نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد ششم، شماره اول، ۹۳
۳۷-۵۲
http://ejfpp.gau.ac.ir

اثر فشار و مراحل هموژنیزاسیون بر زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک و پذیرش کلی ماست پروبیوتیک کم چرب

رامونا مسعود[۱]، وجیهه فدایی نوغانی*[۲] و کیانوش خسروی دارانی[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس،
[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

تاریخ دریافت: ۹۳/٤/۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/۳۰

چکیده

امروزه مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک به‌ویژه ماست به‌دلیل دارا بودن خواص منحصر به فرد و سلامتی بخش از محبوبیت زیادی برخورداراست. در این پژوهش، اثر فشار و مراحل هموژنیزاسیون بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و پذیرش کلی ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفته است. شیر مورد استفاده برای تولید نمونه‌های ماست پروبیوتیک، دردمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد پیش گرم و درفشارهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ بار هموژنیزه شد؛ و تحت فرآیند حرارتی ۸۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت. بعد از خنک شدن شیرتا دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد، کشت آغازگر مخلوط ABY1 تلقیح گردید و گرمخانه گذاری انجام شد. در طی تخمیر، pH کاهش یافت تا به ٤/۵ رسید. بعد از تخمیر، نمونه‌های ماست تهیه شده در یخچال با دمای (٤ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند. زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک و پذیرش کلی طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ٤ تعیین گردید. با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون در طول دوره نگهداری، قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک به طور معنی داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین، افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون موجب بهبود پذیرش کلی نمونه‌ها شد ($P<۰/۰۱$). نتایج تحقیقات این پژوهش نشان می‌دهد که با تغییر شرایط هموژنیزاسیون می‌توان قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک *(لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس)* را افزایش داد.

واژگان کلیدی: ماست پروبیوتیک، فشار هموژنیزاسیون، تعداد مراحل هموژنیزاسیون، زنده مانی پروبیوتیک‌ها، پذیرش کلی.

*نویسنده مسئول: vn.fadaei@gmail.com

مقدمه

امروزه، مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک در جهان به‌ویژه کشورهای اروپایی، آمریکا و ژاپن رواج چشمگیری یافته است، به‌طوری‌که بیش از ۹۰ فرآورده پروبیوتیک در سرتاسر جهان تولید می‌شود (شاه، ۲۰۰۰). به‌طورکلی، ماست به‌دلیل اسیدیته بالا و pH پایین، محیط مناسبی برای حفظ و انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن نیست. در مقابل، پنیر و سایرفرآورده‌های لبنی با pH بالاتر می‌توانند از نقطه نظر یاد شده مؤثرتر باشند. این موضوع در مورد بیفیدوباکتریوم‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است. با این وجود، همه‌گیر بودن مصرف ماست، این فرآورده را به مهم‌ترین و مرسوم‌ترین فرآورده لبنی تبدیل کرده است (وارنام، ۱۹۹٤). دریافت روزانه پروبیوتیک‌ها به‌طور مرتب در ایجاد اثرات مفید سلامت بخش آن‌ها ضروری است. دریافت $۱۰^{۸}$ تا $۱۰^{۹}$ باکتری زنده در هر گرم، به‌عنوان حداقل دریافت روزانه مطرح شده است که با مصرف روزانه ۱۰۰ گرم از یک محصول حاوی $۱۰^{٦}$ تا $۱۰^{۷}$ سلول زنده در هر گرم از ماده غذایی تأمین می‌شود (سارلاوهمکاران، ۲۰۰۰؛ گاردینرو همکاران، ۲۰۰۲). قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در شرایط نگهداری، از مهم ترین ویژگی آن‌ها است. بنابراین، باید شرایط لازم رابرای این منظور ایجاد نمود(وارگا و همکاران،۲۰۰۲). مهم‌ترین و مرسوم‌ترین پروبیوتیک‌ها، گونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به همراه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* است. برخی از خواص سلامتی بخش باکتری‌های پروبیوتیک عبارتند از: بهبود فلور میکروبی روده، کاهش سطح کلسترول خون، جلوگیری از یبوست و کاهش خطر ابتلا به سرطان (مرتضویان و همکاران، ۲۰۰۷).

