بررسی تاثیر شیره خرما بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی تهیه‌شده از دانه‌های کفیر

امیر طاهریان[1]، علیرضا صادقی ماهونک[2*]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

2. دانشیار،گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(تاریخ دریافت: 92/12/11، تاریخ پذیرش: 93/2/31)

چکیده

کفیر، نوشیدنی لبنی طبیعی تهیه شده از شیر است که طعم ملایم اسیدی، بوی مخمری و غلظتی مانند ماست دارد. کفیر دارای ویژگی‌های حسی خاص است که در اثر فعالیت فلور میکروبی موجود در دانه کفیر که به عنوان آغازگر تخمیر مورد استفاده قرار می‌گیرد، ایجاد می‌گردد. در این پژوهش به منظور بررسی تغییرات ویژگی‌های حسی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی کفیر، شیره خرما در سطوح 1، 2، 3 و 4 درصد به فرمولاسیون محصول اضافه گردید. سایر عوامل تخمیر شامل زمان (24 ساعت)، دما (25 درجه سانتی‌گراد)، سوبسترا (شیر)، دور همزن (100 دور بر دقیقه) و درصد تلقیح (3 درصد وزنی/حجمی) ثابت نگه‌داشته شدند. خصوصیات فیزیکوشیمیایی شامل اسیدیته، pH، میزان پروتئین، بریکس، وزن دانه‌های کفیر و ویسکوزیته و هم‌چنین ویژگی‌های حسی شامل طعم، رنگ، بو و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه‌بر این، شمارش جمعیت میکروبی باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها با استفاده از محیط‌های کشت اختصاصی انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش درصد شیره خرما تا سطح 4 درصد، به دلیل دسترسی بیش‌تر فلور میکروبی به منبع قندی، تولید اسید لاکتیک توسط آن‌ها افزایش یافته که این امر باعث افزایش اسیدیته و کاهش pH شده و به دلیل ترش شدن نوشیدنی تولیدی، باعث کاهش پذیرش کلی محصول مورد نظر شده است. تغییرات مذکور در نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما نسبت به سایر نمونه‌ها کم‌تر مشاهده شد و از نظر ارزیابان دارای بیش‌ترین میزان پذیرش کلی بود.

واژه‌های کلیدی: دانه کفیر، شیره خرما، نوشیدنی لبنی، فرمولاسیون.

* نویسنده مسئول: sadeghiaz@yahoo.com

1- مقدمه

کفیر نوشیدنی لبنی طبیعی تهیه شده از شیر است که طعم ملایم اسیدی، بوی مخمری و غلظتی مانند ماست دارد [2]. همان‌طور که در جدول 1 مشاهده می‌گردد، این محصول بسته به نوع مایه تلقیح، نوع شیر و مدت تخمیر دارای 3/5 تا 0/1 درصد دی‌اکسیدکربن، 2 تا 0/1 درصد الکل، 1/1 تا 0/6 درصد اسیدیته و کم‌تر از 2/7 درصد پروتئین است [1]. کفیر به دلیل وجود ترکیباتی نظیر اسید لاکتیک، استالدئید، استون، اتانول و سایر فراورده‌های تخمیر، دارای ویژگی‌های حسی خاص است که در اثر فعالیت فلور میکروبی موجود در دانه‌های کفیر ایجاد می‌گردد [3]. علاوه‌بر این در طول فعالیت میکروبی، ویتامین‌های B_1 و B_{12}، کلسیم، اسیدهای آمینه، فولیک اسید و ویتامین K در کفیر افزایش می‌یابد. pH پایین در شیر تخمیر شده، کلسیم را به حالت یونی در دسترس می‌سازد که این امر قابلیت جذب آن را افزایش می‌دهد و در نتیجه کفیر را به منبعی مناسب از کلسیم تبدیل می‌نماید [4].

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های (باکتری و مخمر) زنده‌ای هستند که وقتی از طریق خوردن یا کارگذاری موضعی در تعدادی مناسب به کارگرفته شوند، باعث ایجاد یک یا چند اثر سلامتی‌بخش در بدن میزبان می‌گردند [5]. یکی از نکته‌های حائز اهمیت در تولید فراورده‌های پروبیوتیک آن است که امکان بقای تعداد زیادی از پروبیوتیک‌ها در طی نگه‌داری وجود داشته باشد. برای انسان تعداد حداقل 10^6 cfu. mL^{-1} سلول زنده در زمان مصرف، جهت ایجاد اثرات مطلوب لازم است [6]. کفیر به لحاظ داشتن گونه‌های متعدد پروبیوتیک نظیر لاکتوباسیل‌ها از جمله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس برویس*، *لاکتوباسیلوس کفیر* و *لاکتوباسیلوس کازئی*؛ لاکتوکوکوس‌ها از جمله *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه لاکتیس، *لاکتوکوکوس لاکتیس* زیر گونه کرموریس، *استرپتوکوکوس سالیواریوس* زیر گونه ترموفیلوس، *لاکتوکوکوس مزنتروئیدیس*، *لوکونوستوک کرموریس* و انواع مختلفی از مخمرها شامل کاندیدا، کلایورومایسس و گونه ساکارومایسس در بین محصولات پروبیوتیک طبقه‌بندی می‌شود [4] که دارای تاثیرات سلامتی بخش متعددی، هم‌چون خواص ضد میکروبی، ایمونولوژیکی، ضد تومور و کاهش کلسترول است [7]. دانه‌های کفیر آغازگر منحصر برای تولید کفیر و دارای اندازه کوچک در حدود 1 تا 3 سانتی‌متر و شکلی مشابه گویچه‌های گل کلم بوده [8]، هم‌چنین دارای حالت ژلاتینی و رنگ زرد متمایل به سفید [4] و سطحی ناصاف و نامحلول در آب [9-10] هستند. این دانه‌ها دارای فلور میکروبی شامل باکتری‌های اسید لاکتیک، مخمر و باکتری‌های اسید استیک می‌باشند. فلور میکروبی دانه‌های کفیر، در یک ماتریکس خاص از پروتئین و پلی ساکارید داخلی قرار دارند [11]. پلی ساکارید داخلی توسط فلور میکروبی کفیر تولید می‌گردد که با نام «کفیران» شناخته می‌شود و محلول در آب و دارای انشعاب گلوکوگالاکتون با مقادیر برابر از D-گلوکز و D-گالاکتوز می‌باشد. پلی‌ساکارید تولیدی توسط فلور میکروبی کفیر، بافت و احساس دهانی محصول را بهبود می‌بخشد. در سال‌های اخیر، استفاده از کفیران در صنایع غذایی به عنوان صمغ مجاز غذایی، عامل غنی‌سازی و هم‌چنین در توسعه مواد نوین بسته‌بندی، مورد توجه قرار گرفته است [3]. ترکیب جمعیت میکروبی کفیر ممکن است در اثر عوامل مختلف از جمله منشا و بار میکروبی دانه کفیر، فرایند تخمیر، شرایط نگه‌داری، نسبت شیر به دانه، دمای رشد و شرایط جداسازی دانه از شیر تخمیر شده تغییر نماید [12-13]. نقطه بحرانی در تولید کفیر برای به‌دست آوردن محصولی با کیفیت پایدار، استانداردسازی نسبت دانه کفیر به شیر است [12].

