مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۳/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱ تا ۱۸

اثر عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی بر برخی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی و فعالیت پروتئازی خامه پاستوریزه

هلیا آقامحسنی[۱]، وجیهه فدائی نوغانی[۲*] و مهناز خدائی جویاری[۳]

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۸/٤/٤

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی،تهران، ایران
[۲] دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی،.تهران، ایران
[۳] معاونت آموزش و تحقیقات، شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران، تهران، ایران
[*] مسئول مکاتبه:Email: vn.fadaei@gmail.com

چکیده

زمینه مطالعاتی: با افزایش غلظت عصاره‌های دانه سویا و لوبیا چشم بلبلی، میزان بازدارندگی پروتئازی در خامه پاستوریزه افزایش یافت و میزان بازدارندگی عصاره دانه سویا بیش‌تر از عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی بود. **هدف**: هدف از این پژوهش، استفاده از موادی برای بازدارندگی عمل پروتئازها، به ویژه پلاسمین، در خامه پاستوریزه بود. **روش کار**: در این پژوهش، تأثیر بازدارنده‌های پروتئازی عصاره دانه سویا (۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ واحد بازدارنده تریپسین)، لوبیا چشم‌بلبلی (۰، ۱۰۰، ۳۰۰ و ۵۰۰ واحد بازدارنده تریپسین) و ترکیبی از عصاره‌های دانه سویا (۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ واحد بازدارنده تریپسین) و لوبیا چشم‌بلبلی (۵۰، ۱۵۰ و ۲۵۰ واحد بازدارنده تریپسین) بر برخی ویژگی‌های نمونه‌های خامه پاستوریزه طی۱۳روز در فواصل ۳ روزه بررسی شد. **نتایج**: در اسیدیته، ویسکوزیته، آب‌اندازی، اندیس‌پراکسید، اندیس‌آنیزیدین و شمارش کلی میکروبی، اختلاف معنی‌داری میان تیمارها و طی نگه‌داری وجود داشت ($P<۰/۰۵$) به طوری‌که اسیدیته، ویسکوزیته، آب‌اندازی، اندیس‌پراکسید با افزودن عصاره‌ها افزایش و اندیس‌آنیزیدین و شمارش کلی میکروبی کاهش یافت و اسیدیته، میزان آب‌اندازی، شمارش کلی میکروبی واندیس پراکسید و اندیس‌آنیزیدین در طی زمان افزایش اما ویسکوزیته طی نگه‌داری کاهش یافت. در میزان بازدارندگی پروتئازی تمامی تیمارهای حاوی عصاره سویا و لوبیا چشم‌بلبلی، اختلاف معنی‌داری ملاحظه شد ($P <۰/۰۵$)؛ اما اختلاف طی نگه‌داری معنی‌دار نبود ($P >۰/۰۵$) و غلظت بالاتر عصاره‌ها، درصد بازدارندگی بالاتری را ایجاد نمود درنتیجه میزان بازدارندگی تحت‌تأثیر غلظت بود و چون درصد بازدارندگی نمونه حاوی عصاره دانه سویا با فعالیت ۵۰۰ TIU/ml بیش‌تر از نمونه حاوی عصاره دانه سویا با فعالیت ۲۵۰TIU/mlو عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی با فعالیت ۲۵۰ TIU/ml بود؛ می‌توان گفت عصاره دانه سویا توانسته است قوی‌تر از عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی عمل نماید. درآزمون حسی، اختلاف معنی‌داری میان تیمارها و طی نگه‌داری مشاهده نشد ($P >۰/۰۵$). **نتیجه‌گیری نهایی**: نمونه حاوی ۵۰۰ TIU/ml سویا به‌دلیل ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی مناسب و ویژگی‌های میکروبی و حسی مقبول، به عنوان تیمار برتر معرفی شد.

واژگان کلیدی: بازدارنده پروتئازی، تلخی، خامه پاستوریزه، عصاره دانه سویا، عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی

مقدمه

خامه، توده‌ای از گویچه‌های چربی شیر است که سطح این گویچه‌ها با یک غشای لیپوپروتئینی مرکب پوشش داده شده است (آهویی و همکاران ۱۳۹۵). میزان چربی خامه بین ۱۰ تا ۵۰ ٪ متفاوت است و تیمارهای حرارتی استفاده شده برای سالم‌سازی آن، پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون می‌باشند. معمولاً استفاده از پاستوریزاسیون ملایم جهت حفظ طعم مطلوب خامه، بهترین روش است (هافمن ۲۰۱۱).

پروتئاز، یکی از آنزیم‌های موجود در شیر و محصولات لبنی است که موجب کوتاه شدن زمان نگه‌داری آن‌ها می‌شود. این آنزیم سبب هیدرولیز پروتئین‌ها به پپتیدهای تلخ می‌شود. پروتئازها در شیر منشاء طبیعی و میکروبی دارند. پروتئازهای میکروبی عموماً از گونه‌هایی نظیر باسیلوس و سودوموناس تولید می‌گردند. پروتئازهای این میکروارگانیسم‌ها مقاوم به حرارت هستند و همین امر، سبب تلخی محصول و ظهور ویژگی‌های حسی نامطلوب می‌شود (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). سرین پروتئازها، نظیر آنزیم پلاسمین، عامل اصلی فساد شیر و محصولات لبنی می‌باشند (نیلسن ۲۰۰۲).

بهترین و ساده‌ترین راه برای جلوگیری یا کاهش تلخی ایجاد شده در محصولات لبنی، استفاده از بازدارنده‌های پروتئازی است. لازم به ذکر است حذف تلخی با استفاده از روش‌های جذب، کربن فعال و انواع کروماتوگرافی و استخراج حلال نیز امکان‌پذیر است اما به عنوان آخرین راه‌حل به‌کار برده می‌شود زیرا بسیار هزینه‌بر بوده و مواد مصرفی برای استخراج آن‌ها سمی است؛ لذا در حال حاضر، این روش‌های تجاری برای حذف پپتیدهای تلخ در دسترس نیستند (لمیوکس و سیمارد ۱۹۹۲).

بازدارنده‌های گیاهی پروتئازی، پروتئین‌های کوچکی‌اند که در بافت‌های ذخیره‌ای گیاهان وجود دارند و جهت عدم تجزیه بخش‌های پروتئینی گیاهان حین حمله حشرات و بروز آفات فعال می‌شوند (شکیبا و همکاران ۱۳۸٦). دانه سویا و دانه لوبیا چشم‌بلبلی ازجمله گیاهانی هستند که دارای این بازدارنده‌ها می‌باشند و با غیرفعال کردن این آنزیم‌ها توسط مکانیسم‌های مختلف سبب جلوگیری از فعالیت آن‌ها می‌شوند. وجود ترکیبات فنولی در این دانه‌ها سبب ایجاد کمپلکس فنول- پروتئاز می‌شود و هرچه محتوای فنولی در این گیاهان بیش‌تر باشد، اثر بازدارندگی بیش‌تر است. هم‌چنین، در این دانه‌ها، بازدارنده سرین پروتئاز با بلوکه‌کردن مستقیم بخش فعال آنزیم و تشکیل کمپلکس، از فعالیت پروتئاز می‌کاهد (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). برخی از ترکیبات شیمیایی گیاهی به عنوان بازدارنده‌ی پروتئازی در دانه سویا (*Glycine Max L.Merr*) یافت شده‌اند و می‌توان از آن‌ها به‌عنوان افزودنی جهت بازدارندگی فعالیت پروتئازها در فرمولاسیون برخی از مواد غذایی استفاده کرد که دارای خواص ضدسرطانی نیز هستند (میرزایی و همکاران ۱۳۸۹). بازدارنده‌های پروتئازی در لوبیای چشم‌بلبلی (*Vigna Unguiculata L.Walp*) نیز به میزان زیاد وجود دارند که سبب اختلال در هضم مواد غذایی می‌شوند؛ اما امروزه، نقش سازنده آن‌ها در جلوگیری از سرطان، بیماری‌های قلبی و خواص ضداکسیدانی و ضد-میکروبی آن‌ها به اثبات رسیده است و از آن‌ها به‌عنوان عناصر سلامتی‌بخش یاد می‌شود (سیدیق و یوبرساکس ۲۰۱۲).

یافته‌های مطالعاتی بسیاری در ارتباط با اثر افزودن آرد دانه سویا یا لوبیا چشم‌بلبلی به‌جای آرد گندم جهت افزایش راندمان اقتصادی در محصولاتی همچون خامه، کیک و شکلات صبحانه انجام پذیرفته است (ایوبی و مظاهری‌تهرانی ۱۳۹۲؛ پژوهان‌مهر و مظاهری‌تهرانی ۱۳۹۳؛ کامپبل و همکاران ۲۰۱٦)؛ برخی یافته‌ها نیز اثر بازدارنده‌های تریپسین سویا یا لوبیا چشم‌بلبلی را بر کاهش پروتئازهای موجود در شیر کم‌چرب و یا اثر آن را بر حفظ کیفیت عضله میگو طی نگه‌داری مورد بررسی قرار داده‌اند (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤؛ اسریکت و

همکاران ۲۰۱۱)؛ ولی به اثر هم‌زمان عصاره‌ی دانه سویا و لوبیاچشم‌بلبلی حاوی بازدارنده تریپسین بر کاهش فعالیت پروتئازهای محصولات غذایی مخصوصاً در محصولات لبنی همچون خامه پرداخته نشده است زیرا نوع و میزان هر یک از ترکیبات موجود در مواد غذایی، که در این پژوهش ترکیب پروتئین و میزان آن در ساختار ماده غذایی مدنظر است، و روش تیمار حرارتی نیز بر روی میزان بازدارندگی ایجاد شده توسط عصاره‌ها مؤثر هستند و در این زمینه، تحقیقات بسیار کمی وجود دارد. با توجه به تقاضای بالای مصرف خامه، بحث حفظ کیفیت آن طی نگه‌داری، مسئله‌ای ضروری است. به دلیل تحمل حرارتی پروتئازها، به‌ویژه آنزیم پلاسمین، استفاده از موادی جهت بازدارندگی عمل این آنزیم‌ها حائز اهمیت است. لذا در این پژوهش، اثر غلظت‌های مختلف عصاره دانه سویا و لوبیا چشم‌بلبلی حاوی بازدارنده تریپسین و استفاده توأم از غلظت‌های مختلف عصاره دانه سویا و لوبیا چشم‌بلبلی بر برخی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی، شمارش کلی میکروبی و حسی خامه پاستوریزه طی نگه‌داری مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

دانه سویا از مزارع کشت سویا (گرگان، ایران)، دانه لوبیا چشم‌بلبلی از مزارع کشت لوبیا چشم‌بلبلی (دزفول، ایران)، پایدارکننده خامه از شرکت تیت اند لیل انگلستان، و آنزیم تریپسین از شرکت سیگمااندآلدریچ تهیه شد.

