DOI: http://dx.doi.org/10.22104/jift.2014.48

بررسی مقایسه‌ای زنده‌مانی پروبیوتیک‌های انتخابی در ماست قالبی کم‌چرب حاصل از شیر هموژنیزه شده تحت شرایط دمایی و مراحل متفاوت

حمید رضا نیک بخت[1]، وجیهه فدائی نوغانی[2]*، کیانوش خسروی دارانی[3]

1. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران
2. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران
3.دانشیار، گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

(تاریخ دریافت: 92/12/24، تاریخ پذیرش: 93/2/24)

چکیده

در قرن حاضر، فراورده‌های پروبیوتیک به خصوص ماست بین مردم بسیار قابل قبول بوده و این امر به دلیل تاثیر آن‌ها بر سلامت مصرف‌کنندگان است. هدف از انجام این تحقیق، بررسی تاثیر دماها و تعداد مراحل مختلف هموژنیزاسیون بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک طی نگه‌داری و به‌دست آوردن بیش‌ترین قابلیت زنده‌مانی این باکتری‌ها در ماست است. شیر مورد استفاده برای تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک، در دمای 50، 60 و 70°C پیش‌گرم و در فشار 150 بار هموژنیزه شد و تحت فرایند حرارتی 85°C به مدت 30 دقیقه قرار گرفت. بعد از خنک‌شدن شیر تا دمای 42°C، کشت آغازگر مخلوط *ABY1* تلقیح و گرم‌خانه گذاری انجام شد. بعد از تخمیر، نمونه‌های ماست تهیه شده در یخچال (4°C) نگه‌داری شدند و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* طی 21 روز نگه‌داری در دمای 4°C تعیین گردید. با افزایش دما و تعداد مراحل هموژنیزاسیون قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها افزایش یافت. بیش‌ترین قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌ای که متاثر از هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای و دمای 70°C بود، مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: ماست پروبیوتیک، دمای هموژنیزاسیون، تعداد مراحل هموژنیزاسیون، قابلیت زنده‌مانی.

* مسئول مکاتبات: vn.fadaei@gmail.com

1- مقدمه

در دهه‌های اخیر، فرایند تولید محصولات پروبیوتیک، به خصوص ماست پروبیوتیک، رواج بیش‌تری پیدا کرده است [1]. به‌طور کلی، ماست به دلیل اسیدیته بالا و pH پایین، محیط مناسبی برای حفظ و انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن نیست. در مقابل، پنیر و سایر فراورده‌های لبنی با pH بالاتر می‌توانند از نقطه نظر یاد شده موثرتر باشند. این موضوع در مورد *بیفیدوباکتریوم‌ها* از اهمیت زیادی برخوردار است. با این وجود، همه‌گیر بودن مصرف ماست، این فراورده را به مهم‌ترین و مرسوم‌ترین فراورده لبنی تبدیل کرده‌است [2]. امروزه با توجه به افزایش مقبولیت و مصرف این ماده غذایی، مهم‌ترین نکته، پایداری باکتری‌های پروبیوتیک به‌کار رفته در محصول است تا این باکتری‌ها بتوانند بیش‌ترین تاثیر مثبت خود را بر جای گذارند [3].

اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها از طریق فعالیت زیستی آن‌ها در بدن، پس از استقرار در بخش‌های مختلف ایجاد می‌شود. امروزه *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکترها*، بخش اعظم کشت‌های آغازگر پروبیوتیکی را تشکیل می‌دهند و به شکل گسترده‌ای از آن‌ها در تولید فراورده‌های غذایی پروبیوتیکی استفاده می‌شود. این فراورده‌ها اغلب از نوع لبنی هستند چرا که علاوه‌بر ارزش تغذیه‌ای مناسب، شیر محیط مناسبی را برای این میکروارگانیسم‌ها فراهم می‌کند [3]. *لاکتوباسیلوس‌ها*، غیراسپورزا، میله‌ای، گرم مثبت، کاتالاز منفی و به‌طور معمول غیرمتحرک بوده و قادر به احیای نیترات نیستند. *بیفیدوباکتریوم‌ها* غیرمتحرک، غیراسپورزا، کاتالاز منفی و اوره‌آز مثبت می‌باشند؛ pH بهینه رشد آن‌ها 6/5-7 و حساس به اسید و اکسیژن مولکولی هستند [2]. تولید انواع گوناگون ماست پروبیوتیک با کمک باکتری‌های آغازگر پروبیوتیک مانند باکتری‌های *لاکتو باسیلوس اسیدو فیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، علاوه‌بر اثرات سلامت بخشی، در پیش‌گیری و درمان عوارض سوء برخی از بیماری‌ها مفید می‌باشد. اثرات سلامت بخشی پروبیوتیک‌ها مدیون اثرات سرکوب‌کنندگی آن‌ها بر فلور مضر روده و حفظ و بهبود توازن این فلور به نفع خود به عنوان ریز زنده‌های سودمند است [4، 5].

