نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۳ شماره ۳/ سال ۱۳۹۲

تاثیر دماهای گرمخانه گذاری ، نگهداری و pH نهایی محصول بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و خواص حسی در دوغ پروبیوتیک

علی دینی[۱]، سید هادی رضوی[۲*] و سید محمد علی ابراهیم زاده موسوی[۲]

تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۵/۱٤

[۱] کارشناس ارشد معاونت غذا و داروی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه تهران
[*] مسئول مکاتبه: E-mail: srazavi@ut.ac.ir

چکیده

در این پژوهش، تاثیر عوامل حرارتی (دماهای گرمحانه گذاری و نگهداری) و pH نهایی محصول بر زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدیو باکتریوم لاکتیس* در تولید دوغ پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگهداری بر پایه طرح کاملا تصادفی و با آزمون‌های فاکتوریل و دانکن مورد مطالعه قرار گرفت. فرایند تخمیر در سه دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷، ٤۰ و ٤٤°C انجام شد و تخمیر در سه سطح pH ٤/٦، ٤/٤ و ٤/۰ متوقف گردید و تیمارهایی که بیشترین زنده‌مانی را داشتند مشخص و به مدت ۲۱ روز در سه دمای ٥، ۱۰ و ۱٥°C نگهداری شدند. بهترین نمونه از نظر زنده‌مانی کل باکتری‌های پروبیوتیک نمونه اولیه با دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷°C و pH نهایی ٤/٤ و ٤/٦ بودند. دو نمونه اولیه با بیشترین میزان زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک، وارد مرحله نگهداری در سه دمای ٥، ۱۰ و ۱٥°C شدند. در طول نگهداری هر ۷ روز یک بار نمونه‌های کشت داده شده از نظر زنده‌مانی، فاکتورهای شیمیایی و حسی بررسی شدند. بیشترین مرگ و میر *بیفیدیوباکتریوم لاکتیس* در هفته اول نگهداری مشاهده شد. به تدریج باکتری به شرایط سخت محیطی سازگار شد. بیشترین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در pH > ٤/۰٥±۰/۰٥ بود بطوریکه در هفته اول نگهداری در نمونه‌ها رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده شد. نمونه‌های نگهداری شده در دمای ٥°C دارای بیشترین زنده‌مانی و نمونه‌های نگهداری شده در۱٥°C دارای بهترین طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی پس از ۲۱ روز نگهداری بودند.

واژه های کلیدی: دوغ پروبیوتیک، *بیفیدیوباکتریوم لاکتیس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، خواص حسی، زنده‌مانی

Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doogh

A Dini[1], SH Razavi[2*] and SM Mousavi [2]

Received: April 19, 2012 Accepted: August 5, 2013

[1] MSc, Department of Food and Drug, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
[2]Professors, respectively, Department of Food Science, Engineering and Technology, Faculty of Biosystem Engineering, Agricultural Campus, University of Tehran, Karaj, Iran
[*]Corresponding author: E mail: srazavi@ut.ac.ir

Abstract

The viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* was monitored during the storage of probiotic Doogh for 21 days as influenced by incubation and storage temperatures and product's final pH value. Samples were fermented at various temperatures (37, 40 and 44°C) till the pH value dropped to 4.6, 4.4 or 4.0. The highest viability of probiotics was achieved at fermentation temperature 37°C and final pH values 4.4 and 4.6. Storage of these two best treatments in various temperatures (5, 10 and 15°C) for 21 days resulted a rapid decrease in *B. lactis* population in the first 7 days after which the bacteria became compatible with the harsh condition. The highest viability occurred for *L. acidophilus* merely at pH lower than 4.05 ± 0.05 and its growth was observed in first week of storage. Samples stored at 5°C showed the highest viability and samples at 15°C had the best sensory properties.

Keywords: Probiotic doogh, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, Sensory characteristics, Viability

مقدمه

در سه دهه گذشته، تلاش بر این بوده تا با مصرف باکتری‌های پروبیوتیک، به ایجاد توازن در ریز فلور میکروبی روده انسان کمک شود. باکتری‌های مذکور با ممانعت از رشد باکتری‌های نامطلوب در روده و در نتیجه کاهش تولید مواد مضر به وسیله باکتری‌های مضر و سرکوب کردن آنها، کاهش کلسترول خون، کاهش حساسیت به لاکتوز، تحریک و تقویت سیستم ایمنی بدن و خواص پاد عفونتی و افزایش ارزش تغذیه‌ای برای انسان اثرات سلامت بخش دارند (سندرز ۱۹۹۸ و رابرفرود ۱۹۹٦).

خواص مفید ذکر شده در صورتی بروز می‌کند که حداقل $۱۰^{۷}$ باکتری پروبیوتیک در یک گرم یا میلی‌لیتر ماده غذائی وارد روده شود (تارمراج و شاه ۲۰۰٤). از جمله عوامل موثر بر زنده ماندن این باکتری‌ها عبارت از نوع باکتری، pH محصول و اسیدیته آن، فرایندهای وابسته به گرما شامل فرآیندهای گرمائی، گرمخانه‌گذاری و دمای نگهداری، افزودنی‌های محرک رشد و نظایر موارد مذکور است.

محصولات پروبیوتیک را می توان به محصولات تخمیری و غیرتخمیری تقسیم کرد. دوغ محصولی است تخمیری که امروزه در ایران و کشورهای همسایه مثل ترکیه مصرف کنندگان زیادی دارد. به طوریکه این محصول را نوشیدنی ملی کشورمان می‌دانند (آکین و رایس ۱۹۹٤ و کیانی و همکاران ۲۰۱۰). این نوشیدنی حاوی ٦-٤٪ ماده خشک، ۱/۵-۰٪ چربی، ۰/۵-۰/۲٪ نمک به همراه ترکیبات طعم دهنده مانند نعناع، پونه، اسانس‌های کاکوتی، خیار و غیره می‌باشد.

بطور کلی قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در فرآورده های تخمیری به دلیل پائین بودن pH و بالا بودن اسیدیته

