DOI: http://dx.doi.org/10.22104/jift.2015.229

تاثیر پودر آب‌پنیر بر رشد لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس در شیر اسیدوفیلوس بازساخته

امیر طاهریان[1] * ، علیرضا صادقی ماهونک[2]، حبیب ا... میرزایی[2]، مهران اعلمی[2]، علیرضا صادقی[3]

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

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

3. استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان

(تاریخ دریافت: 93/2/13، تاریخ پذیرش: 93/4/21)

چکیده

نوشیدنی‌های لاکتیکی محصولات لبنی تولید شده با استفاده از شیر یا مشتقات لبنی هستند. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر پودر آب‌پنیر بر رشد و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس در شیر اسیدوفیلوس باز ساخته طی 12 روز نگه‌داری بود. شیر اسیدوفیلوس با استفاده از پودر شیر پس‌چرخ و باکتری لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس و هم‌چنین 5 سطح 0، 5، 10، 15 و 20 درصد، پودر آب‌پنیر تهیه شد. بهینه‌سازی شرایط گرمخانه‌گذاری، تغییرات رشد لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس، اسیدیته، pH در طی دوره گرمخانه‌گذاری و دوره نگه‌داری و پارامترهای رنگ سنجی در انتهای دوره نگه‌داری مورد بررسی قرار گرفت. تمام آزمایشات در 3 تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که بهترین شرایط گرمخانه‌گذاری برای رشد لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس دمای 40 درجه سانتی‌گراد، زمان 5 ساعت و ماده خشک 10 درصد وزنی/حجمی بود. هم‌چنین در پایان دوره نگه‌داری شیرهای اسیدوفیلوس تولیدی دارای میزان استاندارد پروبیوتیک (10^7 cfu/ml) بودند. افزودن پودر آب‌پنیر سبب ایجاد تغییرات معنی‌داری بر میزان اسیدیته، pH و ویژگی‌های رنگ سنجی شیرهای اسیدوفیلوس تولیدی شد. پودر آب‌پنیر به‌دلیل ویژگی‌های زیادی نظیر میزان لاکتوز و پروتئین‌های محلول در آب ترکیب مناسب جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک شیر اسیدوفیلوس است

واژه‌های کلیدی: شیر اسیدوفیلوس، پودر آب‌پنیر، پروبیوتیک.

* نویسنده مسئول: amirtaherian86@yahoo.com

1- مقدمه

واژه پروبیوتیک از واژه یونانی پروبیوس به معنای حیات‌بخش یا زیست‌بخش اقتباس شده است و از نظر مفهوم در مقابل واژه پادزیست به معنای ضد حیات قرار دارد [1]. نخستین بار در سال 1965 توسط لیلی و استیل ول به‌کار برده شد. آن‌ها واژه پروبیوتیک را به موادی نسبت دادند که به‌وسیله پروتوزوآ ترشح شده و رشد پروتوزوآی دیگر را تحریک می‌کنند [2]. این ترکیبات دارای تاثیرات مفیدی در روده هستند [4-3]. برخی از اثرات سلامتی‌زایی آن‌ها شامل کاهش عدم تحمل لاکتوز، تقویت سیستم ایمنی بدن، پیشگیری از سرطان مثانه و کاهش کلسترول خون است [6-5]. حداقل مقدار مصرف روزانه پروبیوتیک‌ها جهت ایجاد اثرات سلامتی‌زایی در بدن 10^{7}-10^{6} cuf/ml می‌باشد [6]. بیش‌ترین نوع باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده دو گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدویوم می‌باشند [7]. نوشیدنی‌های لاکتیکی محصولات لبنی تولید شده با استفاده از شیر یا مشتقات لبنی هستند [8]. از مشخصه این محصولات، داشتن ویسکوزیته پایین است که مصرف آن‌ها در بسیاری از کشورها طرفداران بی‌شماری دارد [9]. به‌طور میانگین آب‌پنیر حاوی، تقریبا 93٪ آب و حدود 6% لاکتوز و کم‌تر از 1٪ پروتئین بوده و مواد معدنی و چربی به مقدار ناچیز در آن وجود دارد [11-10]. تولید نوشیدنی‌های لاکتیکی نظیر شیر اسیدوفیلوس با افزودن پودر آب‌پنیر فرمولاسیون نوشیدنی در به‌دلیل افزایش میزان پروتئین‌های محلول در آب (بتا لاکتوگلوبولین و آلفا لاکتوآلبومین) از لحاظ تغذیه‌ایی دارای ارزش بسیار بالایی بوده [12] و جهت تولید مستلزم استفاده از تکنولوژی پیچیده‌ای نظیر سیستم‌های بوگیری نمی‌باشند [13]. به هر حال ترکیبات آب‌پنیر بسیار متنوع و وابسته به نوع فرایند تولید پنیر و شیر مصرفی است [12]. در سالیان اخیر با توجه به بررسی ترکیبات آب‌پنیر تاثیر مثبت آن به‌عنوان غنی‌کننده در محیط فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک به اثبات رسیده است [16-14] و از غنی‌سازی شیر پروتئین‌های هیدرولیز شده، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، ایزوله پروتئین آب‌پنیر، پودر آب‌پنیر به منظور تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک استفاده شده است [17]. مرحمتی زاده و همکاران در سال 2012 در بررسی تاثیر پرمیت بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک *Lactobacillus acidophillus* و *Bifidobacterum bifidum* در نوشیدنی شیره خرما رقیق شده بیان کردند پرمیت به‌دلیل داشتن پروتئین‌های محلول در آب و قابل تجزیه توسط باکتری‌های پروبیوتیک نقش موثری بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک داشت [19-18]. مارافون و همکاران (2011) در بررسی جایگزینی پودر شیر پس‌چرخ در فرمولاسیون نوشیدنی ماست همزده پروبیوتیک با کنسانتره پروتئین آب‌پنیر بیان کردند که افزودن 0/5 درصد کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و برخی از ترکیبات شیر به‌عنوان جایگزین ماده خشک بدون چربی ماست همزده سبب افزایش رشد باکتری استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس طی 14 روز نگه‌داری در شرایط 4 درجه سانتی‌گراد شد [20]. افزودن پودر آب‌پنیر، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر و ایزوله پروتئین آب‌پنیر و سیستئین در نوشیدنی‌های ماستی سبب بهبود خواص حسی و رئولوژی محصول تولیدی می‌شود [21]. هم‌چنین آلمیدا و همکاران در سال 2009 تاثیر میزان محتوی ماده خشک شیر و آب‌پنیر بر روند تغییرات اسیدیته و قابلیت زنده‌مانی مخلوط باکتری‌های سنتی ماست و باکتری‌های پروبیوتیک را بررسی کردند نتایج آنان نشان داد که، شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، *بیفیدو باکتریم لاکتیس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* مخلوط تخمیر شده در نوشیدنی آب‌پنیر و شیر محتوی 8 درصد و 10 درصد کل ماده خشک افزایش رشد بیش‌تری در مقایسه با مخلوط تخمیر شده با 12 درصد ماده خشک نوشیدنی شیر بدون آب‌پنیر داشت [22]. با توجه به سطح بالای تولید آب‌پنیر حاصل از تولید پنیر در کارخانجات لبنیات و قیمت به‌مراتب پایین‌تر آن نسبت به شیر و ارزش تغذیه‌ای قابل توجه آن پژوهش حاضر در راستای استفاده از این ماده با مغذی در تهیه نوشیدنی لاکتیکی شیر اسیدوفیلوس و بررسی تاثیر آن بر رشد و فعالیت باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی دوره گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری و هم‌چنین بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمایی و حسی محصول نهایی بود.