در سال‌های اخیر با توجه به افزایش مصرف نوشیدنی‌های تخمیری، پژوهش‌های متعددی در این زمینه انجام شده است. در مطالعه‌ای که بر روی نوشیدنی کفیر حاصل از شیر سویا انجام گرفت، افزودن منابع قندی گلوکز، ساکاروز و فروکتوز در سطح 1 درصد مورد آزمون قرار گرفت و تغییرات میکروبی، فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی نوشیدنی کفیر ارزیابی گردید [14]. در پژوهشی دیگر تغییرات فیزیکوشیمیایی نوشیدنی کفیر تولید شده از آب پنیر مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور از تغییر درصد تلقیح فلور میکروبی در دو سطح 3 و 5 درصد برای سنجش تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی‌های تولیدی استفاده شد [1]. در پژوهشی دیگر نیز با استفاده از دو نوع عسل در 3 سطح 10، 20 و 30 درصد به بررسی رفتار رئولوژیکی، و خواص فیزیکوشیمیایی و

جدول (1) مشخصات کفیر

ترکیبات	مقادیر (حداقل)	فلور میکروبی موجود در کفیر
پروتئین شیر	2/8 (% w/w)	لوکونستوک
چربی شیر	10 (% w/w)	لاکتوباسیلوس، استیک اسید باکتری
اسیدیته قابل تیتراسیون (٪ لاکتیک اسید)	0/6 (% w/w)	لاکتوکوکوس، استرپتو کوکوس
اتانول	نامعلوم (% w/w)	کلویورومایسس
مجموع میکروارگانیسم‌های آغازگر	10^7 (cfu/g)	مارکسیانوس، *ساکارومایسس سرویزیه*
مخمرها	10^4 (cfu/g)	*ساکارومایسس اکسیگوس*

رنگ سنجی نوشیدنی کفیر پرداخته شد [10].

هدف از انجام این پژوهش، افزودن مقادیر مختلف شیره خرما به نوشیدنی کفیر و بررسی تاثیر آن بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی (اسیدیته، pH، پروتئین، افزایش وزن دانه، ویسکوزیته و پارامترهای رنگ سنجی) و ویژگی‌های حسی (طعم، رنگ، بو و پذیرش کلی) نوشیدنی تخمیری کفیر می‌باشد.

2ـ مواد و روش‌ها

1ـ2ـ تهیه و آماده سازی دانه‌های کفیر

دانه‌های کفیر مورد استفاده از کارخانه پگاه گلستان تهیه گردید. جهت فعال‌سازی ابتدا 27 گرم از دانه‌های منجمد کفیر در یک لیتر شیر گاو حل شده و سپس به مدت 24 ساعت تحت شرایط دمایی 25 درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه دانه‌ها با آب مقطر سرد و استریل شستشو داده شد. این کار به شکل پی در پی در 2 تکرار انجام گرفت [15]. مایه تلقیح توسط دانه‌های کفیر به یک ارلن مایر 500 میلی‌لیتری محتوی 200 میلی‌لیتر شیر استریل گاو منتقل و سپس در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت گرمخانه‌گذاری شد [16].

2ـ2ـ تولید نوشیدنی

در تولید نوشیدنی، شیر پاستوریزه به عنوان ماده اولیه، میزان تلقیح دانه کفیر 3 درصد (وزنی/حجمی)، زمان 24 ساعت، دمای تخمیر 25 درجه سانتی‌گراد، و دور همزن 100 دور بر دقیقه و به‌طور ثابت استفاده گردید [15]. درصد افزودن شیره خرما به ترتیب در سطوح 1، 2، 3 و 4 درصد در نظر گرفته شد و تاثیرات آن بر نوشیدنی کفیر مورد ارزیابی قرار گرفت. ارلن‌های محتوی شیر پاستوریزه و دانه‌های کفیر را در شیکر انکوباتور با شرایط دمایی 25 درجه سانتی‌گراد و 100 دور بر دقیقه به مدت 24 ساعت قرار داده و بعد از گذشت این زمان جهت رسانیدن نمونه‌ها، دمای آن‌ها به سرعت به دمای 14-8 درجه سانتی‌گراد کاهش پیدا کرد و به‌منظور یکنواخت سازی نمونه‌ها، آن‌ها را با صافی معمولی صاف کرده و در بطری‌های پت 280 میلی‌لیتری به رنگ قهوه‌ای تیره درب‌بندی و در دمای 6-4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند [1].