هموژنیزاسیون یک تیمار مکانیکی گویچه‌های چربی در شیر است که شیر را تحت فشار بالا از میان یک مجرای کوچک عبور می‌دهند و سبب کاهش قطر متوسط گویچه‌های چربی و کاهش تمایل گویچه‌های چربی به خامه‌ای شدن می‌شود [1]. گلبول‌های چربی در هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای، کوچک‌تر و متراکم می‌شوند و ویسکوزیته محصول نهایی را افزایش می‌دهند، ولی در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، گلبول‌های چربی به ذرات بسیار ریزی شکسته می‌شوند. در نتیجه، ویسکوزیته محصول کاهش می‌یابد [6]. مرحله دوم در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، افزایش دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر را موجب می‌شود. دماهای مختلف هموژنیزاسیون، اثرات مختلفی بر دناتوراسیون و تجمع پروتئین‌های آب پنیر و هم‌چنین، تعاملاتی که باعث محافظت از ساختار پروتئین می‌شوند، دارند[7].

برخی پژوهش‌ها در ارتباط با قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماست پروبیوتیک انجام پذیرفته است. مرتضویان و همکاران (2006)، طی تحقیقاتی بر روی ماست پروبیوتیک، اثر سه فرایند سالم‌سازی 90°C به مدت 15 دقیقه، 85°C به مدت 30 دقیقه و 90°C به مدت 5 دقیقه را مقایسه کردند. نتایج حاکی از آن است که فرایند حرارتی 90°C به مدت 15 دقیقه در مقایسه با دو فرایند حرارتی دیگر به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها پس از پایان تخمیر می‌شود [8]. Donkor و همکاران (2006) ، اثر pH و اسیدهای آلی را بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماست پروبیوتیک بررسی کردند. نتایج نشان داد که کاهش شدید pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی رشد و فرایند تخمیر از عوامل کاهش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشد [9]. Martin و همکاران (2003)، گزارش کردند که افزودن کنسانتره پروتئین آب پنیر ضمن داشتن صرفه اقتصادی و در دسترس بودن، سفتی ژل ماست قالبی و گرانروی ماست تولیدی را افزایش و آب اندازی راکاهش می‌دهد. در عین حال، سبب رشد پروبیوتیک‌ها به ویژه *بیفیدوباکتریوم‌ها* در ماست پروبیوتیک می‌شود [10]. مرتضویان و همکاران (2007)، اثر نگه‌داری در دمای یخچال (2، 5 و 8°C) را بر روی قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در استارترهای *ABY* (باکتری‌های ماست و پروبیوتیک‌های