2- مواد و روش‌ها

پودر شیر بدون چربی و پودر آب‌پنیر از شرکت صنایع شیر ایران، کارخانه پگاه گلستان، سویه خالص لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (FD-DVS La-5) از شرکت کریستین هانسن دانمارک و محیط کشت Man Rogosa Sharpe (MRS) agar، از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

2-1- آماده‌سازی میکروارگانیسم

جهت فعال‌سازی باکتری پروبیوتیک از کشت سطحی روی محیط کشت MRS-agar تحت شرایط بی‌هوازی در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 48 ساعت استفاده شد. کلنی‌های رشد کرده به محیط کشت MRS-broth انتقال داده شد و در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 72 ساعت تحت شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. سپس جهت جداسازی زیست توده تولیدی لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس از سانتریفیوژ با دور 5000 rpm به مدت 15 دقیقه استفاده شد. جهت جداسازی کامل محیط کشت از سوش باکتریایی دو بار این عمل با استفاده از سرم فیزیولوژی 0/08٪ تکرار شد. سویه باکتری خالص‌سازی شده جهت تشخیص تعداد اولیه باکتری از روش مقایسه نیم مک فارلند میزان کدورت محلول باکتریایی با روش نورسنجی در طول موج 600 نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت [23].

2-2- آماده سازی شیر اسیدوفیلوس

با استفاده از شیر پس‌چرخ آماده، آب استریل و پودر آب‌پنیر در سطوح متفاوت، 5، 10، 15 و 20 درصد وزنی/ حجمی، به فرمولاسیون افزوده و شیر بازساخته (w/v) 10 درصد تهیه گردید، جهت یکنواخت‌سازی با استفاده از همزن به مدت 1 دقیقه همزده شده سپس در حمام آب گرم (مدل 101 شرکت اندیشه تجهیز) به شکل غیرمستقیم تحت شرایط دمایی 75 درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه عمل پاستوریزاسیون آن انجام شد. سپس با استفاده از یخ خشک به سرعت دمای آن به دمای تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس* (37 درجه سانتی‌گراد) رسانیده شد. باکتری فعال شده به میزان (w/v) 0/05 درصد به نمونه‌ها تلقیح گردید و در انکوباتور 40 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در ادامه نوشیدنی‌های تولیدی در بطری‌های تیره 240 میلی‌لیتری بسته‌بندی و به مدت 12 روز در یخچال 4 درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

2-3- آزمون‌های میکروبی

جهت بررسی رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* طی گرمخانه گذاری در زمان‌های 1، 2/5 و 5 (ساعت) و هم‌چنین در روزهای اول، چهارم، هشتم و دوازدهم نگه‌داری در یخچال (دمای 4 درجه سانتی‌گراد) از نوشیدنی‌های تولیدی تحت شرایط استریل نمونه‌برداری به عمل آمد. جهت آنالیز میکروبی از نمونه‌ها نمونه‌برداری شد به روش پور پلیت کشت شد نمونه‌ها در دمای 37 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 72 ساعت تحت شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند. پلیت‌هایی که حاوی 300 -30 کلنی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند و نتایج بر حسب cuf/ml گزارش شد [24].

2-4- آزمون‌های شیمیایی

اسیدیته نمونه‌های نوشیدنی بر حسب درصد اسید لاکتیک و با استفاده از سود 1/10نرمال و در حضور معرف فنل فتالئین انجام گرفت [25]، اندازه‌گیری pH با استفاده از pH متر شیشه‌ای مدل knick (آلمان) صورت گرفت [26].

2-5- آزمون‌های فیزیکی

خصوصیات رنگ مقادیر a^{1}، L^{2} و b^{3} نمونه‌های نوشیدنی توسط دستگاه پردازش تصویر مدل سیوارد جهت ارزیابی رنگ بررسی شدند. L^{*} شاخص روشنایی است که مقدار 100 برای نمونه کاملا سفید و صفر برای نمونه کاملا سیاه در نظر گرفته می‌شود. a^{*} کیفیت قرمز-سبز رنگ و مقادیر مثبت، قرمزی و مقادیر منفی، سبزی را نشان می‌دهد. b^{*} معرف کیفیت زرد-آبی است و مقادیر مثبت، زردی و مقادیر منفی، آبی بودن را نشان می‌دهد. برای بررسی روابط بین این پارامترها از معادلات زیر که بیان کننده مجموع تفاوت رنگ[4] (معادله 3)، زاویه شکست نور[5] (معادله2) و اندیس کروما[6] (معادله 1) است [23].

1. Redness
2. Lightness
3. Yellowness
4. Total color different
5. Hue index
6. Chroma index

$$Chroma = \sqrt{(a^2) + (b^2)} \quad (1)$$

$$Hue = \left(\frac{a}{b}\right) \quad (2)$$

$$TCD = \sqrt{(\Delta L^2) + (\Delta a^2) + (\Delta b^2)} \quad (3)$$

6-2- انتخاب نمونه مطلوب با توجه به ذائقه و پذیرش عمومی

برای انتخاب نمونه مطلوب با توجه به ذائقه و پذیرش عمومی از نظر طعم، رنگ، بو و پذیرش کلی، نوشیدنی‌های تولیدی پس از بسته‌بندی در بطری‌های تیره 240 میلی‌لیتری و پس از گذشت زمان لازم جهت سرد شدن توسط 5 داور آموزش دیده مورد ارزیابی حسی قرار گرفتند. پس از بیان هدف آزمون حسی و تعریف ویژگی‌های مورد ارزیابی، داوران آموزش دیده از بین 10 نفر انتخاب شدند. جهت ارزیابی حسی نمونه‌های نوشیدنی از روش هدونیک 5 نقطه‌ای استفاده شد. درجه مطلوبیت هریک از ویژگی‌های حسی با اعداد 1 تا 5 به‌ترتیب برای بسیاربد، بد، متوسط، خوب و بسیار خوب نشان داده شد. [27].

7-2- تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش پس از انجام پیش تست‌های اولیه و ارزیابی نتایج تعیین محدوده مناسب متغیرهای مستقل شامل شرایط گرمخانه‌گذاری (دما، زمان گرمخانه‌گذاری و میزان ماده خشک) انجام شد. جهت تعیین بهترین شرایط لازم برای فعالیت باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی دوره گرمخانه‌گذاری از روش سطح پاسخ Response Surface Method (RSM)[1] در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD)[2] برای پیش‌بینی تأثیر متغیرهای مستقل شرایط گرمخانه‌گذاری بر خصوصیات نوشیدنی پروبیوتیک استفاده شد. جهت بهینه‌سازی شرایط گرمخانه‌گذاری براساس طرح CCD 17تعداد تیمارها شامل 3 تکرار در نقطه مرکزی طراحی شد. محدوده متغیرهای مستقل مورد استفاده شامل دمای گرمخانه‌گذاری (42–38 درجه سانتی‌گراد)، زمان گرمخانه‌گذاری (5-2/5 ساعت) و ماده خشک پایه (12–8 گرم) بوده و پاسخ‌های اندازه‌گیری شده شامل اسیدیته، pH و شمارش باکتری لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس بودند. سطوح کدبندی شده متغیرهای مستقل به صورت 1- ، 0 و 1 بوده و در جدول (1) نشان داده شده است. در روش RSM برای هر پاسخی مدلی تعریف می‌شود که اثر اصلی و متقابل متغیرها را بر روی هر پاسخ بررسی می‌کند.

توابع پاسخ (Y) در مورد پارامترهای اندازه‌گیری شده با استفاده از مدل خطی[1]، مدل چند جمله‌ای درجه ساده و مدل چند جمله‌ای درجه دوم[2] مورد بررسی قرار گرفت.

مدل خطی

$$Y= b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3$$

مدل چند جمله‌ای درجه ساده

$$Y= b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_{12} + b_{33}x_{22} + b_{33}x_{32} + b_{12}x_1.x_2 + b_{23}x_2.x_3$$

مدل چند جمله‌ای درجه دوم

$$Y= b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{11}x_{12} + b_{22}x_{22} + b_{33}x_{32} + b_{12}x_1.x_2 + b_{13}x_1.x_3 + b_{23}x_2.x_3$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS [3] و بهینه‌سازی داده‌ها به روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی (CCD) با استفاده از نرم افزار Design Expert [4] انجام گرفت و رسم نمودارهای دو بعدی با نرم افزار اکسل[5] و رسم نمودارهای سه بعدی توسط نرم افزار Design Expert صورت پذیرفت. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد.