نسبتاً اندک است (وارنام و ساترلند ۱۹۹٤ و کیتازاوا و همکاران ۲۰۰۱). اسیدیته بالا و pH پایینِ فرآورده‌های پروبیوتیک از مهمترین عوامل کاهش قابلیت زیستی این باکتری‌ها می‌باشند به طوریکه قابلیت زیستی در فرآورده‌هایی چون شیر پروبیوتیک شیرین دست کم ۱۰ بار بیشتر از فرآورده‌های تخمیری است (حکمت و مک ماهن ۱۹۹۲ و دیناکار و میستری ۱۹۹٤). انتخاب دمای بهینه گرمخانه‌گذاری با توجه به تفاوت دمای بهینه در باکتری‌های پروبیوتیک بالاخص با باکتری‌های سنتی ماست با توجه به اینکه بر دو شاخص مدت زمان تخمیر و قابلیت زیستی اثر معنی‌داری دارد از اهمیت زیادی برخوردار است (نیفل و همکاران ۱۹۹۳). دمای نگهداری فراورده‌های پروبیوتیک به طریق مستقیم بر بقای باکتری‌های پروبیوتیک مخصوصا طی هم کشت کردن با باکتری‌های حامی لاکتیکی و به طور غیر مستقیم از طریق تولید متابولیت‌های پادمیکروبی، تغییرات اسیدیته و پتانسیل احیاء بواسطه ادامه تخمیر طی نگهداری تاثیر بسزایی دارد (شاه ۱۹۹۷ و شاه ۲۰۰۰). هم کشت کردن باکتری‌های پروبیوتیک با باکتری‌های سنتی ماست در مرحله اول به منظور ایجاد ترکیبات مورد نیاز رشد پروبیوتیک‌ها که به شکل قابل دسترس در محیط شیر وجود ندارد یا مقدار آنها اندک است، انجام می‌گیرد. به عبارت دیگر نوعی رابطه زیستی همیاری یک طرفه ایجاد می‌شود به طور مثال گزارش شده است که نژادهایی از بیفیدیوباکتریوم که قادر به رشد در شیر نبودند از طریق هم کشت کردن با باکتری‌های حامی، که از قابلیت پروتئین کافتی بالایی برخوردار هستند، توانایی رشد یافتند (نایسونجر و همکاران ۱۹۹٦). با این وجود کشت‌های حامی ممکن است در ابتدا رابطه همیاری زیستی با پروبیوتیک‌ها برقرار کنند. اما به تدریج موجب محدودیت رشد و یا مرگ آنها می‌شود و همیاری زیستی جای خود را به پادیاری زیستی می‌دهد. نمونه بارز چنین رویدادی را می‌توان در رابطه زیستی پروبیوتیک‌ها با باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* مشاهده کرد. این باکتری در ابتدا با پروتئوکافت کازئین و فراهم آوردن ازت آلی غیرپروتئینی در دسترس، رشد پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کند اما در ادامه تخمیر با رشد سریع، اسیدسازی شدید، کاهش pH و تولید پراکسید هیدروژن و باکتریسین طی تخمیر و دوره نگهداری بر رشد و قابلیت بقای این باکتری‌ها اثر سوء می‌گذارد (هال و همکاران ۱۹۸٤ و کیلوساتافی و ریبکا ۱۹۹۷).

در این تحقیق با توجه به اهمیت مصرف پروبیوتیک‌ها و تلاش جهت استفاده از این باکتری‌ها در محصولات سنتی با مصرف سرانه بالا، تاثیر عوامل حرارتی دمای گرمخانه گذاری و انبار مانی و pH نهایی محصول را بر زنده مانی و خواص حسی دوغ پروبیوتیک در تولید و طی نگهداری این محصول در مدت ۲۱ روز انبارمانی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

باکتری‌های آغازگر بکاررفته

از کشت‌های آغازگر پروبیوتیک لیوفلیزه شده تجارتی ABY-2 تهیه شده از شرکت کریستین هنسن (محتوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA-5)، *بیفیدیو باکتریوم لاکتیس* (BB12) و باکتری‌های معمول ماست) با نسبت ۱:۲ و رقیق شده در یک لیتر شیر که هر میلی لیتر حاوی $۱۰^{٦}$* ٤ *باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، $۱۰^{٦}$* ۸/۸ *باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بود، استفاده گردید.

محیط کشت

از محیط کشت MRS بایل آگار استفاده گردید. محیط کشت MRS آگار از شرکت مرک آلمان تهیه شده و با افزودن ۰/۱۵ ٪ نمکهای صفراوی خریداری شده از شرکت Sigma-Aldrich, Reyde آمریکا با اثر ممانعت کنندگی بایل بر روی باکتریهای سنتی ماست، محیطی مناسب به منظور شمارش انتخابی[1] تهیه شد. این محیط توسط ویندرولا و رینهیمر در سال ۲۰۰۰ جهت شمارش اختصاصی *لاکتوباسلوس اسیدوفیلوس* در ترکیب

[1] Selective

کشتهای ABY در شرایط هوازی مورد استفاده قرار گرفت (اثبات شده است که شمارش *ل- اسیدوفیلوس* در کشت AY در شرایط هوازی و بی هوازی یکسان است) و در سال ۲۰۰۷ مرتضویان و همکاران با استفاده از روش شمارش تفریقی (SEM[1]) که براساس کسر کردن تعداد پرگنه های تشکیل شده این باکتری و بیفیدوباکتریوم (بی هوازی مطلق و عدم تشکیل پرگنه در شرایط هوازی) در شرایط هوازی از مجموع پرگنه های تشکیل شده این باکتری و بیفیدوباکتریوم در شرایط بی هوازی ارائه شده است، موفق به شمارش اختصاصی بیفیدوباکتریوم با این محیط شدند.

نحوه شمارش باکتریایی

قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها توسط شمارش تفریقی باکتریایی با روش تشتک گذاری[2] در محیط MRS بایل آگار در دمای ۳۷°C و بمدت ۷۲ ساعت با توجه به عدم اثر پادیاری زیستی میان این دو باکتری در محیط کشت یاد شده و امکان شمارش هر دو باکتری در شرایط بی هوازی (مجموع *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) و قابلیت یکسان پرگنه سازی[3] *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هر دو شرایط هوازی و بی هوازی و بی هوازی مطلق بودن *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، در شرایط هوازی (شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بی‌هوازی کردن محیط از گاز پک تیپ A تهیه شده از شرکت مرک آلمان استفاده به عمل آمد.

محاسبه تعداد پرگنه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از تفریق تعداد پرگنه های تشکیل شده در کشت در شرایط بی هوازی از کشت در شرایط هوازی بدست آمد. و محاسبه درصد ضریب تغییر نسبی در مدت زمان نگهداری از فرمول زیر محاسبه شد.

درصد ضریب تغییر نسبی= [(جمعیت زنده نهایی- جمعیت زنده اولیه)/جمعیت زنده اولیه]* ۱۰۰

[1] Subtractive enumeration method
[2] Plate count agar
[3] colony forming ability

آماده سازی دوغ

در ابتدا با استفاده از شیر بازساخته بدون چربی با تنظیم ماده خشک کل ٪ ٤ و نمک ٪۰/۵ آن را تحت دمای پاستوریزاسیون ۹۵°C در مدت ۱۵ دقیقه قرار داده و نمونه را تا حصول به درجه حرارت اینکوباسیون سرد می‌نماییم. کشت آغازگر به ۱ لیتر شیر استریلیزه در دمای ۵ درجه سانتیگراد اضافه شده و پس از مدت ٤ دقیقه همزدن با استفاده از هم زن مغناطیسی تلقیح با حجم ٤ میلی‌لیتر در لیتر صورت گرفت (٪۰/۰٤۸) و نمونه در سه دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷، ٤۰ و ٤٤ °C تا حصول به سه سطح pH نهایی ٤/۰، ٤/٤ و ٤/٦ گرمخانه‌گذاری شد.