3ـ2ـ آزمون‌های میکروبی

به‌منظور کشت باکتری‌های لاکتیک اسید و مخمرها به‌ترتیب از روش کشت عمقی و سطحی استفاده شد. ابتدا برای رقیق سازی، 1میلی‌لیتر از نمونه نوشیدنی به روش رقت سازی سریالی به 9 میلی‌لیتر محلول سرم فیزیولوژی 0/08 درصد اضافه گردید و این کار تا تهیه رقت 10^{-7} تکرار شد. سپس از رقت‌های 10^{-6} و 10^{-7} به میزان 1 میلی‌لیتر توسط سمپلر برداشته و به منظور کشت باکتری‌های لاکتیک اسید به محیط کشت Man Rogosa Sharpe (MRS) agar (مرک آلمان) انتقال داده شد و از روش کشت عمقی استفاده گردید و سپس در دمای 37 درجه سانتی‌گراد تحت شرایط بی‌هوازی به مدت 72 ساعت گرمخانه‌گذاری شد. هم‌چنین برای کشت مخمرها 0/1 میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-4} و 10^{-5} آماده شده به وسیله سمپلر برداشته و با استفاده از میله شیشه‌ای L شکل روی سطح محیط کشت Yeast Glucose and Extract (YGC) agar (مرک آلمان) پخش شد. به منظور رشد بهینه، مخمرها در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 5-3 روز گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت پلیت‌های حاوی 300 تا 30 کلنی جهت شمارش میکروبی

بررسی گردید.

2_4_ آزمون‌های شیمیایی

اسیدیته نمونه‌های تهیه شده بر حسب اسید لاکتیک و براساس استاندارد ملی ایران به شماره 975/05 اندازه‌گیری شد. میزان پروتئین آن‌ها طبق روش فرمل [17] و pH توسط pH متر شیشه‌ای مدل knick (آلمان) محاسبه گردید [17].

2_5_ آزمون های فیزیکی

2_5_1_ اندازه‌گیری وزن دانه

ابتدا دانه‌های کفیر پس از گرمخانه‌گذاری توسط آب مقطر استریل شستشو داده شد. سپس دانه‌ها با استفاده از الک با مش 50 از سایر ترکیبات نوشیدنی جدا گردید. وزن دانه‌ها بعد از خشک شدن مورد سنجش قرار گرفت [18].

2_5_2_ اندازه گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه‌های کفیر توسط دستگاه بروکفیلد (مدل DV II ساخت آمریکا) در دمای 5 درجه سانتی‌گراد [14] و توسط اسپیندل شماره 3 اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری در 100 دور بر دقیقه انجام گرفت.

2_5_3_ اندازه گیری رنگ نمونه

جهت اندازه‌گیری رنگ نمونه‌ها، پارامترهای L*[1]، a*[2] و b*[3] هر نمونه توسط دستگاه پردازش تصویر[4] مورد ارزیابی قرار داده شد. L* شاخص روشنایی شناخته می‌شود، به این صورت که مقدار صفر معرف نمونه کاملا تیره و مقدار 100 معرف نمونه کاملا روشن می‌باشد. a* نشان دهنده کیفیت قرمز ـ سبز رنگ نمونه می‌باشد. مقادیر مثبت و منفی به ترتیب حاکی از وجود قرمزی و سبزی در رنگ نمونه هستند. b* معرف کیفیت زرد ـ آبی رنگ نمونه در نظر گرفته می‌شود. مقادیر مثبت نشان دهنده زردی بوده و مقادیر منفی نشانی از آبی بودن رنگ دارند. برای بررسی پارامترهای نامبرده، از معادلاتی که بیان کننده تفاوت رنگ کل[5]، شکست نور[1] و اندیس کروما[2] هستند، بهره گرفته شده است [19]. این معادلات به صورت زیر تعریف می‌گردند:

$$TCD^* = \sqrt[2]{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (1)$$

$$Chrome^* = \sqrt[2]{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (2)$$

$$h^* = \arctan (b^*/a^*) \quad (3)$$

1. Lightness
2. Redness
3. Yellowness
4. Image processing
5. Total color different

2-5-4- اندازه گیری بریکس

بریکس محصول براساس روش دوژان اندازه‌گیری گردید [10].

2_6_ آزمون ویژگی‌های حسی و بررسی سطح پذیرش محصول

برای بررسی میزان پذیرش نمونه‌های تولید شده توسط داوران، نوشیدنی‌های آماده شده درون بطری‌های تیره 280 میلی‌لیتری بسته‌بندی گردیدند و پس از گذشت زمان لازم جهت سرد شدن، آزمون ویژگی‌های حسی به کمک 5 داور آموزش دیده که از میان 10 نفر انتخاب شدند، انجام گرفت. پس از بیان هدف آزمون و تعریف ویژگی‌های مورد نظر برای ارزیابی، شامل رنگ، طعم، بو و پذیرش کلی، نمونه‌های آماده شده در چند نوبت به داوران ارائه گردید. درجه مطلوبیت هر یک از ویژگی‌های کیفی تعیین شده با اعداد 1، 2، 3، 4 و 5 به‌ترتیب برای گزینه‌های خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب مشخص گردید و برای ارزیابی نتایج از روش رتبه‌ای استفاده شد [1].

2_7_ تجزیه و تحلیل آماری نتایج

آنالیز واریانس نتایج آزمون‌ها در قالب طرح یک فاکتوره با طرح پایه بلوک کامل تصادفی[3] با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه 9/1) انجام شد. برای بررسی اختلاف میان تیمارها، میانگین داده‌ها توسط آزمون دانکن (Duncan) در سطح 95 درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

1. hue index
2. Chroma index
3. Randomized Complete Block Design

منحنی‌ها با استفاده از نرم افزار Excel 2010 رسم شد. تمامی آزمون‌ها در دو تکرار انجام گرفت.