در صنعت، هموژنیزاسیون شیر مورد استفاده در تولید ماست بسیار متداول است. هموژنیزاسیون، یک تیمار مکانیکی گویچه‌های چربی در شیر است که شیر را تحت فشار بالا از میان یک مجرای کوچک عبور می‌دهند و سبب کاهش قطر متوسط گویچه‌های چربی و کاهش تمایل گویچه‌های چربی به خامه‌ای شدن می‌شود. هموژنیزاسیون به‌صورت یک مرحله‌ای و دو مرحله‌ای قابل اجراست. گلبول‌های چربی در هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای، کوچک‌تر و متراکم می‌شوند و ویسکوزیته محصول نهایی را افزایش می‌دهند؛ ولی در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، گلبول‌های چربی به ذرات بسیار ریزی شکسته می‌شوند. در نتیجه، ویسکوزیته محصول کاهش می‌یابد (چاندن و کیلارا، ۲۰۱۱). مرحله دوم در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، افزایش دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر را موجب می‌شود (تامسون و همکاران، ۲۰۰۹). دلیل این که چرا کیفیت محصولات تخمیری در اثر هموژنیزاسیون افزایش می‌یابد هنوز مشخص نیست؛ ولی فرضیه‌های مختلفی وجود دارد که از جمله می‌توان به از هم گسیختگی

میسل‌های کازئین، انتقال کازئین به گلبول‌های چربی جدیدی که طی هموژنیزاسیون ایجاد شده‌اند و راه یافتن مواد درون غشای گلبول‌های چربی به داخل سرم اشاره کرد. هموژنیزاسیون فقط در صورتی مؤثر واقع می‌شود که در دماهایی که چربی به‌صورت مایع است انجام پذیرد. این فرایند معمولاً قبل از پاستوریزاسیون و در دمای ٦٠-٧٠ درجه سانتی‌گراد صورت می‌گیرد. اثر مشترک حرارت و فشار هنگام هموژنیزاسیون ممکن است باعث دناتوره شدن مقداری از پروتئین‌های سر می‌گردد؛ که نتیجه آن، بهبود ظاهر و قوام محصولات تخمیری است (چاندن و کیلارا، ۲۰۱۱). برای تولید ماست، معمولاً از هموژن کردن تک مرحله‌ای استفاده می‌شود؛ شیر را در فشار MPa ۲۰-۱۵ هموژنیزه کرده و برای کاهش بار میکروبی، آن رادر دمای ۷۰-٦٠ درجه سانتی‌گراد حرارت می‌دهند که باعث افزایش قوام و بهبود بافت ماست می‌شود (لوسی، ۲۰۰٤؛ سرا و همکاران، ۲۰۰۹؛ وارنام و همکاران، ۱۹۹٤).

شرایط مختلف هموژنیزاسیون با تأثیری مثبت بر رشد پروبیوتیک‌ها و افزایش زنده مانی آن‌ها طی نگهداری باعث ایجاد تغییرات قابل توجهی در پراکندگی و کوچک تر شدن گویچه‌های چربی، افزایش تعداد و سطح کل آن‌ها می‌شوند (کاپرا و همکاران،۲۰۰۹). در برخی از پژوهش‌ها به بررسی اثر استفاده از هموژنیزاسیون با فشار بالا بر زنده مانی پروبیوتیک‌ها پرداخته شده است؛ به‌طوری‌که گزارش شده است استفاده از هموژنیزاسیون با فشار بالا به جای پاستوریزاسیون می تواند قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را طی دوره نگهداری افزایش دهد (برنز و همکاران، ۲۰۰۸). همچنین، هموژنیزاسیون با فشار بسیار بالا باعث افزایش مقدار اسید لاکتیک می شود که این امر، به‌دلیل افزایش زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (سرا و همکاران، ۲۰۰۹). از طرف دیگر، با افزایش فشار هموژنیزاسیون، باکتریوفاژها (که یکی از مهم ترین عوامل مؤثر بر کاهش تعداد باکتری‌ها محسوب می‌شوند)، غیر فعال می‌شوند؛ در نتیجه، افزایش تعداد باکتری‌های زنده پروبیوتیک را در پی دارد (کاپرا و همکاران، ۲۰۰۹).

