

## بررسی اثر فشار و مراحل هموژنیزاسیون بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست کم چرب پروبیوتیک

رامونا مسعود<sup>۱</sup>، وجیهه فدائی نوغانی<sup>۲\*</sup>، کیانوش خسروی دارانی<sup>۳</sup>

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران
۲. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس، تهران
۳. 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: 92/12/3، تاریخ پذیرش: 93/3/1)

### چکیده

امروزه مصرف فراورده‌های پروبیوتیک به ویژه ماست به دلیل دارا بودن خواص منحصر به فرد و سلامتی بخش از محبوبیت زیادی برخوردار است. در این پژوهش، اثر فشار و مراحل هموژنیزاسیون بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفته است. شیر مورد استفاده برای تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک، در دمای 60 درجه سانتی‌گراد پیش گرم و در فشارهای 100، 150 و 200 بار هموژنیزه شد؛ و تحت فرایند حرارتی 85 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه قرار گرفت. بعد از خنک شدن شیر تا دمای 42 درجه سانتی‌گراد، کشت آغازگر مخلوط ABY1 تلقیح گردید و گرم‌خانه‌گذاری انجام شد. در طی تخمیر، pH کاهش یافت تا به 4/5 رسید. بعد از تخمیر، نمونه‌های ماست تهیه شده در یخچال با دمای (4 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته قابل تیتراژ، آب‌اندازی، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و ویسکوزیته) طی 21 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد تعیین گردید. با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون در طول دوره نگهداری، pH، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و ویسکوزیته کاهش ( $p < 0/05$ )؛ ولی آب‌اندازی و اسیدیته افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).

واژه‌های کلیدی: ماست پروبیوتیک، فشار هموژنیزاسیون، تعداد مراحل هموژنیزاسیون، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی.

\* مسئول مکاتبات: vn.fadaei@gmail.com

## 1- مقدمه

گلوبول‌های چربی به ذرات بسیار ریزی شکسته می‌شوند. در نتیجه، ویسکوزیته محصول کاهش می‌یابد. [5]. مرحله دوم در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، افزایش داناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر را موجب می‌شود [6].

برای تولید ماست، معمولاً شیر را در فشار 15-20 Mpa هموژنیزه کرده و برای کاهش بار میکروبی، در دمای (70-60 درجه سانتی‌گراد) حرارت می‌دهند که باعث افزایش قوام و بهبود بافت ماست می‌شود [7 و 8]. در صورتی که هموژن کردن با فرایند حرارتی (90 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه) همراه شود، اثر مطلوبی در بهبود گرانیوی ماست دارد [9]. به طوری که هموژن کردن چربی شیر در فشار 15-20 Mpa و سپس اعمال فرایند حرارتی در دمای 90-80 درجه سانتی‌گراد، قابلیت آب اندازی را تا حدودی کاهش می‌دهد؛ که علت آن، افزایش شاخص ظرفیت نگهداری آب در ژل ماست می‌باشد [10]. بنابراین می‌توان گفت که فرایند حرارتی پس از هموژن کردن شیر پایه، خواص آب دوستی و استحکام ژل ماست را افزایش و آب اندازی را کاهش می‌دهد؛ و علت آن را می‌توان به داناتوره شدن پروتئین‌های محلول و واکنش سطحی آن‌ها با کاپا کازئین در سطح میسل‌های کازئین نسبت داد [1].

بسیاری از پژوهش‌ها در ارتباط با اثر فشارهای بسیار بالا به همراه فرایند حرارتی با دمای بالا بر خواص فیزیکوشیمیایی ماست می‌باشند [11 و 12] و یا کاربرد فشار بالا را به عنوان جایگزین فرایند سالم‌سازی در تولید ماست مورد بررسی قرار داده‌اند [13، 14، 15 و 16]؛ و کم‌تر به اثر هم زمان فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر کم چرب بر ویژگی‌های ماست پرداخته شده است. لذا در این پژوهش، اثر شرایط مختلف هموژنیزاسیون (فشار و تعداد مراحل) شیر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک طی نگهداری مورد توجه قرار گرفته است.

## 2- مواد و روش‌ها

## 1-2- مواد اولیه

کشت منجمد شده تجاری DVS (شامل باکتری‌های پروبیوتیک آغازگر لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس LA5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb 12 و باکتری‌های ماست/ستریپتوکوکوس ترموفیلوس

محصولات غذایی پروبیوتیکی که امروزه یکی از مباحث جذاب غذایی، تغذیه‌ای و درمانی را به خود اختصاص داده‌اند، جزء غذاهای فراسودمند طبقه‌بندی می‌شوند. تفاوت پروبیوتیک‌ها با سایر ریز زنده‌ها که ممکن است دارای خواص سلامت‌بخش برای میزبان باشند، در این است که اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها از طریق فعالیت زیستی آن‌ها در بدن، پس از استقرار در بخش‌های مختلف ایجاد می‌شود [1]. ماست پروبیوتیک مشابه ماست سنتی است. تنها تفاوت اساسی آن‌ها در وجود ریز زنده‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشد. مطابق استاندارد ملی ایران به شماره 11325، قابلیت زیستی (شمارش زنده) هر یک از گونه‌های پروبیوتیک به کار رفته در ماست پروبیوتیک تا پایان تاریخ انقضاء قابلیت مصرف نباید از  $10^6$  CFU/g کم‌تر باشد [2].