3- بحث و نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج جدول آنالیز واریانس (AVONA) داده‌ها و نیز مقایسه میانگین اسیدیته تیمارهای نوشیدنی‌های مختلف تولیدی می‌توان بیان کرد که اثر شرایط گرمخانه‌گذاری بر تغییرات اسیدیته معنی‌دار بود. هم‌چنین براساس نتایج جدول آنالیز واریانس بیش‌ترین مقدار R^2 پیش بینی شونده برای مدل

1. Response Surface Methodology
2. Central Composite Design

1. Linear Model
2. Quadratic Model
3. AS, 9. 1. 3 service pack 4
4. Design Expert, 8. 0. 7. 1 Trial, Stat-Ease Inc.
5. Microsoft Excel 2010

خطی برابر 80 ٪ بود. مقدار P برای آزمون فقدان برازش بزرگ‌تر یا مساوی 0/05 (0/7659) و مقدار F برابر 0/0001 بود. معادله (1) اثرات متغیرهای مستقل دما، زمان و ماده خشک را بر روی اسیدیته نشان می‌دهد.

اسیدیته = ۱۸/۶۵۷-۱/۰۷۵ × دما + ۱/۸۶۵ × زمان- ۰/۱۷۵ × دما× زمان

از این معادله می‌توان دریافت که اثرخطی زمان در افزایش اسیدیته بیش‌تر از اثر خطی دما می‌باشد. شکل 1 اثرات متغیرهای مورد بررسی را بر اسیدیته نوشیدنی‌های تولیدی را نشان می‌دهد.

همان‌گونه که در شکل 1 مشاهده می‌گردد، با افزایش دما و زمان گرمخانه‌گذاری میزان اسیدیته به شکل معنی‌داری افزایش یافت.

بررسی نتایج آنالیز واریانس (AVONA) و نیز مقایسه میانگین pH تیمارهای نوشیدنی‌های مختلف نشان داد که اثر سطوح مختلف پارامترهای گرمخانه‌گذاری بر pH معنی‌دار بود. بر اساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین مقدار R^2 پیش بینی شونده برای مدل چند جمله‌ای درجه ساده برابر 96 ٪ بود. مقدار P برای آزمون فقدان برازش بزرگ‌تر یا مساوی 0/05 (0/5666) و مقدار F برابر 0/0001 بود. معادله (2) اثرات متغیرهای مستقل دما، زمان و ماده خشک را بر روی pH نشان می‌دهد.

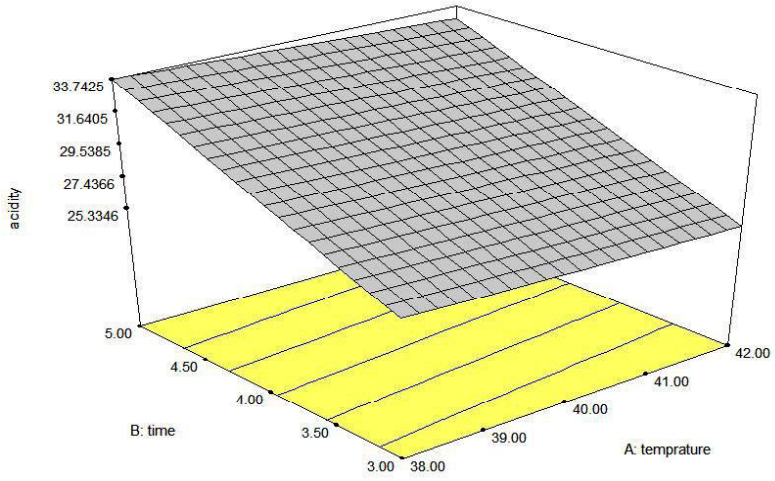
pH = + ۵/۹۶۲+۰/۰۱۶ × دما + ۰/۶۴۵ × زمان

-۵/۳۱۵E- ۰۰۳× ماده خشک -۰/۰۱۶× دما × زمان

-۳/۱۲۵E- ۰۰۴× دما × ماده خشک -۳/۳۰۱E-۰۰۳× زمان × ماده خشک

از این معادله می توان دریافت که اثرخطی افزایش زمان در کاهش pH بیش‌تر از اثر خطی دما و ماده خشک پایه است. به علاوه اثر چند جمله‌ای درجه ساده زمان–ماده خشک بیش‌تر از اثر چند جمله‌ای درجه ساده زمان-دما در کاهش pH می‌باشد. شکل (2) اثرات متغیرهای مورد بررسی را بر pH نشان می‌دهد. با افزایش ماده خشک، زمان و دما به‌دلیل افزایش فعالیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مقدار pH نوشیدنی‌های تولیدی کاهش یافت.

بررسی نتایج آنالیز واریانس (AVONA) و نیز مقایسه میانگین شمارش باکتری لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس تیمارهای نوشیدنی‌های مختلف نشان داد که اثر سطوح مختلف پارامترهای گرمخانه‌گذاری بر رشد باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* معنی‌دار بود. مقایسه میانگین شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* تیمارهای نوشیدنی‌های مختلف نشان داد که شرایط گرمخانه‌گذاری، باعث افزایش میزان باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* نوشیدنی‌های تولیدی می‌گردد. براساس نتایج به‌دست آمده بیش‌ترین مقدار R^2 پیش بینی‌شونده برای مدل خطی برابر



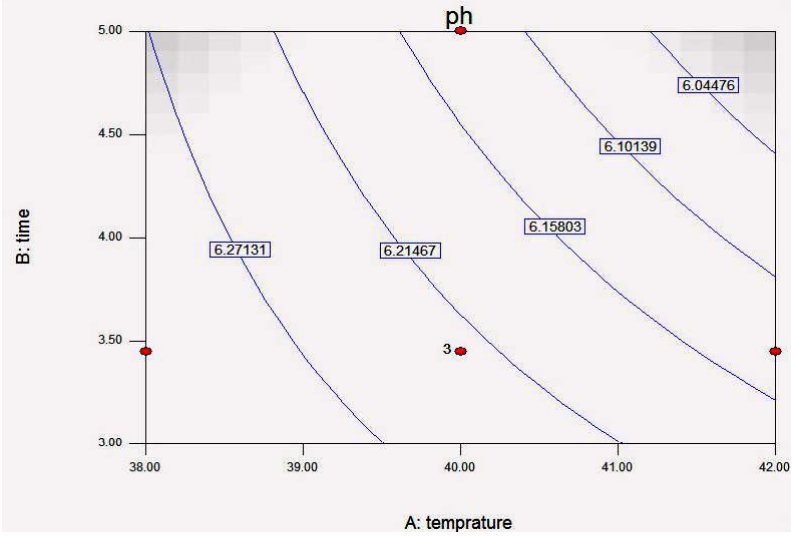
شکل (1) بهینه سازی تاثیر دما و زمان بر میزان اسیدیته نوشیدنی شیر اسیدوفیلوس (در دمای 42- 38 درجه سانتی‌گراد و زمان 5 – 2/5 ساعت)

88 ٪ بود که نشان می‌دهد مدل خطی 88 ٪ قابلیت پیشگویی شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* را دارد. مقدار P برای آزمون فقدان برازش بزرگ‌تر یا مساوی 0/05 (0/1892) و مقدار F برابر 0/001 بود. معادله (3) اثرات متغیرهای مستقل دما، زمان و ماده خشک را بر روی شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* نشان می‌دهد.

