نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۴ شماره ۴/ سال ۱۳۹۳

زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) و تاثیر آنها بر خواص کیفی و ریزساختاری دوغ

سمانه ابراهیم زادگان[۱] و شهین زمردی[۲*]

تاریخ دریافت: ۹۲/۵/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۱۷

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد
[۲] استادیار بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی
*مسئول مکاتبه: Email: shahinzomorodi@gmail.com

چکیده

در این پژوهش، زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) و تاثیر آنها بر خواص شیمیایی، حسی و ریزساختاری در دوغ ایرانی در طول ٦٠ روز نگهداری در دمای ۱±۵ °C مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی ۳ تیمار در ۳ تکرار شامل C (بدون پروبیوتیک)، BL دوغ حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و LA دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تهیه شد. نتایج نشان داد در طول زمان نگهداری تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از مقدار اولیه ۸/۵۳ به ۸/۰۷ سیکل لگاریتمی در گرم و تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از ۸/٤ به ۷/٤٥ سیکل لگاریتمی در گرم رسید (P<۰/۰۵). pH نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بطور معنی‌داری کمتر و اسیدیته این تیمار بیشتر از تیمار حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بود (P<۰/۰۵). بررسی ساختار میکروسکوپی نمونه‌های دوغ حاکی است که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، موجب تجمع منظم تر میسل های کازئین گردید. بر اساس نتایج ارزیابی حسی تیمارهای حاوی پروبیوتیک از نظر طعم بالاترین امتیاز را نسبت به نمونه کنترل کسب کردند (P<۰/۰۵). همچنین تعداد نهایی باکتری پروبیوتیک در پایان ٦٠ روز نگهداری بیشتر از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان (10^{7} - 10^{6}کلنی در گرم) بود. بنابراین پروبیوتیک‌ها نه تنها تأثیر نامطلوب بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نداشتند بلکه موجب بهبود خواص دوغ نیز گردید. لذا دوغ می‌تواند حامل خوبی برای پروبیوتیک‌ها باشد.

واژگان کلیدی: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، پروبیوتیک، دوغ، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

مقدمه

در طول دو دهه اخیر با توجه به اثرات سلامت بخش باکتری‌های پروبیوتیک، استفاده از آنها در محصولات غذایی بویژه محصولات لبنی، با هدف تولید غذاهای فراسودمند توجه محققان را به خود جلب کرده است. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که پس از مصرف، در روده ساکن شده و از طریق بهبود میکروفلور طبیعی روده، اثرات مفیدی در سلامتی انسان بر جای می‌گذارند (گارنر و اسچاسفسما ۱۹۹۸؛ زمردی و همکاران ۲۰۱۱). از اثرات سلامت بخشی پروبیوتیک‌ها می‌توان به تنظیم حرکت دودی معده، کاهش عدم تحمل لاکتوز، کاهش کلسترول، جلوگیری و درمان عفونت‌ها، خواص ضد سرطانی، بهبود پاسخ ایمنی و قابلیت هضم، افزایش ارزش تغذیه‌ای از طریق افزایش جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی، جلوگیری از پوکی استخوان، حساسیت زدا، غیرفعال کردن انتروتوکسین‌ها و کاهش محصولات کاتابولیک اشاره کرد (گارنر و اسچاسفسما ۱۹۹۸؛ میشرا و پراساد ۲۰۰۵).

دوغ نوشیدنی لبنی تخمیری اسیدی و از محصولات بومی ایران است که در بین نوشیدنی‌های موجود در بازار از نظر ویژگی‌های سلامت بخشی، جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است (کیانی و همکاران ۲۰۱۰). مقبولیت دوغ نه فقط بدلیل ویژگی‌های حسی مطلوب بلکه بعنوان نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش، سبب شده است که بعنوان نوشیدنی ملی ایران پذیرفته شود. مطالعات نشان داده است که در کشورهای اروپایی دوغ پتانسیل پذیرش بالایی داشته و تقاضا برای صادرات و مصرف آن روز به روز در حال افزایش است (کدکس ۲۰۰۹). از خواص تغذیه‌ای دوغ می توان به افزایش ویتامین‌ها و متابولیت‌های مغذی، بهبود جذب کلسیم، قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه، همچنین اثر بر سلامت دستگاه گوارش و عدم رشد ارگانیسم‌های مضر بدلیل وجود باکتری‌های مفید اشاره کرد (وثوق و همکاران ۱۳۸۸). این فرآورده از رقیق کردن ماست با آب آشامیدنی، آب پنیر تخمیر شده و یا دوغ کره همراه با نمک و طعم دهنده‌ها بدست می‌آید.