چربی شیر تمایل زیادی به جدا شدن از شیر و تشکیل گویچه‌های بزرگ‌تر را دارد. گویچه‌های طبیعی چربی طی هموژنیزاسیون متلاشی می‌شوند، سطح چربی افزایش می‌یابد و جذب سطحی ماده فعال‌کننده سطحی (عمدتاً میسل‌های کازئینی و پروتئین‌های سرمی) اتفاق می‌افتد [3]. هموژنیزاسیون یا همگن کردن، به منظور انتشار یکنواخت گویچه‌های چربی صورت می‌گیرد و با افزایش فشار هموژنیزاسیون، اندازه ذرات کوچک‌تر و پراکندگی ذرات بیش‌تر می‌شود [4]. شیر هموژنیزه و فراورده‌های ناشی از آن در مقایسه با شیر معمولی سفیدتر به نظر می‌رسند، زیرا با کاهش قطر گلوبول‌های چربی، پراکنش نور افزایش می‌یابد [1].

هموژنیزاسیون ممکن است به صورت یک یا دو مرحله‌ای باشد. در هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای، تمام فشار بر روی سیستم در یک مرحله عمل می‌کند و در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای فشار کل بین مرحله اول و مرحله دوم تقسیم می‌شود. معمولاً روش دو مرحله‌ای برای دست‌یابی به کارایی بهتر هموژن کردن به کار می‌رود. بهترین نتیجه وقتی به دست می‌آید که در مرحله اول حدود 70 درصد فشار و در مرحله دوم حدود 30 درصد آن اعمال گردد. گلوبول‌های چربی در هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای، کوچک‌تر و متراکم می‌شوند و ویسکوزیته محصول نهایی را افزایش می‌دهند ولی در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای،

آب اندازه‌ی: میزان آب اندازه‌ی نمونه‌های ماست تولید شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال دار (مدل Sigma، ساخت کشور آلمان) اندازه‌گیری شد. مقدار 20 میلی لیتر از نمونه‌های همگن شده در لوله‌های مدرج مخصوص دستگاه قرار داده شد و نمونه‌ها با سرعت 1220 g به مدت 10 دقیقه و در دمای 4 درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند [12].

ویسکوزیته: ویسکوزیته نمونه‌های ماست تولیدی با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (RV-DVII، ساخت کشور آمریکا) در دمای 5 درجه سانتی‌گراد و سرعت 70 دور در دقیقه اندازه‌گیری، و پس از گذشت 15 ثانیه از چرخش اسپیندل شماره 6 قرائت گردید [18].

#### 2-4- روش آماری

برای آنالیز داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی استفاده شد. آزمایش دارای دو فاکتور فشار (در سه سطح 150، 100 و 200 بار)، تعداد مراحل هموژنیزاسیون (در دو سطح یک و دو مرحله) می‌باشد. برای هر تیمار 3 تکرار در نظر گرفته شد. در صورت معنی‌دار شدن 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 پذیرفت.

#### 3- نتایج و بحث

تغییرات pH و اسیدیته طی دوره نگهداری: نمودارهای 1 و 2 به ترتیب تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهند. به طور کلی، در ماست به علت تولید اسید توسط فعالیت باکتری‌های کشت آغازگر، اسیدیته افزایش می‌یابد که باعث کاهش pH می‌شود. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش و اسیدیته افزایش یافت ( $p < 0/01$ ). بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران [2006]، Cebeci و

و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و با نام تجاری ABY1 از شرکت کریستین هسن، کشور دانمارک، و شیر خشک بدون چربی از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه تهران تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز جهت انجام آزمون‌ها از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