3ـ نتایج و بحث

1ـ3ـ بررسی فلور میکروبی دانه‌های کفیر

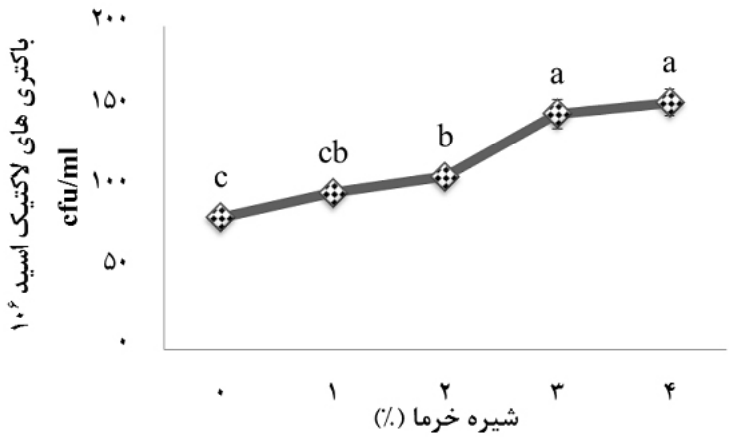
جدول 2 تعداد باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرهای شمارش شده بر روی محیط‌های کشت اختصاصی آن‌ها را در دانه‌های کفیر نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود باکتری‌های اسید لاکتیک شمارش شده، تعداد بیش‌تری را به خود اختصاص داده و فلور غالب دانه‌های کفیر هستند.

1ـ1ـ3ـ بررسی تغییرات رشد باکتری‌های لاکتیک اسید

با توجه به شکل 1 با افزایش میزان شیره خرمای افزوده شده در تهیه نوشیدنی کفیر، میزان باکتری‌های لاکتیک اسید به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 درصد شیره خرما، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد در حالی که با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری به وجود آمد. در اثر افزایش شیره خرما به دلیل افزایش میزان منابع قندی ساده (مونوساکارید) موجود در شیره خرما باکتری‌های لاکتیک اسید توانایی رشد بیش‌تری پیدا کردند. افزایش میزان اسید لاکتیک اثر مثبتی بر رشد باکتری‌های لاکتیک اسید داشت. لیو و لین (2000) با افزودن منابع قندی متفاوت نظیر گلوکز، فروکتوز و ساکاروز در سطح 1 درصد به نوشیدنی کفیر تهیه شده با شیر و شیر سویا، بیان کردند که افزایش منابع قندی سبب بهبود و افزایش معنی‌دار میزان باکتری‌های لاکتیک اسید می‌شود [14]. شیره خرما به دلیل داشتن منابع قندی متعدد نظیر گلوکز و فروکتوز و هم‌چنین منابع قابل استفاده توسط باکتری‌های لاکتیک اسید، سبب رشد بهتر باکتری‌های لاکتیک اسید نسبت به نمونه شاهد که منبع قندی عمده آن لاکتوز است، شد. نتایج به دست آمده مطابق نتایج سایر محققین بود [2-15].

جدول (2) بررسی فلور میکروبی دانه‌های کفیر

فلور میکروبی دانه‌های کفیر	
باکتری‌های اسید لاکتیک (MRS)	36×10^6 cfu/mL
مخمرها (YGC)	28×10^5 cfu/mL



شکل (1) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر تغییرات رشد باکتری‌های لاکتیک اسید در نوشیدنی کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند $p>0/05$).

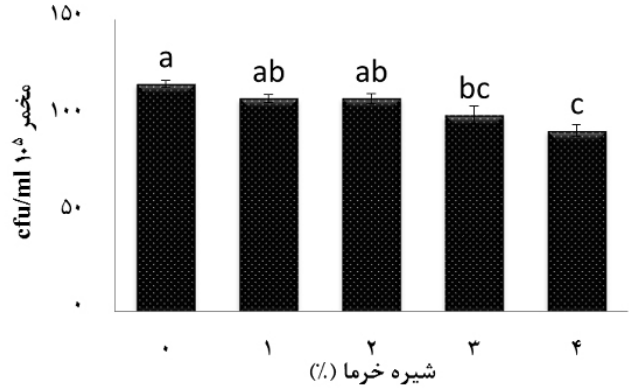
2ـ1ـ3ـ بررسی تغییرات رشد مخمرها

با توجه به شکل 2، با افزایش میزان شیره خرمای افزوده شده در تهیه نوشیدنی کفیر، میزان مخمرها به شکل معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد در حالی‌که با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری به وجود آمد. احتمالا در اثر افزایش شیره خرما به دلیل افزایش میزان منابع قندی ساده (مونوساکارید) موجود در شیره خرما، فلور میکروبی کفیر میزان اسید لاکتیک بیش‌تری تولید کردند و افزایش میزان اسید لاکتیک اثر منفی بر رشد مخمرها داشته و هم‌چنین وجود ترکیبات بازدارنده رشد می‌تواند علت دیگری باشد. لیو و لین (2000) با افزودن منابع قندی گلوکز، فروکتوز و ساکاروز در سطح 1 درصد بیان کردند که منابع قندی افزوده شده سبب بهبود رشد مخمرها شد در حالی‌که نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر با نتایج آنان مطابقت نداشت [14].