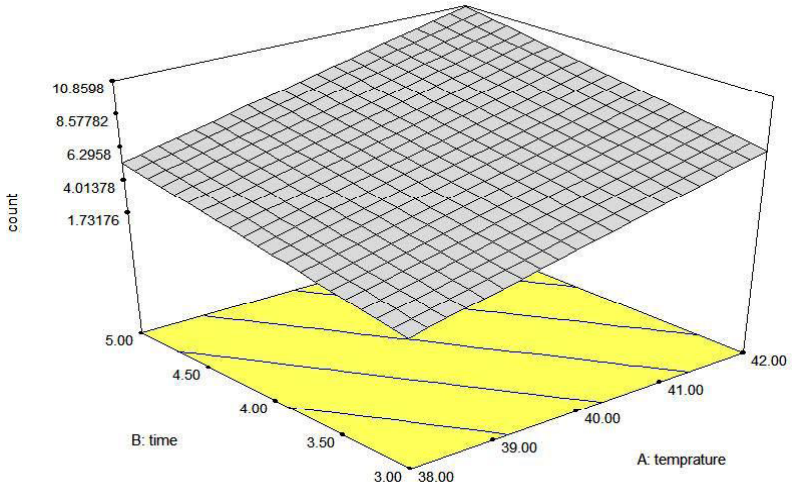
شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* = - ۴۳/۶۹۳+۱/۲۵۰ × دما+۰/۴۸۱ × زمان - ۰/۲۱۰ × ماده خشک

از این معادله می توان دریافت که اثرخطی دما در افزایش شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* بیش‌تر از اثر خطی زمان و ماده خشک می‌باشد. شکل 3 اثرات متغیرهای مورد بررسی را بر میزان باکتری لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس در نوشیدنی‌های پروبیوتیک تولیدی را نشان می‌دهد.

پودر آب‌پنیر به‌دلیل ویژگی‌هایی متعددی نظیر میزان لاکتوز بالا و پروتئین‌های محلول در آب، جایگزین مناسب پودرشیر پس‌چرخ جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک شیر اسیدوفیلوس است. استلی و همکاران در سال 2005 یکی از راه‌های تقویت



شکل (2) بهینه سازی تاثیر دما و زمان بر میزان pH نوشیدنی شیر اسیدوفیلوس (در دمای 42- 38 درجه سانتی‌گراد و زمان 5 – 2/5 ساعت)



شکل (3) بهینه سازی تاثیر دما و زمان بر میزان رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* در نوشیدنی شیر اسیدوفیلوس (در دمای 42- 38 درجه سانتی‌گراد و زمان 5 – 2/5 ساعت)

رشد و کاهش طول دوره گرمخانه‌گذاری را تقویت ویژگی‌های ماده اولیه (سوبسترا) دانسته و هم‌چنین بیان کردند که در کنار رشد، اسید سازی باکتری‌ها پروبیوتیک طی تولید دارای اهمیت ویژه‌ای است [28]. شوورز و بریتز (2003) بیان کردند که با افزایش دمای گرمخانه‌گذاری تا دمای بهینه فلور لاکتیکی موجود در دانه‌های کفیر (37 درجه سانتی‌گراد) سرعت رشد دانه‌های کفیر به شکل معنی‌داری افزایش می‌یابد [29]. دهقانی و همکاران (1390) بیان کردند که بهترین شرایط دمایی برای رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* 37 تا 40 درجه سانتی‌گراد بوده و در اثر افزایش دمای گرمخانه‌گذاری به‌دلیل افزایش فعالیت بالای آنزیم‌های *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* سرعت رشد با شدت بیش‌تری اتفاق می‌افتد [30]. نتایج نشان داد که بهترین شرایط گرمخانه‌گذاری برای رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دمای 40 درجه سانتی‌گراد، زمان 5 ساعت و ماده خشک 10 درصد وزنی/حجمی بود. با تعیین دقیق شرایط دمایی، زمانی دوره گرمخانه‌گذاری و نیز میزان ماده جامد (شیر پس‌چرخ) جهت رسیدن به یک نقطه مشخص فعالیت باکتری *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* را برای تولید نوشیدنی تخمیری شیر اسیدوفیلوس با توجه به ویژگی‌های محصول نهایی تولیدی که یک نوشیدنی سیال و فاقد لخته باشد الزامی است، بررسی شرایط گرمخانه‌گذاری و ویژگی‌های محیط فعالیت باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* امری ضروری به‌نظر می‌رسد [32-31]. با تجزیه و تحلیل داده‌ها و برازش آن‌ها با مدل‌های مختلف جهت تعیین بهترین شرایط رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس*، دمای 40 درجه سانتی‌گراد، زمان 5 ساعت و میزان 10 درصد ماده جامد به‌عنوان شرایط بهینه برای رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* به‌دست آمد.

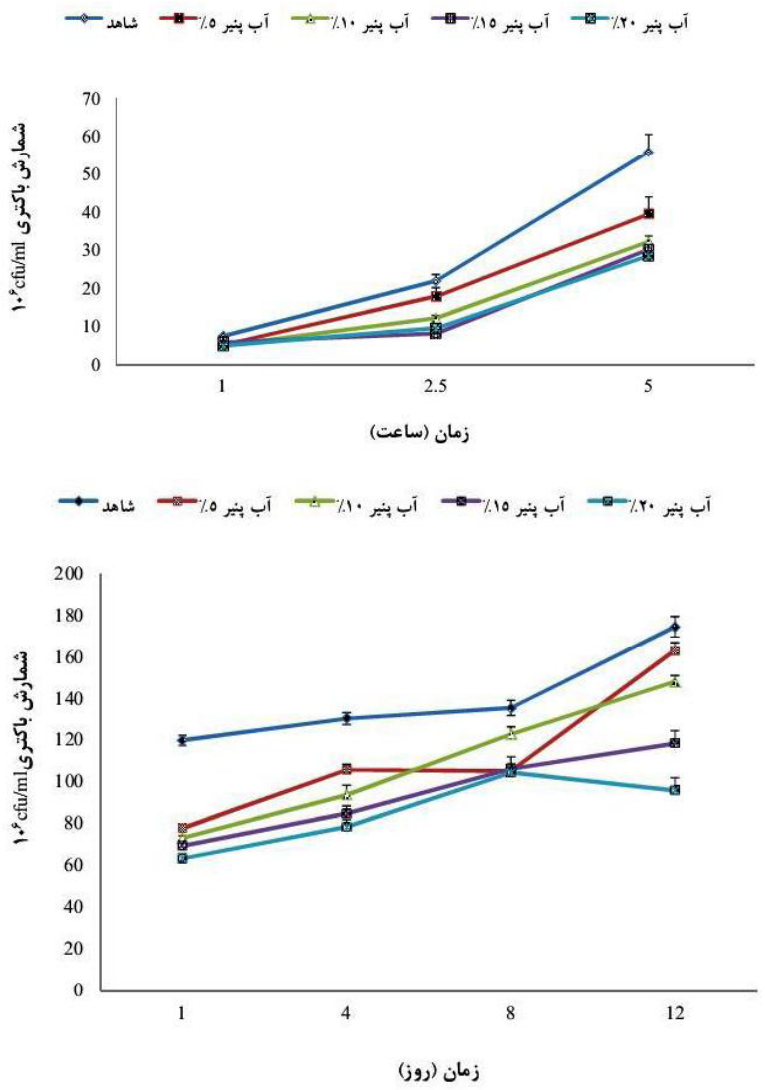
3-1-بررسی تاثیر پودر آب‌پنیر بر رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* طی دوره گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری

با توجه به شکل 4 در طی زمان گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری میزان رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* به‌شکل معنی‌داری افزایش یافت. در طی دوره گرمخانه‌گذاری تا ساعت اول گرمخانه‌گذاری در میزان رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در پایان 2/5 ساعت اول گرمخانه‌گذاری بین نمونه شاهد با نمونه 5 درصد آب‌پنیر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. هم‌چنین در پایان زمان گرمخانه‌گذاری بیش‌ترین تفاوت نسبت به مقدار اولیه در میزان رشد *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* به‌وجود آمد. به شکلی که نمونه شاهد با 56 cfu/ml و نمونه آب‌پنیر 20 درصد با 28/6 cfu/ml به‌ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین میزان لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس بودند (شکل 4-الف). در طی دوره نگه‌داری میزان *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* در نمونه شاهد نسبت به سایر نمونه‌ها بیش‌تر بوده و با سایر نمونه‌ها دارای اختلاف معنی‌داری بود. در طی دوره نگه‌داری بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بین نمونه‌های حاوی آب‌پنیر تا روزه هشتم اختلاف اندکی وجود داشت در حالی‌که انتهای دوره نگه‌داری تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* به‌ترتیب به نمونه شاهد در روز دوازدهم به مقدار 174/6 cfu/ml و نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر به میزان 96 cfu/ml مربوط بود (شکل 4- ب).