بررسی روند افت pH و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء

pH و پتانسیل احیاء نمونه های دوغ طی تخمیر و دوره نگهداری با استفاده از pH سنج (Mettler, MA 235) و الکترود پلاتینی متصل به آن اندازه گیری شد. روند (سینتیک) افت pH و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (بر حسب میلی ولت) هر نیم ساعت یکبار طی تخمیر و هر ۷ روز یکبار طی نگهداری یخچالی اندازه گیری شد.

روند افزایش اسیدیته

اسیدیته کل (اسیدیته قابل عیارسنجی) عبارت است از مقدار هیدروکسیدسدیم یک دهم نرمال که بتواند اسیدیته وزن معینی از شیر و فرآورده‌های آن را در حضور فنل‌فتالئین خنثی نماید. اسیدیته کل برحسب اسید لاکتیک در ۱۰۰ گرم نمونه محاسبه گردید. از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال هر ۳۰ دقیقه یکبار تا پایان تخمیر استفاده شد و اسیدیته براساس درجه درنیک (میلی گرم در ۱۰ میلی لیتر) و بر پایه اسید لاکتیک (اسید غالب در فراورده های تخمیری) گزارش گردید.

نحوه بررسی آنالیز حسی

تخمیر نمونه‌ها تا سه سطح pH نهایی ٤/۰، ٤/٤ و ٤/٦ متوقف گردید و تا دمای یخچالی به سرعت سرد گردید

و توسط ۱۰ نفر از افراد آشنا به محصول از لحاظ طعم، بو، بافت، قوام، طعم‌های مشکوک و نامطلوب و قابلیت پذیرش کلی توسط روش هدونیک مورد ارزیابی قرار گرفت. محصول عالی ۷، محصول خیلی خوب ٦، محصول خوب ٥، محصول متوسط (نه خوب نه بد) ٤، محصول ضعیف ۳، محصول بد۲، محصول خیلی بد ۱،در نظر گرفته شد. این امر در مدت نگهداری یخچالی هر ۷ روز یک بار تکرار شد.

روش ارزیابی آماری

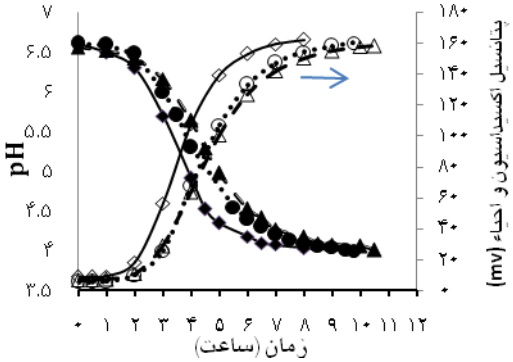
تمامی آزمایشات در سه تکرار و و اختلاف معنی‌دار میان تیمارها براساس آزمونهای فاکتوریل و دانکن با نرم افزار MSTATC (بر پایه طرح کاملا تصادفی) انجام شده و جداول توسط نرم افزار Office رسم گردیدند.

نتایج و بحث

تغییرات اسیدیته، پتانسیل احیاء و pH در زمان تخمیر و نگهداری

نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در دمای ٤٤ ^{o}C برای وصول به pHهای ٤-٤/٦ مدت زمان ٨/٢-٤/٣ ساعت بود و در دمای گرمخانه گذاری ۳۷ درجه سانتیگراد این زمان به ١٠/٥-٤/٨٥ ساعت افزایش یافت (شکل ۱). حداکثر تولید متابولیت‌های موثر در کاهش pH و افزایش اسیدیته چون اسید لاکتیک، استیک و ترکیبات دیگر در دمای گرمخانه گذاری ٤٤ ^{o}C و ۳۷ به ترتیب در زمان ٤/٥-۲ ساعت و ٦-۳ ساعت رخ می‌دهد. دماهای گرمخانه‌گذاری در فراورده‌های تخمیری بر شاخص مدت زمان تخمیر تاثیر می‌گذارد. استفاده از دمای گرمخانه‌گذاری ٤٤ ^{o}C که دمای بهینه رشد باکتری‌های سنتی ماست نسبت به دماهای گرمخانه‌گذاری ٤٠ ^{o}C (دمای بهینه رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) و ۳۷ ^{o}C (دمای بهینه رشد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) باعث تحریک رشد این باکتری‌ها نسبت به پروبیوتیک‌ها شد و با توجه به بالاتر بودن سرعت متابولیسم و تولید متابولیت‌های موثر بر افزایش اسیدیته در محصول دوغ، موجبات تفاوت در زمان گرمخانه گذاری را ایجاد نمود. در زمان نگهداری حتی در دماهای یخچالی فعالیت باکتری‌ها متوقف نشده و تولید متابولیت‌های مانند اسیدهای آلی نیز ادامه یافت و شاهد افزایش اسیدیته در حین نگهداری بودیم. همچنانکه در جدول ۱ نشان داده شده است تفاوت معنی داری در سرعت افت pH و افزایش اسیدیته در دماهای مختلف نگهداری ارزیابی شد. کمترین سرعت تغییرات pH و اسیدیته در دمای نگهداری ٥ ^{o}C و بیشترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری ١٥ ^{o}C مشاهده شد.

در فرایند تخمیر مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیاء از میزان ٦ میلی ولت تا ١٦٠ میلی ولت در محصول با pH نهایی ٤ تغییر می‌کند (شکل ۱). همچنین طی نگهداری نمونه ها حتی در دماهای یخچالی، افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء رخ داده و تفاوت معنی داری در سرعت افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در دماهای نگهداری مشاهده شد (جدول ۱). کمترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری ٥ ^{o}C و بیشترین سرعت تغییرات در دمای نگهداری ١٥ ^{o}C مشاهده گردید.



شکل ۱- تغییرات pH و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در حین تخمیر دردماهای ۴۴ °C♦ ، ۴۰°C ● و ۳۷°C▲

در کشت همراه باکتری‌های پروبیوتیک با باکتری‌های سنتی ماست مشاهده شد که باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* که عامل پس اسیدی‌سازی یا بیش اسیدسازی در ماست می‌باشد در محصول دوغ نیز به

همان صورت عمل می کنند به طوریکه بر خلاف *استرپتوکوکوس‌ترموفیلوس* که در pH کمتر از ٤/٥ فعالیتش متوقف می‌شود حتی تا pH پائین‌تر از این مقدار (٣/٥-٣) می‌تواند تولید اسید را ادامه دهد (مرتضویان و سهراب وندی ٢٠٠٤). در دوغ نیز این باکتری حتی قادر به کاهش pH به کمتر از ٣/٨ می‌باشد. اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن تولید شده در حین تخمیر و نگهداری همچنین بر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء اثر گذاشته و باعث افزایش شاخص یاد شده می شوند (دیو و شاه ١٩٩٨).

بطور کلی می توان گفت در زمان تخمیر و نگهداری روند کاهش اسیدیته در محصول حتی تا pH<٣/٥ ادامه خواهد یافت و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* قادر به بیش اسیدسازی در محصول دوغ نیر همچون ماست می‌باشد. هر چه دمای نگهداری بیشتر باشد سرعت کاهش pH، افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و افزایش اسیدیته به دلیل افزایش فعالیت پروتئولتیکی و β-گالاکتوزیدازی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* افزایش می‌یابد.