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) را به منظور بهترین دوره یخچال گذاری مورد مطالعه قرار دادند. بعد از 20 روز نگه‌داری در 2°C، بالاترین قابلیت زنده‌مانی برای *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* ثبت گردید. در حالی‌که برای *بیفیدوباکتریوم*، 8°C بالاترین قابلیت زنده‌مانی را در برداشت. Takahashi و همکاران (2004)، بر روی ماست پروبیوتیک تحقیقاتی انجام دادند. نتایج نشان داد که اسیدیته و pH از عوامل بسیار مهم در ارتباط با پروبیوتیک‌ها می‌باشند. از این رو، بقای *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در فراورده‌های با اسیدیته پایین (اندک تخمیر) همچون ماست کم اسید و برخی پنیرها و هم‌چنین، فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک مانند بستنی به‌طور معنی‌داری بالاتر از فراورده‌های کامل تخمیر نظیر ماست است [11]. در برخی از پژوهش‌ها به بررسی اثر استفاده از هموژنیزاسیون با فشار بالا بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها پرداخته شده است؛ به‌طوری‌که استفاده از هموژنیزاسیون با فشار بالا به جای پاستوریزاسیون می‌تواند قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را طی دوره نگه‌داری افزایش دهد [12]. هم‌چنین، هموژنیزاسیون با فشار بسیار بالا باعث افزایش مقدار اسید لاکتیک می‌شود که این امر، به دلیل افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد [13]. از طرف دیگر، با افزایش فشار هموژنیزاسیون، باکتریوفاژها (که یکی از مهم‌ترین عوامل موثر بر کاهش تعداد باکتری‌ها محسوب می‌شوند)، غیرفعال می‌شوند؛ در نتیجه، افزایش تعداد باکتری‌های زنده پروبیوتیک را در پی دارد [14]. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، در هیچ‌کدام از این پژوهش‌ها، به اثر هم‌زمان دما و تعداد مراحل هموژنیزاسیون شیر مورد استفاده در تولید ماست اشاره نشده است. لذا در پژوهش حاضر، اثر دماها و مراحل مختلف هموژنیزاسیون شیر مورد استفاده در تولید ماست پروبیوتیک کم‌چرب بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک مورد بررسی قرارگرفته است.

2-مواد و روش ها

2-1- مواد اولیه

کشت منجمد شده تجاری DVS (شامل باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA^5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb^{12} و باکتری‌های ماست *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و با نام تجاری *ABY1*) از شرکت کریستین هنسن، کشور دانمارک، و شیر خشک بدون چربی از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه تهران تهیه شد. محیط‌های کشت مورد نیاز جهت انجام آزمون میکروبی از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

2-2- روش تولید نمونه‌های ماست

شیر کم‌چرب (1/5 ٪ چربی) مورد استفاده برای تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک، در دمای 50، 60 و 70°C پیش‌گرم و در فشار 150 بار به صورت یک مرحله‌ای یا دو مرحله‌ای هموژنیزه شد (مطابق با جدول 1) و تحت فرایند حرارتی 85°C به مدت 30 دقیقه قرار گرفت. بعد از خنک‌شدن شیر تا دمای 42°C، کشت آغازگر مخلوط *ABY1* تلقیح گردید و گرم‌خانه گذاری انجام شد. در طی تخمیر، pH کاهش یافت تا به 4/5 رسید. بعد از تخمیر، نمونه‌های ماست تهیه شده در یخچال (4°C) نگه‌داری‌شدند و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی 21 روز نگه‌داری در دمای 4°C تعیین گردید.

2-3- آزمون میکروبی

شمارش (قابلیت زنده‌مانی) *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA^5) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (Bb^{12}) با استفاده از محیط کشت MRS- bile آگار مطابق با روش مرتضویان و همکاران (2006) انجام پذیرفت. پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای 37 °C به مدت 72 ساعت گرم‌خانه گذاری‌شدند. شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی وگاز پک ایجاد شد. شرایط هوازی، منجر به رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شد و شرایط بی‌هوازی، رشد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را در پی داشت [8].

2-4- روش آماری

برای آنالیز داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی استفاده شد. آزمایش دارای دو فاکتور دما (در سه سطح) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون (در دو سطح) می‌باشد. بـرای هر تیمار، 3 تکرار در نظر گرفته شد. در صورت

معنی‌دارشدن تفاوت بین تیمارها، جهت مقایسه میانگین‌های اثرات فشارهای مختلف و مراحل هموژنیزاسیون بر صفات مورد بررسی، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0/05 استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مستخرج از آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS انجام گرفت.

3-نتایج و بحث

تعیین قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر بر اساس نتایج آماری (جداول 2 و 4)، قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌ها در زمان‌های مختلف طی نگه‌داری، اختلاف آماری بسیار معنی‌داری دارد (p<0/01). قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌ها در تعداد مراحل مختلف هموژنیزاسیون، اختلاف آماری معنی‌داری دارد (p<0/05) ولی قابلیت زنده‌مانی آن در نمونه‌ها در دماهای مختلف هموژنیزاسیون، اختلاف آماری معنی‌داری ندارد (p>0/05).