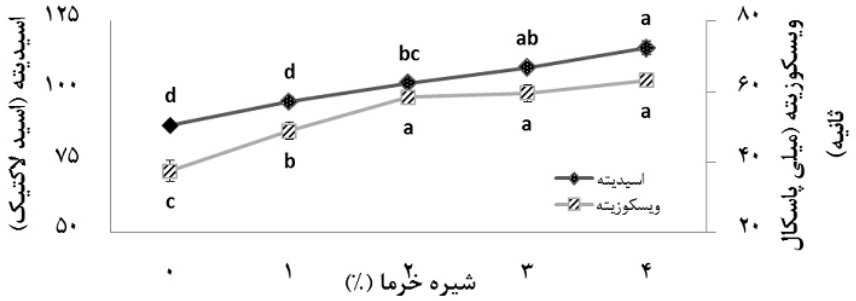
2ـ3ـ بررسی خصوصیات شیمیایی نوشیدنی کفیر خرما

1ـ2ـ3ـ بررسی تغییرات اسیدیته

همان‌گونه که در شکل 3 ملاحظه می‌شود، با افزودن شیره خرما به فرمولاسیون نوشیدنی کفیر میزان اسیدیته به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرده است. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 درصد شیره خرما و بین نمونه‌های حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما، از نظر آماری تفاوت معنی‌داری به وجود نیامد. در نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما و نمونه حاوی 3 درصد شیره خرما نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. در حالی‌که بین نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما و نمونه‌های حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین میزان اسیدیته به نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با مقدار 115/5 بر حسب اسید لاکتیک و کم‌ترین میزان آن به نمونه شاهد با میزان 88 بر حسب اسید لاکتیک تعلق داشت. افزایش منابع قند، باعث افزایش فعالیت فلور میکروبی و در نتیجه افزایش تولید اسید لاکتیک می‌شود. با تولید بیش‌تر اسید لاکتیک، میزان اسیدیته کفیر نیز افزایش پیدا کرد [2، 10، 14، 16، 20].



شکل (2) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر تغییرات رشد مخمرها در نوشیدنی کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).



شکل (3) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر ویسکوزیته (میلی پاسکال ثانیه) و اسیدیته (اسید لاکتیک) در نمونه‌های نوشیدنی کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).

2ـ2ـ3ـ بررسی تغییرات pH

با توجه به شکل 4 با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در تولید نوشیدنی کفیر، میزان pH به شکل معنی‌داری کاسته شد. استفاده از شیره خرما باعث افزایش میزان فعالیت فلور میکروبی کفیر و افزایش یون هیدروژن تولیدی نسبت به نمونه شاهد می‌گردد که در نتیجه میزان pH کاهش می‌یابد. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما از نظر آماری تفاوت قابل توجهی وجود نداشت؛ در حالی‌که بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 3 و 4 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید، اما بین نمونه‌های حاوی شیره خرما با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان pH به نمونه شاهد با میزان 4/14 و نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با مقدار 3/78 تعلق داشت. در اثر افزودن شیره خرما به دلیل افزایش منابع قندی قابل دسترس و تجزیه توسط میکروفلور کفیر میزان تولید یون هیدوژن توسط فلور میکروبی کفیر افزایش یافته و میزان pH دارای روند کاهشی بود. نتایج به‌دست آمده با نتایج سایرین منطبق بود [2، 7، 10، 14، 20، 21].

3ـ3ـ بررسی خصوصیات فیزیکی نوشیدنی کفیر خرما

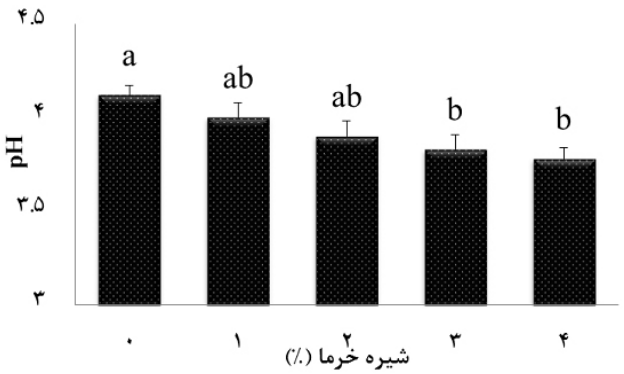
1ـ3ـ3ـ بررسی تغییرات پروتئین

با توجه به جدول 3 با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در تولید نوشیدنی کفیر، میزان پروتئین به شکل معنی‌داری کاهش پیدا می‌کند. بین نمونه شاهد با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، اما بین نمونه‌های حاوی 1، 2 و 3 درصد شیره خرما اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان پروتئین به ترتیب به نمونه شاهد با میزان 1/86 درصد و نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با مقدار 1/45 درصد تعلق داشت. با افزایش درصد تلقیح، میزان پروتئین نوشیدنی کفیر به شکل معنی‌داری کاهش یافت؛ که این امر احتمالا به دلیل وجود آنزیم‌های تجزیه کننده پروتئین (پپتیدازها) در فلور میکروبی نوشیدنی کفیر می‌باشد [1]. به دلیل افزایش درصد شیره خرما و دمای تخمیر استفاده شده، فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین افزایش یافته و میزان پروتئین موجود در نوشیدنی‌های تولیدی دارای روند کاهشی بود. سایر محققین نتایج مشابه به‌دست آوردند [22-23].

جدول (3) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر تغییرات افزایش دانه کفیر، بریکس و پروتئین نوشیدنی‌های کفیر

تیمار	پروتئین (درصد)	بریکس	افزایش وزن دانه (٪)
شاهد	1/86±0/05[a]	9/40±0/10[e]	1/5±0/05[b]
شیره خرما 1٪	1/70±0[b]	9/90±0/10[d]	3/5±0/15[b]
شیره خرما 2٪	1/70±0[b]	10/95±0/15[c]	9/5±0/05[a]
شیره خرما 3٪	1/60±0[b]	12/15±0/15[b]	12/5±0/05[a]
شیره خرما 4٪	1/45±0/05[c]	12/95±0/15[a]	9/5±0/05[b]

اعداد جدول به صورت میانگین± انحراف معیار هستند.
*اعداد دارای حروف مشترک در ستون با یکدیگر تفاوت معنی داری ندارند (p>0/05).