روش تهیه عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی و محاسبه میزان بازدارندگی عصاره‌ها

دانه سویا پس از پوسته‌گیری، در مخلوط‌کن (پارس‌خزر، ایران) آسیاب گردید. آرد حاصله با ان-هگزان (گلهاطب، ایران) به نسبت ۱:۵ وزنی- حجمی برای یک ساعت جهت چربی‌زدایی مخلوط شد؛ سپس، خشک گردید؛ دوباره آسیاب شد و دومرتبه چربی‌زدایی گردید و محصول جهت خروج باقی‌مانده هگزان، یک شب در زیر هود (مکس، ایران) قرار داده شد. سپس، آرد حاصله دوباره آسیاب و از مش ۱۰۰۰μm (آی کی‌ای، آلمان) عبور داده شد؛ لازم به ذکر است به‌دلیل کم بودن میزان چربی در دانه لوبیا چشم‌بلبلی، مرحله چربی‌زدایی برای این دانه حذف گردید. جهت استخراج پروتئین، آردهای حاصله در بافر فسفات (سیگمااندآلدریچ، آمریکا) ۰/۱M در pH ۷/۵ به‌نسبت ۱:۲۰ وزنی- حجمی، ٤ ساعت در دمای ۲۵°C در بن‌ماری شیکردار (ممرت، آلمان) نگه داشته شدند. سپس؛ محلول حاصله در ۱۰۰۰۰g برای ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ (ژربر، آلمان، مدل میکرو۲) شد و محلول شناور حاصله به‌عنوان عصاره بازدارنده تریپسین به‌دست آمد (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). میزان پروتئین عصاره‌ی دانه سویا، (mg/ml) ۱۲/۵ و در دانه لوبیا چشم‌بلبلی، (mg/ml)۸/۲ بود که توسط روش بردفورد محاسبه شد؛ به‌طوری که ۲۰μl از عصاره پروتئینی حاصله توسط پیپت (ایزولب، انگلستان) در پلیت چاهک‌دار پلی‌استیرن ۹٦ تایی (سیگما اندآلدریچ، آمریکا) اضافه شد؛ سپس، μl ٤۰ معرف بردفورد (سیگمااندآلدریچ، آمریکا) به آن اضافه شد و نمونه با افزودن آب مقطر به حجم۲۰۰μlرسانده شد و از اختلاف میزان جذب محلول حاصله در اسپکتروفتومتر (یونیکو، آمریکا) در طول‌موج ۵۹۵nm با شاهد (معرف بردفورد)، میزان جذب اندازه‌گیری گردید و از طریق رسم منحنی استاندارد برفورد با استفاده از معرف بردفورد به عنوان پروتئین استاندارد و رسم معادله خط به‌دست آمده، غلظت پروتئین استخراجی مجهول سنجیده شد (برادفورد ۱۹۷٦). با این‌که حرارت سبب کاهش فعالیت عصاره‌ها می‌شود اما برای کاهش بار میکروبی، عصاره‌ها در pH ۸ و دمای ۵۵°C به مدت یک دقیقه سالم‌سازی شدند.

برای سنجش میزان بازدارندگی تریپسین عصاره‌های پروتئینی، آنزیم با غلظت موردنظر (TU/μg)۱۰۰ توسط افزودن ۲۰μg آنزیم تریپسین گاوی (سیگمااندآلدریچ، آمریکا) به‌عنوان یک سرین‌پروتئاز با فعالیت (٥TU/μg) و ۲۰μg از عصاره‌های پروتئینی برای یک ساعت در دمای ۲۵°C قرار داده شدند. سپس، ۸۰μg آزوکازئین

(سیگماآندآلدریچ، آمریکا) به‌عنوان سوبسترا اضافه شد و۵ml بافرتریس ۵mM (سیگماآندآلدریچ، آمریکا) در pH۷ به ترکیب فوق افزوده و در دمای ۳۰°C برای ۳۰ دقیقه نگه‌داری شد؛ واکنش توسط افزودن ۱۰۰µl تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰٪ (گلهاطب، ایران) پایان یافت و محلول فوق در دمای ۰°C برای ۳۰ دقیقه قرار داده شد و پس از آن، محلول حاصل در ۱۵۰۰۰g در دمای ٤°C به مدت۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (ژربر، آلمان، مدل میکرو۲) گردید .سپس، ۱۳۳µl از محلول شناور حاصله توسط ۳۳µl سدیم‌هیدروکسید ۱/۸ نرمال (مرک، آلمان) خنثی شد و میزان جذب نور توسط اسپکتروفتومتر (یونیکو، آمریکا) در طول‌موج ٤۲۰nm قرائت گردید. برای سنجش میزان پروتئین عصاره‌ها، منحنی استاندارد سنجش پروتئین عصاره‌ها با در نظر گرفتن آلبومین به عنوان پروتئین استاندارد رسم شد و از منحنی حاصله، میزان پروتئین عصاره‌ها تعیین گردید. نسبت میزان پروتئین عصاره‌ها و آنزیم بر میزان پروتئین آنزیم به صورت مجزا، میزان بازدارندگی عصاره‌های پروتئینی را مشخص می‌کند و با واحد (TIU/ml[1]) تعیین می‌گردد. یک واحد فعالیت آنزیم معادل با ۰/۰۱ میزان جذب در طول‌موج ٤۲۰nm و دمای ۳۰°C به مدت۳۰ دقیقه است (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). پس از سنجش میزان بازدارندگی عصاره‌ها، غلظت موردنظر آن‌ها برای افزودن به خامه تعیین گردید.

روش تهیه نمونه‌های خامه حاوی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی و محاسبه میزان بازدارندگی عصاره‌ها در خامه

چربی از شیرخام (شرکت پگاه تهران، ایران) به‌کمک دستگاه سپراتور (سوت ماشین، ایران) جداسازی گردید و پس از استاندارد شدن چربی (۲۵٪)، پایدارکننده خامه اضافه شد (۰/۲٪) و از طریق همزن آزمایشگاهی (آی کی‌ای، آلمان) مخلوط گردید؛ خامه در دمای ۷۲°C به مدت ۱۵دقیقه توسط مخزن پاستوریزاتور بخش تحقیق و توسعه شرکت پگاه تهران (سوت ماشین، ایران) تحت تیمار حرارتی پاستوریزاسیون غیرمداوم قرار گرفت به طوری‌که دمای خامه غیر پاستوریزه پس از افزودن به مخزن به تدریج تا ۷۲°C افزایش یافت و پس از رسیدن به آن دما، محصول به مدت ۱۵ دقیقه در آن دما نگه‌داری شد که جهت عدم افزایش دما با خنک‌کننده‌های مخزن پاستوریزاتور بخش تحقیق و توسعه شرکت پگاه تهران (سوت ماشین، ایران)، دمای جداره مخزن ثابت نگه داشته شد؛ سپس، با دستگاه هموژنایزر (آی‌کی‌ای، آلمان) در فشار ۱۵۰Kg/Cm^{2}هموژنیزه شد و آنزیم تریپسین گاوی (سیگماآندآلدریچ، آمریکا) به‌عنوان یک سرین‌پروتئازو عصاره‌های تولیدی در شرایط استریل به خامه اضافه شدند. لازم به ذکر است که بر اساس شدت بازدارندگی عصاره‌ها، ۱۰ تیمار (نمونه‌های خامه) در ظروف پلی- استایرن ۱۰۰ گرمی (شرکت پگاه تهران، ایران) طبق جدول (۱) تهیه شدند. پس از افزودن عصاره‌ها، درب ظروف با پوشش آلومینیومی بسته شد. برای سنجش میزان بازدارندگی عصاره‌ها در خامه، آنزیم (۰/۰۲٪) با غلظت موردنظر (۱۰۰TU/µg[2]) توسط افزودن ۲۰µg آنزیم تریپسین گاوی (سیگماآندآلدریچ، آمریکا) به‌عنوان یک سرین‌پروتئاز با فعالیت ۵TU/µg و عصاره‌های پروتئینی با غلظت‌های مشخص شده در جدول ۱ اضافه شدند.

پس از آن، نمونه‌ها یک ساعت در دمای ۲۵°C قرار داده شدند و ۱ میلی‌لیتر محلول سدیم‌سیترات ۰/٤M (موند استار،چین)، به نسبت ۱:۳ حجمی- وزنی به خامه افزوده شد و ترکیب حاصل در ۲۷۰۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، محلول شناور حاصله جمع‌آوری و دو مرتبه در ۱۵۰۰۰gبه مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید؛ محلول شناور حاصله ،برای اندازه‌گیری میزان بازدارندگی عصاره‌ها در خامه، جداسازی گردید؛ و پس از افزودن ۸۰µg آزوکازئین، به‌عنوان سوبسترا، و ۵ml بافرتریس ۵mM به آن، در دمای ۳۰°C برای ۳۰ دقیقه نگه‌داری شد؛ واکنش توسط

[1]Trypsin Inhibitor Unit/ml

[2]Trypsin Unit/µg

افزودن ۱۰۰µl تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰٪ پایان یافت؛ محلول فوق در دمای ۰°C برای ۳۰ دقیقه قرار داده شد و پس از آن، محلول حاصل در ۱۵۰۰۰ g در دمای ٤°C به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس، ۱۳۳µl از محلول شناور حاصله توسط ۳۳µl سدیم‌هیدروکسید ۱/۸ نرمال (مرک، آلمان) خنثی شد و میزان جذب نور توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ٤۲۰nm قرائت گردید. برای سنجش میزان پروتئین عصاره‌ها، منحنی استاندارد سنجش پروتئین عصاره‌ها با در نظر گرفتن آلبومین به عنوان پروتئین استاندارد رسم شد و از منحنی حاصله، میزان پروتئین عصاره‌ها در خامه تعیین گردید. نسبت میزان پروتئین عصاره‌ها و آنزیم در خامه بر میزان پروتئین آنزیم به‌صورت مجزا در خامه، میزان بازدارندگی عصاره‌های پروتئینی در خامه را مشخص کرد و با واحد (TIU/ml[1]) تعیین گردید. به طورکلی، درصد بازدارندگی عصاره‌های پروتئینی در خامه عبارت است از نسبت میزان پروتئین ترکیب عصاره‌ها و آنزیم در خامه بر میزان پروتئین آنزیم، به‌تنهایی، در خامه ضرب در صد. یک واحد فعالیت آنزیم معادل با ۰/۰۱ میزان جذب در طول‌موج ٤۲۰nm و دمای ۳۰°C به مدت ۳۰ دقیقه است (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤).