3-2- بررسی تغییرات اسیدیته شیر اسیدوفیلوس طی دوره گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری

همان‌گونه که در شکل 5 مشخص است با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری و دوره نگه‌داری میزان اسیدیته نمونه‌ها به شکل معنی‌داری، افزایش پیدا کرد.

با شروع گرمخانه‌گذاری تا 2/5 ساعت اول تفاوت معنی‌داری در میزان اسیدیته نمونه‌ها وجود نداشت، ولی در تمامی نمونه‌ها روند افزایشی در میزان اسیدیته مشاهده شد. در ساعت 5 گرمخانه‌گذاری بین نمونه شاهد و نمونه 5 درصد آب‌پنیر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد، ولی با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان اسیدیته در پایان دوره گرمخانه‌گذاری به‌ترتیب به نمونه شاهد به میزان 30/6 درصد و نمونه حاوی 20 درصد پودر آب‌پنیر به مقدار 25/3درصد بر حسب درصد اسید لاکتیک تعلق داشت (شکل



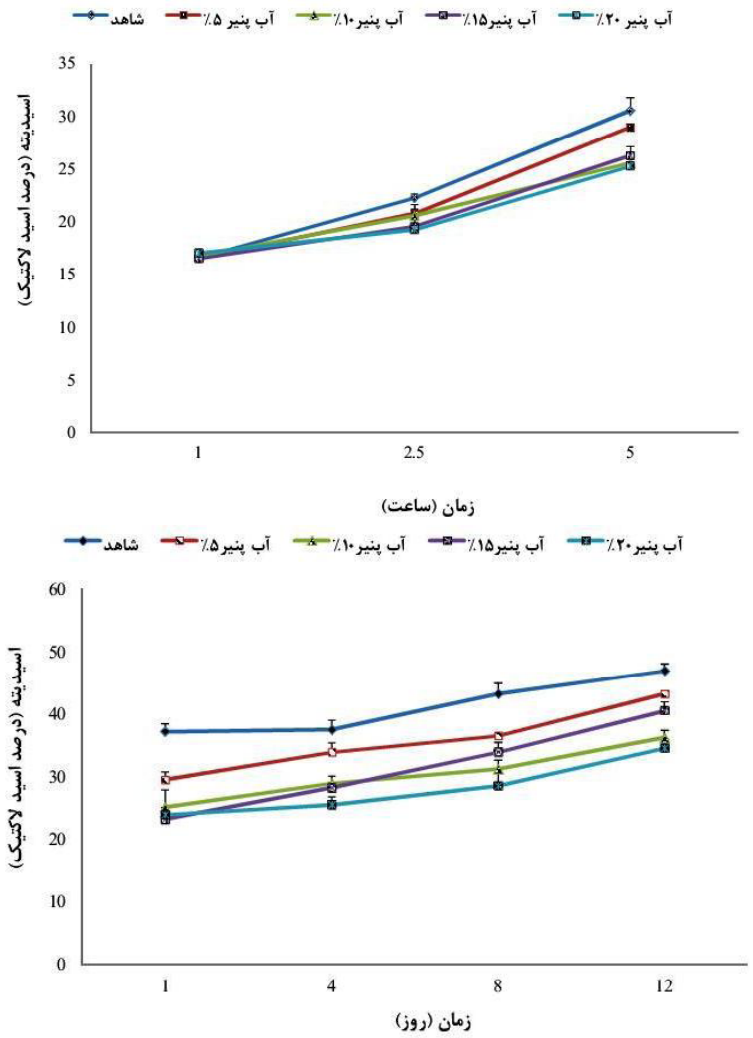
شکل (4) بررسی تغییرات شمارش باکتری در شیر اسیدوفیلوس طی گرمخانه‌گذاری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد (الف) و دوره نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد (ب)

*تیرک‌های ترسیم شده نشان دهنده خطای استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است.

5- الف). در طی دوره نگه‌داری بین نمونه شاهد و نمونه‌های 5 درصد پودر آب‌پنیر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد همان‌طور که بین نمونه 10 و 15 درصد آب‌پنیر نیز اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، اما نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر با سایر نمونه‌ها دارای تفاوت معنی‌داری بود. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان اسیدیته به نمونه شاهد به میزان 47 درصد و نمونه حاوی 10 درصد آب‌پنیر به مقدار 36/3 درصد بر حسب اسید لاکتیک تعلق داشت (شکل 5- ب).

3-3- بررسی تغییرات pH شیر اسیدوفیلوس طی گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری

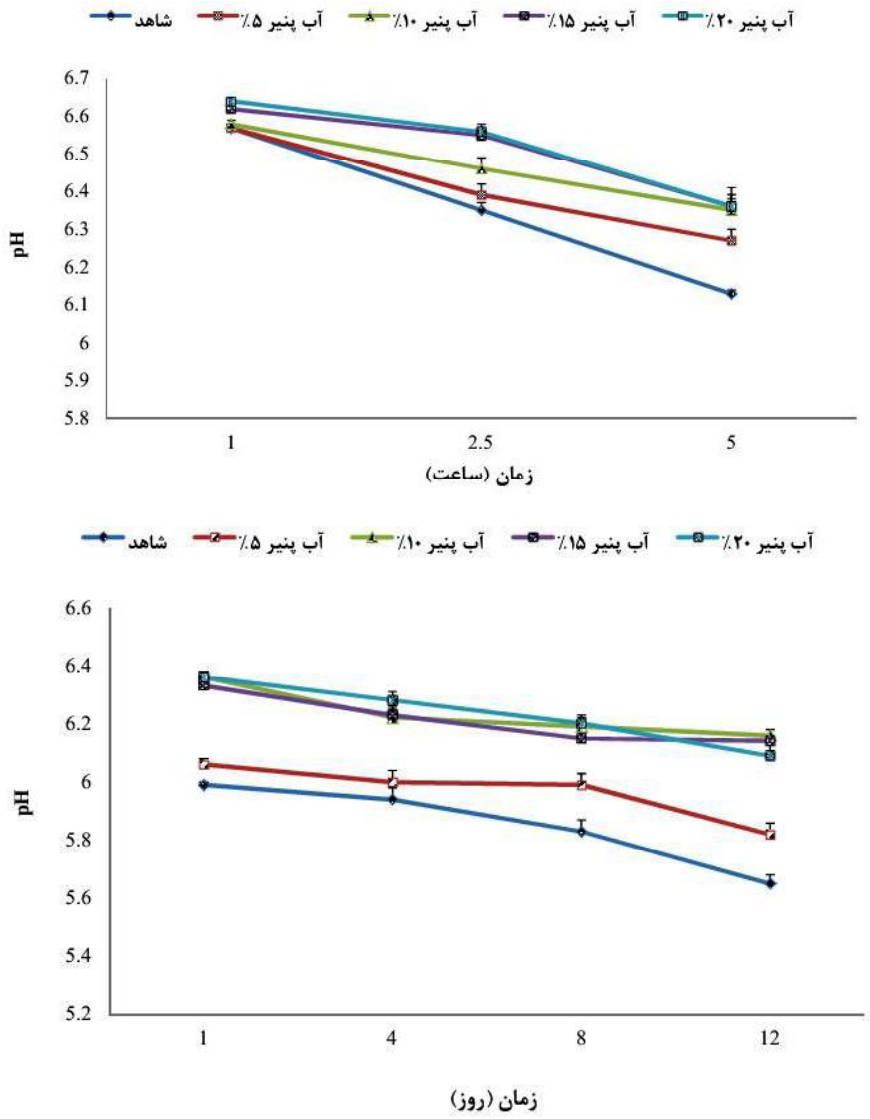
با توجه به شکل 6 در طی دوره گرمخانه‌گذاری و نگه‌داری میزان تغییر pH نمونه‌ها به شکل معنی‌داری دچار روند کاهشی بود. در ساعات اولیه گرمخانه‌گذاری بین نمونه شاهد با سایر نمونه‌هااختلاف معنی‌داری مشاهده شد. در پایان زمان گرمخانه‌گذاری بین نمونه شاهد و نمونه 5 درصد آب‌پنیر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی‌که با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان



شکل (5) بررسی تغییرات اسیدیته شیر اسیدوفیلوس طی گرمخانه‌گذاری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد (ب) و دوره نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد (الف)

*تیرک‌های ترسیم شده نشان دهنده خطای استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است.

pH در پایان گرمخانه‌گذاری به‌ترتیب مربوط به نمونه حاوی 15 درصد آب‌پنیر به میزان 6/39 و نمونه شاهد به مقدار 6/13 مربوط بود (شکل 6-الف). در روزهای نخست نگه‌داری بین نمونه‌های اختلاف چندان معنی‌داری مشاهده نشد. در روز هشتم نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری به‌وجود آمد. در پایان دوره نگه‌داری بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 5 درصد آب‌پنیر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد و نیز بین سایر نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. کم‌ترین و بیش‌ترین میزان pH در پایان دوره نگه‌داری به نمونه شاهد به مقدار 5/65 و نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر به مقدار 6/09 تعلق داشت (شکل 6-ب). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که به شدت با محیط اطرافشان واکنش می‌دهند و محصولات متابولیکی خود را با محیط مبادله می‌کنند[15]. در این مسیر ترکیبات شیر بسیار مهم است. مواد مغذی موجود در شیر در غلظت‌های بهینه در دسترس نیستند. لذا افزودن عوامل محرک نظیر کربوهیدرات‌های قابل تجزیه به شیر می‌تواند تقویت رشد و افزایش اسیدیته پروبیوتیک‌ها را به همراه داشته باشد (شکل 4-الف و شکل 5-الف) [16]. به موادی که باعث تقویت رشد باکتری‌های پروبیوتیک در محیط شیر و خارج از سیستم گوارش می‌شوند، فاکتورهای رشد اطلاق می‌شود. برای مثال غنی‌سازی شیر با ترکیبی از پروتئین‌های هیدرولیز



شکل (6) بررسی تغییرات pH شیر اسیدوفیلوس طی گرمخانه‌گذاری در دمای 40 درجه سانتی‌گراد (الف) و دوره نگه‌داری در دمای 4 درجه سانتی‌گراد (ب)

*تیرک‌های ترسیم شده نشان دهنده خطای استاندارد داده‌های اندازه‌گیری شده است.

شده، کنسانتره پروتئین آب‌پنیر، ایزوله پروتئین آب‌پنیر، پودر آب‌پنیر و سیستئین رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را تحریک می‌کنند [17]. افزودن آب‌پنیر در فرمولاسیون نوشیدنی پروبیوتیک به جهت تامین اسیدهای آمینه ضروری گوگرددار نظیر سیستئین رشد باکتری‌های سنتی ماست (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*) و هم‌چنین باکتری‌های پروبیوتیک (بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی) را افزایش می‌دهد [17]. درگالیچ و همکاران (2005) تاثیر استفاده از پودر آب‌پنیر جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از سه گونه باکتری‌های پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم* در طی دوره گرمخانه‌گذاری در دمای 37 درجه سانتی‌گراد بر ویژگی‌های میکروبی و فیزیکوشیمیایی نوشیدنی‌های تولید مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنان حاکی از آن بود که با افزایش زمان گرمخانه‌گذاری میزان فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک افزایش یافته و در بین باکتری‌های مذکور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌دلیل فعالیت بالای آنزیم لاکتاز دارای توانایی بالاتری جهت فعالیت

در نوشیدنی تهیه شده بود و آب‌پنیر به‌دلیل داشتن سطح بالای قند لاکتوز و پروتئین‌های محلول در آب نظیر آلفا لاکتو آلبومین و بتا لاکتوگلوبولین منبع بسیار مناسبی جهت فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود [19]. معیدنیا و مظاهری در سال 2012 در بررسی اثر مقایسه‌ایی بین شیر اسیدوفیلوس و بیفیدیوس و شیر ترکیبی آن‌ها طی 21 روز ماندگاری در یخچال گزارش کردند که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک شیرهای تولیدی بعد از 21 روز نگه‌داری در یخچال $7/93\times10^7$ cfu/ml بوده و در حد استاندارد پروبیوتیک باقی ماند [24]. معیدنیا و مظاهری در سال 2012 در بررسی شرایط نگه‌داری شیر اسیدوفیلوس طی دوره نگه‌داری در یخچال بیان داشتند، اسیدیته قابل تیتراسیون شیر اسیدوفیلوس طی 5 ساعت دوره گرمخانه‌گذاری برابر 21/3 درجه دورنیک بود [33]. آکالین و همکاران در سال 2004 به بررسی تاثیر افزودن فروکتوالیگوساکارید بر رشد و زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم در ماست پروبیوتیک طی دوره نگه‌داری پرداختند و گزارش کردند که بعد از 28 روز نگه‌داری در یخچال باکتری پروبیوتیک سبب کاهش pH ماست از 4/51 به 4/40 شد [34]. پودر آب‌پنیر به لحاظ داشتن پروتئین‌های محلول در آب و قابل تجزیه توسط میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک سبب کاهش pH محیط شده (شکل6-الف) اما در انتهای دوره نگه‌داری میزان پروتئولیز را افزایش یافته و سبب افزایش خاصیت احیاءکنندگی محیط می‌شود (شکل 6-ب) و هم‌چنین به لحاظ میکروئروفیل بودن و نیز بی‌هوازی مطلق بودن بسیاری از باکتری‌های پروبیوتیک نظیر *لاکتوباسیوس‌اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم*، میزان فعالیت باکتری‌های پروبوتیک را کاهش داده و بر فعالیت آن‌ها دارای اثر منفی است (شکل 4-ب) در حالی‌که سبب افزایش فعالیت و میزان رشد استارترهای طبیعی ماست (*استرپتوکوکوس‌ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*) می‌شود [31، 35 و 36]. به‌دلیل آن‌که *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* باکتری گرم مثبت هستند و جهت رشد نیاز به منابع غذایی متعدد و فراوان دارند، افزایش پروتئین‌های چلاته کننده محلول در آب (آلفا لاکتوآلبومین و بتا لاکتوگلوبولین) تا حدی اثر منفی بر رشد آن‌ها دارد [37]. یکی از تغییرات رایج در طی دوره نگه‌داری نوشیدنی‌های لاکتیک افزایش در میزان اسیدیته در اثر فعالیت بالاتر باکتری پروبیوتیک می‌باشد (شکل 5-ب) [38-39]. در اثر خاصیت بافری کازئین و پروتئین‌های محلول در آب میزان تولید یون هیدروژن کاهش می‌یابد، افزایش پودر آب‌پنیر سبب می‌شود میزان این پروتئین‌های محلول در آب بیش‌تر شده و میزان کاهش pH کم‌تر شود [14، 35، 36 و 40].

4-3- بررسی تغییرات رنگ شیر اسیدوفیلوس طی دوره نگه‌داری

رنگ ماده غذایی از پارامترهای بسیار مهم از دیدگاه مصرف‌کنندگان به‌شمار می‌آید. اما بررسی این پارامتر در اکثر موارد به شکل کیفی و در قالب آنالیز حسی انجام شده است. با توجه به جدول 2 با افزایش درصد آب‌پنیر جایگزین شده در نمونه‌های شیر اسیدوفیلوس به شکل معنی‌داری ویژگی‌های رنگ سنجی نوشیدنی‌های تولیدی تغییر پیدا کرد.