شکل (4) اثر سطوح مختلف خرما بر pH نوشیدنی کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).

3ـ3ـ2ـ بررسی تغییرات بریکس

با توجه به جدول 3، با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در تهیه نوشیدنی کفیر، میزان بریکس به شکل معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌های حاوی شیره خرما، اختلاف معنی‌داری به‌وجود آمد. بین نمونه‌های حاوی شیره خرما نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین میزان بریکس مربوط به نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با میزان 95/12 و کم‌ترین میزان بریکس با میزان 40/9 به نمونه شاهد مربوط بود. نتایج به‌دست آمده با نتایج سایرین مشابهت دارد [10].

3ـ3ـ3ـ بررسی تغییرات وزن دانه

با توجه به جدول 3 با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در تهیه نوشیدنی کفیر، میزان افزایش وزن دانه به شکل معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد در حالی‌که بین نمونه شاهد با سایر نمونه‌ها اختلاف تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. به‌ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین میزان افزایش درصد وزن دانه‌های کفیر به نمونه حاوی 3 درصد شیره خرما با مقدار 5/12 و نمونه شاهد با مقدار 5/1 درصد مربوط بود. دلیل این امر به احتمال زیاد در اختیار گرفتن منابع قندی بیش‌تری است که فلور میکروبی کفیر دارای توانایی لازم برای تجزیه آن بوده و ممکن است با افزایش میزان رشد و تولید پلی ساکارید کفیران، میزان وزن دانه‌های کفیر نیز افزایش پیدا کند. نتایج به‌دست آمده با نتایج سایر محققین مشابهت دارد [10، 18].

3ـ3ـ4ـ بررسی تغییرات ویسکوزیته

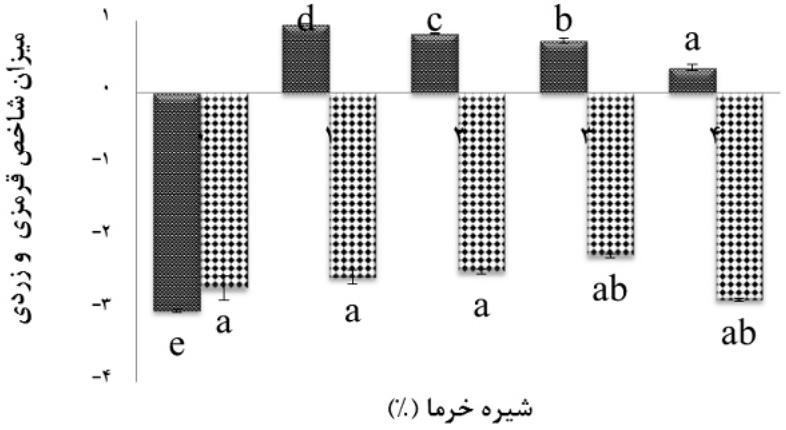
ویسکوزیته عبارت است از مقاومت در برابر جریان و هرچه این شاخصه بیش‌تر باشد، سیالیت نوشیدنی تولیدی کاهش می‌یابد. با توجه به شکل 3 میزان ویسکوزیته با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده به نوشیدنی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری از لحاظ ویسکوزیته مشاهده شد، اما در بین نمونه‌های حاوی 2، 3 و 4 درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کم‌ترین میزان ویسکوزیته به نمونه شاهد با مقدار 43/37 میلی پاسکال ثانیه و بیش‌ترین میزان ویسکوزیته به نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با میزان 16/63 میلی پاسکال ثانیه تعلق داشت. با افزودن شیره خرما به‌دلیل افزایش فعالیت فلور میکروبی کفیر، به احتمال زیاد میزان تولید پلی ساکارید کفیران نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است و به‌دلیل خاصیت هیدروفیلی پلی ساکاریدها، منجر به جذب آب بیش‌تر شده و به طبع آن سبب افزایش ویسکوزیته و کاهش سیالیت نوشیدنی‌های تولیدی شده است. بر اساس پژوهش‌های انجام شده بیان گردیده که تولید اگزوپلی ساکارید توسط فلور میکروبی کفیر باعث افزایش ویسکوزیته می‌گردد. دلیل این امر خاصیت جذب آب توسط این ماده می‌باشد که منجر به افزایش ویسکوزیته کفیر می‌شود [10، 14، 20، 24].

3ـ4ـ بررسی رابطه ویسکوزیته و اسیدیته

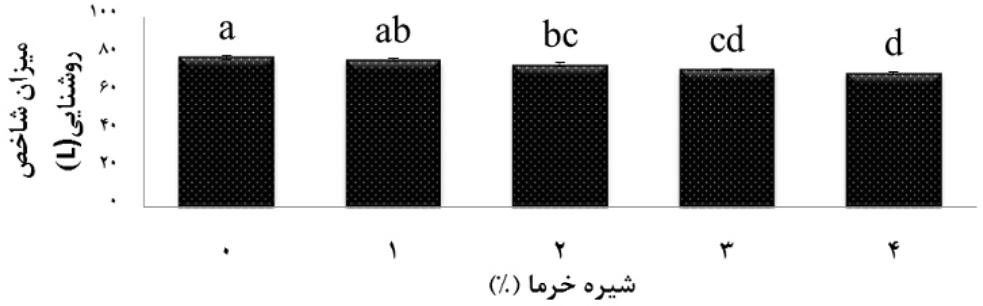
با توجه به شکل 3 با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در نوشیدنی کفیر میزان اسیدیته به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرده و از طرف دیگر با افزایش اسیدیته میزان مقدار ویسکوزیته نیز به شکل معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش پیدا کرده و از سیالیت نمونه‌های تولیدی کاسته شده است. با افزایش میزان شیره خرما و به دلیل آن که شیره خرما دارای مواد قندی متعدد و مونوساکاریدی است که فلور میکروبی کفیر (باکتری‌های لاکتیک اسید و مخمرها) توانایی مصرف این گونه منابع قندی را دارند، میزان اسید لاکتیک در اثر تجزیه مواد قندی نسبت به نمونه شاهد، افزایش قابل توجهی داشت و با افزایش اسیدیته، احتمال تشکیل شبکه کازئین افزایش پیدا کرد و این امر منجر به استحکام بیش‌تر شبکه کازئین نسبت به نمونه شاهد و افزایش قابلیت جذب آب آن گردید [10، 14، 20].