نمونه‌های خامه تولیدی در یخچال فریزر (LG، ساخت کره جنوبی) در دمای ٤°C نگه‌داری شدند و شاخص‌های فیزیکی‌شیمیایی، میکروبی و حسی در روزهای ۱، ٤، ۷، ۱۰ و ۱۳ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱- معرفی تیمارهای مورد استفاده در پژوهش

Table 1-Introduction of the treatments used in the research

Treatment	Cream (Percentage)	Stabilizer (Percentage)	Trypsin Enzyme (100 TU/µg)[2]	Soy bean Seed Extract	Cowpea Seed Extract	Inhibitory of Soybean seed extract (TIU/ml)[3]	Inhibitory of Cowpea seed extract (TIU/ml)
T1	99.7	0.2	0.002	0	0	0	0
T2	99.2	0.2	0.002	0.5	0	100	0
T3	98.2	0.2	0.002	1.5	0	300	0
T4	97.2	0.2	0.002	2.5	0	500	0
T5	98.7	0.2	0.002	0	1	0	100
T6	96.7	0.2	0.002	0	3	0	300
T7	94.7	0.2	0.002	0	5	0	500
T8	99	0.2	0.002	0.25	0.5	50	50
T9	97.5	0.2	0.002	0.75	1.5	150	150
T10	96	0.2	0.002	1.25	2.5	250	250

ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

اسیدیته قابل‌تیتر نمونه‌ها به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال اندازه‌گیری شد (سازمان ملی استاندارد ایران ۱۳۸۵). ویسکوزیته نمونه‌های خامه تولیدی با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد تعیین گردید (سازمان ملی استاندارد ایران ۱۳۹٤). درصد بازدارندگی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی با اندازه‌گیری در میزان افزایش جذب طبق روش اسپکتروفتومتری در دستگاه اسپکتروفتومتر

[1] Trypsin Inhibitor Unit/ml

[2] واحد تریپسین(Trypsin unit): واحد فعالیت آنزیم تریپسین است و بر اساس میزان تجزیه اسید آمینه تیروزین در اثر هیدولیز آن توسط آنزیم تریپسین به نسبت وزنی در دقیقه بیان می‌شود و میزان تجزیه تیروزین در محیط توسط روش اسپکتروفتومتری در طول‌موج ٤۲۰nm سنجیده می شود.

[3] واحد بازدارندگی تریپسین (Trypsin inhibitory unit): نسبت تجزیه اسیدآمینه تیروزین توسط آنزیم تریپسین در نمونه دارای بازدارنده پروتئازی به تجزیه اسیدآمینه تیروزین توسط آنزیم تریپسین در نمونه فاقد بازدارنده پروتئازی.

(یونیکو، آمریکا) در طول‌موج ٤٢٠nm اندازه‌گیری شد (ریچاردز و همکاران ٢٠١٤). در نمونه‌های خامه تولیدی، اندیس پراکسید به روش یدومتری (سازمان ملی استاندارد ایران ١٣٨٧) و اندیس‌آنیزیدین با محاسبه اختلاف میزان جذب در سل حاوی معرف پاراآنیزیدین (سیگمااندآلدریچ، آمریکا) و سل فاقد آن طبق روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (یونیکو، آمریکا) در طول‌موج ٣٥٠nm تعیین شد (سازمان ملی استاندارد ایران ١٣٨٦). آب‌اندازی نمونه‌ها با اندازه‌گیری آب خارج شده از قیف بوخنر (میهن آزما، ایران) پس از ١٢٠ دقیقه اندازه گیری گردید (امیری‌عقدایی و همکاران ١٣٨٩).

ارزیابی شمارش کلی میکروبی

شمارش کلی میکروبی توسط کشت نمونه‌ها در محیط کشت پلیت کانت‌آگار (مرک، آلمان) و شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها پس از ٧٢ ساعت نگه‌داری در دمای ٣٠°C انجام پذیرفت (سازمان ملی استاندارد ایران ١٣٨١).

ویژگی‌های حسی

ارزیابی حسی توسط پنج نفر ارزیاب آموزش‌دیده و بر- اساس روش هدونیک نه نقطه‌ای انجام پذیرفت (لیم ٢٠١١). از آن‌جا که شاخص نهایی ارزیابی، پذیرش کلی است؛ لذا در این پژوهش، فقط نتایج پذیرش کلی گزارش شده است.

طرح آماری

در این پژوهش، از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک- های کاملاً تصادفی (برای داده‌های حسی) و آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی (برای داده‌های فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی) استفاده شد. میانگین تیمارهای آزمایشی نیز با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات[1] با یکدیگر مقایسه شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS Software 9.1[2] انجام گرفت. برای آنالیز داده‌های منتج از آزمون‌های حسی، از آزمون ناپارامتری کروسکال- والیس[3] استفاده شد.

نتایج

فعالیت پروتئازی

بازدارندگی (جدول ٢) در تیمارهای مختلف معنی‌دار است (P<٠/٠٥)؛ اما اختلاف آماری معنی‌داری طی نگه‌داری مشاهده نشد (P>\٠/٠٥).

جدول ٢- میانگین درصد بازدارندگی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی در نمونه‌های خامه پاستوریزه طی نگه‌داری(میانگین±انحراف معیار)

Table 2-The average of inhibitory of soybean and cowpea seed extract in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

Treatment/Day	1	4	7	10	13
T1	0^{a}	0^{b}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
T2	37.10 ± 0.50^{d}	36.88 ± 0.68^{bc}	36.65 ± 0.58^{bcd}	36.51 ± 0.42^{bc}	36.30 ± 0.33^{bcd}
T3	43.66 ± 0.33^{g}	43.22 ± 0.19^{cd}	42.44 ± 0.69^{cde}	42.20 ± 0.75^{cd}	41.74 ± 0.78^{de}
T4	54.44 ± 0.50^{j}	64.66 ± 0.62^{e}	63.22 ± 0.65^{f}	61.66 ± 1.82^{e}	60.22 ± 1.21^{e}
T5	28.38 ± 0.41^{b}	28.20 ± 0.39^{b}	27.95 ± 0.34^{b}	28.84 ± 0.49^{b}	27.48 ± 0.58^{b}
T6	38.59 ± 0.35^{e}	38.23 ± 0.19^{bcd}	38.07 ± 0.22^{bcde}	37.87 ± 0.31^{bcd}	34.37 ± 0.33^{cd}
T7	44.72 ± 0.34^{h}	43.99 ± 0.66^{cd}	43.36 ± 1.05^{de}	42.88 ± 1.17^{cd}	42.21 ± 1.38^{de}
T8	31.78 ± 0.18^{c}	31.5 ± 0.16^{b}	31^{bc}	30.74 ± 0.13^{b}	30.22 ± 0.38^{bc}
T9	39.82 ± 0.17^{f}	39.46 ± 0.40^{bcd}	39.10 ± 0.69^{bcde}	38.77 ± 0.69^{bcd}	38.38 ± 0.75^{cd}
T10	50.44 ± 0.51^{h}	49.66 ± 0.57^{d}	49.15 ± 0.58^{e}	48.96 ± 0.76^{d}	48.66 ± 1^{e}

[1] Least Square Means
[1] Statistical Analysis System
[3] Kruskal-Wallis

Standard error of mean	2.606	3.646	3.527	3.382	3.274

Means within the same column with different subscripts differ significantly (p<0.05).

ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

اسیدیته (جدول ۳) در اکثر تیمارها، با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی، و طی نگه‌داری نمونه‌های خامه تولیدی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵).

ویسکوزیته (جدول ٤) تیمارها با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) و ویسکوزیته تیمارها طی نگه‌داری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ۳- تغییرات اسیدیته (°D)در نمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری (میانگین±انحراف معیار)

Table 3-Acidity changes (°D) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

Treatment/Day	1	4	7	10	13
T1	8.10±0.03^{d}	13.72±0.70^{e}	18.01±0.05^{e}	27.45±1.41^{f}	37.8^{h}
T2	8.42±0.70^{bc}	11.92±0.70^{bcd}	16.2^{d}	24.97±2.11^{d}	36.01^{f}
T3	8.75±0.02^{a}	11.02±1.01^{a}	16.19±0.01^{d}	23.17±0.7^{abc}	36.9^{g}
T4	8.52±0.70^{g}	10.8±0.01^{ab}	15.3±0.01^{c}	23.17±0.05^{a}	23.4±0.01^{d}
T5	8.65^{c}	13.04±0.01^{de}	14.4^{b}	21.51^{e}	28.8±0.01^{e}
T6	8.75±0.01^{a}	12.60^{cde}	14.4^{b}	26.09^{d}	27.04±0.01^{a}
T7	8.52±0.70^{a}	11.92±0.70^{bcd}	14.4^{b}	24.97±0.70^{c}	26.2±0.01^{b}
T8	8.42±0.73^{bc}	12.15±0.01^{cd}	12.6^{a}	36.62±2.52^{ab}	37.1^{c}
T9	8.42±0.70^{bc}	11.7±0.01^{bc}	12.6±0.58^{a}	22.72±0.7^{abc}	26.20±0.01^{b}
T10	8.2±0.01^{b}	11.47±0.70^{bc}	12.6±0.56^{a}	23.17±0.01^{bc}	24.4±0.01^{a}
Standard error of mean	0.065	0.292	0.541	0.594	1.44

Means within the same column with different subscripts differ significantly (p<0.05).