با توجه به این که زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات پروبیوتیک به‌ویژه ماست که محبوبیت بالایی دارد، از اهمیت خاصی برخوردار است، لزوم ایجاد شرایطی برای رسیدن به این مهم احساس می‌شود. ازسوی دیگر، هموژنیزاسیون یکی از مهم ترین مراحل در تولید ماست می‌باشد و هدف از این پژوهش نیز بررسی اثر تغییر شرایط هموژنیزاسیون (فشار و تعداد مراحل) بر زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک است. از آن رو که تاکنون بررسی بر روی اثر فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون انجام نشده است، نیاز به پژوهش بر روی این دو فاکتور، به‌طور هم زمان، احساس

می‌شد. لذا، در پژوهش حاضر، اثر افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون شیر کم چرب مورد استفاده در تولید ماست بر قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک طی نگهداری در سرما مورد بررسی قرارگرفت. امروزه، با افزایش سطح آگاهی جامعه، مصرف کنندگان تمایل به استفاده از غذایی سالم‌تر و مصرف مواد غذایی با چربی کمتر دارند، در این پژوهش، نیز هدف از استفاده شیر کم چرب، تولید ماست پروبیوتیک کم چرب است که علاوه بر دارا بودن خواص مفید و سلامت بخش پروبیوتیک‌ها و قابلیت زنده مانی بیشتر آن‌ها، رضایت مندی از مصرف مواد غذایی با چربی کمتر نیز حاصل شود.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: کشت منجمد شده تجاری DVS (شامل باکتری‌های پروبیوتیک آغازگر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb12 و باکتری‌های ماست *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و با نام تجاری ABY1 از شرکت کریستین هنسن، کشور دانمارک (تلقیح مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده یعنی 200U/1000L انجام پذیرفت)، و شیر خشک بدون چربی از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه تهران تهیه شد. محیط‌های کشت مورد نیاز جهت انجام آزمون میکروبی از نمایندگی شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

روش تهیه نمونه‌های ماست: شیر خام (تهیه شده از شرکت پگاه تهران با اسیدیته ١٦-١٤ درجه درنیک، pH ٦/٨-٦/٦ و ماده خشک بدون چربی ٨ درصد وزن به وزن) پس از استاندارد شدن چربی (١/٥درصد) و ماده خشک (١٠ درصد)، در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد پیش گرم شد و تحت هموژنیزاسیون قرار گرفت. لازم به ذکر است که بر اساس شرایط هموژنیزاسیون، ٦ تیمار به شرح زیر تعریف شدند (لازم به ذکر است فشار لازم در نوع یک مرحله‌ای طی یک مرحله اعمال شد؛ در حالی که، در نوع دو مرحله‌ای، فشار کل به دو بخش تقسیم گردید: در مرحله اول، ٧٠ درصد و در مرحله دوم، ٣٠ درصد کل فشار مورد نظر وارد آورده شد):

T١: هموژنیزاسیون تحت فشار١٠٠ بار و به صورت یک مرحله‌ای،

T٢: هموژنیزاسیون تحت فشار ١٠٠ بار و به صورت دو مرحله‌ای،

T٣: هموژنیزاسیون تحت فشار ١٥٠ بار و به صورت یک مرحله‌ای،

T٤: هموژنیزاسیون تحت فشار ١٥٠ بار و به صورت دو مرحله‌ای،

T٥: هموژنیزاسیون تحت فشار ٢٠٠ بار و به صورت یک مرحله‌ای،

T٦: هموژنیزاسیون تحت فشار ٢٠٠ بار و به صورت دو مرحله‌ای.