3ـ5ـ بررسی ویژگی رنگ نوشیدنی کفیر

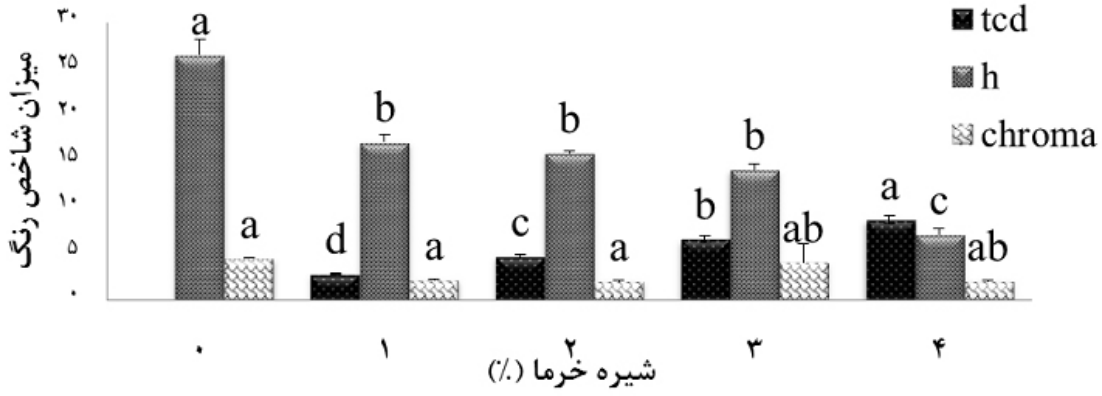
با توجه شکل‌های 5، 6 و 7 با افزایش درصد شیره خرما در تولید نوشیدنی کفیر، میزان شاخص روشنایی به شکل معنی‌داری کاهش پیدا کرد. بین نمونه شاهد با نمونه حاوی 1



شکل (5) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر تغییرات شاخص قرمزی (ستون‌های تیره) و زردی (ستون‌های روشن) نوشیدنی‌های کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).



شکل (6) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر تغییرات میزان شاخص روشنایی (L) نوشیدنی‌های کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).



شکل (7) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر میزان اندیس chroma (اندیس کروما)، h (شکست نور) و TCD (تفاوت کلی رنگ) نوشیدنی‌های کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05)

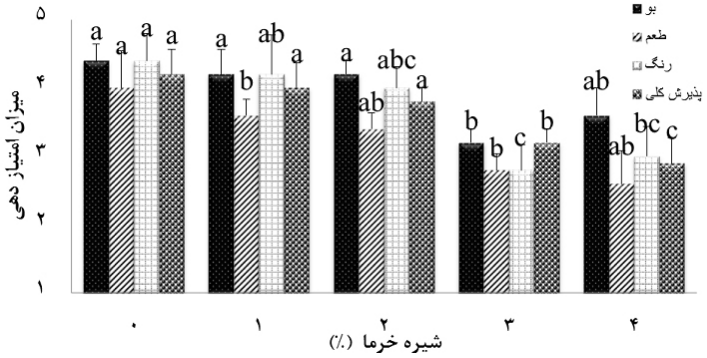
شیره خرما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، درحالی‌که با نمونه حاوی 2، 3 و 4 درصد شیره خرما اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شاخص روشنایی به ترتیب به نمونه شاهد با میزان 79/2 و نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با مقدار 70/8 تعلق داشت. با افزایش درصد شیره خرمای افزوده شده در تولید نوشیدنی کفیر میزان شاخص قرمزی بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌های حاوی شیره خرما اختلاف معنی‌داری مشاهد نشد. با افزایش درصد شیره خرما در تولید نوشیدنی کفیر میزان شاخص زردی به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرد. بین نمونه شاهد با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری مشاهده گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شاخص زردی به ترتیب به نمونه حاوی 4 درصد شیره خرما با میزان 0/35 و نمونه شاهد با میزان 3/01- تعلق داشت. با افزایش درصد شیره خرما در تولید نوشیدنی کفیر، میزان تفاوت کلی رنگ به شکل معنی‌داری افزایش داشت. اما میزان اندیس *h به شکل معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش پیدا کرد. هم‌چنین با افزایش درصد شیره خرما در تولید نوشیدنی کفیر از نظر میزان شاخص کروما بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهد نشد. در یک بررسی بیان شد که افزایش میزان عسل در نمونه‌های کفیر باعث کاهش شاخص‌های *a و *L و افزایش *b گردیده است [19,10].

3ـ6ـ بررسی ویژگی‌های حسی

همان‌طور که در شکل 8 مربوط به تاثیر شیره خرما بر ویژگی‌های حسی مشاهده می‌شود، با افزایش شیره خرما در تهیه نوشیدنی تخمیری کفیر، ویژگی‌های حسی به شکل معنی‌داری تغییر پیدا کرد. بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری از نظر بو توسط داوران تشخیص داده نشد در حالی‌که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. با افزایش میزان شیره خرما بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 2 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری در میزان طعم از نظر ارزیابان مشاهده نشد، اما با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. از نظر رنگ با افزایش میزان شیره خرما بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1، 2 و 3 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری از نظر ارزیابان مشاهده نشد، در حالی‌که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری دیده شد. با افزایش میزان شیره خرما بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری در میزان پذیرش کلی به وجود نیامد در حالی‌که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید.