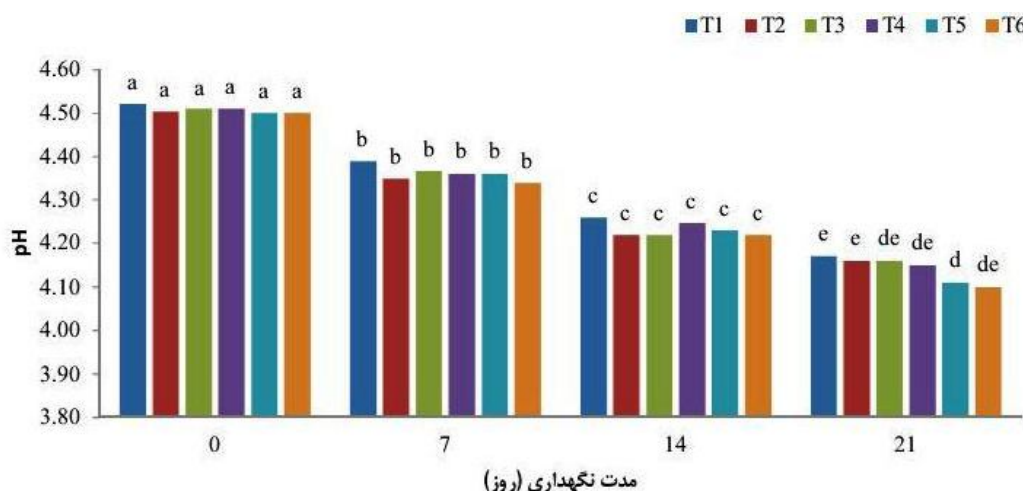
#### 2-2- روش تهیه نمونه‌های ماست

شیر خام (تهیه شده از شرکت پگاه تهران) پس از استاندارد شدن چربی (1/5٪) و ماده خشک (10٪)، در دمای 60 درجه سانتی‌گراد پیش گرم شد و تحت هموژنیزاسیون قرار گرفت. لازم به ذکر است که بر اساس شرایط هموژنیزاسیون، 6 تیمار به شرح زیر تعریف شدند:

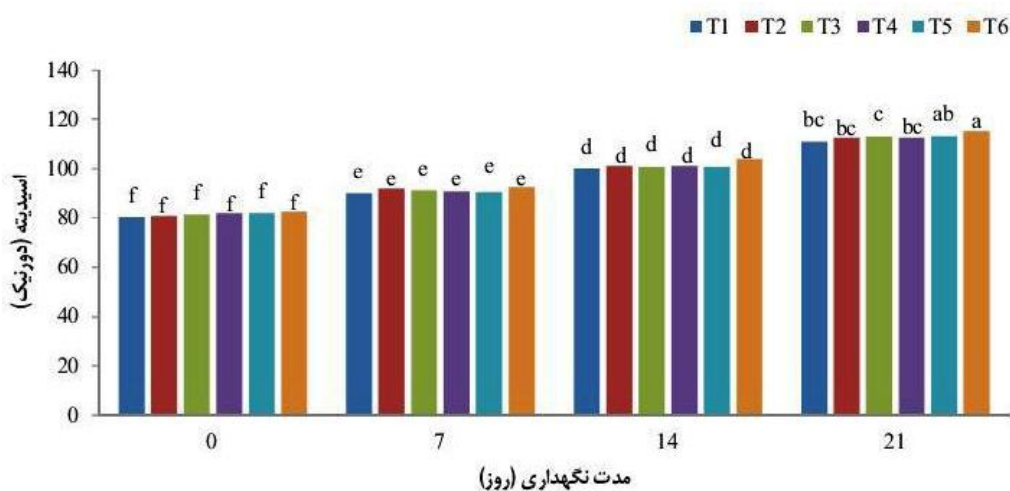
T1: هموژنیزاسیون تحت فشار 100 بار و به صورت یک مرحله‌ای،  
T2: هموژنیزاسیون تحت فشار 100 بار و به صورت دو مرحله‌ای،  
T3: هموژنیزاسیون تحت فشار 150 بار و به صورت یک مرحله‌ای،  
T4: هموژنیزاسیون تحت فشار 150 بار و به صورت دو مرحله‌ای،  
T5: هموژنیزاسیون تحت فشار 200 بار و به صورت یک مرحله‌ای،  
T6: هموژنیزاسیون تحت فشار 200 بار و به صورت دو مرحله‌ای.  
سپس تیمارها تحت فرایند گرمایی (85 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه) قرار گرفتند و پس از سرد شدن نمونه‌ها تا دمای تلقیح (42 درجه سانتی‌گراد)، استارتر مطابق با دستور شرکت سازنده تلقیح شد. در ادامه، گرمخانه‌گذاری در دمای 42 درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت و نمونه‌ها در pH  $4/5 \pm 0/02$  از گرم‌خانه خارج و سرد شدند. سپس شاخص‌های فیزیکوشیمیایی در روزهای 0، 7، 14 و 21 پس از تولید طی نگهداری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد.

#### 2-3- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

pH و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء: در دمای اتاق با استفاده از pH متر مدل Mettler Toledo مجهز به الکتروود MA235، ساخت کشور سوئیس اندازه‌گیری شد. سرعت افت pH و افزایش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء بر طبق روش مرتضویان و همکاران (2010) اندازه‌گیری شد [17].  
اسیدیته قابل تیتراژ: 10 گرم نمونه با 10 میلی لیتر آب مقطر مخلوط، و با سود 0/1 نرمال در حضور فنل فتالین تیتراژ گردید [17].