محصولات مشابه دوغ در کشورهای دیگر با نام مختلف موجود هستند که عبارتند از آیران[1] در ترکیه و لبن[2] در کشورهای عربی (نیلسون و همکاران ۲۰۰۶).

طاهری و همکاران (۱۳۸۸) از باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 در تولید دوغ پروبیوتیک استفاده کردند و نشان دادند تعداد این پروبیوتیک در طول نگهداری در یخچال، در حدود یک سیکل لگاریتمی کاهش یافت. اما مقدار آن بالاتر از حد توصیه شده برای اثرات سلامت بخشی بود. وثوق و همکاران (۱۳۸۸) در دوغ حاوی عرق نعناع نشان دادند که در طول نگهداری تعداد باکتری *بیفیدوباکتریوم* در حدود ۲ سیکل لگاریتمی کاهش یافت، در حالی که تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هفته هشتم نگهداری به صفر رسید.

رحمتی رودسری و همکاران (۲۰۱۳) از غلظت‌های مختلف استارتر نوع ABY در تهیه دوغ پروبیوتیک استفاده کردند و نشان دادند که زنده‌مانی *ل. اسیدوفیلوس* و *ب. لاکتیس* با افزایش مقدار تلقیح استارتر افزایش یافت.

با توجه به افزایش نرخ تولید و مصرف سالیانه دوغ، افزایش کیفیت آن، اجتناب ناپذیر می‌باشد. با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک می‌توان جنبه‌های تغذیه‌ای این محصول را بهبود بخشید. در اکثر تحقیقات فبلی زنده مانی پروبیوتیک‌ها در دوغ در طول نگهداری کمتر از ۳۰ روز مورد بررسی قرار گرفته است. لذا در این بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10) و

[1] Ayran
[2] Laban

بیفیدوباکتریوم لاکتیس (LAFTI-B94) در دوغ ایرانی و همچنین تاثیر آنها بر ویژگی‌های کیفی، ریزساختاری و خواص حسی این محصول در طول ٦٠ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

شیر کامل (با ٨٩ درصد رطوبت، ٣/٤ درصد چربی، ٣ درصد پروتئین، ٠/١٣٥ درصد اسیدیته برحسب اسید لاکتیک و pH=٦/٦) از یک دامداری واقع در شهرستان ارومیه تهیه شد. استارتر تجاری ماست YC-X11 (کشت مخلوط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* از شرکت کریستین هانسن دانمارک، باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) از شرکت DSM استرالیا، محیط‌های کشت (de Man, Rogosa, Sharpe MRS، M17 و RCA (Reconstituted Clostriadial Agar) از شرکت لیوفیلیکوم ایتالیا، سوربیتول از شرکت کیولب انگلیس، گاز پک بی هوازی از شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

تهیه دوغ

شیر کامل در حمام آب گرم در دمای ٨٥ °C به مدت ١٥ دقیقه پاستوریزه و تا دمای ٤٤ °C سرد شد. سپس استارترهای ماست (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن ٠/٠٥ گرم برای یک کیلو گرم شیر) اضافه گردید. تا رسیدن به pH=٤/٤ در گرمخانه با دمای ٤٣ °C قرار داده شد. پس از سرد کردن، به نسبت ٥٠:٥٠ با آب پاستوریزه حاوی ٠/٨ درصد نمک رقیق گردید. سپس پروبیوتیک (یک بسته برای یک تن شیر) افزوده شد و در شرایط استریل در بطری‌های پلاستیکی بسته بندی گردید (کیانی و همکاران ٢٠١٠). ویژگی‌های دوغ در جدول ١ آورده شده است.

تیمارها عبارت بودند از کنترل، بدون پروبیوتیک (C)، نمونه دوغ حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (BL) و نمونه دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA).

در نهایت نمونه‌های دوغ تولیدی در یخچال در دمای ٥±١°C به مدت ٦٠ روز نگهداری شدند و در فواصل زمانی ١، ١٥، ٣٠، ٤٥ و ٦٠ روز مورد آزمایش قرار گرفتند.