جدول(1) معرفی تیمارهای مورد استفاده در تحقیق

مواد / تیمارها	شیر خشک (٪)	شرایط هموژنیزاسیون				
		دما			تعداد مراحل	
		50	60	70	یک	دو
T1	2	x			x	
T2	2	x				x
T3	2		x		x	
T4	2		x			x
T5	2			x	x	
T6	2			x		x

جدول (2) تجزیه واریانس قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
زمان	3	1/68	0/56	192/62	</0001
دما	2	0/01	0/00	2/20	0/12
مرحله	1	0/05	0/05	17/60	0/00
زمان*دما	6	0/00	0/00	0/48	0/82
زمان*مرحله	3	0/00	0/00	0/70	0/55
دما*مرحله	2	0/00	0/00	0/14	0/86
زمان*دما*مرحله	6	0/00	0/00	0/13	0/99
خطا	48	0/13	0/00		
کل	71	1/90			

جدول (3) تجزیه واریانس قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
زمان	3	1/68	0/56	192/62	</0001
دما	2	0/01	0/00	2/20	0/12
مرحله	1	0/05	0/05	17/60	0/00
زمان*دما	6	0/00	0/00	0/48	0/82
زمان*مرحله	3	0/00	0/00	0/70	0/55
دما*مرحله	2	0/00	0/00	0/14	0/86
زمان*دما*مرحله	6	0/00	0/00	0/13	0/99
خطا	48	0/13	0/00		
کل	71	1/90			

بر اساس نتایج آماری (جداول 3 و 5)، قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم* در نمونه‌ها در زمان‌های مختلف طی نگه‌داری، اختلاف آماری بسیار معنی‌داری داشته ($p<0/01$) ولی قابلیت زنده‌مانی آن در نمونه‌ها در دماها و تعداد مراحل مختلف هموژنیزاسیون، اختلاف آماری معنی‌داری ندارد ($p>0/05$).

در مطالعه صورت گرفته توسط Shah و همکاران (2000)، اثر بازدارندگی و کشندگی pHهای پایین بر *بیفیدوباکتریوم*ها بیش‌تر از *لاکتوباسیلوس‌ها* اعلام گردید[15]. مطابق با تحقیقات انجام شده توسط Shah و همکاران (2000) و Tejada و همکاران (1999)، *لاکتوباسیلوس‌ها* در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم‌ها* به غلظت‌های بالای اسید استیک حساس‌تر هستند ولی در مـورد اسید لاکتیک، *بیفیدوباکتریوم*ها حساسیت بیش‌تری دارند [۱۶،۱۵]. طبق مطالعه انجام گرفته توسط Tejada و همکاران (1999)، مخلوط اسیدهای آلی لاکتیک و استیک در قیاس با هر یک از این اسیدها به تنهایی، اثر بازدارندگی و کشندگی کم‌تری بر پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* دارد [16]. Donkor و همکاران (2006)، گزارش کردند که کاهش pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی زمان نگه‌داری از عوامل موثر بر کاهش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشند [9]. Tejada و همکاران (1999)، اثر بازدارندگی و کشندگی بیش‌تر اسیدهای آلی لاکتیک در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم‌ها* به غلظت‌های بالای اسید استیک حساس‌تر هستند ولی در مورد اسید لاکتیک، *بیفیدوباکتریوم*ها حساسیت بیش‌تری دارند [15، 16]. طبق مطالعه انجام گرفته توسط Tejada و همکاران (1999)، مخلوط اسیدهای آلی لاکتیک و استیک در قیاس با هر یک از این اسیدها به تنهایی، اثر بازدارندگی و کشندگی کم‌تری بر پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* دارد [16]. Donkor و همکاران (2006)، گزارش کردند که کاهش pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی زمان نگه‌داری از عوامل موثر بر کاهش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشند [9]. Tejada و همکاران (1999)، اثر کشندگی بیش‌تر اسیدهای آلی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک را در دمای محیط در مقایسه با دمای 4°C ، به کاهش pH هم‌گام با افزایش دما و افزوده‌شدن بر تعداد مولکول‌های یونیزه نشده اسید نسبت دادند [16]. هم‌چنین، Sarrela و همکاران (2000) ضمن تحقیق بر روی ماست پروبیوتیک، گزارش کردند که اسیدیته فراورده نه تنها در شرایط برون زیست (در فراورده) بر قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها اثر منفی دارد، بلکه در شرایط درون زیست نیز مرگ آن‌ها را افزایش می‌دهد. زیرا وقتی فراورده تخمیری به معده می رسد pH پایین معده موجب