نمودار (1) تغییرات pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4°C



نمودار (2) تغییرات اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4°C

و همکاران (1986) و Tamime و Robinson (1999) نیز Dave و همکاران (2003)، Gurakan (2003) و Volcova (1998) pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد (یخچال)، کاهش و اسیدیته افزایش می‌یابد [19، 20، 21، 6 و 10] که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. مرتضویان و همکاران (2006) گزارش کردند که فعالیت لاکتوباسیلوس به علت مهیا بودن شرایط زیستی (وجود لاکتوز به میزان زیاد) می‌باشد؛ به طوری که با تخمیر کربوهیدرات‌های موجود در شیر، اسید لاکتیک تولید می‌کند؛ و اسید استیک، حاصل فعالیت بیفیدوباکتریوم است؛ لذا، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس از طریق تولید اسید لاکتیک و بیفیدوباکتریوم لاکتیس با تولید

اسیداستیک باعث افزایش اسیدیته و در نتیجه کاهش pH در ماست پروبیوتیک می‌شوند [19]. با افزایش فشار از 100 تا 200 بار ( $p < 0/05$ ) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون ( $p > 0/05$ )، کاهش می‌یابد؛ بیشترین مقدار pH پس از 21 روز نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد، مربوط به نمونه T1 بوده که مقدار آن از 4/52 به 4/17 کاهش یافت و کمترین مقدار pH پس از این مدت نگهداری، مربوط به T6 بوده که مقدارش از 4/50 به 4/10 تغییر یافت. افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون، باعث کاهش pH شده؛ به طوری که در نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T6) قرار گرفت، کمترین pH و در

نمونه‌ای که تحت کم‌ترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T1) قرار گرفت، بیش‌ترین pH مشاهده شد. با افزایش فشار (از 100 تا 200 بار) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون، اسیدیته به مقدار کمی افزایش پیدا کرد ( $p < 0/05$ )؛ به طوری که در نمونه‌ای که تحت بیش‌ترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای قرار گرفت (T6)، بیش‌ترین اسیدیته (افزایش از 82/50 به 115/33 درجه دُرَنیک) و در نمونه‌ای که تحت کم‌ترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای قرار گرفت (T1)، کم‌ترین اسیدیته (افزایش از 82/33 به 111/00 درجه دُرَنیک) مشاهده شد. De Ancos و همکاران (2000) بیان کردند که فشار 200-300 Mpa در ماست پروبیوتیک به طور مؤثری از فعالیت اسید سازی باکتری‌های سنتی طی دوره نگهداری می‌کاهد و اسیدیته را در حد مطلوبی نگه می‌دارد [15]. بنا بر تحقیقات Serra و همکاران (2009)، مقادیر بیش‌تری اسید لاکتیک در نمونه‌های هموژن شده در فشار 300 Mpa نسبت به 200 Mpa مشاهده شد؛ آن‌ها دلیل این امر را افزایش فعالیت لاکتوباسیلوس‌ها طی افزایش فشار بیان کردند [8]. هم‌چنین، طبق مطالعه انجام گرفته توسط Tamime و Robinson (1999)، سرعت اسید سازی در ماست با افزایش فشار هموژنیزاسیون شدت می‌یابد؛ این امر احتمالاً به دلیل تغییر در پروتئین‌های شیر مانند شکست جزئی میسل‌های کازئین است [10]. در این پژوهش، با افزایش فشار (از 100 به 200 بار) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون (از یک به دو مرحله)، اسیدیته افزایش یافت. علت این امر، افزایش اسیدهای آلی (استیک و لاکتیک) است که در اثر افزایش فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد تولید شده‌اند. قابلیت زنده مانگی پروبیوتیک‌ها، با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون افزایش یافت (نتایج منتشر نشده است)؛ به طوری که در نمونه‌ای که تحت بیش‌ترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای قرار گرفت، افزایش در قابلیت زنده مانگی هر دو باکتری پروبیوتیک مشاهده شد؛ و در نتیجه ی فعالیت و اسید سازی بیش‌تر، اسیدیته محصول افزایش و pH آن کاهش یافت.