سپس تیمارها تحت فرآیند گرمایی (٨٥ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٣٠ دقیقه) قرار گرفتند و پس از سرد شدن نمونه‌ها تا دمای تلقیح (٤٢ درجه سانتی‌گراد)، استارتر مطابق با دستور شرکت سازنده تلقیح شد. در ادامه، گرمخانه گذاری در دمای ٤٢ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت و نمونه‌ها در pH ٤/٥±٠/٠٢ از گرمخانه خارج و سرد شدند. برای تعیین قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، از نمونه‌ها کشت میکروبی تهیه شد. شمارش باکتری‌های پروبیوتیک در روزهای ٠، ٧، ١٤ و ٢١ پس ازتولید طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام پذیرفت.

آزمون میکروبی:

شمارش اختصاصی پروبیوتیک‌ها: قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدباکتریوم لاکتیس*) با استفاده ازمحیط کشت MRS-bile آگار مطابق با روش مرتضویان و همکاران (٢٠٠٦) تعیین گردید. پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٧٢ ساعت گرمخانه گذاری شدند. شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی و گاز پک تیپ A ایجاد شد.

آزمون pH و اسیدیته: pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (مدل Mettler Toledo، کشور سازنده سوئیس) در روزهای ٠، ٧، ١٤ و ٢١ پس از تولید طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی ایران شماره ٢٨٥٢، ١٣٧١).

اسیدیته: اسیدیته قابل تیتر نمونه‌ها در روزهای ٠، ٧، ١٤ و ٢١ پس از تولید طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با تیتر کردن مولکول‌های اسید آلی در نمونه با سود ٠/١ نرمال و در حضور معرف فنل فتالئین اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی ایران شماره ٢٨٥٢،١٣٧١). سپس، با جای‌گذاری در رابطه زیر، به درجه دورنیک به‌دست آمد.

درصد اسیدیته قابل تیتر (برحسب اسید لاکتیک) = مقدار سود مصرفی به میلی‌لیتر× نرمالیته سود× میلی‌اکی والان گرم اسیدلاکتیک بخش بر مقدار نمونه به گرم

پذیرش‌کلی: پذیرش‌کلی توسط ٥ نفرارزیاب آموزش دیده و براساس روش هدونیک پنج نقطه‌ای انجام پذیرفت. پذیرش‌کلی مطابق با روش میلگارد و همکاران (١٩٩٩) و در سطوح ارزیابی یک تا پنج

(۱=غیرقابل مصرف یا خیلی ضعیف، ۲= غیرقابل قبول یا ضعیف، ۳= قابل قبول یا متوسط، ٤=رضایت بخش یا خوب، ۵=بسیار رضایت بخش یا خیلی خوب) ارزیابی شد.

روش آماری: برای آنالیز داده‌ها از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی استفاده شد. آزمایش دارای دو فاکتور فشار (در سه سطح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ بار) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون (در دو سطح یک و دو مرحله) می‌باشد. برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد، که در نهایت ۱۸ تیمار مورد بررسی قرار گرفت. 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 ۰/۰۵ استفاده گردید. تجزیه و تحلیل داده‌های مستخرج از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج اثر فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون بر قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد: بر اساس نتایج آماری (جداول ۱ و ۲)، قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* **در** نمونه‌ها در زمان نگهداری و مراحل مختلف هموژنیزاسیون، اختلاف آماری بسیارمعنی‌دار دارد (P<۰/۰۱). اثر فشارهای مختلف هموژنیزاسیون برقابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* **در** نمونه‌ها معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵).