جدول ١- ویژگی‌های دوغ مورد استفاده

رطوبت (٪)	MSNF* (٪)	پروتئین (٪)	FDM** (٪)	نمک (٪)	چگالی	خاکستر (٪)
٩٣/٩٢±٠/٠٥	٤/٤٨±٠/٠٧	١/٨٧±٠/٠٨	٤٠/١±٠/٨٥	٠/٨٨±٠/٠٢	١/٢٠±٠/٠٠١	١/١٤±٠/٠٧

*چربی در ماده خشک (Milk Solid Non Fat)(بدون چربی شیر و بدون احتساب نمک)

**مواد جامد بدون چربی (Fat in Dry Matter)

روش‌های آزمایش

شمارش پروبیوتیک‌ها و استارترهای ماست

بیفیدوباکتریوم لاکتیس در محیط RCA، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در* محیط MRS آگار حاوی سوربیتول، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در محیط MRS آگار اسیدی (pH آن با استفاده از اسید کلریدریک یک نرمال به ٥/٢ تنظیم شد) و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در محیط M17 آگار به روش پورپلیت کشت داده شدند (کراساکوپ و

همکاران ۲۰۰٤). *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* تحت شرایط هوازی و سایر باکتری‌ها در شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شدند (اوزر و همکاران ۲۰۰۹).

اندازه گیری pH و اسیدیته

pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر (Swiss, Metrohm 691) و اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در مجاورت معرف فنل فتالئین اندازه‌گیری شد (بی نام ۱۳۷۱).

اندازه گیری میزان پایداری

برای تعیین میزان پایداری، مقدار ۵۰ میلی لیتر دوغ درون استوانه‌های مدرج استریل ریخته شد و با ورق آلومینیوم درب بندی گردید و در روزهای آزمون میزان پایداری آن بر حسب درصد با استفاده از معادله زیر تعیین شد (امیری عقدایی و اعلمی ۱۳۹۰).

$$\text{پایداری (٪)} = \frac{\text{حجم سرم} - \text{حجم اولیه دوغ}}{\text{حجم اولیه دوغ}} \times ۱۰۰$$

مشاهده میکروسکوپی

ریز ساختار نمونه‌های دوغ با استفاده از میکروسکوپ نوری (لیتز، وتزلر، آلمان) مشاهده شد. عکسبرداری نیز با استفاده از دوربین دیجیتالی (یورومکس، CMEX-5000، آرنهم، هلند) متصل به کامپیوتر صورت گرفت. برای مشاهده ریز ساختار نمونه‌ها با استفاده از این میکروسکوپ نیازی به رقیق سازی و رنگ آمیزی نمونه‌ها نبود (شیرخانی ۱۳۹۰).

ارزیابی حسی

در طی دوره نگهداری طعم و رنگ نمونه‌های دوغ به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. تعداد ۱۵ داور با استفاده از آزمایش تشخیص درجه یا سطح کیفیت انتخاب شدند. از هر تیمار تعداد ۱۵ نمونه یکسان تهیه و همراه با فرم مخصوصی دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای، به داوران داده شد تا با توجه به ذائقه خود فرم‌ها را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت مطلوب و امتیاز یک برای کیفیت نامطلوب اختصاص داده شد. داوران برای شستشوی دهان خود بین نمونه‌ها از آب استفاده کردند. فرم‌های تکمیل شده شامل ارزیابی کلی مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی درآورده شد و تجزیه واریانس گردید (کیانی و همکاران ۲۰۱۰).

روش طرح آماری

این آزمایش با استفاده از طرح فاکتوریل کامل در ۳ تکرار اجرا شد. تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) با استفاده از مدل خطی عمومی (GLM) و نرم افزار Minitab 16 انجام گرفت. منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم گردید.

نتایج و بحث

طبق استاندارد ملی ایران مواد جامد بدون چربی شیری دوغ نباید کمتر از ۳/۲ درصد (وزنی/وزنی، بر پایه مرطوب) و مقدار چربی آن نباید بیشتر از ۵۰ درصد کل ماده خشک بدون چربی شیری، بدون احتساب نمک باشد. مقدار نمک آن نیز باید بین ۲-۱ درصد (وزنی/وزنی، بر پایه مرطوب) باشد (بی نام ۱۳۷۱). ویژگی‌های نمونه‌های دوغ تولیدی در این بررسی با استاندارد مطابقت دارد (جدول ۱).