جدول ١- تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتر در زمان نگهداری در مدت ٢١ روز

تیمارها	دمای انبارمانی	pH ابتدائی و انتهایی	اسیدیته ابتدائی و انتهائی**	سرعت افت pH (واحد/روز)	سرعت افزایش اسیدیته (درجه درنیک /روز)	سرعت افزایش پتانیسل احیاء (میلی ولت/روز)
نمونه با pH نهایی ٤/٤ (B)	٥°C	٤/٤ – ٤/٠٧	٣٦ – ٤٩/٥	٠/٠١٥٧١^{C}	٠/٦٤٢٨^{C}	١/٦^{C}
	١٠°C	٤/٤ – ٣/٩٣	٣٦ – ٥٦	٠/٠٢٢^{B}	٠/٩٥^{B}	١/٩٥^{B}
	١٥°C	٤/٤ – ٣/٨	٣٦ – ٦٣	٠/٠٢٨٥^{A}	١/٢٨٥^{A}	٢/٢٣٨^{A}
نمونه با pH نهایی ٤/٦ (A)	٥°C	٤/٦ – ٤/١٢٥	٣١ – ٤٥/٥	٢/٠٢٢^{C}	٠/٧^{C}	—
	١٠°C	٤/٦ – ٤/٠١	٣١ – ٥١	٠/٠٢٨^{B}	٠/٩٨^{B}	٢/١^{B}
	١٥°C	٤/٦ – ٣/٩	٣١ – ٥٨	٠/٠٣٣^{A}	١/٣^{A}	٢/٣٥^{A}

*معنی داری در سطح ٥٪ و مقایسه ها برای هر نمونه بطور جداگانه با حروف بزرگ لاتین و ستونی می باشد.

**منظور از انتهایی روز ٢١ نگهداری می باشد.

بررسی اثر منفرد دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

تاثیر منفرد دمای گرمخانه گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدیوباکتریوم لاکتیس* در جدول ٢ نشان داده شده است. اثر معنی‌داری در سطح (p <٠/٠٥) در خصوص تاثیر pH بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه های تخمیر شده مشاهده نشد. دلیل این موضوع می‌تواند گونه نژادی این باکتری باشد. این نتیجه مطابق است با تحقیقات گذشته که توقف رشد اسیدوفیلوس‌ها را در pH=٤ و اسیدیته بیشتر از ٪٠/٦ (٦٠ درجه درنیک) دانسته‌اند (شاه ١٩٩٧ و شاه ٢٠٠٠). در حالی که pH نهایی در سطح (p <٠/٠٥) اثر معنی‌داری را بر زنده‌مانی باکتری‌های *بیفیدیوباکتریوم لاکتیس* نشان داد. تحقیقات گذشته نشان داده است به دلیل حساسیت بالای این باکتری‌ها نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* باعث شده تا مرگ و میر آنها از pH <٥ آغاز گردد (گومزو مالکاتا ١٩٩٩، ویندرولا و وین هیمر ٢٠٠٠ و اسگورباتی و همکاران ١٩٩٥). کاهش pH در محدوده قابل قبول و استاندارد دوغ (pH<٤/٦) باعث مرگ و میر و کاهش زنده‌مانی بیفیدیوباکتریوم گردید.

دمای گرمخانه‌گذاری اثر معنی‌داری در سطح (p <٠/٠٥) بر زنده‌مانی هر دو باکتری پروبیوتیک دارد. بیشترین و کمترین میزان زنده‌مانی به ترتیب در دمای ٣٧ و ٤٤°C می‌باشد. دماهای بالاتر از ٣٧°C باعث افزایش روابط پادیاری بین باکتری‌های سنتی ماست بالاخص

لاکتوباسیلوس دلبروکی گونه *بولگاریکوس* و باکتری‌های پروبیوتیک می‌گردد. زیرا هر چه به دماهای بهینه رشد باکتری‌های سنتی ماست نزدیک‌تر می‌شویم بر شدت روابط آنتی گونیستی، به دلیل افزایش رشد باکتری‌های سنتی ماست و غالب آمدن آنها در محیط، افزوده می‌شود (وارنام و سوترلند ۱۹۹٤). غالب آمدن باکتری‌های سنتی ماست باعث افزایش سرعت تغییرات اسیدیته و تولید پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها در محیط می‌گردد (تمیم ۲۰۰۲، شاه ۲۰۰۰ ، ریبکا ۱۹۹٤و گلیلند و اسپک ۱۹۷۷). در محصولات پروبیوتیک حاصل از کشت‌های همراه نوع ABY کاهش میزان باکتری‌های پروبیوتیک ،به طور مثال *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، بر اثر تولید پراکسید هیدروژن توسط *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریگوس* گزارش شده است (شاه و همکاران ۱۹۹۵ و دیو و شاه ۱۹۹۷) و هر چه شرایط گرمخانه‌گذاری به دمای بهینه جهت رشد باکتری‌های سنتی ماست نزدیک‌تر باشد، سرعت کاهش pH به زیر حد بهینه رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یعنی ٦-٥/٥ افزایش می یابد (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹) و ضمن غالب آمدن این باکتری‌ها بر پروبیوتیک‌ها باعث نزول pH به محدوده خارج از توان تحمل باکتری‌های پروبیوتیک بالاخص بیفیدوباکتریوم (pH <٥) می‌گردد (گومز و مالکاتا ۱۹۹۹ و دیو و شاه ۱۹۹۷).

در محصول دوغ پروبیوتیک با استفاده از کشت، مخلوط دمای بهینه رشد پروبیوتیک‌ها ۳۷°C می‌باشد. در این دما تاثیر روابط همزیستی در بیشترین حد خود نسبت به روابط پادیاری می‌باشد و در نتیجه زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در این دما در بیشترین مقدار مشاهده می‌شود.

جدول ۲- بررسی اثر منفرد دمای گرمخانه گذاری، pH نهایی بر زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک (log cfu/mL)

نوع باکتریهای پروبیوتیک	دمای گرمخانه گذاری °C			pH نهایی		
	۴۴°c	۴۰°c	۳۷°c	۴	۴/۴	۴/۶
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس	٦/٤٦[c]	۷/۱۲[b]	۷/۲٥[a]	٦/۸۳[a]	٦/۸٤[a]	٦/۸۱[a]
بیفیدوباکتریوم لاکتیس	۷/۰۰٥[c]	۷/۲۷[b]	۷/٥٤[a]	۷/۱۱[c]	۷/٤٦[b]	۷/٦٥[a]
مجموع پروبیوتیکها	۷/۱٦[c]	۷/٤٥[b]	۷/۷٥[a]	۷/۳٤[b]	۷/٥۸[a]	۷/٦۹[a]