تغییرات پتانسیل اکسیداسیون و احیاء طی دوره نگهداری: نمودار 3، تغییرات پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. پتانسیل اکسیداسیون و احیاء محیط فرآورده به غلظت اکسیژن محلول بستگی دارد. میزان اکسیژن محلول در فرآورده نهایی، به مقدار اولیه آن در محیط پایه، ورود اکسیژن به محیط طی تولید، نوع آغازگرهای مورد استفاده و نفوذ اکسیژن طی دوره نگهداری وابسته است. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت ( $p < 0/01$ ). بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Dave و همکاران (1998)، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد [19 و 21] که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. بر اساس مطالعه صورت گرفته توسط Dave و همکاران (1998)، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء طی تخمیر و نگهداری بیش‌تر می‌شود که این امر ناشی از تولیدات میکروبی است. بیفیدوباکتریوم‌ها طی تخمیر و نگهداری،  $O_2$  تولید می‌کنند [21]. بر اساس تحقیقات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006)، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء فرآورده و غلظت اکسیژن محلول در آن، به ویژه، رشد و زنده مانگی بیفیدوباکتریوم‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، به این دلیل که این باکتری‌ها بی‌هوازی مطلق هستند [19]. از سوی دیگر، نفوذ پذیری ظروف بسته بندی پلاستیکی نسبت به اکسیژن در قیاس با ظروف شیشه‌ای بیش‌تر است؛ لذا، باعث افزایش میزان پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در نمونه‌ها طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد می‌شود.

در این پژوهش، با افزایش فشار از 100 به 200 بار ( $p > 0/05$ ) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون از یک مرحله به دو مرحله ( $p < 0/05$ )، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء کاهش یافت، به طوری که کم‌ترین افزایش مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در نمونه‌ای که تحت بیش‌ترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T6) قرار گرفته بود (از 149/33 به 166 میلی‌ولت) و بیش‌ترین افزایش در نمونه‌ای که تحت کم‌ترین فشار و

به سردخانه نیز احتمال آب اندازی را افزایش می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش، آب اندازی در نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت ( $p < 0/01$ ) که می‌توان آن را به افزایش اسیدیته در طی نگهداری نسبت داد. بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Lucey (2004) نیز میزان آب اندازی در نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد [19 و 7] که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. همچنین، طبق مطالعه انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Varnam و Sutherland (1994)، آب اندازی ماست طی نگهداری افزایش می‌یابد ولی این افزایش در محصول همونیزه شده کم‌تر است [19 و 9]. در مطالعه صورت گرفته توسط مرتضویان و همکاران (2010) و Tamime و Robinson (1999)، هموزن کردن پیش از فرایند حرارتی باعث کاهش قابلیت آب اندازی در ماست می‌شود. در اثر هموزن کردن، غشاهای لیپوپروتئینی گویچه‌های چربی از سطح آن‌ها جدا می‌شوند و گویچه‌ها به ذرات کوچک‌تر چربی می‌شکنند. سپس سطوح ذرات چربی با میسل‌های کازئین پوشانده می‌شوند. پس از آن در مرحله حرارت دهی، پروتئین‌های محلول شیر دناتوره شده و با کاپا کازئین در سطح میسل‌های کازئین واکنش می‌دهند. لذا، این گویچه‌های چربی پوشش یافته با پروتئین خود می‌توانند مشابه میسل‌های کازئین در تشکیل ژل شرکت نمایند [17 و 10].

در این پژوهش با افزایش فشار (از 100 به 200 بار) و تعداد مراحل همونیزاسیون (از یک مرحله به دو مرحله)، میزان آب اندازی افزایش یافت ( $p < 0/01$ )؛ به طوری که بیش‌ترین افزایش آب اندازی (از 24 به 31/70 درصد) در نمونه‌ای که تحت بیش‌ترین فشار و همونیزاسیون دو مرحله‌ای (T6) قرار گرفته بود، و کم‌ترین افزایش آب اندازی (از 21/67 به 29/33 درصد) در نمونه‌ای که تحت کم‌ترین فشار و همونیزاسیون یک مرحله‌ای (T1) قرار گرفته بود، مشاهده شد. مطابق با تحقیقات Prentice (1992)،  $\beta$ -لاکتوگلوبولین‌ها در دمای بیش‌تر از 50 درجه سانتی‌گراد دناتوره می‌شوند [24]؛ و بنا بر مطالعات Lee و Lucey (2004)، اعمال فشار بالا ( $> 100\text{Mpa}$ ) توأم با حرارت (60-50 درجه سانتی‌گراد)، دناتوراسیون پروتئین‌های شیر از جمله  $\beta$ -لاکتوگلوبولین‌ها را در پی دارد. در این پژوهش، احتمالاً با افزایش فشار همونیزاسیون