تغییرات pH و اسیدیته

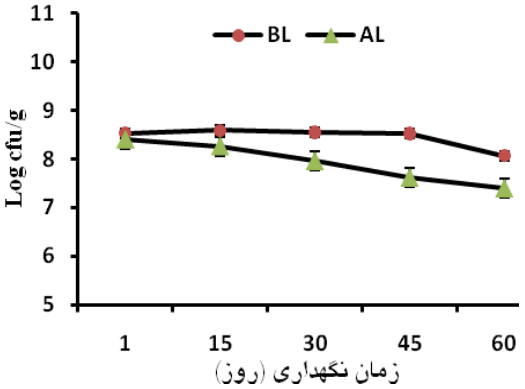
همانطوریکه در جدول ۲ نشان داده شده است در همه تیمارها مقدار pH نمونه‌ها تا روز ٤۵ کاهش و اسیدیته افزایش یافت. اما سپس تا پایان دوره نگهداری pH افزایش و اسیدیته کاهش نشان داد. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته تا روز ٤۵ را می‌توان به فعالیت میکروارگانیسم‌های مفید و مضر نسبت داد. در طی

نگهداری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* حتی در دمای یخچال هم فعال هستند و با تخمیر لاکتوز، اسید لاکتیک تولید می‌کنند و اسیدیته را افزایش و pH را کاهش می‌دهند (کایلاساپاتی ۲۰۰۶؛ شه و همکاران ۱۹۹۵). اما با پایان رسیدن منابع قندی، میکروارگانیسم‌ها پروتئین‌های موجود در محیط و نیز اسیدهای آلی را مصرف کرده و این باعث افزایش pH و کاهش اسیدیته محصول می‌گردد (جای۱۹۹۰). در طول نگهداری، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* موجب افزایش بیشتر اسیدیته گردید. علت این اختلاف ممکن است در اثر فعالیت اسیدی سویه‌های پروبیوتیک باشد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای فعالیت اسیدی بیشتری است (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹). لذا در افزایش اسیدیته و کاهش pH تاثیر بیشتری داشت.

زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها

با توجه به شکل ۱ در طول نگهداری در نمونه‌ها تعداد هر دو باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بطور معنی‌داری کاهش یافت. بطوریکه تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از مقدار اولیه ۸/۵۳ به ۸/۰۷ سیکل لگاریتمی در روز ۶۰ رسید (کاهش در حدود ۰/۵ سیکل لگاریتمی) و تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز از ۸/٤ به ۷/٤٥ سیکل لگاریتمی در گرم کاهش یافت (یک سیکل لگاریتمی). تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های دوغ بالاتر از مقدار توصیه شده برای ایجاد خواص سلامت بخش پروبیوتیک‌ها بود. این نتایج با نتایج سایر تحقیقات مطابقت دارد (کک تاش و گوزل سیدم ۲۰۱۰؛ طاهری و همکاران ۱۳۸۸). بر اساس نتایج این محققین نیز باکتری-های پروبیوتیک در دوغ بقای خود را حفظ کرده بودند.

دلیل بقای بیشتر پروبیوتیک‌ها در دوغ می‌تواند وجود مواد مغذی و میزان بالای آب موجود در دوغ باشد که محیط را برای پروبیوتیک‌ها مناسب ساخته است (کک تاش و گوزل سیدم ۲۰۱۰). همچنین تولید سوبستراهای مطلوب رشد پروبیوتیک‌ها توسط استارترهای ماست و یا کاهش فشار اکسیژن توسط آنها نیز در ثبات پروبیوتیک-ها موثرند. *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* با مصرف اکسیژن محیط، بقاء *بیفیدوباکتریوم‌ها* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را بهبود می‌بخشد. از طرفی چون *بیفیدوباکتریوم‌ها نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* حساسیت بیشتری به اکسیژن دارند، لذا پایداری این باکتری بیشتر بود. همچنین *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* نیز به واسطه فعالیت پروتئولیتیکی خود و از طریق افزایش قابلیت دسترسی به والین، گلیسین و هیستیدین به رشد و فعالیت پروبیوتیکها کمک می‌کند (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹).



شکل ۱- تغییرات تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دوغ در طول نگهداری

نتایج حاصل از تحقیقات کک تاش و گوزل سیدم (۲۰۱۰) و دونکور و همکاران (۲۰۰۶) با نتایج این بررسی مطابقت دارد. آنها نیز بقای باکتری‌های پروبیوتیک را در دوغ

گزارش کردند و اظهار داشتند که هنگامی‌که پروبیوتیک‌ها به همراه استارترهای ماست به‌کار برده می‌شوند، میزان بالای فاکتورهای رشد از جمله پپتیدها و آمینواسیدهای حاصل از پروتئولیز موجب ثابت و پایدار باقی ماندن رشد *لاکتوباسیلوس‌ها* می‌شود.