4ـ نتیجه‌گیری

کفیر نوشیدنی لبنی طبیعی تهیه شده از شیر است که طعم ملایم اسیدی، بوی مخمری و غلظتی مانند ماست دارد. در این پژوهش از 4 سطح 1، 2، 3 و 4 درصد شیره خرما در تهیه نوشیدنی کفیر استفاده شد. نتایج نشان داد که بین نمونه شاهد و نمونه کفیر حاوی 1 و 2 درصد شیره خرما تفاوت معنی‌داری از لحاظ ویژگی‌های شیمیایی و پذیرش کلی وجود ندارد، در حالی‌که افزایش درصد شیره خرما در فرمولاسیون با تغییر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و پذیرش کلی محصول همراه بود. علاوه براین، افزودن شیره خرما به نوشیدنی کفیر در سطح 1 و 2 درصد، با افزایش فعالیت فلور میکروبی و افزایش اسیدیته حاصل از تولید اسید لاکتیک، ویسکوزیته را افزایش و سیالیت محصول را کاهش داده است. بنابراین افزودن شیره خرما به کفیر در سطح 1 و 2 درصد، از نظر ارزیابان، دارای بیش‌ترین میزان پذیرش کلی به همراه نمونه شاهد بود.



شکل (8) اثر سطوح مختلف شیره خرما بر ویژگی‌های حسی نوشیدنی کفیر بعد از گرمخانه گذاری (دما 25 درجه سانتی‌گراد، 24 ساعت) (حروف مشترک با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند p>0/05).

منابع

[1] عبدالملکی، ف.؛ مظاهری اسدی، م.؛ جهادی، م. (1388) تولیدی نوشیدنی تخمیری بر پایه آب پنیر با استفاده از انواعی از میکروفلور کفیر و بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ارگانولپتیک آن. *علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، جلد 4، شماره 4، ص 32-21.

[2] Bensmira, M., Jiang, B. (2011). Organic acids formation during the production of a novel peanut-milk kefir beverage. *J. Dairy Sci*., 2 (1), 18-22.

[3] Kok-Tas, T., Seydim, A.C., Ozer, B., Guzel-Seydim, Z.B. (2013). Effects of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. *J. Dairy Sci.*, 96, 780-789.

[4] Suriasih, K., Aryanta, W.R., Mahardika, G., Astawa, N.M. (2012). Microbiological and chemical properties of kefir made of bali cattle milk. *J. Food Sci. Quality Manage*., 6, 12-23.

[5] FAO/WHO Experts' Report. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria.

[6] Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., Savani, L. (2002). Survival of *lactobacillus johnsonii* La 1 and influence of its addition in retail-manufactured icecream produced with different sugar and fat concentration, *Int. Dairy J*., 12 (1), 201-208.

[7] Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P., Ibanez, F.C. (2005). Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. *J. Food Chem*., 90, 613-620.

[8] Kosikowski, F.V., Mistry, V.V. (1997). Cheese and Fermented Milk Foods. Wesport, Connecticut, USA.

[9] Wszolek, M., Tamime, A.Y., Muir, D.D., Barclay, M.N.I. (2001). Properties of kefir made in Scotland and Poland using bovine, caprine and ovine milk with different starter cultures. *Lebensm.Wiss.Technol*., 34, 251-261.

[10] Dogan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *J. Consumer Prot. Food Safety.*, 6, 327-332.

[11] Rimada, P.S., A.G. Abraham. (2001). Polysaccharide production by kefir grains during whey fermentation. *J. Dairy Res*., 68, 653-661.

[12] Habibi, N., Soleimanian-Zad, S., Sheikh Zeinoddin, M. (2011). Optimization of kefir grains production by using taguchi technique and mini-fermentation. *World App Sci. J*., 12 (5), 613-618.

[13] Cetinkaya, F., Elal Mus, T. (2012). Determination of microbiological and chemical characteristics of kefir consumed in Bursa. Ankara *Üniv Vet Fak Derg*., 59, 217-221.

[14] Liu, R.J., Wen Lin, C. (2000). Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. *J. Food Sci*. 716-719.

[15] Witthuhn, R.C., Schoeman, T., Britz, T.J. (2005). Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. *Int. Dairy J*., 15, 383-389.

[16] Cui, X.H., Chen, S.J., Wang, Y., Han, J.R. (2013). Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains. *J. Food Sci. Technol*., 50, 349-352.

[17] Parvani, V. (1995). Quality control and chemicalexpriments of food products. Tehran university press, pp 70-110.

[18] Schoevers, A., Britz, J.T. (2003). Influence of different culturing conditions on kefir grain increase. Int. *J. Dairy Tech*., 1, 56-60.

[19] Ana Lúcia, F., Pereira, T., Maciel, C., Sueli, R. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice

fermented with Lactobacillus casei. *J. Food Research Int*., 44, 1276-1283.

[20] Milani, E., Koochaki, A. (2010). The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. Int. *J. Dairy Tech*., 2, 251-258.

[21] Balabanova, T., Panayotov, P. (2011). Obtaining functional fermented beverages by using the kefir grains. *J. Procedia Food Sci*., 1, 1653-1659.

[22] Assadi M, M., Pourahmad, R., Moazami, N. (2000). Use of isolated kefir starter cultures in kefir production. *World J. Microbiol. Bio.*, 16, 541-543.

[23] Gambelli, L., Manzi, P., Panfili, G., Vivanti, V., Pizzoferrato, L. (1999). Constituents of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. *J. Food Chem.*, 66, 353-358.

[24] Dimitreli, G., Antoniou, K.D. (2011). Effect of incubation temperature and caseinates on the rheological behaviour of Kefir. *J. Procedia Food Sci*., 1, 583-588.