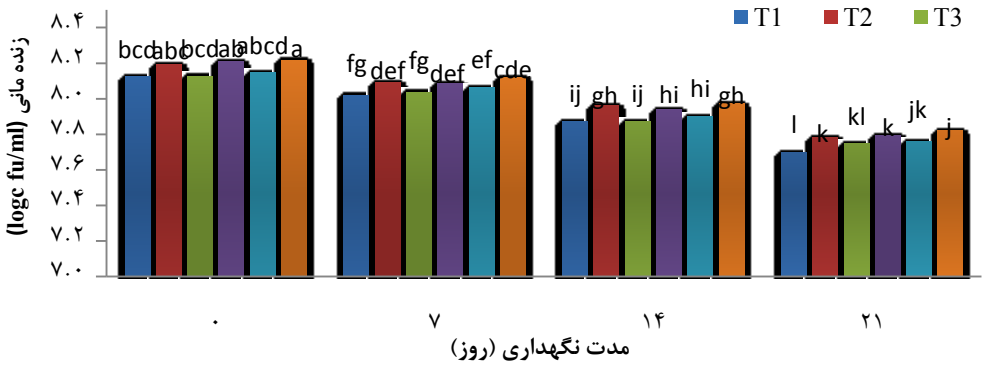
جدول ۱- تجزیه واریانس قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد

منابع تغییر	درجه‌آزادی	مجموع مربعات	میانگین‌مربعات	F	سطح احتمال
زمان	۳	۱/٦۰	۰/۵۳	۲۲۷/۱۰	<۰/۰۰۰۱
فشار	۲	۰/۰۲	۰/۰۱	٤۰/۳۹	۰/۰۱
مرحله	۱	۰/۰۷	۰/۰۷	۳۰/٤۷	<۰/۰۰۰۱
خطا	٤۸	۰/۱۱۲	۰/۰۰۲		
کل	۷۱	۱/۸۲			

جدول ٢- تجزیه واریانس قابلیت زنده مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
زمان	٣	٢/٤٧	٠/٨٢	٥٣٤/٦٩	<٠/٠٠٠١
فشار	٢	٠/٠٠٩	/٠٠٤	٣٩/٠٤	٠/٠٥
مرحله	١	٠/٠٧	٠/٠٧	٤٩/٦٦	<٠/٠٠٠١
خطا	٤٨	٠/٠٧٤	٠/٠٠١		
کل	٧١	٢/٦٤			

براساس شکل‌های ١ و ٢، بیشترین قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در تیمار T٦ مشاهده شد (P<٠/٠٥)؛ و کمترین قابلیت زنده مانی هم مربوط به تیمار T١ بود (P<٠/٠٥). نتایج، حاکی از افزایش زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون است.

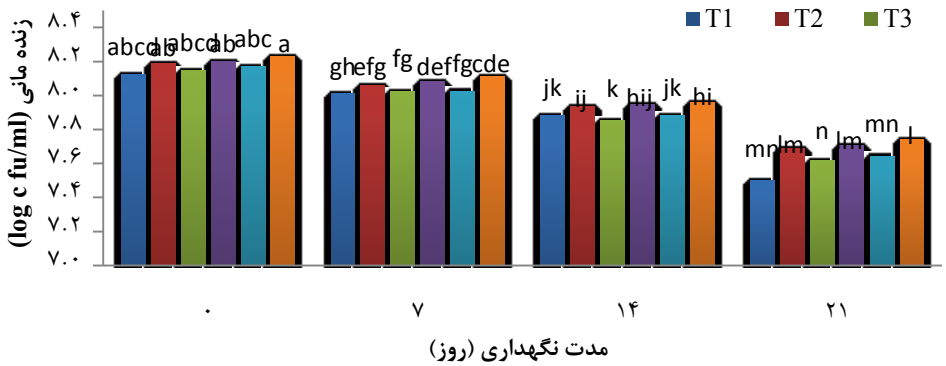


شکل ١- تغییرات زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (P< ٠/٠٥).

P= فشار هموژنیزاسیون؛ S= تعداد مراحل هموژنیزاسیون

T1: P=100, S=1; T2: P=100, S=2; T3: P=150, S=1; T4: P=150, S=2; T5: P=200, S=1; T6: P=200, S=2



شکل ۲-تغییرات زنده مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد.

حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (P< ۰/۰۵).