جدول ۲- تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های دوغ در طول ۶۰ روز نگهداری

نوع آزمایش	نمونه دوغ	زمان نگهداری (روز) ۱	۱۵	۳۰	٤٥	٦٠
pH	C	٤/٣a	٤/١٢b	٤/٠٢c	٤c	٤/٢١a
	BL	٤/٢١a	٤/٠٤b	٣/٨٣d	٣/٨٧d	٤/٢١a
	LA	٤/٢٨a	٤/١٥b	٣/٩٦cd	٣/٧٦d	٤/٠٢c
اسیدیته (٪)	C	٠/٣٤٢٠c	٠/٤٣٢٠b	٠/٤٣٥٠b	٠/٥٠٢٠a	٠/٤٣٩٥b
	BL	٠/٣٦٠٠c	٠/٤٣٢٠b	٠/٤٤٣٥b	٠/٥٢١٠a	٠/٤٣٤٥b
	LA	٠/٣٥١٠c	٠/٤١٤٠bc	٠/٤٥٧٠b	٠/٥٥٩٠a	٠/٤٥٣٠b

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون LSD در سطح احتمال ٠/٠٥)

C دوغ کنترل، BL دوغ حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و LA دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس*

زنده‌مانی استارترهای ماست

نتایج شمارش میکروارگانیسم‌های استارتر در جدول ۳ آورده شده است. با توجه به جدول ۳، در طول نگهداری تعداد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در نمونه کنترل و BL بطور معنی‌داری به ترتیب ۲/۵ و ۱/۷ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. در تیمار LA نیز ۰/٦ سیکل لگاریتمی کاهش پیدا کرد اما این کاهش معنی‌داری نبود. کاهش بیشتر این باکتری در تیمار کنترل شاید به دلیل نیازمندی این باکتری به اسیدآمینه‌های آزاد و پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین باشد و کاهش کمتر آن در نمونه‌های پروبیوتیک شاید بدلیل اثر همزیستی باکتری‌های پروبیوتیک با این باکتری باشد که از طریق افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی به رشد و فعالیت یکدیگر کمک می‌نمایند. عریان و همکاران (۱۳۸۹) نیز پایداری استارترها در ماست پروبیوتیکی را گزارش کردند. بر خلاف ل. بولگاریکوس، کاهش تعداد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در نمونه‌های مختلف معنی‌دار نبود (در نمونه‌های کنترل، BL و LA به ترتیب ۰/۹، ۱/۱ و ۱/۱ سیکل لگاریتمی). برعکس ل. بولگاریکوس کمترین مقدار کاهش *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در نمونه کنترل بود.

ساختار میکروسکوپی

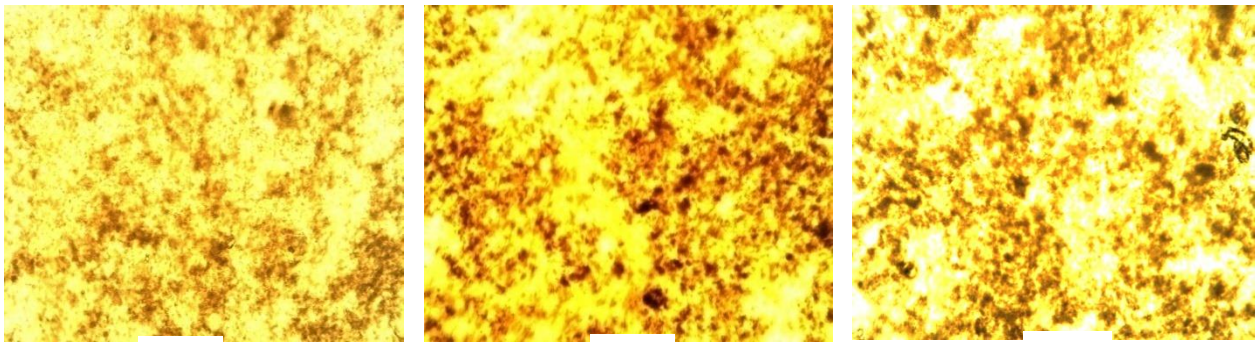
در شکل ۲ تصاویر میکروسکوپی گرفته شده از نمونه‌های دوغ آورده شده است. همانطوریکه در شکل ۲ نشان داده شده است در نمونه حاوی پروبیوتیک خوشه‌ها و تجمع-های بزرگی از ذرات پروتئینی دیده می‌شود که با منافذ بزرگ محتوی آب از هم جدا شده‌اند. توزیع ذرات در نمونه LA (حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) نسبت به نمونه BL (حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)، منظم‌تر است. می‌توان نتیجه گرفت که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، باعث تجمع مرتب‌تر میسل‌های کازئین گردیده است. هر چه توزیع ذرات منظم‌تر باشد، منافذ حاوی آب و خوشه

های کازئینی کوچک‌تر هستند و آب کمتری از این شبکه‌ها به بیرون تراوش می‌شود (سکورچ و همکاران ۲۰۰۰). لذا میزان پایداری افزایش می‌یابد که نتایج حاصل از تعیین میزان پایداری تیمارها نیز این یافته‌ها را تایید می‌کند.