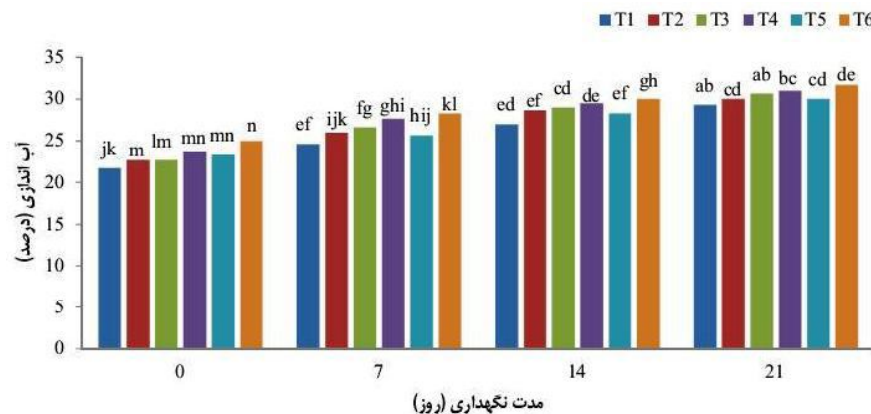
همونیزاسیون یک مرحله‌ای (T1) قرار گرفته بود (از 153 به 173 میلی‌ولت)، مشاهده شد. مطابق با تحقیقات Augustin و همکاران (2012)، همونیزاسیون تحت خلاء با فشار بالا ( $> 100\text{Mpa}$ ) باعث خروج گازهای محلول از جمله اکسیژن می‌شود [22]. بر اساس مطالعات Bharati و Shinkar (2013)، به ازای هر 10 درجه سانتی‌گراد افزایش دما، میزان اکسیژن محلول حدود  $g/m^3$  32 کاهش می‌یابد [23]. در این پژوهش نیز مطابق با تحقیقات فوق، با به کارگیری هم زمان همونیزاسیون و فرایند حرارتی، اکسیژن محلول در شیر پایه کاهش یافت که این خود عاملی در کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در ماست نیز می‌باشد. با افزایش فشار همونیزاسیون، فشار وارد بر گلبول‌های چربی و سایر مولکول‌ها در شیر بیش‌تر و جنبش مولکولی افزایش پیدا می‌کند که با فشار آوردن به هوای محبوس بین مولکول‌ها، باعث خروج گازها و اکسیژن می‌شود؛ این امر، عامل مؤثری بر کاهش اکسیژن محلول در فرآورده و در نتیجه، کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء است. با افزایش تعداد مراحل همونیزاسیون، برای انجام همونیزاسیون دو مرحله‌ای، شیر در دو مرحله از همونایزر عبور داده شد. در مرحله اول، 70٪ فشار و در مرحله دوم، 30٪ فشار مورد نیاز اعمال گردید. به نظر می‌رسد این روش باعث کاهش محتوای اکسیژن در شیر می‌شود. با یک مرحله عبور از دستگاه همونایزر، مقداری از هوای محلول در شیر کاهش می‌یابد و در مرحله دوم همونیزاسیون، مقداری از هوای باقیمانده نیز با عبور مجدد از دستگاه خارج می‌شود که این امر به کاهش بیش‌تر گازهای محبوس و اکسیژن می‌انجامد [5]؛ لذا، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در این نمونه‌ها کاهش یافت. از سوی دیگر هم کشت کردن باکتری *استریپتوکوکوس ترموفیلوس* به همراه پروبیوتیک‌ها (به عنوان مصرف کننده مؤثر اکسیژن مولکولی)، ضمن کاهش اکسیژن محلول در فرآورده و در نتیجه، کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء باعث افزایش زنده مانی بیفیدوباکتریوم‌ها می‌شود.

تغییرات آب اندازی طی دوره نگهداری: نمودار 4، تغییرات آب اندازی نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل همونیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. به طور کلی سست شدن پیوندهای هیدروژنی و الکترواستاتیک ژل و افزایش دافعه یونی باعث افزایش آب اندازی می‌شود. بالا بودن دمای تلقیح و تکان خوردن محصول طی انتقال

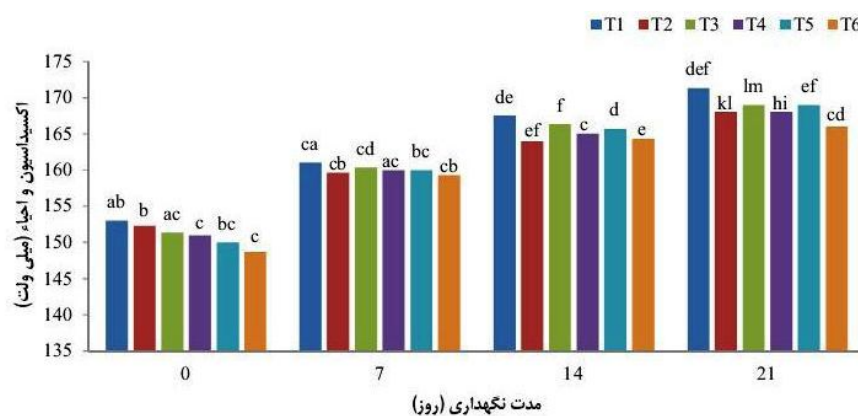
همزمان با فرایند حرارتی (دمای 60 درجه سانتی‌گراد)  $\beta$ -لاکتوگلوبولین‌های دناتوره شده در سطح میسل‌های کازئین قرار می‌گیرند؛ در نتیجه، ممانعت فضایی در سطح میسل‌ها افزایش پیدا می‌کند و امکان آب‌اندازی افزایش می‌یابد [18]. با افزایش تعداد مراحل هموژنیزاسیون، در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، گلبول‌های چربی به ذرات بسیار ریزی شکسته می‌شوند.