جدول ۴- میانگین ویسکوزیته (cP)در نمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری (میانگین±انحراف معیار)

Table 4-The average of viscosity(cP) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

Treatment/Day	1	4	7	10	13
T1	1.56E4±0.14^{i}	1.02E4±0.04^{f}	5.39E3±0.21^{b}	4.74E3±0.41^{b}	3.26E3±0.25^{b}
T2	1.76E4±0.16^{g}	1.15E4±0.1^{c}	1E4±0.1^{h}	9.2E3±0.81^{h}	9.1E3±0.81^{g}
T3	1.74E4±0.11^{h}	1.21E4±0.11^{e}	9.97E3±0.95^{f}	9.17E3±0.84^{e}	9.12E3±0.83^{e}
T4	1.57E4±0.14^{a}	1E4±0.009^{j}	9.99E3±0.92^{g}	9.2E3±0.81^{f}	9.12E3±0.52^{h}
T5	1.7E4±0.15^{f}	1.1E4±0.005^{a}	6.01E3±0.59^{c}	5.96E3±0.55^{c}	5.12E3±0.47^{c}
T6	1.75E4±0.15^{e}	1.2E4±0.11^{h}	9.87E3±0.91^{e}	9.71E3±0.88^{g}	9.17E3±0.71^{f}
T7	1.74E4±0.16^{b}	1.31E4±0.12^{i}	8.73E3±0.81^{a}	3.95E3±0.28^{a}	2.76E3±0.25^{a}
T8	1.78E4±0.16^{g}	1.19E4±0.1^{g}	1.01E4±0.06^{i}	1E4±0.08^{i}	9.73E3±0.87^{i}
T9	1.84E4±0.16^{c}	1.19E4±0.1^{i}	1.04E4±0.03^{g}	1.01E4±0.08^{j}	9.11E3±0.89^{j}
T10	1.72E4±0.16^{d}	1.19E4±0.1^{g}	9.01E3±0.8^{d}	8.96E3±0.86^{d}	8.31E3±0.79^{d}
Standard error of mean	281	304	501	615	697

Means within the same column with different subscripts differ significantly (p<0.05).

آب‌اندازی (جدول ٥) در تیمارها با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵) و طی نگه‌داری، آب‌اندازی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ۵- میانگین میزان آب اندازی (درصد) در نمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری (میانگین±انحراف معیار)

Table 5-The average of syneresis (Percentage) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

Treatment/day	1	4	7	10	13
T1	10.5±0.10^{a}	15±0.10^{b}	16±0.10^{cd}	27.5±0.10^{i}	38.5±0.10^{h}
T2	10.95±0.04^{b}	15.55±0.01^{bc}	17.15±0.05^{e}	19±0.10^{d}	20.5±0.10^{d}
T3	10.95±0.03^{b}	15.95±0.04^{bc}	17.3±0.01^{e}	20.4±0.07^{e}	21±0.10^{d}
T4	11.55±0.01^{c}	12.5±0.10^{a}	13.75±0.05^{b}	14.7±0.05^{b}	15.5±0.06^{b}
T5	11.05±0.01^{b}	16.4±0.20^{c}	16.5±0.02^{cd}	25±0.10^{h}	29.8±0.15^{f}
T6	12.65^{bc}	12.7±0.03^{a}	15.65±0.15^{c}	16.5±0.10^{c}	17.3±0.03^{c}
T7	12.35±0.06^{d}	17.4±0.21^{d}	26.6±0.13^{f}	27.7±0.02^{h}	30.9±0.07^{g}
T8	11^{b}	12.05±0.08^{a}	12.75±0.04^{a}	13.15±0.03^{a}	13.5±0.03^{a}
T9	11.05±0.01^{b}	12.15±0.03^{a}	13.15±0.03^{ab}	13.7±0.02^{a}	14.35±0.03^{b}
T10	11.55±0.01^{c}	12.35±0.02^{a}	16.65±0.06^{de}	21.65±0.15^{f}	24.8±0.15^{e}
Standard error of mean	0.215	0.535	1.385	1.455	2.5

Means within the same column with different subscripts differ significantly ($p<0.05$).

اندیس پراکسید (جدول ٦) در نمونه‌ها و طی نگه‌داری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (P<۰/۰۵).

جدول ۶- میانگین اندیس پراکسید (mEq/kg)در نمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری* (میانگین±انحراف معیار)

Table 6-The average of Peroxide Value (mEq/kg) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

Treatment/day	1	4	7	10	13
T1	0.54±0.04^{c}	0.58^{e}	0.62±0.04^{d}	0.70±0.04^{e}	0.87±0.04^{c}
T2	0.67±0.04^{b}	0.69^{d}	0.7±0.04^{d}	0.71±0.04^{cd}	0.83^{c}
T3	0.77±0.04^{b}	0.79±0.04^{b}	0.8^{ab}	0.81±0.04^{ab}	0.85^{b}
T4	0.79±0.04^{a}	0.8^{b}	0.81^{ab}	0.82^{a}	0.83±0.04^{b}
T5	0.6^{c}	0.62^{c}	0.65^{cd}	0.66^{d}	0.87±0.04^{c}
T6	0.61^{b}	0.63^{c}	0.65^{ab}	0.68±0.04^{ab}	0.83^{c}
T7	0.65±0.04^{b}	0.67^{a}	0.68±0.04^{a}	0.70^{a}	0.75^{b}
T8	0.69±0.04^{b}	0.7^{b}	0.71±0.04^{d}	0.73^{bc}	0.75^{b}
T9	0.7±0.04^{a}	0.71^{b}	0.74±0.04^{bc}	0.75±0.04^{ab}	0.78±0.04^{b}
T10	0.73^{c}	0.75±0.06^{b}	0.76^{ab}	0.77^{a}	0.78±0.04^{a}
Standard error of mean	0.025	0.022	0.019	0.016	0.012

Means within the same column with different subscripts differ significantly ($p<0.05$).

اندیس‌آنیزیدین (جدول ۷) در نمونه‌ها و طی نگه‌داری، اختلاف آماری معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵). افزایش اندیس‌آنیزیدین در روز اول مشاهده نشد اما در مدت نگه‌داری، اندیس‌آنیزیدین نمونه‌های حاوی عصاره، به‌تدریج روند افزایشی داشتند؛ اما این مقدار به اندازه افزایش در نمونه شاهد نبود.

جدول ۷-میانگین اندیس آنیزیدین در نمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری* (میانگین±انحراف معیار)

Table 7-The average of Anisidine Index in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

treatment/day	1	4	7	10	13

T1	0.51 ± 0.049^{cd}	0.72 ± 0.01^{f}	0.82^{a}	0.95 ± 0.01^{a}	1.27 ± 0.01^{d}
T2	0.30 ± 0.003^{bcd}	0.48 ± 0.01^{e}	0.66^{a}	0.71 ± 0.02^{ab}	1.10 ± 0.01^{c}
T3	0.32^{a}	0.48^{e}	0.50^{a}	0.70 ± 0.03^{ab}	1.02 ± 0.09^{c}
T4	0.32^{a}	0.48 ± 0.01^{e}	0.5^{a}	0.68 ± 0.03^{a}	0.72^{a}
T5	0.51 ± 0.049^{e}	0.53^{e}	0.55^{a}	0.83 ± 0.01^{d}	1.09 ± 0.06^{c}
T6	0.53^{cd}	0.55^{de}	0.56^{a}	0.74 ± 0.02^{bc}	1.05 ± 0.01^{c}
T7	0.54 ± 0.051^{abc}	0.55^{c}	0.57^{a}	0.80 ± 0.06^{cd}	1.06 ± 0.01^{c}
T8	0.41^{de}	0.45 ± 0.01^{cd}	0.67^{a}	0.69 ± 0.01^{ab}	1.03^{c}
T9	0.46^{abcd}	0.48 ± 0.01^{bc}	0.53^{a}	0.67 ± 0.04^{a}	0.87 ± 0.07^{b}
T10	0.47 ± 0.41^{ab}	0.48 ± 0.03^{a}	0.5^{a}	0.71^{ab}	0.88 ± 0.03^{b}
Standard error of mean	0.024	0.027	0.032	0.028	0.055

Means within the same column with different subscripts differ significantly ($p<0.05$).

ویژگی میکروبی

شمارش کلی میکروبی در نمونه‌ها (جدول ۸) با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش نیافت (P>۰/۰۵)؛ به‌عنوان مثال افزودن عصاره سویا در تیمار دوم (T2) در روز اول (4.22 Log cfu/g) نسبت به تیمار شاهد (T1) با شمارش میکروبی (4.28 Log cfu/g) کاهش را نشان می‌دهد اما این میزان معنی‌دار نیست (P >0/05). .شمارش کلی میکروبی طی نگه‌داری در تمامی نمونه‌های حاوی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی، تا روز هفتم، افزایش و از روز دهم به بعد کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P <۰/۰۵) به عنوان مثال در تیمار دوم (T2) شمارش میکروبی در روز اول از 4.22 Log cfu/g به 5.69 Log cfu/g در روز هفتم افزایش و پس از آن، تا روز سیزدهم کاهش (5.61 Log cfu/g) یافته است.

جدول ۸- میانگین شمارش کلی میکروبی (Log cfu/g) درنمونه های خامه پاستوریزه طی نگه داری*(میانگین±انحراف معیار)

Table 8-The average of microbial total count (Log cfu/g) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

treatment/day	1	4	7	10	13
T1	4.28 ± 0.38^{a}	4.81 ± 0.38^{e}	5.73 ± 0.38^{d}	5.75 ± 0.56^{f}	5.82 ± 0.2^{f}
T2	4.22 ± 0.4^{a}	4.72 ± 0.3^{cd}	5.69 ± 0.38^{d}	5.67 ± 0.42^{e}	5.61 ± 0.49^{e}
T3	4.23 ± 0.38^{a}	4.72 ± 0.3^{cd}	5.69 ± 0.38^{c}	5.67 ± 0.3^{e}	5.6 ± 0.38^{d}
T4	4.24 ± 0.37^{a}	4.72 ± 0.3^{de}	5.62 ± 0.52^{c}	5.6^{e}	5.59 ± 0.44^{bc}
T5	4.24 ± 0.39^{a}	4.65 ± 0.3^{c}	5.6 ± 0.54^{b}	5.5 ± 0.35^{d}	5.12 ± 0.49^{bc}
T6	4.16 ± 0.37^{a}	5 ± 0.3^{b}	5.6 ± 0.39^{a}	5.5 ± 0.5^{c}	5.46 ± 0.39^{bc}
T7	4.17 ± 0.3^{a}	4.55 ± 0.42^{a}	5.5 ± 0.5^{a}	5.4 ± 0.5^{ab}	5.08 ± 0.39^{c}
T8	4.2 ± 0.4^{a}	4.23 ± 0.38^{a}	4.93 ± 0.47^{a}	4.87 ± 0.3^{a}	4.27 ± 0.38^{a}
T9	4.27 ± 0.4^{a}	5.19 ± 0.45^{a}	5.29 ± 0.47^{a}	5.1 ± 0.44^{b}	5.05 ± 0.38^{abc}
T10	4.26 ± 0.33^{a}	5.11 ± 0.34^{a}	5.15 ± 0.45^{a}	5.11 ± 0.3^{b}	4.74 ± 0.39^{ab}
Standard error of mean	0.012	0.096	0.08	0.088	0.155

Means within the same column with different subscripts differ significantly ($p<0.05$).