جدول ۳- تغییرات تعداد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* (LB) و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (ST) در نمونه‌های دوغ در طول نگهداری (واحد LogCFU/g)

استارترهای ماست	نمونه دوغ	زمان نگهداری (روز) ۱	۱۵	۳۰	٤٥	٦٠
LB	C	۸/۷٦۰۰a	۸/٤۰۷۲a	٦/۸۱۲۳b	٦/۳۸۲۳C	٦/۲٥۹۲c
	BL	۸/۷٤٥۰a	۸/۲۹٤٤a	۷/۰٦٦٦b	۷/۲۷۸۱b	٦/۹۹٥۰b
	LA	۸/۸٤۰۰a	۸/٥۳۳٤a	۸/٦۲۸۸a	۸/٥۲۷٦a	۸/۲۷۱۰a
ST	C	۹/۲۲۰۰a	۸/۸۹۲ a	۸/٦٦٥٤a	۸/٤۸۸٦ a	۸/۳۱۰٦a
	BL	۸/۹٦٥۰a	۸/۸٥۱۳a	۸/۸٦۷۷a	۸/۲۳٤۳a	۷/۸٤٦۷ab
	LA	۸/۹٦٥۰a	۸/۷۳۲۸a	۸/٦۹۸۱a	۸/۳۹۷۹a	۸/۲۸۷۲a

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵)
C دوغ کنترل، BL دوغ حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و LA دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*



C BL LA

شکل۲- تصویر میکروسکوپی نمونه‌های دوغ (C کنترل، BL حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و LA حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*)

بر اساس نتایج حاصل از تعیین میزان پایداری، بین تیمارهای مختلف دوغ، تیمار LA بیشترین میزان پایداری و تیمار کنترل کمترین مقدار پایداری را داشتند (جدول ٤) که در تطابق با نتایج ساختار میکروسکوپی نمونه‌ها می‌باشد. در هم تنیده شدن پروتئین‌ها منجر به توزیع سازمان یافته‌تر و شبکه‌ی منظم‌تری از خوشه‌های پروتئینی در نمونه‌های دوغ می‌شود که در نتیجه‌ی آن منفذهای حاوی آب میان آن ها کوچکتر دیده می‌شود (فارگمنت و کویست ۱۹۹۷).

جدول ۴- تأثیر نوع تیمار بر میزان پایداری نمونه‌های دوغ

نمونه	پایداری (٪)
C	۳۵/۳۷[c]
BL	٤۱/٥۰[b]
LA	٤٥/٦۲[a]

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵)
C کنترل، BL حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و LA حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

خواص حسی دوغ

در جدول ٥ تاثیر نوع تیمارها بر خواص حسی نمونه‌های دوغ آورده شده است. ارزیابی خواص حسی دوغ نشان داد که اختلاف معنی‌داری در ظاهر و رنگ نمونه‌های دوغ وجود نداشت اما نوع تیمار تاثیر معنی‌داری بر عطر و طعم دوغ داشت ($P < ۰/۰۵$). بطوریکه تیمارهای حاوی پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل بطور معنی‌داری بیشترین امتیاز طعم را کسب کرد. در این بین تیمار LA امتیاز طعم بیشتری داشت. علت این اختلاف ممکن است در اثر فعالیت اسیدی سویه‌های پروبیوتیک باشد. از طرفی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای فعالیت اسیدی بیشتری نسبت به *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* است.

در دوغ ترش بودن یکی از فاکتورهای اساسی در پذیرش طعم دوغ می‌باشد. لذا تیمار حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشترین امتیاز را داشت.

یونگ و نیلسون (۱۹۷۸) عنوان کرد که آنزیم الکل دهیدروژناز با تبدیل استالدئید به اتانل، باعث طعم ضعف شیرهای تخمیری اسیدوفیلوسی می‌شود. اما این واکنش در دوغ موجب مطلوب‌تر شدن طعم آن گردیده است.

