جنبه‌های تولید ماست پروبیوتیک مانند استفاده از ترکیب باکتری‌های/ مخمرهای پروبیوتیک و و یکی از باکتری‌های سنتی ماست و یا تولید ماست پروبیوتیک طعم‌دار می‌تواند زمینه‌های مناسب جهت تحقیقات آتی در این مبحث باشد. از سوی دیگر مطالعه تأثیر پست‌بیوتیک‌های مشتق‌شده از مخمر پروبیوتیک *کلورومایسس مارکسیانوس* جهت به تأخیر انداختن فساد، افزایش ماندگاری و توسعه غذاهای فراسودمند [۴۴] نیز می‌تواند زمینه پژوهشی چالش‌برانگیزی در این مورد باشد.

[1] Shelf-life

تشکر و قدر دانی

بدین وسیله از کمیته تحقیقات دانشجویی و معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تبریز تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

1- Dehghan M, Noorizadeh E, latifi Navid M. Survey of anti-bacterial effects of turmeric, ginger, clove and cardamom on *Helicobacter pylori*. J Ardabil Univ Med Sci. 2002 Jun;2(2):19-26.[full text in Persian]

2- Abbasi A, Hajipour N, Hasannezhad P, Baghbanzadeh A, Aghebati-Maleki L. Potential in vivo delivery routes of postbiotics. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 Dec;28:1-39.

3- Homayouni Rad A, Aghebati Maleki L, Samadi Kafil H, Abbasi A. Postbiotics: A novel strategy in food allergy treatment. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 Mar;12:1-8.

4- Rad AH, Maleki LA, Kafil HS, Zavoshti HF, Abbasi A. Postbiotics as novel health-promoting ingredients in functional foods. Health Promot Perspect. 2020 Jan;10(1):3-4.

5- Rad AH, Aghebati-Maleki L ,Kafil HS, Abbasi A. Molecular mechanisms of postbiotics in colorectal cancer prevention and treatment. Crit Rev Food Sci Nutr. 2020 May;15:1-17.

6- Buehler A, Evanowski R, Martin N, Boor K, Wiedmann M. Internal transcribed spacer (ITS) sequencing reveals considerable fungal diversity in dairy products. J Dairy Sci. 2017 Nov;100(11):8814-25.

7- Islam R, Hossain MN, Alam MK, Uddin ME, Rony MH, Imran MAS et al. Antibacterial activity of lactic acid bacteria and extraction of bacteriocin protein. Adv Biosci Biotechnol. 2020 Feb;11(2):49-59.

8- Afzali S, Dovom MRE, Najafi MBH, Tehrani MM. Determination of the anti-yeast activity of Lactobacillus spp. isolated from traditional Iranian cheeses in vitro and in yogurt drink (Doogh). Sci Rep. 2020 Apr;10(1):1-11.

9- Rad AH, Aghebati-Maleki L, Samadi-Kafil H, Fathi-Zavoshti H, Abbasi A. Postbiotics as promising tools for cancer adjuvant therapy. Adv Pharm Bull. 2020 Nov;11(1): 1-5.

10- Gray KD, Messina JA, Cortina C, Owens T, Fowler M, Foster M, et al. Probiotic use and safety in the neonatal intensive care unit: a matched cohort study. J Pediatr. 2020 Jul 1;222:59-64.