پذیرش کلی

جدول۹، تغییرات پذیرش کلی در نمونه‌های خامه پاستوریزه طی نگه‌داری را نشان می‌دهد. به‌طورکلی، اختلاف آماری معنی‌داری بین تیمارها و طی مدت نگه‌داری در ٤°C مشاهده نشد (P >۰/۰۵) و نمونه‌های حاوی عصاره‌های دانه سویا و لوبیا چشم‌بلبلی از امتیاز حسی کم‌تری نسبت به شاهد برخوردار بودند.

جدول ۹- میانگین پذیرش کلی (آزمون حسی) درنمونه های خامه پاستوریزه طی نگه‌داری* (میانگین±انحراف معیار)

Table 9-The average of total accepntance (sensoroy test) in the samples of pasteurized cream during storage (average±Standard deviation)

treatment/day	1	4	7	10	13
T1	8.8 ± 0.44^{b}	8.6 ± 0.54^{d}	8^{c}	6.4 ± 0.54^{a}	5.6 ± 0.54^{c}
T2	7.6 ± 0.54^{ab}	7.5^{cd}	7.20 ± 0.44^{b}	6^{a}	4.8 ± 0.44^{ab}
T3	7.20 ± 0.7^{a}	7.18 ± 0.44^{cd}	7.15 ± 0.44^{b}	5.8 ± 0.44^{a}	5^{abc}
T4	7.20 ± 0.69^{a}	6.4 ± 0.6^{ab}	6.82 ± 0.44^{ab}	6 ± 0.1^{a}	4.8 ± 0.44^{ab}
T5	7.60 ± 0.7^{ab}	7.56 ± 0.54^{bc}	7^{ab}	6.4 ± 0.44^{a}	5.2 ± 0.44^{bc}
T6	7.20 ± 0.71^{a}	7.1 ± 0.44^{abc}	7^{ab}	6.2 ± 0.44^{a}	5.2 ± 0.44^{bc}
T7	7 ± 0.5^{a}	6.6 ± 0.54^{a}	6.4 ± 0.54^{a}	6.2 ± 0.44^{a}	5 ± 0.4^{abc}
T8	7.2 ± 0.7^{a}	7.18 ± 0.63^{abc}	7.15 ± 0.67^{b}	6.2 ± 0.44^{a}	5.4 ± 0.52^{bc}
T9	7.2 ± 0.63^{a}	7.14 ± 0.7^{abc}	7.12 ± 0.44^{b}	6^{a}	5.2 ± 0.44^{bc}
T10	7.2 ± 0.63^{a}	6.4 ± 0.54^{a}	6.2 ± 0.54^{a}	6^{a}	4.40 ± 0.34^{a}

Means within the same column with different subscripts differ significantly ($p<0.05$).

بحث

بررسی فعالیت پروتئازی

نتایج آنالیز درصد بازدارندگی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی در غلظت متفاوت آن‌ها در نمونه‌های خامه پاستوریزه طی نگه‌داری نشان داد غلظت بالاتر عصاره‌ها توانسته است اثر بازدارندگی بالاتری داشته باشد (نمونه‌های T4، حاوی ۲/۵ درصد عصاره دانه سویا با فعالیت ۵۰۰ TIU/ml، و T10، حاوی ۱/۲۵ درصد عصاره دانه سویا با فعالیت ۲۵۰ TIU/ml و ۲/۵ درصد عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی با فعالیت ۲۵۰ TIU/ml) و از آن‌جا که درصد بازدارندگی T4 بیش‌تر از T10 است، می‌توان این‌طور بیان نمود که عصاره سویا نسبت به عصاره لوبیا چشم‌بلبلی توانسته است قوی‌تر عمل نماید. این عصاره‌ها با بلوکه کردن مستقیم جایگاه فعال آنزیم و ایجاد کمپلکس سبب کاهش فعالیت پروتئازی می‌شوند. هم‌چنین، وجود ترکیبات فنولی بیش‌تر در دانه‌ها نیز سبب ایجاد کمپلکس فنول-پروتئاز شده و درجهت کاهش فعالیت این آنزیم عمل می‌کنند (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). نتایج حاضر با نتایج ریچاردز و همکاران (۲۰۱٤) مبنی بر بالا بودن اثرمهارکنندگی تریپسین دانه سویا در کاهش فعالیت پروتئازهای موجود در شیر کم‌چرب؛ اسریکت و همکاران (۲۰۱۱) مبنی بر بالا بودن اثرمهارکنندگی تریپسین دانه سویا برای جلوگیری ازافت کیفی میگو و به تأخیرانداختن نرم شدگی عضله آن درانجماد و اُلانکا و سیوری (۲۰۱۵) مبنی بر بالا بودن اثرمهارکنندگی تریپسین دانه سویا برای کاهش پروتئیناز ایجاد شده توسط ترشحات بزاقی آفات گندم مطابقت دارد.

بررسی ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

اسیدیته در اکثر تیمارها، با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی، افزایش یافت و هرچه فعالیت بازدارندگی عصاره‌ها بیش‌تر شود، میزان اسیدیته افزایش می‌یابد؛ که با وجود pH تقریباً خنثی عصاره بازدارنده‌ها (pH عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی به ترتیب ۷/٦ و ۸/۲ اندازه گیری شد) به خاصیت جذب آب و تحرک یون‌های هیدروژن پروتئین‌های سویا نسبت داده می‌شود (ایوبی و مظاهری تهرانی ۱۳۹۲). عزیزی و همکاران (۱۳۹۲) نیز با کاربرد ایزوله پروتئین سویا و صمغ ثعلب به عنوان پایدار کننده و جایگزین چربی در تولید خامه قنادی کم‌چرب نشان دادند که با افزایش مقدار صمغ و ایزوله پروتئین سویا، اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت. طی نگه‌داری نمونه‌های خامه تولیدی، اسیدیته افزایش یافت زیرا با اعمال تیمار حرارتی پاستوریزاسیون به‌دلیل باقی‌ماندن میکروارگانیسم‌های مقاوم به حرارت و رشد آن‌ها در زمان نگه‌داری محصول، و درنتیجه، تخمیر لاکتوز و تولید اسیدلاکتیک، اسیدیته افزایش می‌یابد (مرتضوی و همکاران ۱۳۹٤). مطابق با نتایج حاضر، باقری و همکاران

(۱۳۹۲) نیز نشان دادند اسیدیته نمونه‌های خامه صبحانه حاوی استویوزید در طول مدت نگه‌داری افزایش یافت؛ نتایج حسینی و امیری (۱۳۹٤) مبنی بر افزایش اسیدیته نمونه‌های خامه کم‌چرب حاوی کنسانتره پروتئینی شیر طی نگه‌داری با نتایج این تحقیق همخوانی دارد.

ویسکوزیته تیمارها با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی افزایش یافت زیرا با افزایش محتوی پروتئین در عصاره‌ها، جذب آب و ویسکوزیته افزایش می‌یابد (آمینیگو و همکاران ۲۰۰۹). به طور مشابه، ایوبی و مظاهری تهرانی (۱۳۹۲) با اثر افزودن آرد کامل سویا به خامه نشان دادند نمونه حاوی ۲۲/۵ درصد سویا بیش‌ترین ویسکوزیته و نمونه حاوی ۷/۵ درصد سویا دارای کم‌ترین ویسکوزیته بود؛ هم‌چنین، آکسووان (۲۰۰۹) گزارش کرد با افزایش میزان ایزوله پروتئین سویا، ویسکوزیته نمونه‌های بستنی افزایش یافت. کاهش ویسکوزیته تیمارها طی نگه‌داری به‌دلیل وجود شرایط بهینه جهت رشد میکروب‌ها و افزایش اسیدیته است که سبب کاهش شبکه اتصال پروتئین‌ها و تضعیف شبکه پروتئینی، و درنهایت، سبب کاهش ویسکوزیته و سفتی می‌شود (دانشی و همکاران، ۱۳۹٤). مطابق با نتایج حاضر، امیری و رادی (۱۳۸۷) نشان دادند ویسکوزیته خامه طی ۱۰ روز نگه‌داری کاهش یافت؛ هم‌چنین، ایوبی و مظاهری تهرانی (۱۳۹۲)، کاهش ویسکوزیته خامه طی نگه‌داری را تأیید کردند.

درصد آب‌اندازی در تیمارها با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی افزایش یافت زیرا بالا بودن اسیدیته خامه منجر به افزایش آب‌اندازی در خامه می‌شود (ولی‌پور و همکاران ۱۳۹۲) و با چروکیدگی ساختار شبکه سه‌بُعدی پروتئین، اتصال پروتئین‌ها کاهش یافته و آب‌اندازی افزایش می‌یابد (لوسی ۲۰۰٤). مطابق با نتایج حاضر، غلامحسین‌پور و مظاهری تهرانی (۱۳۹۰) ضمن افزودن کنسانتره پروتئینی شیر به خامه کم‌چرب نشان دادند نمونه شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی کنسانتره پروتئینی شیر دارای آب‌اندازی بیش‌تری بود و علت را به افزایش جذب آب توسط پروتئین‌ها در نمونه‌های حاوی کنسانتره پروتئینی شیر نسبت دادند. طی نگه‌داری، درصد آب‌اندازی افزایش یافت زیرا با تخمیر لاکتوز و تولید اسید لاکتیک توسط میکروارگانیسم‌های مقاوم به حرارت و افت pH، شبکه‌های پروتئینی به صورت نامنظم و غیریکنواخت تشکیل می‌شوند؛ درنتیجه، پیوندهای آب‌گریز پروتئین سویا در سطح شبکه ژلی قرار گرفته و سبب افزایش میزان آب‌اندازی در پایان تخمیر می‌شوند (قربانی و همکاران ۱۳۹۱)؛ هم‌چنین، با توجه به هیدرولیز و هضم پروتئین‌های محصول توسط میکروارگانیسم‌ها، با افزایش زمان نگه‌داری، پروتئین‌های عامل بافت مطلوب، خاصیت خود را از دست داده و پیوند آن‌ها با آب گسسته می‌شود و آب‌اندازی افزایش می‌یابد (صادقی‌زاده و همکاران ۱۳۹۱). مطابق با نتایج حاضر، ولی‌پور و همکاران (۱۳۹۲) گزارش کردند مدت زمان نگه‌داری اثر معناداری بر افزایش اسیدیته و آب‌اندازی خامه فراسودمند حاوی استرول گیاهی داشت.