جدول ۵- خواص حسی دوغ‌های تولیدی

دوغ	طعم	رنگ
C	۳/۸۷±۱/۳ [b]	٤/۲۹±۰/۱٥[a]
BL	٤/۲±۱/۲ [a]	٤/۲۹±۰/۲۱ [a]
LA	٤/٦٥±۱/۳ [a]	٤/۲٥±۰/۱٦ [a]

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵)
C (کنترل)، BL (دوغ حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و LA (دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* آزاد)

کوک تاش و گوزل- سیدیم (۲۰۱۰) در آیران نشان دادند که در دوغ کنترل مقدار استالدئید و استوئین، در حالی که در دوغ‌های پروبیوتیک غلظت دی استیل و استون به مقدار قابل توجهی بالا بود.

نتیجه‌گیری

هدف از این مطالعه، بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در دوغ ایرانی بود. همچنین تاثیر این پروبیوتیک‌ها بر ترکیبات شیمیایی، ریزساختاری و خواص حسی این محصول نیز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در طول نگهداری تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در تمام نمونه‌ها کاهش یافت. همچنین تعداد نهایی باکتری پروبیوتیک در پایان دوره نگهداری (به مدت ٦۰ روز) در دمای $٥ \pm ۱\ ^{\circ}C$ بیشتر از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان ($۱۰^{۷}$-$۱۰^{٦}$کلنی در گرم) بود که در این بین زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بیشتر بود. در طول نگهداری در تمام نمونه‌ها ابتدا pH کاهش و درصد اسیدیته افزایش یافت اما سپس pH افزایش و اسیدیته کاهش پیدا کرد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بطور معنی‌داری موجب کاهش pH و افزایش

اسیدیته گردید. بررسی ساختار میکروسکوپی نمونه‌های دوغ حاکی است که در نمونه حاوی پروبیوتیک خوشه‌ها و تجمع‌های بزرگی از ذرات پروتئینی دیده می‌شود. توزیع خوشه‌ها و تجمع‌های ذرات پروتئینی در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به نمونه حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، منظم‌تر است. می‌توان نتیجه گرفت که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، باعث تجمع مرتب تر میسل‌های کازئین گردیده است. بر اساس نتایج ارزیابی حسی تیمارهای حاوی پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل از نظر طعم بالاترین امتیاز را بدست آوردند ($P<۰/۰۵$). بنابراین پروبیوتیک‌ها نه تنها تأثیر نامطلوب بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نداشتند بلکه موجب بهبود خواص دوغ نیز گردیدند. لذا دوغ می‌تواند حامل خوبی برای پروبیوتیک‌ها باشد.

منابع مورد استفاده

امیری عقدایی س س و اعلمی م، ۱۳۹۰. تأثیر موسیلاژ دانه ریحان بر ویژگی‌های رئولوژیکی و پایداری دوغ. مجله علمی پژوهشی علوم و فناوری غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار ۳، ۱۷-۲٤.

بی نام. سال ۱۳۷۱. دوغ پروبیوتیک- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران شماره ۱۱۳۲٤.

شیرخانی م. ۱۳۹۰. تاثیر تیمار آنزیمی ترانس گلوتامیناز بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه.

طاهری پ، احسانی م ر و خسروی‌دارانی ک، ۱۳۸۸. تأثیر باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 بر ویژگی-های میکروبیولوژیک، خواص حسی و پایداری بافتی دوغ پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران ٤، ۱۵-۲٤.

عریان ش، یغمایی پ و زمانی ه، ۱۳۸۹. تهیه و تولید ماست پروبیوتیکی با تلقیح سویه های *لاکتوباسیلوس* GG و مقایسه آن با ماست معمولی و تاثیر آنها در کاهش متابولیت های لیپیدی در سرم خون موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار. مجله علمی -پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی ۲، ۷-۱۲.

فروغی نیا س. عباسی س و حمیدی اصفهانی ز، ۱۳۸٦. تأُثیر افزودن تکی و ترکیبی صمغ‌های کتیرا،ثعلب و گواردر پایدارسازی دوغ. مجلهٔ علوم تغذیه وصنایع غذایی ایران ۲، ۲۵-۱۵.

وثوق ا ص، خمیری م، کاشانی نژاد م و جعفری س م، ۱۳۸۸. اثر عرق نعناع بر قابلیت بقای باکتری های پروبایوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ). مجله علوم علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۱٦، ۱٦٤-۱۵٦.

Codex, 2009. Joint FAO/WHO Food Standards Programme. FAO/WHO Coordinating Committee for the Near East. Fifth Session Tunis, Tunisia, 26 – 29. Project Document for a Regional Standard for Doogh.

Donkor O N, Nilmini SLI, Stolic P, Vasiljevic T and Shah NP, 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy journal 17: 657-665.

Faergemand M and Qvist K B, 1997. Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel. Food Hydrocolloids 11: 287-292.