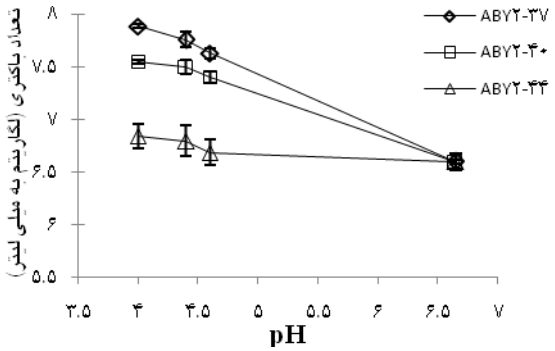
*معنی داری در سطح ٥٪ و مقایسه ها بطور ردیفی و تفاوتها با حروف کوچک لاتین نمایش داده شده است

اثر مشترک دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

در نمودار ۲و۳ تغییرات زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نشان داده شده است. دمای گرمخانه گذاری ۳۷ °C در مقایسه با دو دمای دیگر زنده مانی بیشتر هر دو باکتری را نتیجه داده است. زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در محدوده pH آزمایش، با کاهش pH، افزایش یافت و بیشترین و کمترین رشد به ترتیب در دمای گرمخانه گذاری ۳۷ و ٤٤ °C مشاهده شد (نمودار ۲). زنده مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در محدوده تغییرات pH در این تحقیق کاهش نشان داد و استفاده از دمای گرمخانه گذاری ۳۷ درجه سانتیگراد که دمای بهینه رشد این باکتری می باشد بیشترین زنده مانی را نتیجه داد (نمودار ۳). اثر متقابل دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* معنی‌دار بوده است.

با توجه به اینکه اسیدهای آلی حاصل از متابولیسم باکتریها در محدوده آزمایش اثر کشندگی بر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بواسطه مقاومت این باکتری تا pH> ٤ نشان ندادند اما شیب تغییرات این باکتری در دماهای گرمخانه گذاری ۳۷ درجه سانتیگراد ٦ برابر

شیب تغییرات رشد این باکتری در دمای گرمخانه گذاری ٤٤ ^{o}C بود. در دمای گرمخانه گذاری ٤٤ ^{o}C رشد باکتریهای سنتی ماست تحریک شده و با افزایش جمعیت این باکتریها بالاخص *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* که با تولید بیشتر پراکسید هیدروژن که از مهمترین متابولیتهای بازدارنده رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می باشد (تمیم و رابینسون ۱۹۹۹)، علاوه بر اینکه بر زنده مانی نهایی این باکتری تاثیر گذاشت، باعث شد تا شیب تغییرات زنده مانی نیز در دماهای گرمخانه گذاری متفاوت، تغییر کند.

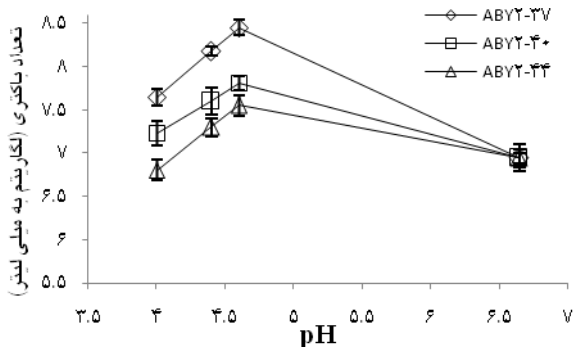


شکل۲- تغییرات زنده مانی *ل- اسیدوفیلوس* نسبت به تغییرات pH در حین تخمیر

شیب کاهش لگاریتمی جمعیت *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در حین تخمیر ثابت بوده و تغییر معنی داری در اثر کشندگی اسیدهای آلی بر این باکتری مشاهده نشد (شکل ۳). تجادا و همکاران در سال ۱۹۹۹ نیز چنین مشاهداتی را گزارش نموده اند. دیو و شاه (۱۹۹۷) در بررسی زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در ماست تهیه شده از کشتهای تجاری ABY بیان نمودند که اسیدهای آلی، تغییرات اسیدیته و پراکسید هیدروژن عامل اصلی کاهش زنده‌مانی در ببفیدوباکتریومها نمی باشد، بلکه محدودیت دسترسی به مواد مغذی در محیط با افزایش جمعیت باکتریهای سنتی و اثرات آنتاگونیستی عامل اصلی کاهش زنده مانی این باکتری می باشد.

بیشترین زنده‌مانی مجموع باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه گرمخانه‌گذاری شده در دمای ۳۷°C و با pH نهایی ٤/٤ و ٤/٦ مشاهده شد. در تحقیقات گذشته نیز نشان داده شده است که دمای پائین‌تر گرمخانه‌گذاری باعث شده تا بیشتر مواد مغذی در دسترس و استفاده باکتری‌های پروبیوتیک قرار گیرد و از غالب شدن باکتری‌های سنتی ماست ممانعت به عمل آمده است (هیوز و هوور ۱۹۹۵). مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۰٦ در استفاده از کشتهای ABY در تولید ماست پروبیوتیک گزارش نموده اند که دمای تخمیر ۳۷ ^{o}C در مقایسه با ٤۰، ٤٤-٤٥ درجه سانتیگراد بیشترین قابلیت زیستی و دمای تخمیر ٤٥ ^{o}C کمترین قابلیت زیستی را نتیجه داده است .

علیرغم حساسیت کم *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به ٤ >pH و رشد این باکتری حتی تا pH=٤/۰٥±۰/۰٥ ، مرگ و میر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از pH=٥ شروع شده و در پی کاهش pH ادامه می یابد. بطوریکه تفاوت معنی‌داری در زنده‌مانی مجموع باکتریهای پروبیوتیک بین نمونه‌های گرمخانه‌گذاری شده در دمای ۳۷ ^{o}C با pH نهایی ٤/٤ و ٤/٦ ایجاد نگردیده و این دو نمونه بیشترین زنده‌مانی مجموع باکتری‌های پروبیوتیک را دارا بودند.



شکل۳- تغییرات زنده مانی ب-لاکتیس نسبت به تغییرات pH در حین تخمیر

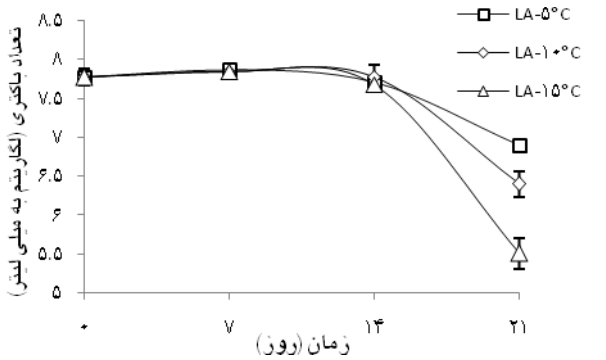
تاثیر دمای انبارمانی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

پس از مشخص شدن بهترین نمونه‌ها از نظر زنده‌مانی، دو نمونه که در دمای ۳۷°C با دو pH نهایی ٤/٦ (نمونه A) و ٤/٤ (نمونه B) تولید شده بودند. در سه دمای ٥، ١٠ و ١٥°C وارد مرحله انبارمانی به مدت ٢١ روز شدند.

بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

روند تغییرات زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مدت ٢١ روز در فواصل زمانی هفت روزه، در سه دمای نگهداری مورد بررسی قرار گرفت (شکل ٤). در هفته اول نگهداری اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در سه دمای نگهداری مشاهده نشد. این موضوع به دلیل مقاومت این باکتری به pH> ٤ است و در همه تیمارها در هفته اول نگهداری pH بالای ٤ بوده است. به دلیل مقاومت باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به شرایط اسیدی تا محدوده pH=٤/٠٥±٠/٠٥ نه تنها مرگ و میر در این باکتری بوقوع نمی‌پیوندد، بلکه در کلیه دماها رشد این باکتری‌ها مشاهده شد (شکل ٤). این نتیجه مطابق است با تحقیقات گذشته که توقف رشد اسیدوفیلوس‌ها را در pH برابر ٤ و اسیدیته بیشتر از ٪٠/٦ (٦٠ درجه درنیک) دانسته اند (شاه ١٩٩٧ و ٢٠٠٠). اما در دوغ به دلیل رقیق شدن محیط نسبت به ماست و کاهش ظرفیت بافری محیط، توقف رشد یا آغاز مرگ و میر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در اسیدیته کمتری (٥٠/٥-٤٦/٨) مشاهده گردید. پس از بیست و یک روز نگهداری در دمای ٥°C، زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقایسه با دمای نگهداری ١٠°C و ١٥°C اختلاف معنی داری را نشان داد. همچنین درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی باکتری‌ها در هفته دوم نگهداری به تدریج کاهش یافته و بیشترین کاهش در درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی در هفته سوم نگهداری اتفاق افتاد. بطوریکه در پایان ٢١ روز نگهداری نمونه ها در دمای ٥°C به ترتیب ٥٩٪ و ٨٦٪ از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* موجود در نمونه A و B از بین رفته بودند. که این مقدار در دماهای نگهداری بالاتر (١٥°C-١٠) به ٩٨-٩٥٪ افزایش یافت. این موضوع را این گونه می‌توان توضیح داد که تاثیرات آنتاگونیستی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه بولگاریکوس بر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و دیگر پروبیوتیک‌ها در دماهای بالاتر نگهداری با افزایش سرعت رشد و افزایش تولید اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء افزایش می‌یابد (جدول١). از این رو به طور کلی با توجه به اینکه در دماهای بالاتر نگهداری، به دلیل سرکش شدن *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و غالب شدن تدریجی این باکتری در محیط و ایجاد پدیده بیش اسید سازی موجبات از دست رفتن *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هفته‌های دوم نگهداری به بعد باعث ایجاد اختلاف معنی‌داری در زنده‌مانی این باکتری در دماهای نگهداری مختلف شده است.

بیشترین زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ٥ °C در هر دو نمونه A و B طی ٢١ روز نگهداری مشاهده شد که در این شرایط نگهداری، pH در بالاترین حد خود قرار داشته و دمای نگهداری ٥ °C بیشترین مقدار زنده‌مانی این باکتری نسبت به دماهای دیگر نگهداری (١٥ °C و ١٠) را ایجاد نمود.



شکل ۴- تغییرات زنده مانی ل- اسیدوفیلوس در نمونه B در مدت ۲۱ روز انبارمانی

بررسی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در انبارمانی

شکل ۵ میزان تغییرات در زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس در طول ۲۱ روز نگهداری در نمونه B در سه دمای ۵، ۱۰ و ۱۵°C را نشان می‌دهد. در مدت ۲۱ روز نگهداری اختلاف معنی‌داری بین دماهای ۵ و ۱۰°C در زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* مشاهده نشد. مشخص شده است که بهترین دمای نگهداری برای بیفیدوباکتریوم‌ها ۸° C بوده و دمای کمتر از ۲ °C مقاومت این باکتری‌ها را کاهش می‌دهد (کایلاساپاتی و ریبکا ۱۹۹۷، گومز و مالکاتا ۱۹۹۹ و هیوز و هوور ۱۹۹۵). با توجه به این‌که دمای بهینه نگهداری یخچالی این باکتری دمای ۸°C است و در این دما حداقل روابط پادیاری[1] مابین *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* وجود دارد. دماهای یاد شده در محدوده شرایط بهینه نگهداری این باکتری قرار دارند. این در حالی است که در کلیه سیکل‌های زمانی نگهداری نمونه ها، اختلاف معنی‌داری بین دمای نگهداری ۵ و ۱۰ با ۱۵°C مشاهده شد و در دمای نگهداری ۱۵°C به واسطه شرایط سخت‌تر محیطی و غلبه باکتری‌های سنتی ماست و عدم دسترسی کافی این باکتریها به منابع انرژی و رشد، زنده‌مانی کمتر این باکتری مشاهده شد.

بیشترین میزان مرگ و میر این باکتری در هفته اول نگهداری مشاهده شد (جدول ۳). این امر نه تنها به واسطه حساسیت این باکتری نسبت به pH های پائین تر بلکه بدلیل کاهش روابط همیاری باکتریهای سنتی ماست جهت تامین نیازهای انرژی و رشد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* می‌باشد و میزان مرگ و میر در هفته‌های دوم و سوم نگهداری به تدریج کاهش می‌یابد. این پدیده به علت سازگار شدن تدریجی این باکتری به شرایط و فاکتورهای محیطی سخت می‌باشد. درنتیجه بیشترین زنده‌مانی در دمای ۵°C پس از ۲۱ روز مشاهده شد.

دمای نگهداری در فراورده‌های پروبیوتیک به طور مستقیم از طریق اثرگذاری بر قابلیت بقای سلول‌ها و به طور غیر مستقیم از طریق تغییرات سرعت تولید متابولیت‌های ضد میکروبی به خصوص در کشت‌های پروبیوتیک همراه با باکتری‌های سنتی ماست بر بقای پروبیوتیک‌ها تاثیر گذاشته و دماهای بالای نگهداری می‌تواند به دلیل سرکش شدن *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و ایجاد پدیده بیش اسیدسازی به مرور زمان موجبات از دست رفتن سلول‌های پروبیوتیک را