در نتیجه، ویسکوزیته کاهش و میزان آب‌اندازی افزایش می‌یابد [5]. به علاوه، با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون، میزان اسیدیته افزایش یافته که خود، دلیل دیگری بر افزایش آب‌اندازی طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد است.

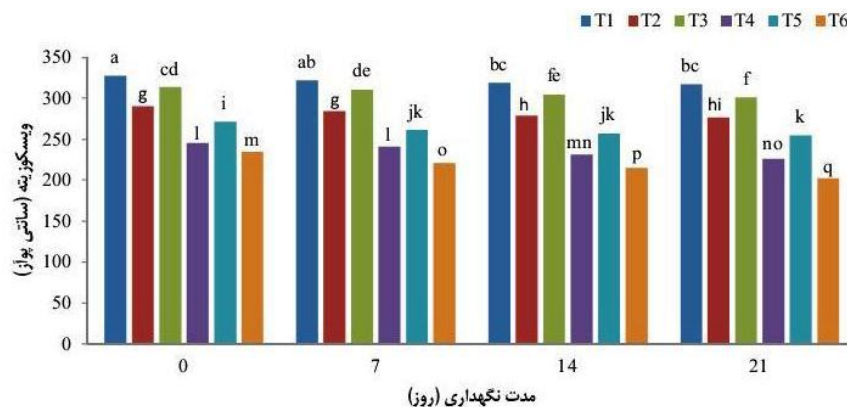
تغییرات ویسکوزیته طی دوره نگهداری: نمودار 5، تغییرات



نمودار (3) تغییرات آب‌اندازی نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4°C



نمودار (4) تغییرات پتانسیل اکسیداسیون و احیاء نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4°C



نمودار (5) تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4°C

ویسکوزیته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. به طور کلی پس از تلقیح آغازگرها در شیر برای تولید ماست، شبکه‌ای ژل مانند ایجاد می‌شود. این شبکه شامل میکروارگانیسم‌های لاکتیکی، پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌باشد. ویسکوزیته ماست با استحکام این شبکه ارتباط مستقیمی دارد. مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش، ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت ( $p < 0/01$ ). بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Lee و (2004) Lucey، ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد [18 و 19] که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. مطابق با تحقیقات Lee و Lucey (2004)، اعمال فشار بالا ( $>100\text{Mpa}$ ) توأم با حرارت (50-60 درجه سانتی‌گراد) بر ویسکوزیته ماست، اثر سوء دارد و آن را کم می‌کند [18]. با افزایش اسیدیته و به دنبال آن، افزایش آب اندازی طی نگهداری، شبکه ژل سست شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد.

#### 4- نتیجه گیری

در میان فراورده‌های پروبیوتیک، فراورده‌های تخمیری و به ویژه ماست، به دلیل خواص حسی کم نظیر از مقبولیت جهانی برخوردار هستند. بنابراین، تولید ماست پروبیوتیک با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی مطلوب بسیار با اهمیت است. به طور کلی، بر اساس این پژوهش، با افزایش فشار [از 100 به 200 بار] و تعداد مراحل هموژنیزاسیون [از یک به دو مرحله]، میزان pH، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و ویسکوزیته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش پیدا کرد ( $p < 0/05$ )؛ و میزان اسیدیته و آب اندازی در آن‌ها افزایش یافت ( $p < 0/05$ ).

#### 5- سپاسگزاری

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

ویسکوزیته در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد را نشان می‌دهد. به طور کلی پس از تلقیح آغازگرها در شیر برای تولید ماست، شبکه‌ای ژل مانند ایجاد می‌شود. این شبکه شامل میکروارگانیسم‌های لاکتیکی، پلی ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌باشد. ویسکوزیته ماست با استحکام این شبکه ارتباط مستقیمی دارد. مطابق نتایج به دست آمده در این پژوهش، ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت ( $p < 0/01$ ). بنا بر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (2006) و Lee و (2004) Lucey، ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در 4 درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد [18 و 19] که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. مطابق با تحقیقات Lee و Lucey (2004)، اعمال فشار بالا ( $>100\text{Mpa}$ ) توأم با حرارت (50-60 درجه سانتی‌گراد) بر ویسکوزیته ماست، اثر سوء دارد و آن را کم می‌کند [18]. با افزایش اسیدیته و به دنبال آن، افزایش آب اندازی طی نگهداری، شبکه ژل سست شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد.