افزایش مقدار اسید لاکتیک تفکیک نشده می‌شود [17]. بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006)، pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگه‌داری در 4°C (یخچال)، کاهش و اسیدیته افزایش می‌یابد. آن‌ها گزارش کردند که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از طریق تولید اسید لاکتیک و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با تولید اسیداستیک باعث کاهش pH در ماست می‌شوند [8]. البته، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها علاوه‌بر pH و اسیدیته تحت تاثیر عواملی مانند پتانسیل اکسیداسیون و احیاء نیز می‌باشد [9].

نتایج پژوهش مطالعه‌ی حاضر نیز مطابق با پژوهش‌های ذکر شده در بالا می‌باشند؛ به‌طوری‌که با افزایش زمان انبارداری، pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگه‌داری در 4°C کاهش یافت ($p<0/01$، جداول 6 و 7)؛ هم‌چنین، قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها کم‌تر شد، و این کاهش در ارتباط با قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بیش‌تر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود.

جدول(4) قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (logcfu/ml)در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C*
(میانگین ± انحراف معیار)

روز / تیمار	0	7	14	21
T1	8/09±0/02^{bcde}	8/02±0/05^{def}	7/88±0/06^{hi}	7/68±0/10^{l}
T2	8/16±0/02^{ab}	7/02±0/02^{ef}	7/14±0/04^{fgh}	7/14±0/11^{kl}
T3	8/12±0/02^{abc}	8/02±0/02^{de}	7/87±0/02^{hi}	7/74±0/08^{kl}
T4	8/21±0/01^{a}	8/06±0/01^{bcde}	7/94±0/04^{fgh}	7/79±0/07^{ijk}
T5	8/11±0/01^{bcd}	8/04±0/04^{de}	7/85±0/04^{hij}	7/71±0/02^{kl}
T6	8/17±0/01^{ab}	8/07±0/01^{cde}	7/92±0/06^{gh}	7/77±0/06^{jkl}

* حروف لاتین متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$)

جدول(5) قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (logcfu/ml)در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C*
(میانگین ± انحراف معیار)

روز / تیمار	0	7	14	21
T1	8/12±0/01^{abcd}	8/03±0/02^{abcd}	7/87±0/06^{cdefg}	7/64±0/01^{fg}
T2	8/16±0/01^{ab}	8/08±0/01^{abcd}	7/91±0/03^{bcdef}	7/66±0/00^{efg}
T3	8/14±0/03^{abc}	8/03±0/02^{abcd}	7/85±0/00^{defg}	7/61±0/08^{g}
T4	8/19±0/02^{ab}	8/08±0/01^{abcd}	7/94±0/01^{abcde}	7/70±0/09^{efg}
T5	8/13±0/04^{abc}	8/02±0/01^{abcd}	8/22±0/55^{a}	7/95±0/60^{abcd}
T6	8/19±0/01^{ab}	8/07±0/00^{abcd}	7/17±0/03^{cdefg}	7/69±0/03^{efg}

* حروف لاتین متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد ($p<0/05$)

جدول (6) تجزیه واریانس pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
زمان	3	1/24	0/41	227/35	<0/0001
دما	2	0/00	0/00	0/83	0/44
مرحله	1	0/00	0/000	0/00	0/97
زمان*دما	6	0/01	0/00	19/1	0/32
زمان*مرحله	3	0/00	0/00	1/20	0/32
دما*مرحله	2	0/00	000/0	42/0	0/65
زمان*دما*مرحله	6	0/01	0/005	0/93	0/48
خطا	48	0/08	0/00		
کل	71	1/36			