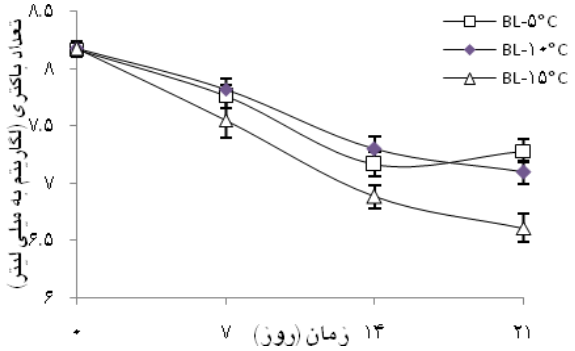
جدول ۳- درصد ضریب تغییر نسبی زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک در مدت ۲۱ روز نگهداری

pH نمونه	نوع باکتری پروبیوتیک	دمای نگهداری یخچالی (° C)	ضریب تغییر نسبی رشد باکتریها در دوره زمانی نگهداری(هفته)		
			۰ -۷	۷ - ۱۴	۱۴ - ۲۱
۴/۶ (A)	ل-اسیدوفیلوس	۵	۴۱/۲۵	۲۳/۰۳	-۵۹/۲۶
		۱۰	۳۱/۸۲	۲/۳۳	-۹۷/۳
		۱۵	۳۴/۸۹	-۱۸/۷۱	-۹۷/۴۲
	ب- لاکتیس	۵	-۶۸/۳۷	-۸۹/۵۲	-۹۲/۹۲
		۱۰	-۶۰/۱۸	-۹۰/۰	-۹۳/۶۹
		۱۵	-۸۰/۰۴	-۹۲/۰	-۹۷/۱۸
۴/۴ (B)	ل-اسیدوفیلوس	۵	۲۸/۸۲	-۴/۵	-۸۶/۵۱
		۱۰	۲۰/۲۲	۲/۳۳	-۹۵/۷۳
		۱۵	۱۲/۲۰	-۱۴/۸۸	-۹۸/۶۵
	ب- لاکتیس	۵	-۶۲/۸۴	-۸۷/۹۷	-۹۳/۰
		۱۰	-۶۴/۵۱	-۸۸/۷۷	-۹۲/۹۲
		۱۵	-۷۹/۵۸	-۹۳/۲۴	-۹۷/۷۶

*- ضریب تغییر نسبی نشان دهنده درصد افزایش یا کاهش تعداد باکتریها نسبت به مقدار اولیه در نمونه می باشد.

**- اعداد منفی نشان دهنده درصد کاهش زنده‌مانی باکتریها می باشد.

فراهم آورد.



شکل ۵- تغییرات زنده مانی ب- لاکتیس در نمونه B در مدت ۲۱ روز انبارمانی

بطور قاعده ای کلی در ماست و دوغ تهیه شده از کشت آغازگر ABY دمای ۵-٤ °C بهترین نتیجه را از نقطه نظر قابلیت زیستی هر دو نوع باکتری پروبیوتیک نتیجه می دهد.

بررسی خواص حسی

اگر چه ارزش اساسی فرآورده‌های پروبیوتیک خاصیت دارویی (قابلیت زیستی) آنها است، خواص حسی این فرآورده‌ها نیز جایگاه پراهمیتی دارند، به عبارت دیگر، امتیاز مصرف پروبیوتیک‌ها از طریق مواد غذایی و نه به صورت دارو، برخورداری از خواص حسی آنهاست و در میان فرآورده‌های پروبیوتیک، فرآورده‌های تخمیری و به ویژه ماست پروبیوتیک به دلیل خواص حسی کم نظیر از مقبولیت جهانی برخوردار است. بررسی خواص حسی محصولات پروبیوتیک یکی از مهم‌ترین مسایل مورد بررسی است تا یک محصول با در نظر گرفتن بالاترین قابلیت زیستی و خواص حسی مطلوب انتخاب و در اختیار مصرف کنندگان قرار گیرد.

مهمترین عوامل موثر در طعم محصولات لبنی مقادیر استالدئید و دی استیل می‌باشند که در اثر تخمیر در محصولات لبنی ایجاد و بعضی از باکتری‌های سیترات منفی مثل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* قادر به تجزیه دی استیل به استوئین می‌باشند. باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشتر از *بیفیدیوباکترها* قادر به تولید اسید لاکتیک هستند و استالدئید تولیدی را توسط آنزیم الکل دهیدروژناز به اتانول احیاء می‌کنند (رابرفورد ۱۹۹٦). کلیه واکنش‌هایی که منجر به تولید مواد موثر بر طعم و بو و تجزیه آنها توسط پروبیوتیک‌ها می‌گردند، پیچیدگی خاصی را ایجاد می‌کنند که انجام آزمون‌های حسی را جهت انتخاب محصول مناسب از نظر خواص حسی امری ضروری می‌نماید . به منظور بررسی خواص کیفی، نمونه با دمای گرمخانه‌گذاری ۳۷°C و pH نهایی ٤/٤ و ٤/٦ در سه دمای نگهداری ۵، ۱۰ و ۱۵°C وارد مرحله انبارمانی شده و از لحاظ طعم (ترشی)، رایحه، احساس دهانی، طعم‌های مشکوک و نامطلوب (به علت تولید اسید استیک در محصولات پروبیوتیک) و قابلیت پذیرش کلی در مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین پذیرش کلی مربوط به تیمارهایی است که در دمای ۱۵°C نگهداری و کمترین پذیرش کلی مربوط به نمونه‌هایی است که در دمای ۵° C نگهداری شدند (جدول ٤). عامل اساسی و موثرترین عامل اختلاف در سطح ($p<۰/۰۵$) در خصوصیات حسی در دمای نگهداری ۵°C به واسطه کاهش روند رشد باکتری‌های سنتی ماست و کاهش تولید دی استیل‌ها و کم بودن مواد طعم دار، رایحه و طعم از دیگر نمونه‌ها که در دمای ۱۵°C نگهداری شده‌اند، می‌باشد اما همان‌گونه که مشاهده می‌شود، طعم نمونه‌های با زنده‌مانی بالای باکتری‌های پروبیوتیک در حد متوسط به بالا ارزیابی شده و با توجه به قابلیت فراسودمند بودن این فراورده می‌تواند مورد مصرف قرار گیرد.

جدول ۴- بررسی خواص حسی دوغ در ۲۱ روز نگهداری

	دمای انبارمانی	زمان	احساس دهانی	طعم	رایحه	طعم نامطلوب	پذیرش کلی
		۰	٤/٦^{ab}	٤^{bc}	۳/۲^{c}	۱/۲^{a}	٤^{bc}
		۷	٤/۷۷^{ab}	٤/۲^{b}	۳/۳^{c}	۱/۲^{a}	٤/۱^{c}
	۵° c	۱٤	٤/۵^{ab}	٤/۲۵^{b}	۳/۵^{c}	۱/۵^{a}	٤/۳^{c}
		۲۱	٤/۹^{a}	٤/٤^{b}	۳/٤^{c}	۱/٤^{a}	٤/۸^{c}
نمونه (B)		۷	۵^{a}	۵^{b}	٤^{b}	۱/۱^{a}	٤/۲^{c}
	۱۰° c	۱٤	۵/۲^{a}	٤/۲^{b}	٤/۳^{b}	۱/۳^{a}	٤/۳^{c}
		۲۱	۵^{a}	۳^{c}	٤/۱^{b}	۱/۳^{a}	٤/۵^{c}
		۷	۵/۱^{a}	۵/٦^{ab}	٤/۲^{b}	۱^{a}	۵/۵^{b}
	۱۵° c	۱٤	٤/۹^{a}	۵/۹^{a}	۵/۷^{a}	۱/۲^{a}	۵/۸^{ab}
		۲۱	۵/۲^{a}	٦/۱^{a}	۵/٦^{a}	۱/۱^{a}	٦/۳^{a}