همان‌طور که در جدول (2) مشاهده می‌گردد، با افزایش میزان آب‌پنیر میزان شاخص روشنایی و شاخص قرمزی کاهش و شاخص زردی افزایش پیدا کرد. بین میزان شاخص روشنایی در نمونه‌های حاوی 5 و 10 درصد آب‌پنیر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری به‌وجود نیامد، در حالی‌که با افزایش آب‌پنیر مورد استفاده به میزان 15 و 20 درصد تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شاخص روشنایی به نمونه شاهد با میزان 76/74 و به نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر با مقدار 69/08 تعلق داشت. با افزایش میزان آب‌پنیر بیش از 5 درصد بین نمونه شاهد و نمونه‌های تولیدی تفاوت معنی‌داری در میزان شاخص قرمزی مشاهده گردید. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شاخص قرمزی به‌ترتیب مربوط به نمونه شاهد با میزان 2/49- و نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر با میزان 4/04- متعلق بود. هم‌چنین با افزایش بیش از 5 درصد پودر آب‌پنیر در فرمولاسیون نوشیدنی‌های پروبیوتیک بین نمونه شاهد و سایر نمونه‌ها از تفاوت معنی‌داری مشاهده از نظر شاخص زردی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان شاخص زردی به‌ترتیب مربوط به نمونه حاوی 20 درصد آب‌پنیر با میزان 1/03 و نمونه شاهد با میزان 3/66- تعلق داشت. علاوه‌بر این افزودن پودر آب‌پنیر در فرمولاسیون

جدول (1) تیماربندی طرح بهینه سازی شرایط گرمخانه‌گذاری

متغیرهای مستقل	مقادیر کد شده واقعی		
	-1	0	+1
دما (درجه سانتی‌گراد)	38	40	42
زمان (ساعت)	2/5	3/45	5
شیر پس چرخ (درصد وزنی/حجمی)	8	10	12

جدول(2) بررسی تغییرات رنگ شیر اسیدوفیلوس طی دوره نگه‌داری (در دمای 4 درجه سانتی‌گراد)

تیمار	رنگ سنجی					
	L^*	a^*	b^*	TCD	h^*	Chroma
شاهد	76/74±1/51 ^{a}	-2/49±0/06^{a}	-3/66±0/41^{d}	0	29/40±0/45^{a}	4/14±0/14^{a}
آب‌پنیر 5٪	75/67±0/44^{ab}	-2/89±0/20^{ab}	-3/19±0/07^{d}	1/46±0/79^{dc}	24/24±1/8a^{b}	4/30±0/08^{ab}
آب‌پنیر 10٪	74/22±0/61^{ab}	-3/09±0/06^{bc}	-2/56±0/05^{c}	2/94±1/20^{bc}	22/22±0/55^{b}	4±0/01^{bc}
آب‌پنیر 15٪	72/62±0/02^{b}	-3/53±0/14^{c}	-1/44±0/19^{b}	4/81±0/78^{b}	15/63±1/65^{c}	3/81±0/05^{c}
آب‌پنیر 20٪	69/08±0/92^{c}	-4/04±0/90^{d}	1/03±0/08^{a}	8/33±0/53^{a}	11/3±0/29^{d}	4/16±0/10^{ab}

اعداد جدول به صورت میانگین± انحراف معیار هستند.

*اعداد دارای حروف مشترک در ستون با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند ($p < 0/05$)

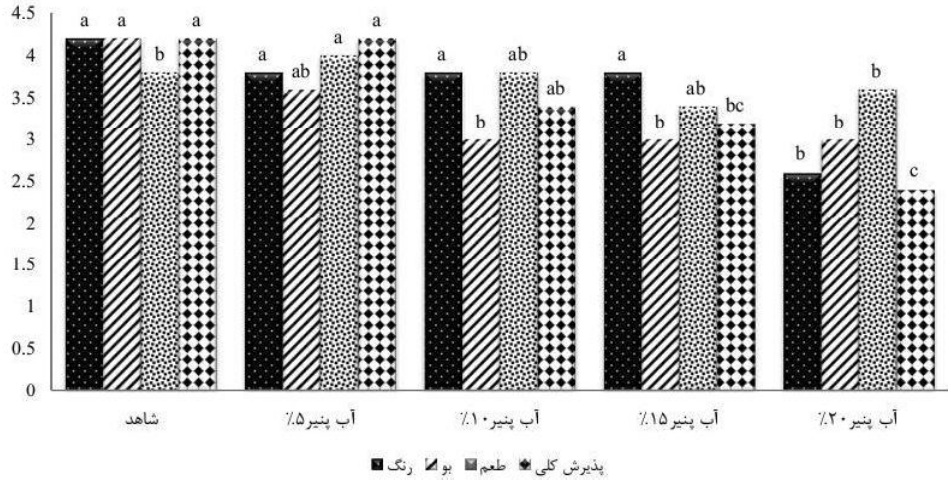
نوشیدنی‌ها سبب شد که میزان تفاوت کلی رنگ افزایش و میزان شاخص شکست نور و اندیس کروما کاهش پیدا کنند. پودر آب‌پنیر به‌دلیل آن‌که حاوی ترکیباتی نظیر ویتامین ریبوفلاوین (ب 2) است و نیز ماهیت رنگی آن شاخصه‌های رنگی را تغییر می‌دهد [40]. دوژان (2011) به بررسی اثر افزودن 3 سطح 10، 20 و 30 درصد دو نوع عسل را بر برخی ویژگی‌های نوشیدنی کفیر بررسی کرد و گزارش کرد که با افزایش درصد عسل افزوده شده در نمونه‌های کفیر تولید شده، میزان L^* وa^* به شکل معنی‌داری کاهش و نیز میزان b^* به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد [42]. نتایج به‌دست آمده با نتایج سایر محققین مطابقت داشت [23].

5-3- ارزیابی حسی

همان‌طور که در شکل 7 مشاهده می‌گردد. با افزایش درصد جایگزینی پودر آب‌پنیر تغییرات معنی‌داری در ویژگی‌های حسی نمونه‌های شیر اسیدوفیلوس تولیدی به‌وجود آمد. با افزایش میزان آب‌پنیر در سطح 5، 10 و 15 درصد بین پذیرش رنگ نمونه‌های تولیدی با نمونه شاهد، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. از نظر بو نیز بین نمونه شاهد و نمونه حاوی 5 درصد آب‌پنیر از نظر ارزیابان تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ولی با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری بود. به هر حال بین نمونه‌های حاوی آب‌پنیر از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد وهم‌چنین از نظر طعم نیز بین نمونه‌های حاوی 10 و 15 درصد آب‌پنیر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. از نظر پذیرش کلی بین نمونه‌های حاوی 5 و 10 درصد آب‌پنیر با نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و از نظر ارزیاب‌ها بهترین نمونه‌های نوشیدنی شیر اسیدوفیلوس بودند و نمونه حاوی 20 درصد کم‌ترین میزان پذیرش کلی در بین ارزیاب‌ها را دارا بود.

4-نتیجه‌گیری

شیر اسیدوفیلوس از نوشیدنی‌های پرطرفدار در



شکل (7) بررسی ویژگی‌های حسی شیر اسیدوفیلوس

بسیاری از نقاط دنیا به‌دلیل طعم مطبوع در اثر فعالیت *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* و تولید اسیدیته نه چندان بالا برخلاف دوغ که دارای طعم بسیار ترش هستند، می‌باشد در نوشیدنی‌های تولیدی میزان اسیدیته بعد از 12 روز نگه‌داری از 45 درصد برحسب اسید لاکتیک تجاوز نکرد که سبب ایجاد طعم مطبوع شده و عدم افزایش بیش از حد اسیدیته سبب تاثیر مثبت بر رشد و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس‌اسیدوفیلوس* شد. در بین نمونه‌های تولیدی نمونه‌های حاوی 5 و 10 درصد آب‌پنیر دارای پذیرش کلی بهتری نسبت به نمونه‌های حاوی 15 و 20 درصد آب‌پنیر بودند. در پایان دوره نگه‌داری شیرهای اسیدوفیلوس تولیدی دارای میزان استاندارد پروبیوتیک ($cfu/ml10^7$) بودند. جایگزینی پودر آب‌پنیر سبب ایجاد تغییرات معنی‌داری بر میزان اسیدیته، pH و ویژگی‌های رنگ سنجی شیرهای اسیدوفیلوس تولیدی شد.