اندیس پراکسید در نمونه‌ها با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی افزایش یافت. علت افزایش اندیس پراکسید در نمونه‌های خامه را می‌توان به حضور عوامل پراکسیدان (نظیر رادیکال‌های آزاد در لیپیدهای موجود در روغن و چربی‌ها) نسبت داد (احمدی‌اقدم و همکاران ۱۳۹٤). هم‌چنین، بلوکه‌کننده‌های آلفا-توکوفرول موجود در سویا سبب افزایش سرعت اکسایش می‌شوند (آرماندو و همکاران ۱۹۹۸). اندیس پراکسید طی نگه‌داری نیز افزایش یافت. چربی‌ها و روغن‌ها طی گذشت زمان به‌صورت اتواکسیداسیون و اکسیداسیون آنزیمی نیز اکسیده می‌شوند؛ این امر در حضور یون‌های فلزی و اکسیژن تشدید می‌گردد و منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و از بین رفتن ویتامین‌های محلول در چربی، کاروتنوئیدها و اسیدهای چرب ضروری می‌شود (عالی‌پور هفشجانی و همکاران ۱۳۹٤). الهامی‌راد و همکاران (۱۳۹۲) ضمن بررسی اثر افزودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (کاتشین، کوئرسین و اسیدگالیک) بر پایداری کره تولید شده از

خامه سنتی نشان دادند اندیس پراکسید تیمار شاهد (فاقد ترکیبات آنتی‌اکسیدانی) طی مدت نگه‌داری روند افزایشی داشت. هم‌چنین، احمدی اقدم و همکاران (۱۳۹٤) با افزودن عصاره رزماری به کره حاصل از خامه ترش گزارش کردند اندیس پراکسید نمونه شاهد (فاقد عصاره رزماری) طی نگه‌داری افزایش یافت.

اندیس‌آنیزیدین با افزودن غلظت‌های بالاتر عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی افزایش یافت اما این افزایش به‌اندازه نمونه شاهد نبود. در غلظت‌های بالای عصاره، وجود ترکیبات فنولی به همراه اثرات پراکسیدانی خامه پاستوریزه سبب افزایش اندیس‌آنیزیدین می‌شون زیرا وجود ترکیبات فنولی در غلظت‌های بالای عصاره‌ها، ناخالصی را افزایش می‌دهد و این امر سبب بروز خطا در روش اندازه گیری توسط سنجش میزان جذب نور با دستگاه اسپکتروفتومتر خواهد شد (مظاهری کلهرودی و همکاران ۱۳۹۳). مظاهری کلهرودی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی اثر عصاره دانه رازیانه بر اندیس‌آنیزیدین روغن سویا نشان دادند افزودن عصاره رازیانه تا ۵۰۰ ppm سبب کاهش اندیس آنیزیدن شد اما با افزایش میزان عصاره، به دلیل افزایش اندیس پراکسیدانی موجود در عصاره دانه رازیانه و ایجاد خطا در جذب، اندیس‌آنیزیدین افزایش یافت. اندیس‌آنیزیدین در نمونه‌های خامه پاستوریزه طی نگه‌داری افزایش یافت. احتمال می‌رود در مدت نگه‌داری، با فعالیت آنزیم لیپواکسیژناز، اندیس‌آنیزیدین نمونه‌های حاوی عصاره، روند افزایشی داشته است؛ اما این مقدار به اندازه افزایش در نمونه شاهد نبود و عصاره‌ها، اثر بازدارندگی کمی بر روی افزایش اندیس‌آنیزیدین داشتند. ترکیبات فنولی نظیر ایزوفلاون‌ها و فلاونوئیدها در دانه سویا و لوبیا چشم‌بلبلی یافت می‌شوند (آزادی و یوسفی ۱۳۹٤ و پارسا و باقری ۱۳۸۷). هم‌چنین، واکنش آلفا- توکوفرول موجود در سویا و گروه‌های هیدروکسیل، نظیراسیدهای چرب آزاد موجود در محصول،سبب افزایش اکسیداسیون طی نگه‌داری و غلظت‌های بالای سویا خواهد شد (آرماندو و همکاران ۱۹۹۸)؛ از طرفی،خود ترکیبات فنولی در طی زمان اکسیده می‌شوند؛ در نتیجه، کاهش آن‌ها و تولید محصولات ثانویه حاصل از اکسیداسیون آن‌ها سبب افزایش اندیس‌آنیزیدین می‌شود (احمدی‌اقدم و همکاران ۱۳۹٤). مطابق با پژوهش حاضر، مظاهری کلهرودی و همکاران (۱۳۹۳) با بررسی اثر عصاره دانه رازیانه بر تغییرات اندیس‌آنیزیدین روغن سویا طی ۲۸ روز نگه‌داری گزارش کردند اندیس‌آنیزیدین در کلیه تیمارها در طول نگه‌داری افزایش یافت (با افزودن عصاره رازیانه تا ۵۰۰ ppm، میزان محصولات ثانویه اکسیداسیون و اندیس‌آنیزیدین کاهش یافت اما با افزایش میزان عصاره، به‌دلیل افزایش اندیس پراکسیدانی موجود در عصاره دانه رازیانه و ایجاد خطا در جذب، اندیس‌آنیزیدین افزایش یافت).

بررسی ویژگی میکروبی

شمارش کلی میکروبی در نمونه‌ها، با افزودن عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت اما معنادار نبود. کاهش شمارش میکروارگانیسم‌ها در تیمارها به وجود ایزوفلاون‌ها و فلاونوئیدها مربوط است که در سویا و لوبیا چشم‌بلبلی یافت می‌شوند (آزادی و یوسفی ۱۳۹٤ و پارسا و باقری ۱۳۸۷) و اثر ضدمیکروبی آن‌ها در کاهش شمارش میکروارگانیسم‌ها ثابت شده است (کوشنیه و همکاران ۲۰۰۷) و در استخراج عصاره‌ها به روش الکلی باقی خواهند ماند (ریچاردز و همکاران ۲۰۱٤). به طور مشابه، کوشنیه و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی اثر ضدمیکروبی ترکیب فلاونول گالانگین بر شمارش *استافیلوکوس اورئوس* نشان دادند افزودن این ترکیب ضدمیکروبی اثر کاهشی بر شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* (در پلیت‌های حاوی *استافیلوکوکوس اورئوس*) داشت؛ کرامتجو و همکاران (۱۳۹۲) ضمن بررسی اثر ضد- اکسیدانی عصاره برگ زیتون بر پایداری کره گزارش کردند نمونه حاوی عصاره ۰/۱ درصد برگ زیتون شمارش میکروبی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت؛ فرجامی و حسینی (۱۳۹۳) تأیید نمودند که ترکیبات فنلی

موجود در عصاره آویشن سبب کاهش شمارش میکروبی در نمونه‌های سوریمی ماهی کپور نسبت به نمونه شاهد در زمان نگه‌داری شدند. شمارش کلی میکروبی طی نگه‌داری، تا روز هفتم افزایش یافت. علت این امر، زنده-مانی میکروارگانیسم‌های مقاوم به حرارت پس از اعمال تیمار حرارتی پاستوریزاسیون است که شمارش میکروارگانیسم‌ها را افزایش می‌دهد. کاهش شمارش میکروبی پس از روز دهم را نیز می‌توان به کاهش مواد مغذی موردنیاز میکروارگانیسم‌ها جهت ادامه رشد نسبت داد، که درنتیجه، سبب کاهش شمارش میکروبی خواهد شد (مرتضوی و همکاران ۱۳۹٤). هم‌چنین، اکسیداسیون ترکیبات فنلی سبب کاهش این ترکیبات طی نگه‌داری می‌شود، و درنتیجه، از اثر آن‌ها بر کاهش بار میکروبی کاسته می‌گردد (احمدی‌اقدم و همکاران ۱۳۹٤). به طور مشابه، مرحمتی‌زاده و همکاران (۱۳۸۸) با بررسی اثر عصاره سویا بر رشد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بیفیدوباکتریوم در شیر سویا نشان دادند که پروتئین‌های سویا به جهت داشتن مواد مغذی شامل الیگوساکاریدها، اسیدآمینه‌های آزاد و پپتیدها محیط خوبی جهت رشد باکتری‌های لاکتیکی و افزایش شمارش آن‌ها بودند و این باکتری‌ها طی زمان، روند افزایشی داشتند؛ یگانه‌زاد و همکاران (۱۳۸۸) نیز گزارش کردند افزودن شیر سویا به ماست پروبیوتیک سبب افزایش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در ماست پروبیوتیک شد و حضور الیگوساکاریدهای سویا علت بقا و افزایش شمار باکتری بود. نتایج قربانی و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد در روزهای اولیه، شمارش باکتری‌های ماست پروبیوتیک سویا بالا بود و در ۷ روز آخر نگه‌داری، سیر نزولی داشت که آن را به کاهش مواد مغذی و کاهش شمارش میکروبی نسبت دادند.

بررسی پذیرش کلی

بالاترین امتیاز پذیرش کلی (۸/۸۰) به تیمار شاهد (فاقد عصاره‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی) در روز اول نگه‌داری و پایین‌ترین امتیاز پذیرش کلی (٤/٤) به تیمار ۱۰ (با ۲۵۰ واحد بازدارنده تریپسین سویا و ۲۵۰ واحد بازدارنده تریپسین لوبیا چشم‌بلبلی) در روز سیزدهم نگه‌داری اختصاص یافت. در تیمارها و طی مدت نگه‌داری، کاهش در پذیرش کلی مشاهده گردید. به‌دلیل طعم و بوی لوبیایی عصاره دانه‌های سویا و لوبیا چشم‌بلبلی، رنگ تیره آن‌ها (ایوبی و مظاهری‌تهرانی ۱۳۹۲) و تأثیر آن‌ها بر کاهش pH، تضعیف اتصالات پروتئین‌های خامه، سست شدن شبکه ژلی و کاهش ویسکوزیته و درنتیجه، افت کیفی بافت خامه، کاهش امتیاز حسی نمونه‌های خامه دور از انتظار نمی‌باشد (دانشی و همکاران ۱۳۹٤ و یگانه‌زاد و همکاران ۱۳۸۸). نتایج پژوهش حاضر مطابق با نتایج ایوبی و مظاهری تهرانی (۱۳۹۲) مبنی بر بررسی اثر استفاده از آرد سویا در مقادیر ۵ تا ۲۲/۵ درصد بر خواص حسی خامه صبحانه و کم‌تر بودن امتیاز خواص حسی ازجمله طعم در قیاس با شاهد می‌باشد؛ پژوهان مهر و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی اثرآرد کامل سویا به عنوان جایگزین چربی بیان نمودند که نمونه حاوی ۲ درصد آرد کامل سویا ، بالاترین کیفیت حسی را به خود اختصاص داد.