Gomes M P and Malcata F X, 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus aciduphilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science and Technology 10: 139-157.

Guarner F and Schaasfsma G J, 1998. Probiotics. International Journal of Food Microbiology 39: 237-238.

Jai J M, 1990. Modern Food Microbiology. Chapman and Hall.

Kailasapathy K, 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT 39:1221–1227.

Kiani H, Mousavi ME, Razavi H and Morris ER, 2010. Effect of gellan, alone an dincombination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. Food Hydrocolloids 24:744-754.

Kök Taş T and Güzel-Seydim Z, 2010. Çeşitli yağ ikame maddeleri ve probiyotik kullaniminin ayran kalite kriterleri üzerine etkilerinin belirlenmesi. GIDA 35:105-111.

Krasaekoopts W, Bhandari B and Deeth H, 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International Dairy Journal 14:737-743.

Mishra V and Prasad D N, 2005. Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics. International Journal of Food Microbiology 103:109-115.

Nilsson L E, Lyckand S and Tamime A Y, 2006. Production of drinking products. In A.Y.Tamime.(ed). Fermented Milks.UK: Blackwell Science Ltd. 95-127.

Ozer B, Avni Kirmaci H, Shenel E, Atamer M and Hayalog˘lu A, 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum BB-12* and *Lactobacillus acidophilus LA-5* in white-brined cheese by microencapsulation. International Dairy Journal 19: 22–29.

Rahmati Roudsaria M, Sohrabvandib S, Homayouni Rad A and Mortazaviand AM, 2013. Combined Effects of Inoculation Level and Sequence on Biochemical and Microbiological Characteristics of Probiotic Doogh. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 12: 299-305.

Schorsch C, Carrie H and Norton IT, 2000. Cross-linking casein micelles by a microbial transglutaminase: influence of cross-links in acid-induced gelation. International Dairy Journal 10: 529-539.

Shah NP, Lankaputhra WEV, Britz M and Kyle WSA, 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. International Dairy Journal 5: 515–521.

Smiddy M A, Martin JEGH, Kelly AL, De Kruif CG and Huppertz T, 2006. Stability of casein micelles cross-linked by Transglutaminase. Journal of Dairy Science 89: 1906-1914.

Young CH and Nelson FE, 1978. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in Sweet Acidophilus Milk during refrigerated storage. Journal Food Protect 41:248-250.

Zomorodi SH, Khosrowshahi Asl A, Razavi Rohani SM and Somayieh Miraghaei S, 2011. Survival of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* in free and microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. International Journal of Dairy Technology 64:84-91.

Survival of *Lactobacillus acidophilus* (LAFTI-L10) and *Bifidobacterium lactis* (LAFTI-B94) and their effect on quality and microstructure of doogh

S Ebrahimzadegan[1] and SH Zomorodi[2*]

Received: August 17, 2013 Accepted: June 07, 2014
[1]MSc Student, Department of Food Science, Islamic Azad University Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Engineering, Agricultural Research Center, West Azerbijan, Urmaia, Iran
[*]Corresponding author: Email: shahinzomorodi@gmail.com

Abstract
In this study, survival of *Lactobacillus acidophilus* (LAFTI-L10) and *Bifidobacterium lactis* (LAFTI-B94) and their effect on chemical, sensory and microstructure properties of Iranian Doogh were investigated during 60 days at 5±1°C. Three treatments including C (control, no probiotic), BL containing *Bifidobacterium lactis* and LA containing *Lactobacillus acidophilus* were prepared. The results showed that the number of *Bifidobacterium lactis* and *lactobacillus acidophilus* were decreased from 8.53 to 8.07 log CFU/g and from 8.4 to 7.45 log CFU/g respectively during storage. The pH of sample containing *Lactobacillus acidophilus* were lower than that in other samples and the acidity was significantly higher than the treatment containing *Bifidobacterium lactis* ($P<0.05$). The results of study on microstructure showed that *Lactobacillus acidophilus* caused more regular aggregates in casein micelles than *Bifidobacterium lactis*. According to the sensory evaluation, the treatments containing probiotic obtained highest score for flavor in comparison with control samples ($P<0.05$). Also the final numbers of probiotic bacteria were more than the recommended minimum number necessary for therapeutic effects on human health (10^6 - 10^7 CFU g^{-1}) at the end of 60 days. So probiotics not only did not have adversely effect on physicochemical and sensory properties, but also improves the properties of Doogh. Therefore Doogh can be an effective carrier of probiotic organisms.

Key words: *Bifidobacterium lactis*, Probiotic, Doogh, *Lactobacillus acidophilus*