P= فشار هموژنیزاسیون؛ S= تعداد مراحل هموژنیزاسیون

T1: P=100, S=1; T2: P=100, S=2; T3: P=150, S=1; T4: P=150, S=2; T5: P=200, S=1; T6: P=200, S=2

نتایج اسیدیته و pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد: اسیدیته و pH نمونه‌ها طی نگهداری در سرما، اختلاف آماری بسیار معنی داری دارند (P<۰/۰۱). pH نمونه‌ها در فشارهای مختلف هموژنیزاسیون معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۵). اثر تعداد مراحل هموژنیزاسیون بر pH نمونه‌ها معنا دار نمی‌باشد (P>۰/۰۵). اثر فشارها و مراحل مختلف هموژنیزاسیون بر اسیدیته نمونه‌ها معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۵). افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون، باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته شده؛ به طوری که در نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T٦) قرار گرفت، کمترین pH و بیشترین اسیدیته و در نمونه‌ای که تحت کمترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T١) قرار گرفت، بیشترین pH و کمترین اسیدیته مشاهده شد (جداول ۳ و ٤).

جدول ۳- مقادیر pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد* (میانگین ± انحراف معیار)

روز / تیمار	۰	۷	۱۴	۲۱
T1	۴/۵۱±۰/۰۲^{a}	۴/۳۳±۰/۰۹^{b}	۴/۲۵±۰/۰۲^{c}	۴/۱۱±۰/۰۲^{e}
T2	۴/۵۰±۰/۰۰۵^{a}	۴/۳۵±۰/۰۴^{b}	۴/۲۳±۰/۰۲^{c}	۴/۱۱±۰/۰۱^{e}
T3	۴/۵۳±/۰۳^{a}	۴/۳۶±۰/۰۲^{b}	۴/۲۵±۰/۰۴^{c}	۴/۱۵±۰/۰۳^{de}
T4	۴/۵۱±۰/۰۲^{a}	۴/۳۷±۰/۰۳^{b}	۴/۲۴±۰/۰۲^{c}	۴/۱۵±۰/۰۱^{de}
T5	۴/۵۳±۰/۰۲^{a}	۴/۳۹±۰/۰۵^{b}	۴/۲۶±۰/۰۲^{c}	۴/۱۷±۰/۰۱^{d}
T6	۴/۵۲±۰/۰۳^{a}	۴/۳۸±۰/۰۲^{b}	۴/۲۳±۰/۰۲^{c}	۴/۱۲±۰/۰۲^{de}

* حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

جدول ٤- مقادیر اسیدیته (درجه دورنیک) نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد* (میانگین ± انحراف معیار)

روز / تیمار	۰	۷	۱۴	۲۱
T1	۸۱/۰۰±۱/۰۰^{f}	۹۰/۳۳±۰/۵۷^{e}	۱۰۰/۰۰±۱/۰۰^{d}	۱۱۲/۳۳±۳/۲۱^{bc}
T2	۸۰/۶۶±۰/۵۷^{f}	۹۱/۶۶±۰/۵۷^{e}	۱۰۱/۳۳±۱/۱۵^{d}	۱۱۲/۶۶±۳/۷۸^{bc}
T3	۸۱/۳۳±۱/۱۵^{f}	۹۱/۰۰±۰/۰۰^{e}	۱۰۱/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۱۰/۶۶±۱/۱۵^{c}
T4	۸۱/۶۶±۱/۱۵^{f}	۹۰/۶۶±۱/۱۵^{e}	۱۰۱/۳۳±۰/۵۷^{d}	۱۱۲/۰۰±۰/۰۰^{bc}
T5	۸۱/۶۶±۱/۵۲^{f}	۹۰/۳۳±۳/۰۵^{e}	۱۰۰/۶۶±۱/۵۲^{d}	۱۱۴/۳۳±۰/۵۷^{ab}
T6	۸۲/۳۳±۱/۱۵^{f}	۹۲/۰۰±۲/۰۰^{e}	۱۰۱/۶۶±۱/۵۲^{d}	۱۱۵/۳۳±۱/۵۲^{a}