نتیجه‌گیری

طی نگه‌داری خامه، حضور پروتئازها به‌دلیل تحمل حرارتی، حتی با اعمال دمای استریلیزاسیون، اجتناب‌ناپذیر است؛ پس، استفاده از بازدارنده‌های پروتئازی برای کاهش فعالیت آن‌ها و جلوگیری از تلخی محصول ضروری است. به‌طورکلی، براساس نتایج این پژوهش، با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان بازدارندگی پروتئازی افزایش یافت و میزان بازدارندگی عصاره دانه سویا بیش‌تر از عصاره دانه لوبیا چشم‌بلبلی بود.

لازم به ذکر است روش حاضر، در کنترل فعالیت پروتئازهای تولید شده در زمان نگه‌داری خامه پاستوریزه موفقیت‌آمیز بود؛ اما به دلیل حضور اجتناب‌ناپذیر میکروارگانیسم‌ها و اثرات پراکسیدانی ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ها، زمان ماندگاری کاهش یافت و از روز دهم، اکثر نمونه‌های تولیدی دارای ویژگی‌های

مطلوب نبودند؛ لذا برای بهبود تولید، به‌کارگیری روش‌های کنترل میکروارگانیسم‌ها و ترکیبات پراکسیدانی نیز باید لحاظ شود.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله مراتب سپاس خود را از شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران به جهت در اختیار قرار دادن امکانات لازم برای انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

منابع مورد استفاده

احمدی‌اقدم ع، حصاری ج، آزادمرد دمیرچی ص، جهانگیری ف و بدبدک ص، ۱۳۹٤. اثر عصاره رزماری بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و پایداری کره حاصل از خامه ترش، مجله علوم و صنایع غذایی، ۳ (۵۰)، ۳۹-۳۳.

آزادی الف و یوسفی ب، ۱۳۹٤. سویا (کاشت داشت و برداشت). انتشارات سروا.

الهامی‌راد ح، بروغنی م و استیری ح، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر و نحوه افزودن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر پایداری اکسیداتیو خامه سنتی، دومین همایش ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ١٤-١.

امیری ص و رادی م، ۱۳۸۷. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی- چشایی خامه کم‌چرب تهیه شده از نشاسته گندم اصلاح شده، هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی. پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی، مشهد، ٦-١.

امیری عقدایی س، اعلمی م و رضایی ر، ۱۳۸۹. بررسی تأثیر هیدروکلوئید دانه اسفرزه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ماست کم‌چرب، هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی. پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی، مشهد، ۲۰۹-۲۰۱.

آهوئی م، پوراحمد الف و موغاری ع، ۱۳۹۵. تولید خامه قنادی حاوی شیرین‌کننده‌های کم‌کالری استویا و ایزومالت، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲٦ (٤)، ۷٦۱-۷٤۹.

ایوبی الف و مظاهری تهرانی م، ۱۳۹۲. بررسی امکان استفاده از آرد کامل سویا در فرمولاسیون خامه، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۱۲ (٤۹)، ۱۰۳-۱۱۲.

باقری ف، راوی م و امیری ص، ۱۳۹۲. تهیه خامه رژیمی با استفاده از یک نوع شیرین‌کننده، بیست‌ویکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ٥-١.

پارسا م و باقری ع، ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.

پژوهان‌مهر س و مظاهری تهرانی م، ۱۳۹۳. بررسی اثر آرد کامل سویا به عنوان جایگزین چربی در خواص فیزیکی و حسی شکلات صبحانه کم‌چرب، اولین همایش ملی میان‌وعده‌های غذایی. پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ٦-١.

حسینی ف و امیری ز، ۱۳۹٤. بررسی و مقایسه تأثیر نشاسته ذرت و کنسانتره پروتئینی شیر بر خواص فیزیکوشیمایی و حسی خامه کم‌چرب، نخستین همایش صنایع غذایی ایران، مرکز همایش‌های توسعه ایران، تهران، ۱۰-١.

دانشی م، اردکانی ع و شیرازی نژاد م، ۱۳۹٤. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی ماست تهیه شده از شیر شتر و شیر سویا، سومین کنفرانس بین‌المللی پژوهش کاربردی در علوم کشاورزی، دانشگاه جامع علمی کاربردی، تهران، ۱۲-١.

سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۱. شیر و فرآورده‌های آن- روش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها در ۳۰ درجه سلسیوس، ٥٤٨٤، ۱۳-١.

سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸٥. شیر و فراورده‌های آن- تعیین اسیدیته و pH -روش آزمون، ۲۸٥۲، ۲۱-١.

سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸٦. روغن و چربی‌های گیاهی و حیوانی-عدد آنیسیدین-روش آزمون، ٤۰۹۳، ۹-١.

سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۷. روغن و چربی‌های گیاهی و حیوانی- اندازه گیری مقدار پراکسید به روش یدومتری- تعیین نقطه پایانی به طریق چشمی، ٤١٧٩، ١٣-١.

سازمان ملی استاندارد ایران، ١٣٩٤. روان‌کننده‌ها- اندازه‌گیری گرانروی در دمای پایین با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد- روش آزمون، ٨١٤٧، ٣٩-١.

شکیبا ی، مصطفایی ع و پروانه س، ١٣٨٦. خالص‌سازی پروتئین مهارکننده تریپسین نوع کونیتز از دانه سویا با کروماتوگرافی میل ترکیبی، مجله علمی دانشگاه پزشکی کردستان، ١٢ (٢)، ٨٣-٧٧.

صادقی‌زاده یزدی ج، مظاهری تهرانی م، حبیبی نجفی م، احرامپوش م و فلاح‌زاده ح، ١٣٩١. بررسی اثر استابلایزر و طعم‌دهنده‌ها بر روی ویژگی‌های حسی ماست سویا، فصلنامه علمی پژوهشی دانشکده بهداشت یزد، ١١ (٤)، ٥٠-٤٢.

عالی‌پور هفشجانی ف، مهدوی هفشجانی ف و عالی‌پور هفشجانی ع، ١٣٩٤. تعیین ارزش پراکسید روغن‌های زولبیا و بامیه در ماه مبارک رمضان در استان چهارمحال و بختیاری، مجله دانشکده علوم پزشکی شهرکرد، ١٧ (٥)، ٨٢-٧٤.

عزیزی ش، مرتضوی ع، شفافی زنوزیان م و هوشمند دلیر م، ١٣٩٢. کاربرد ایزوله پروتئین سویا و صمغ ثعلب به عنوان پایدارکننده و جایگزین چربی در تولید خامه قنادی کم‌چرب، همایش ملی پدافند غیرعامل در بخش کشاورزی، شرکت تعاونی علم گستران پیشتاز ایرانیان، جزیره قشم، ١١-١.

غلامحسین‌پور ع و مظاهری تهرانی م، ١٣٩٠. استفاده از کنسانتره پروتئینی شیر در تولید خامه کم‌چرب و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آن، نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران، ٧ (٢)، ١٧٨-١٧٢.

فرجامی ب و حسینی و، ١٣٩٣. بررسی تأثیر عصاره آویشن بر کیفیت میکروبی و شیمیایی ماهی کپور معمولی در زمان نگه‌داری در یخچال، مجله بهره‌برداری و پرورش آبزیان، ٦٨ (٣)، ٤٤٧-٤٥٦.

قربانی ع، پوراحمد ر و فلاح‌پور م، ١٣٩١. بررسی خصوصیت فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و میکروبی ماست پروبیوتیک سویا طی ٢١ روز نگه‌داری، مجله علوم غذایی و تغذیه، ١١ (١)، ٤٨-٤٣.

کرامتجو الف، حصاری ج، آزادمرد دمیرچی ص، پیغمبردوست ه و نعمتی م، ١٣٩٢. اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در پایداری کره، مجله فرآوری و نگه‌داری مواد غذایی، ٥ (١)، ٩٤-٨١.

مرتضوی م، قدس روحانی م و جوینده ح، ١٣٩٤. تکنولوژی شیر و و فرآورده‌های لبنی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.

مرحمتی‌زاده م، رفعت‌جو ر، فرخی ع، کارمند م و رضازاده س، ١٣٨٨. مطالعه تأثیر عصاره سویا بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، مجله پژوهش‌های نوین دامپزشکی (پاتوبیولوژی دامپزشکی)، ١ (١)، ٢٨-٢٣.

مظاهری کلهرودی م، بصیری ع و جلالی ع، ١٣٩٣. بررسی اثر ضداکسایشی دانه رازیانه در روغن سویا و مقایسه آن با ضداکساینده‌های سنتزی، فصلنامه علوم و فناوری‌های نوین غذایی، ٤٥ (٢)، ١٣٩-١٣١.

میرزایی ح، ابراهیمی منفرد ک، شهدادی ف، ماریکی ش و پیرعلی س، ١٣٨٩. سویا در صنایع غذایی، انتشارات علم کشاورزی ایران.

ولی‌پور ف، حصاری ج و علیرضالو ج، ١٣٩٢. بررسی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی خامه فراسودمند حاوی استرول گیاهی، بیست‌ویکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شیراز، شیراز، ٧-١.

یگانه‌زاد س، مظاهری تهرانی م، شهیدی ف و زائرزاده الف، ١٣٨٨. بررسی اثر شیر سویا بر زنده ماندن باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیکی ماست پروبایوتیک. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ١٦ (١)، ١٧٣-١٦٥.

Akesowan A, 2009.Influence of Soy Protein Isolate on physical and sensory properties of ice-cream. Thai Journal of Agricultural Science 42:1-6.

Aminigo E R, Metzger L and Lehtola P S, 2009. Biochemical composition and storage stability of a yogurt-like product from African yam bean *(Sphenostylis stenocarpa)*. International Journal of Food Science and Technology 44: 560-566.