جدول(7) مقادیر pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متاثر از متفاوت بودن دما و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگه‌داری در 4°C*
(میانگین ± انحراف معیار)

روز / تیمار	0	7	14	21
T1	4/50±0/00[a]	4/37±0/02[b]	4/28±0/08[c]	4/13±0/02[d]
T2	4/52±0/04[a]	4/40±0/01[b]	4/27±0/03[c]	4/14±0/04[d]
T3	4/53±0/03[a]	4/36±0/02[b]	4/25±0/04[c]	4/15±0/03[d]
T4	4/51±0/02[a]	4/37±0/03[b]	4/24±0/02[c]	4/15±0/01[d]
T5	4/51±0/02[a]	4/37±0/03[b]	4/25±0/02[c]	4/13±0/02[d]
T6	4/41±0/14[b]	4/38±0/03[b]	4/27±0/02[c]	4/16±0/01[d]

* حروف لاتین متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (p<0/05)

در این پژوهش، بیش‌ترین قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم*) در نمونه‌ای مشاهده شد که تحت بیش‌ترین دما و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T6) قرار گرفته بود. کم‌ترین قابلیت زنده‌مانی این دو باکتری به نمونه‌ای تعلق داشت که تحت کم‌ترین دما و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T1) قرار گرفته بود. افزایش دما از 60 تا 70°C، اثر تحریک کنندگی بر رشد استرپتوکوکوس ترموفیلوس دارد [18]. بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Dave و همکاران (1998)، کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و کاهش اکسیژن محلول، افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را در پی دارد [8، 19]. هم‌چنین، هم کشت‌کردن باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به همراه پروبیوتیک‌ها به عنوان مصرف‌کننده موثر اکسیژن مولکولی، باعث افزایش زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم‌ها* می‌شود. مطابق تحقیقات Tamime و همکاران (1999)، شکست حرارتی پروتئین‌ها در دماهای بالاتر از 50°C اتفاق می‌افتد که باعث تولید عوامل محرک رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود؛ هم‌چنین، تحریک رشد و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک از طریق کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء به سبب آزادسازی اسیدهای آمینه گلوتاتیون[1] و تیوگلی کلات[2] است [18]. طی تحقیقات Dave و همکاران (1999)، با افزایش دما (بیش‌تر از 50°C)، آزادسازی اسیدهای آمینه

1. Glutathione
2. Thioglycolate

گوگرد دار و گروه‌های سولفیدریل افزایش می‌یابد که موجب کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و در نتیجه، افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شود [19]. افزایش تعداد مراحل هموژنیزاسیون با شکستن گویچه‌های چربی و پروتئین‌ها موجب تشکیل پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد می‌شود که این ترکیبات به عنوان ترکیبات مغذی مورد نیاز برای رشد پروبیوتیک‌ها، به راحتی در دسترس این باکتری‌ها قرار می‌گیرند و در نتیجه، باعث رشد و فعالیت بهتر و افزایش قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شوند.

افزایش دما (از 50 به 70°C) و افزایش تعداد مراحل هموژنیزاسیون (از یک به دو مرحله) باعث افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شود. علت این پدیده، افزایش ترکیبات مغذی مورد نیاز برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک است که با افزایش تعداد مراحل هموژنیزاسیون افزایش می‌یابد؛ هم‌چنین، مرحله دوم در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، افزایش دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر را موجب می‌شود. به‌طور هم‌زمان، افزایش دما نیز با کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء باعث افزایش قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شود. همان‌طور که پیش‌تر اشاره شد، دماهای مختلف هموژنیزاسیون، اثرات مختلفی بر دناتوراسیون و تجمع پروتئین‌های آب پنیر، و هم‌چنین تعاملاتی که باعث محافظت از ساختار پروتئین می‌شوند، دارند.

4- نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثر دماها و مراحل مختلف هموژنیزاسیون شیر مورد استفاده در تولید ماست پروبیوتیک کم‌چرب بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک مورد بررسی قرارگرفت. بیش‌ترین میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) به نمونه‌ای که تحت تاثیر دمای 70°C و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای قرار گرفته بود (تیمار T6)، تعلق داشت. بنابراین، تیمار T6 (به دلیل دارا بودن بیش‌ترین میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک) به عنوان تیمار برتر در این پژوهش معرفی می‌شود.

5- سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از شرکت شیر پاستوریزه پگاه تهران به دلیل در اختیار قرار دادن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش اعلام می دارند.

منابع

[1] حبیبی نجفی م.ب، مظاهری تهرانی، رضوی ع.(1377). دانش وتکنولوژی ماست. مشهد:انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.216.

[2]Wysong R L.,2001. Beneficial lactobacilli in food and feed. Journal of Protection, 4: 487–51.

[3] Varga L, Szigeti J, Kovacs R, Foldes T, Buti S .2002. Influence of a a spirulina platensis biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. Journal dairy,3:270-278

[4] محسنی آهنگر،م.1389.بررسی اثر پری بیوتیک‌های بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و ویژگی‌های حسی شیر. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار.85.

[5] مرتضویان ا.م،سهراب وندی س.(1385)، پروبیوتیک‌ها و فراورده‌های غذایی پروبیوتیک.تهران: انتشارات اتا.483.

[6] مرتضوی ع،قدسی روحانی م، جوینده ح.(1380)،تکنولوژی شیر و فراورده‌های لبنی.مشهد:انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد.411.

[7]Thompson,A.,Boland,M.,Harjinder,S.,2009. Milk proteins.Food science and Technolog,533.

[8]Mortazavian,A.M.,Ehrani,M.R.,Mousavi,S. M.,Reinheimer,J.A.,Emamjomeh,Z.,Sohrabvandi, S.,Rezaei,K.2006 .Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic microorganisms in freshly made yogurt. International Journal of Dairy Technology,59:8-11.

[9] Donkor, O.N., Henriksson, A. Vasiljevic, T., and

shah, N.P .2006 .Effact of acidification on the activity of probiotic in yogurt during cold storage. International Dairy Journal , 16: 1181-1189.

[10] Martin, F., Cachon, R., Pernin, K., De Coninck, J., Gevais, P., Guichard, E., 2003. Effect of lactic bacteria in nonfat yogurt. Journal of Dairy Science, 94:614–622.

[11] Takahashi N., Xiao J.Z., Miyaji K., Yaeshiima T., Hiramatsu A., Iwatsuki K., Kokubo S., Hosono A.,2004. Selection of acid tolerant bifidobacteria and evidence for acid tolerance response in Bifidobacterium longum. Pub med ,71:340-345.

[12] Burns, P. Patrignani, F. Serrazanetti, D. Vinderola, G. C. Reinheimer, J. A.,2008. Probiotic Crescenza Cheese Containing Lactobacillus casei and Lactobacillus acidophilus Manufactured with High-Pressure Homogenized Milk.Journal of Dairy Science,91:500–512.

[13] Serra M., Antonio J. Trujillo, Buenventura Guamis, Victoria Ferragut.2009. Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. International Dairy Journal,19:100–106.

[14] Capra, Marı´a Luja´n, Francesca Patrignani, Andrea del Luja´n Quiberoni , Jorge Alberto Reinheimer, Rosalba Lanciotti, Maria Elisabetta Guerzoni.2009. Effect of high pressure homogenization on lactic acid bacteria phages and probiotic bacteria phages, International Dairy Journal,19: 336–341.

[15] Shah, N.P. 2000. Symposium: prodiotic bacteria : selective enumeration and surrival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 83:894-907.

[16] Tejada-Simon, M.V.,Peestka, J.J.,1999.Effects of Lactobacilli , Streptococci, and Bifido bacteria Ingestion on Cytokine and Nitric Oxide Production.Journal of Food Protection , 62:14-35.

[17] Sarrela. M. Mogensen. G. Fonden. R. Matto. J. and Mattila-Sandholm. T.,2000. probiotic bacteria in functional food .Journal of Biotechnology,84: 197-205.

[18] Tamime, A.Y. and Robinson, R.K .,1999. Yoghurt Science and Teehnology. CRC Press. Boca Raton.457.

[19] Dave,R.I.,Shah,M.L.,1998. Ingredient Supplementation Effects on Viability of Probiotic Bacteria in Yogurt. Journal of Dairy Science , 81:2804-2816.