www.SID.ir

Archive of SID

11- Mo W, Guo C, Lv H. Review of *Kluyveromyces marxianus*' genetic and physiological features. Zhongguo Ke Xue. 2016 Feb;46(4):413-419. [Full text in Chinese]
12- Homayouni-Rad A, Azizi A, Oroojzadeh P, Pourjafar H. *Kluyveromyces marxianus* as a Probiotic Yeast: A Mini-review. Curr Nutr Food Sci. 2020 Oct;16(8):1163-1169.
13- Moradi R, Nosrati R, Zare H, Tahmasebi T, Saderi H, Owlia P. Screening and characterization of in-vitro probiotic criteria of Saccharomyces and Kluyveromyces strains. Iran J Microbiol. 2018 Apr;10(2): 123–131.
14- Ahtesh FB, Apostolopoulos V, Stojanovska L, Shah NP, Mishra VK. Effects of fermented skim milk drink by *Kluyveromyces marxianus* LAF 4 co-cultured with lactic acid bacteria to release angiotensin-converting enzyme inhibitory activities. Int J Dairy Technol. 2018 July;71:130-140.
15- Mirzaei M, Mirdamadi S, Ehsani MR, Aminlari M. Production of antioxidant and ACE-inhibitory peptides from *Kluyveromyces marxianus* protein hydrolysates: purification and molecular docking. J Food Drug Anal. 2018 Apr;26(2):696-705.
16- Ejtahed HS, Mohtadi-Nia J, Homayouni-Rad A, Niafar M, Asghari-Jafarabadi M, Mofid V. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. Nutrition. 2012 May;28(5):539-543.
17- Xie Y, Zhang H, Liu H, Xiong L, Gao X, Jia H, et al. Hypocholesterolemic effects of *Kluyveromyces marxianus* M3 isolated from Tibetan mushrooms on diet-induced hypercholesterolemia in rat. Braz J Microbiol. 2015 Jun;46(2):389-395.
18- Gadelha CJ, Bezerra AN. Effects of probiotics on the lipid profile: systematic review. J Vasc Bras. 2019 Aug; 9:18:e20180124.
19- Romanin D, Llopis S, Genoves S, Martorell P, Ramon V, Garrote G, et al. Probiotic yeast Kluyveromyces marxianus CIDCA 8154 shows anti-inflammatory and anti-oxidative stress properties in in vivo models. Benef Microbes. 2016 Feb;7(1):83-93.
20- Bolla PA, Carasi P, de los Angeles Bolla M, De Antoni GL, de los Angeles Serradell M. Protective effect of a mixture of kefir-isolated lactic acid bacteria and yeasts in a hamster model of *Clostridium difficile* infection. Anaerobe. 2013 Jun;21:28-33.
21- Smith IM, Baker A, Christensen JE, Boekhout T, Frøkiær H, Arneborg N, et al. *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces boulardii* induce distinct levels of dendritic cell cytokine secretion and significantly different T cell responses in vitro. PloS one. 2016 Nov;11(11):e0167410.
22- Abbasi A, Aghebati-Maleki A, Aghebati-Maleki L, Yousefi M. Probiotic intervention as a potential therapeutic for managing gestational disorders and improving pregnancy outcomes. J Reprod Immunol. 2020 Nov;2:143:103244.
23- Rad A, Samadi-Kafil H, Fathi-Zavoshti H, Shahbazi N, Abbasi A. Therapeutically effects of functional postbiotic foods. Clin Excell. 2020 Jun 10;10(2):33-52.
24- Li Y, Sadiq FA, Liu T, Chen J, He G. Purification and identification of novel peptides with inhibitory effect against angiotensin I-converting enzyme and optimization of process conditions in milk fermented with the yeast *Kluyveromyces marxianus*. J Funct Foods. 2015 June;16:278-88.
25- Huang Z, Huang L, Xing G, Xu X, Tu C, Dong M. Effect of co-fermentation with lactic acid bacteria and *K. marxianus* on physicochemical and sensory properties of goat milk. Foods. 2020 Mar;9(3):299-313.
26- Lačanin I, Mounier J, Pawtowski A, Dušková M, Kameník J, Karpíšková R. Assessment of the antifungal activity of *Lactobacillus and Pediococcus spp.* for use as bioprotective cultures in dairy products. World J Microbiol Biotechnol. 2017 Sep;33(10):1-8.
27- Gougouli M, Kalantzi K, Beletsiotis E, Koutsoumanis KP. Development and application of predictive models for fungal growth as tools to improve quality control in yogurt production. Food Microbiol. 2011 Dec;28(8):1453-1462.
28- Institu of Standards and Industrial Researches of Iran, yoghurt-specifications and test methods, Tehran. isiri 695. 2008.
29- Yerlikaya O, Akbulut N. In vitro characterisation of probiotic properties of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* strains isolated from raw milk and traditional dairy products. Int J Dairy Technol. 2020 Feb;73(1):98-107.