با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون، ویسکوزیته کاهش یافت ( $p < 0/01$ )؛ به طوری که کم‌ترین ویسکوزیته از 234/67 به 202/33 سانتی پواز [در نمونه‌ای که تحت بیش‌ترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای قرار گرفته بود (T6) و بیش‌ترین مقدار آن (از 327/33 به 317 سانتی پواز) در نمونه‌ای که تحت کم‌ترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای قرار گرفته بود (T1)، مشاهده شد. هموژنیزاسیون از طریق شکستن گلبول‌های چربی در شیر باعث افزایش ویسکوزیته می‌شود. هنگامی که شیر به منظور تولید ماست هموژنیزه می‌شود، استحکام دلمه پس از اسیدی شدن افزایش می‌یابد؛ ویسکوزیته فراورده بیش‌تر و استقامت محصول در برابر آب انداختن نیز بیش‌تر می‌شود [5]. مطابق با نتایج حاضر، تحقیقات انجام شده توسط Lee و Lucey (2004) نشان داد که  $\beta$ -لاکتوگلوبولین‌ها در فشارهای بالا



## منابع

- Cazzola, F., 1988, Gelation profiles of yoghurt as affected by heat treatment of milk. *Journal of Dairy Science*, 71: 582–588.
- [13] Bylund, J. 1995. *Dairy Processing Handbook*, Tetrapak, Sweden. 325.
- [14] Capra, Mari'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] De Ancos, B., Pilar, M., Gomes, R. 2000. Effect of high pressure treatment on the composition and properties of dairy products. *Journal of Food Chemistry*, 48: 3542–3548.
- [16] Patrignani, F., Iucci, L., Lanciotti, R., Vallicelli, M., Maina Mathara, J., Holzappel, W. H., Guerzoni, M. E. 2007. Effect of high-pressure homogenization, nonfat milk solids, and Milkfat on the Technological Performance of a Functional Strain for the Production of Probiotic fermented milk. *American Dairy Science Association*, 14: 28–32.
- [17] Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H. 2010. Effect of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of Doogh. [Iranian fermented milk drink]. *Italy Journal Food Science*, 22: 99–103.
- [18] Lee, W.J. & Lucey, J.A. 2004. Rheological properties, whey separation, and microstructure in set-style yogurt. *Journal of Texture Studies*, 34: 515–536.
- [19] 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
- [1] مرتضویان، ا.م.؛ سهراب وندی، س. [1385]. پروبیوتیک‌ها و فراورده‌های غذایی پروبیوتیک. تهران: انتشارات انا. 483.
- [2] سازمان ملی استاندارد ایران. 1387. استاندارد شماره 11325، انتشارات توسعه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. ماست پروبیوتیک، ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، چاپ اول.
- [3] پوراحمد، ر. و فدائی، و. [1388]. صنایع لبنی 1. ورامین: انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا. 229.
- [4] فرهنگ‌نودی، ف. [1377]. صنعت شیر، جلد اول، تهران: انتشارات شرکت جهاد تحقیقات و آموزش، 374.
- [5] مرتضوی، ع.؛ قدس روحانی، م.؛ جوینده، ح. [1380]. تکنولوژی شیر و فراورده‌های لبنی. مشهد: انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد. 411.
- [6] Volcova, A., Rodular, R. 1986. The use of whey in Milk products. *International Journal of Dairy Science*, 48: 281–287.
- [7] Lucey, J.A., 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57: 77–84.
- [8] 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.
- [9] Varnam, A.H., Sutherland, J.P. 1994. *Milk and Milk Products*. Chapman and Hall, London, pp. 347–380.
- [10] Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1999. *Yoghurt Science and Technology*. Woodhead publishing and CRC Press. pp. 338–341.
- [11] Serra, M., Trujillo, A.J., Quevedo, J.M., Guamis, B., Ferragut, V. 2007. Acid coagulation properties and suitability for yoghurt production of cows' milk treated by high-pressure homogenisation. *International Dairy Journal*, 17: 782–790.
- [12] Parnell-Clunies, E., Kakuda, Y., deMan, J. M. and

microorganisms in freshly made yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 59:8-11.

[20] Cebeci, A., Gurakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20: 511-518.

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

[22] Augustin, M.A., Puvanenthiran, A., Clarke, P.T., Sanguansri, P. 2012. Energy use for alternative full-cream milk powder manufacturing processes. *Journal of Food Engineering*, 124: 191-196.

[23] Bharati S., Shinkar N., 2013, Dairy Industry Wastewater Sources, Characteristics and its effects on Environment. *International Journal of Current Engineering and Technology*, 3[5]:1611-1615.

[24] Prentice, J.H.T. 1992. *Dairy Reology*, VCH Publishers, 165.