Armando C, Maythe S and Beatriz N P, 1998. Antioxidant activity of grapefruit aeed extract on vegetable Oils. Journal of the Science of Food and Agriculture 77: 463-467.

Bradford M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Campbell L, Euston S R and Ahmed M A, 2016. Effect of addition of thermally modified cowpea protein on sensory acceptability and textural properties wheat bread and sponge cake. Food Chemistry 194: 1230-1237.

Cushnie T P, Hamilton V E, Chapman D G, Taylor P W and Lamb A J, 2007. Aggregation of *Staphylococus aureus* following treatment with the antibacterial flavonol galangin. Journal of Applied Microbiology 103: 1562-1567.

Lim J, 2011. Hedonic scaling: A review of methods and theory. Food Quality and Preference 22: 733-747.

Lucey J A, 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology 57: 77-84.

Nielsen S S, 2002.Plasmin system and microbial proteases in milk: characteristics, roles, and relationship. Journal of Agricultural of Food Chemistry 50: 6628-6630.

Olanca B and Sivri Ozay D, 2015.Effects of natural inhibitors on high protease activity flours. Journal of Cereal Science 65:290-297.

Hoffmann W, 2011. Cream. Academic Press, London.

Lemieux L and Simard R, 1992. Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. Lait 72: 335-382.

Richards M, De Kock H L, Duodu K and Buys E M, 2014. The effect of legume protease inhibitors on native milk and bacterial proteases. Food Science & Technology 57: 628–633.

Siddiq M and Uebersax M A, 2012. Dry Beans and Pulses-Production, Processing and Nutrition. Willey-Blackwell, Oxford.

Sriket C, Benjakul S, Vissessanguan W and Hara K, 2011. Effect of legume seed extracts on the inhibition of proteolytic activity and muscle degradation of fresh water prawn (*Macrobrachiumrosenbergi*). Food Chemistry 129: 1093-1099.

Vijayakumar S, 2012. Effects of thermosonication on proteases and characteristics of milk and cream. Msc thesis, Iowa state university.

Journal of Food Researches/vol.30 No.3/ 2020/pp 1-18
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

The effect of soybean and cowpea seeds extract on some physicochemical and microbial properties and protease activity of pasteurized cream

H Aghamohseni[1], V Fadaei Noghani[2*]and M Khodai Jouyari[3]

Received: June 3, 2017 Accepted: June 25, 2019
[1]MSc Gratuated from Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[2]Associated Professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
[3]Education Research Deputy, Tehran Pegah Dairy Co, Tehran, Iran
*Corresponding author: Email: vn.fadaei@gmail.com

Introduction: Cream is a mass of fat cells that have been covered with a Lipo-protein membrace (Ahouei et al., 2016). This dairy product is an emulsion with high content of fat milk that is obtained from creaming of milk by the equipment that is called milk separator. Obtained Cream is white or creamy white with a gentle taste. Cream is consumed directly in breakfast with honey and bread or it can be used in the formulation of other diary products such as ice cream and full-fat yogurt; Aslo it can be used for making butter. The fat content of cream differs from 10 to 50 perecent and the used heat treatments for it are pasteurization and strelization. Usually using gentle pasteurization to ensure maintainance of the favorable taste of cream is the best method (Hoffmann 2011). Protease is one of the enzymes in milk and dairy products that can cause shortening of storage of dairy products. This enzyme can cause hydrolyzation of proteins of milk to bitter peptides and this can make dairy products taste bitter and that will be unpleasant for consumers and can make sensory inacceptance of this product. Proteases in milk have natural and microbial sources. Natural proteases like plasmin, plasminogen, Thrombin and aminopeptidases come from blood plasmas, cell cytoplasms and fat cell membraces that can go to milking channel of the breed. Microbial proteases can be produced by cryogenic bacterias such as Pseudomonas and Bacillus. Although these microorganisms will be destroyed by heat treatment but their enzymes are heat-stable and can cause undesirable changes in cream. It should be noted that environmental effects such as livestock breed, intensity of contamination of milking equipments, shipping and storage conditions of milk during storage, high temperature in storage of milk, the type of animal feed and existence some diseases such as mastitis are effective to the increasement of these enzymes. The content of the enzyme is very low during milking but they will be increasing by time (Vijayakumar 2012). Proteases are heat resistant and that is the reason of the bitterness of the product and the development of indesirable sensory features in products such as cream (Richards et al., 2014). Serine proteases, such as plasmin enzyme, are the main reason of spoilage of milk and other dairy products (Nielsen 2002). Removing bitterness is possible by using some commercial methods such as absorbtion, active carbon and chromatography andsolvent extraction but they will be used as the last solutions because they are so costly, time-consuming and the materials that will be used to extract are toxic; therefore, these commercial methods are not currently available for removal of the bitter peptides (Lemieux and Simard 1992). The best and easiest way to avoid or reduce the created bitterness by enzymes in dairy products is to use protease inhibitors (Lemieux and Simard 1992). Herbal protease inhibitors are small proteins that are in storage tissues of the plants. They will be activated during isect and pest attacks. Soybean and cowpea seeds are the plants that have these inhibitors. Existence of phenolic compounds in these inhibitors in seeds can make phenol-protease complex and the more phenolic content in these plants

can induce the greater protease inhibitory effect. Also; in these seeds, serine protease inhibitor can reduce the activity of protease by direct blocking of the active part of the enzyme and they will form the complex (Richards et al., 2014). Some chemical compounds have been found as protease inhibitors in soybean (*Glycin Max L. Merr*) and can be used as additives for protease activity inhibitor in formulation of some food products that are also anticancer (Mirzaei et al;2010). There are also protease inhibitors in cowpea seed (*Vigna Unguiculata L.walp*) . These inhibitors can cause digestion disorder in food products but nowdays, their constructive role in prevention of cancer, heart disease and antioxidant and microbial properties of them have been proven and they have been called as healthy ingredients (Siddiq and Uebersax 2012). Some foundings have been investigated on the effect of soybean seed trypsin inhibitor or cowpea seed protease inhibitor in reduction of proteases in low-fat milk or the effect of them on maintaining the quality of shrimp muscle during storage (Sriket et al; 2011; Richards et al;2014) ; but the simultaneous effect of the extracts of soybean and cowpea seeds containing trypsin inhibitors on reduction of the proteases activities in food products specially in dairy products such as cream has not been observed. Due to the type and availabe content of each compound in food products in this research the combination of protein and its quantity in food products ‘s structure and also the type of heat treatment on the amount of created inhibition of the extracts that are effective has been investigated because few studies in this context have been considered. Regarding the high demand of cream consumption in confectionery and general products, the maintenance of its quality and gentle taste are necessary issues during storage. Due to heat resistance of natural and microbial proteases that are produced from activity of cryogenic bacterias such as plasmin even after pasteurization heat treatment the presence of these enzymes in cream is inevitable and these can cause oxidation,inacceptence of bitter taste of the product and economic loss to manufactures also maintenance the consumer safety and food scurity are important thus, it is better to use herbal inhibitors instead of chemical additives to reduce these enzymes; So, in this study, the effect of different concentrations of soybean and cowpea seeds extract containing trypsin inhibitors and simultaneous use of different concentrations of soybean and cowpea seeds extracts on some physicochemical and sensory properties and microbial total count of pasteurized cream during storage have investigated.

Materials and methods: Soybean seed was milled in blender after shelling. The flour produced was kept with N-hexane in 1:5 weight/volume for one hour to defat; then was dried and milled again and it was re-deffated for two times and the product was kept under exhaust hood overnight; After that, was milled again and passed from 1000µm mesh. It should be noted that due low fat content of cowpea seed, defatting process was ignored for this seed. For extraction of protein, the resulting flour was kept in water bath with shaker in phosphate buffer 0/1M in pH of 7/5 in 1:20 weight/volume for four hours in 25℃. Then, the solution prepared was centrifuged in 10000g for 30 minutes and supernatants was obtained as trypsin inhibitor extract. The protein content was 12/5 mg/ml in soybean seed extract and it was 8/2 mg/ml in cowpea seed extract. Although heat treatment can reduce the activity of the extracts but for the reduction of the microbial count of the extracts, they were heated in pH of 8 in 55℃ for one minute. After measuring the inhibition of the extracts, the desired concentrations of them for adding to cream were investigated. for making cream treatments, after standardizing fat (25%), stabilizer of cream was added (0/2%) and they were mixed; cream was pasteurized in 72℃ for 15 minutes in non-continous heat treatment. Then it was homogenized in 150kg/cm^2 pressure and bovine trypsin enzyme, as serine protease, and produced extracts (soybean seed extract: 0, 100, 300, 500 inhibitor trypsin unit, cowpea seed extract: 0, 100, 300, 500 inhibitor trypsin unit and the combination of soybean seed extracts: 50, 150, 250 inhibitor trypsin unit and cowpea seed extract: 50, 150, 250 inhibitor trypsin unit) were added to cream in sterile condition. It should be noted that based on intensity of inhibition of the extracts, 10 treatments (cream samples) were prepared in 100-gram polystyrene cups. After adding the treatments, cups were closed with aluminum cover. The prepared samples were stored in 4℃ and the inhibition of the extracts, acidity,

viscosity, peroxide value, syneresis, microbial total count and total acceptance of the samples have been investigated in the days of 1, 4, 7, 10 and 13 during storage.

Results and discussion: The results showed that there was significant difference between the treatments and during storage on acidity,viscosity,syneresis,peroxidevalue,anisidine index and microbial total count($p<0.05$); so that acidity,viscosity,syneresis,peroxide value increased by adding treatments and anisidine index and microbial total count decreased and acidity,syneresis,microbial total count,peroxide value and anisidine index have been increased during storage but viscosity has decreased during storage.Significant difference in the inhibitory of treatmentswas observed ($p<0.05$)but the differenceduring storage was not significant ($p>0.05$)and greater concentration of the extracts has obtained higher percentage of inhibition, and because the percentage of inhibition in the sample containing soybean seed extract with the activity of 500 TIU/ml is more than the sample containing soybean seed extract with the activity of 250 TIU/ml and cowpea seed extract with the activity of 250 TIU/ml, it can be stated that soybean seed extract has act stronger than cowpea seed extract. No significant difference between the treatments and during storage was observed in sensory evaluation ($p>0.05$).

Conclusion: Finally, the sample containing 500 Trypsin Inhibitor Units of soybean was introduced as the best treatment due to suitable physicochemical and acceptable microbial and sensory characteristics.

Keywords: Bitterness, Cowpea Seed Extract, Pasteurized Cream, Protease Inhibitor, Soybean Seed Extract