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

www.SID.ir

Archive of SID

30- Rad AH, Abbasi A, Javadi A, Pourjafar H, Javadi M, Khaleghi M. Comparing the microbial quality of traditional and industrial yoghurts. Biointerface Res Appl Chem. 2020 May;10(4):6020-5.
31- Aschemann-Witzel J, Ares G, Thøgersen J, Monteleone E. A sense of sustainability?–how sensory consumer science can contribute to sustainable development of the food sector. Trends Food Sci Technol. 2019 Aug;90:180-6.
32- Geng P, Chen S, Hu M, Rizwan-ul-Haq M, Lai K, Qu F, et al. Combination of *Kluyveromyces marxianus* and sodium bicarbonate for controlling green mold of citrus fruit. Int J Food Microbiol. 2011 Dec;151(2):190-4.
33- Diosma G, Romanin DE, Rey-Burusco MF, Londero A, Garrote GL. Yeasts from kefir grains: isolation, identification, and probiotic characterization. World J Microbiol Biotechnol. 2014 Jan;30(1):43-53.
34- Ibrahim HR, Isono H, Miyata T. Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins. Anim Nutr. 2018 Sep;4(3):273-280.
35- Suwanmanon K, Hsieh PC. Effect of γ-aminobutyric acid and nattokinase-enriched fermented beans on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. J Food Drug Anal. 2014 Dec;22(4):485-491.
36- Grzegorczyk M, Żarowska B, Restuccia C, Cirvilleri G. Postharvest biocontrol ability of killer yeasts against *Monilinia fructigena* and *Monilinia fructicola* on stone fruit. Food Microbiol. 2017 Feb;61:93-101.
37- Madhubasani GB, Prasanna PH, Chandrasekara A, Gunasekara DC, Senadeera P, Chandramali DV, et al. Exopolysaccharide producing starter cultures positively influence on microbiological, physicochemical, and sensory properties of probiotic goats' milk set-yoghurt. J Food Process Preserv. 2020 Mar;44(3):e14361.
38- Cakmakci S, Cetin B, Turgut T, Gurses M, Erdoğan A. Probiotic properties, sensory qualities, and storage stability of probiotic banana yogurts. Turk J Vet Anim Sci. 2012 Jan;36(3):231-237.
39- Sarwar A, Aziz T, Al-Dalali S, Zhao X, Zhang J, Chen C, et al. Physicochemical and microbiological properties of Synbiotic yogurt made with probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* in combination with Inulin. Foods. 2019 Oct;8(10):468-486.
40- Allgeyer LC, Miller MJ, Lee SY. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. J Dairy Sci. 2010 Oct;93(10):4471-9.
41- Saccaro DM, Tamime AY, Pilleggi ANALOPS, Oliveira MN. The viability of three probiotic organisms grown with yoghurt starter cultures during storage for 21 days at 4°C. Int J Dairy Technol. 2009 Jul;62(3):397-404.
42- Kalkan S, Özturk D, Selimoglu BS. Determining some of the quality characteristics of probiotic yogurts manufactured by using microencapsulated *Saccharomyces cerevisiae var. boulardii.* Turk J Vet Anim Sci. 2018 Dec;42(6):617-23.
43- Guimarães JT, Balthazar CF, Silva R, Rocha RS, Graça JS, Esmerino EA, et al. Impact of probiotics and prebiotics on food texture. Curr Opin Food Sci. 2020 Jun;33:38-44.
44- Homayouni rad A, Fathi-zavoshti H, Douroud N, Shahbazi N, Abbasi A. Evaluating the role of postbiotics as a new generation of probiotics in health and diseases. J Ardabil Univ Med Sci. 2020 Jan;19(4):381-399.[Full text in Persian]

Downloaded from jarums.arums.ac.ir at 9:36 IRDT on Saturday April 3rd 2021

www.SID.ir