منابع

[1] Lee, Y.K, Salminin, S. (2009). Handbook of probiotics and prebiotics, *Willy J. Sons*., 609.

[2] Mortazavian, N.M., Sohrabvand, M. (1385). Probiotices and Food Probiotices. Tehran. ANA. 483.

[3] Zuidem, N.J., Nedovic, V.A. (2010) Ecapsulation technology for active food ingredients and food processing. *J. Dairy Sci*., 402.

[4] Sanders, M.E.(1999) Probiotics. *Food Tech*., 53, 67–77.

[5] Saline, S., Isolauri, E., Saline, E. (1996) Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges. Anton. Leeuw. *Int. J. G*., 70, 347–358.

[6] Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. (2000). Enumeration ofLactobacillus caseiin thepresence ofL. acidophilus. Bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermenteddairyproducts. *Int. Dairy J.* 10, 271−275.

[7] Kalliomaki, M., Saline, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., Isolauri, E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*., 357, 1076 –1079.

[8] Brasil,. M., Pecua´ria e, A. (2005). Legislaça ˜o. SISLEGIS: Sistema de consulta a` legislaça˜o. instruça˜o normativa n.16, de.

[9] Nielsen, A.C. (2002). Informaço˜es sobre o crescimento de alimentos e bebidas. Os produtos mais quentes do mundo.<www.br.acnielsen.com>Assessed. 28, 03-07.

(2011). Effects of partially replacing skimmed milk powder with dairy ingredients on rheology, sensory profiling, and microstructure of probiotic stirred-type yogurt during cold storage. *J. Dairy Sci*., 94(11), 5330-5340.

[20] Patocka, G., Cervenkova, R., Narine, S., Jelen, P. (2006). Rheological behaviour of dairy products as affected by soluble whey protein isolate. *Int. Dairy J*., 16(5), 399-405.

[21] Marhamatizadeh, H.M., Ehsandoost, E., Gholami, P., Moshiri, H., Nazemi, M. (2012). Effect of permeate on growth and survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum for production of probiotic nutritive beverages. *World Applied Sci. J*., 18(10), 1389-1393.

[22]Almeida, K.E., Tammie, A.Y., Oliveira, M.N. (2009). Influence of total solids contents of milk whey on the acidifying profile and viability of various lactic acid bacteria. *Food Sci. Technol.*, 42, 672–678.

[23]Ana Lúcia, F., Pereira, T,C., Maciel, S.R. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with Lactobacillus casei. *Food Res. Int*., 44, 1276–1283.

[24]Moayednia, N., Mazaheri, A.F. (2013). Comparative Studies in the manufacturing of acidophilus, bifidus and acido-bifidus milks. *J. Food Bio. Sci. Technol.*, 3, 29-36.

[25]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.

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

[27]Abdalmaleki, F., Mazaheri A.M., Jahadi, M. (1388). Manufactured whey based beverage using several kefir microflora and its chemical and organoleptic characteristics. *Iran. J. Nutr. Sci. Food Technol.*, 4, 21-32.

[28] Ostlie, H.M., Treimo, J., Narvhus, J.A. (2005). Effect of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chem*., 100(2), 788-793.

[10] Smithers, G.W. (2008). Whey and whey proteins-from 'gutter-to-gold'. *Int. Dairy J.* 18, 695–704.

[11] Beucler, J., Drake, M., Foegeding, E., Allen, A. (2005). Design of a beverage from whey permeate. *J.Food Sci*., 70, 277-285.

[12] Sanmartín, B., Díaz, O., Rodríguez-Turienzo, L., Cobos, A. (2011). Composition of caprine whey protein concentrates produced by membrane technology after clarification of cheese whey. *Small Ruminant Rese.* 105, 186-192.

[13] Hernández-Ledesma, B., Ramos, M., Gómez-Ruiz, J.A. (2011). Bioactive components of ovine and caprine cheese whey .*Small Ruminant Rese.* 196-204.

[14] Pescuma, M., Hébert, E.M., Mozzi, F., Valdez, G. (2010). Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *Int. J. Food Microbiol*., 141, 73–81.

[15] Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, 84(3), 197-215.

[16] Gomes, A. M., Malcata, F. X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. T*rends Food Sci. Tech*.,10(4), 139-157.

[17] Güler-Akin, M.B., Akin. M.S.)2007(. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chem*., 100(2), 788-793.

[18] Dragali, I., Tratnik, L., Boanic, R. (2005). Growth and survival of probiotic bacteria in reconstituted whey. *Eur. Dairy Sci*.,171-192.

[19] Marafon, A.P., Sumi, A., Granato, D., Alcantara, M.R., Tamime, A.Y., Nogueira de Oliveira, M.

P., Mohaghegh, M.D. (2013). Effect of olive leaf extract on growth and viability of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum for production of probiotic milk and yoghurt. *Int. J. Farming Allied Sci*., 2(17). 572-578.

[39] De Souza, A.H.P., Costa, G.A.N., Da Silva, L.H., Furlaneto-Maia, L., de Oliveira, A.F. (2013). Microbiological, physical, chemicaland sensory characteristics of milk fermented with Lactobacillus plantarum. Acta Scientiarum. *Health Sci*., 125-131.

[40] Castro, W.F., Cruz, A.G., Rodrigues, D., Ghiselli, G., Oliveira, C.A.F., Faria, J.A.F., Godoy, H.T. (2013). Effects of different whey concentrations on physicochemical characteristics and viable counts of starter bacteria in dairy beverage supplemented with probiotics. *Am. Dairy Sci. Assoc*., 96, 96-100.

[41] Kashket, E.R. (1987). Bioenergetics of lactic acidbacteria: Cytoplasmic pH and osmotolerance. FEMS *Microbi Reviews*. 46, 233–244.

[42]Dogˇan, M. (2011). Rheological behaviour and physicochemical properties of kefir with honey. *J. Consum. Protect. Food Safety*, 6, 327–332.

fect of temperature on growth and metabolism of probiotic bacteria in milk. *Int. Dairy J*., 15, 989–997.

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

[30] Dehghani, N., Pour Ahmad, R., Nemati, N.L. (1390). The effect of incubation temperature on microbial cultures inoculated with probiotic yogurt containing Lactobacillus casei. *Iran. J. Nut. Sci. Food Technol*., 2, 1-10.

[31]Taheri, P., Ehsani, M., Khosravi Darani, K., Razavi, S. (1386). Effect of milk composition, inoculation and incubation temperature on the growth of Lactobacillus acidophilus LA-5 in Probiotic Yogurt. *Iran. J. Nut. Sci. Food Technol*.,1, 1-10.

[32]Shukla, M., Kumar Jha,Y., Admassu, S. (2011). Development of probiotic beverage from whey and pineapple Juice. *J. Food Process Technol*., 2, 94-97.

[33] Moayednia, N., Mazaheri, A.F. (2012). The shifts of acidophilus milk at the refrigerator. *J. Food Bio. Sci. Technol*., 2, 65-70.

[34] Akalin, A.S., Fenderya, S., Akbulut, N. (2004). Viability and activity of bificobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *Int. J. Food Sci. Technol*., 6, 613−621.

[35] Martın-Diana, A.B., Janer, C., Peláez, C., Requena, T. (2003). Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. *Int. Dairy J*., 13(10), 827-833.

[36]Al-Otaibi, M.M. (2009). Evaluation of some probiotic fermented milk products from Al-Ahsa markets, Saudi Arabia. *Ameri J. Food Technol*., 4,1–8.

[37] Dave, R. I., Shah, N.P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J. Dairy Sci*., 81(11), 2804-2816.

[38]Marhamatizadeh, M. H., Ehsandoost, E., Gholami,