معنی داری در سطح ۵٪ و مقایسه ها بصورت ستونی می باشد

نتیجه‌گیری

نتیجه این پژوهش نشان داد که نمونه‌هایی که شرایط گرمخانه‌گذاری با دمای ۳۷°C بر آنها اعمال شده و تخمیر در pH نهایی ٤/٤ و ٤/٦ متوقف گردید، بیشترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را در استفاده از کشت آغازگر ABY حاصل نمود. دمای گرمخانه گذاری و pH نهایی، علیرغم اینکه زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در pH>٤ مستقل از فاکتور pH می‌باشد، اثر مشترکی بر زنده‌مانی مجموع باکتریهای پروبیوتیک داشت. نگهداری در دمای ۵°c بیشترین زنده‌مانی را برای هر دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* پس از ۲۱ روز انبارمانی حاصل نمود. علیرغم اینکه بهترین خصوصیات حسی برای نمونه نگهداری شده در ۱۵°c با کمترین pH و بیشترین رشد باکتریهای سنتی ماست حاصل شد. اما نمونه مذکور دارای کمترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می باشد و خصوصیات حسی نمونه‌های با زنده‌مانی بالای باکتریهای پروبیوتیک بصورت بیشتر از حد متوسط ارزیابی شدند که نشان از مقبولیت نسبی این محصول از سوی ارزیابی کنندگان است و با توجه به اینکه زنده مانی در نمونه های نگهداری شده در دمای ۵ و ۱۰ درجه سانتیگراد پس از ۲۱ روز نگهداری در سطح قابل قبولی بود. می توان با رعایت شرایط بهینه تولید و تولید محصول با بالاترین pH قابل قبول و تعریف شده برای این فرآورده (٤/٦) و رعایت زنجیره سرد در توزیع با تولید دوغ که مصرف سرانه بالایی دارد در ارتقاء سلامت جامعه گام برداشت.

تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی گروه علوم ومهندسی صنایع غذایی دانشگاه تهران و شرکت زمزم ایران که هزینه و امکانات انجام این پژوهش را تامین نمودند.

منابع مورد استفاده

مرتضویان ا.م و سهرابوندی س، ۱۳۸۳. مروری بر خواص حسی ماست. انتشارات اتا.

Akin N and Rice P, 1994. Main yoghurt and related products in Turkey. Cultured Dairy Products Journal 29 (3): 23-29.

Dave R I and Shah N P, 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. Int Dairy Journal 7: 31-34.

Dave R I and Shah N P, 1998. Ingredient Supplementation Effects on Viability of Probiotic Bacteria in Yogurt. Journal of Dairy Science 81: 2804-2816.

Dinakar P and Mistry V V, 1994. Growth and viability of *Bifidobacterium bifidum* in cheddar cheese. Journal of Dairy Science 77: 2854-2864.

Gilliland SE and Speck M L, 1977. Instability of *L.acidophilus* in yoghurt. Journal of Dairy Science, 60:1394-1398

Gomes A M P and Malcata F X, 1999. *Bifido bacterium spp* and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trend in Food Science and Technology10: 139 –157.

Hekmat S and McMahn D J, 1992. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. Journal of Dairy Science 75: 1415-1422.

Hughes D B and Hoover D G, 1995. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. Journal of dairy science 78: 268-276.

Hull R R, Roberts A V and Mayes J J, 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yogurt. The Australian Journal of Dairy Technology 39 (4): 164-166.

Kailasapathy K, Rybka S, 1997. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp*. - Their therapeutic potential and survival in yogurt. Australian Journal of Dairy Technology 52: 28-33.

Kiani H, Mousavi M E, Razavi H and Morris E R, 2010. Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. Food Hydrocolloids 24: 744-754.

Kitazawa Y, Ueha S ,Itoh S, Watanabe H, Konno K, Kawai Y, Saito T, Itoh T and Yamagouchi T, 2001. At oligonucleotides inducing B lymphocyte activation exist in probiotic *Lactobacillus gasseri*. International Journal of Food Microbiology 65: 149-162 .

Kneifel W, Jaros D and Erhard F, 1993. Microflora and acidification properties of yoghurt and yoghurt-related products fermented with commercially available starter cultures. International Journal of Food Microbiology 18: 179–189.

Mortazavian A M , Ehrani M R , Mousavi S M , Reinheimer J A , Emamdjomeh Z , Sohrabvandi S and Rezaei K, 2006 . Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt. International journal of dairy technology 59: 8.

Mortazavian A M, Sohrabvandi S and Reinheimer J A, 2007. MRS-bile agar: Its suitability for the enumeration of mixed Probiotic cultures in cultured dairy products. Milchwissenschaft 62: 270-272.

Nighswonger B D, Brashears M M, Gilliland S E, 1996. Viability of Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei in fermented milk products during refrigerated storage. Journal of Dairy Science 79 (2): 212-219.

Roberfrod M B, 1996. Functional effects of food components and the gastrointestinal system: chicory fructooligosaccharides. Nutrition Reviews 54: 538-542.

Rybka S, 1994. The enumeration of Lactobacillus, Streptococcus and Bifidobacterium species in yogurt. B.Sc. dissertation, University of New South Wales, Sydney.

Sanders M E, 1998. Overview of functional foods- emphasis on probiotic bacteria. International Dairy Journal8 : 341-349 .

Sgorbati B, Biavati B and Palenzona D, 1995. The genus *Bifidobacterium*. Blackie Academic, London.

Shah N P, Lankaputhra W E V, Britz M L and Kyle W S A, 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *B. bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. Int. Dairy Journal 5: 515-521.

Shah N P, 1997. *Bifidobacteria*: Characteristics and potential for application in fermented milk products. Milchwissenschaft 52: 16-21.

Shah N P, 2000. Symposiom: probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science 83: 894-907.

Tamime A Y, 2002. Fermented milks: a historical food with modern applications-a review. European Journal of Clinical Nutrition, 56, Suppl 4, S2–S15.

Tamime A Y and Robinson R K, 1999. Yoghurt science and technology. woodhead publishing Ltd and CRC Press LLC, Cambridge.

Tharmaraj N and Shah N P, 2004. Survival of *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus paracasei subsp.paracasei, Lactobacillus rhamnosus, Bifidobacterium animalis* and *Propionibacterium* in cheese-based dips and the suitability of dips as effective carriers of probiotic bacteria. International Dairy Journal 14:1055-1066.

Tejada-Simon M V and Pestka J J, 1999. Proinflammatory Cytokine and Nitric Oxide Induction in Murine Macrophages by Cell Wall and Cytoplasmic Extracts of Lactic Acid Bacteria .Journal of Food Protection 62:1435-1444.

Varnam A H and Sutherland J P, 1994. Milk and milk products Technology, Chemistry and Microbiology. Chapman and Hall, London.

Vinderola C G, Reinheimer J A, 2000. Enumeration of *Lactobacillus casei* in the presence of *L.acidophilus, Bifidobacteria* and Lactic starter bacteria in fermented dairy products. International Dairy Journal 10: 271-275.