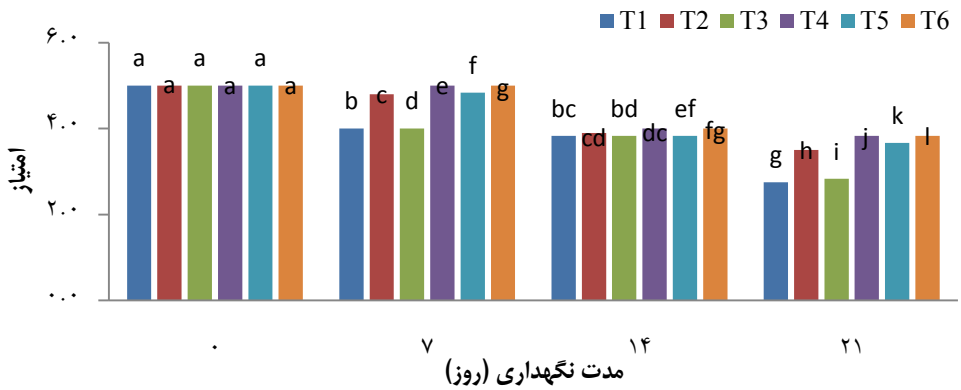
* حروف لاتین متفاوت نشان‌دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (P< ۰/۰۵).

نتایج اثر فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون بر پذیرش کلی نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد: بر اساس نتایج آماری (جدول ۵)، پذیرش‌کلی نمونه‌ها در زمان نگهداری، فشار و مراحل هموژنیزاسیون، اختلاف آماری بسیار معنی‌دار دارد (P< ۰/۰۱) بر اساس

شکل ۳، نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T6) قرار گرفته بود، بیشترین امتیاز را در پذیرش کلی به‌دست آورد؛ و کمترین امتیاز به نمونه‌ای که تحت کمترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T1) قرار گرفته بود، اختصاص یافت.

جدول ۵- تجزیه واریانس پذیرش کلی نمونه‌های ماست پروبیوتیک (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد.

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	سطح احتمال
زمان	۳	۵۱/٤٦	۱۷/۱۵	۹۷/٤۷	<۰۰۰۱/
فشار	۲	۱/۳۸	۰/٦۹	۱۲/۰٤	<۰۰۰۱/
مرحله	۱	۵/۸٤	۵/۸٤	۸۱/۲۷	<۰۰۰۱/
خطا	۱۱۵	٦/٦۳	۰/۰۵		
کل	۱٤۳	۷۷/٤۹			



شکل ۳- تغییرات پذیرش کلی نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب (متأثر از متفاوت بودن فشار و مراحل هموژنیزاسیون شیر) طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد.

حروف لاتین متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن میانگین تیمارها می‌باشد (P< ۰/۰۵).

P= فشار هموژنیزاسیون؛ S= تعداد مراحل هموژنیزاسیون

T1: P=100, S=1; T2: P=100, S=2; T3: P=150, S=1; T4: P=150, S=2; T5: P=200, S=1; T6: P=200, S=2

بحث

بررسی نتایج اثر فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون بر قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد: در این پژوهش، با افزایش زمان ماندگاری از تعداد باکتری‌های پروبیوتیک کاسته شد. بنابر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (٢٠٠٦)، سبسی و همکاران (٢٠٠٣) و گروس و همکاران (٢٠٠٤)، در ارتباط با فرآورده‌های تخمیری مانند ماست، pH پائین و اسیدیته بالای فرآورده سبب کاهش زنده مانی پروبیوتیک‌ها طی تخمیر و نگهداری در یخچال می‌شوند. مطابق با نتیجه حاضر، سبسی و همکاران (٢٠٠٣) و گروس و همکاران (٢٠٠٤) بیان کردند که میزان افت بیفیدوباکتریوم‌ها در مقایسه با لاکتوباسیلوس‌ها بیشتر است. شاه (٢٠٠٠) نیز تأیید نمود که اثر بازدارندگی pHهای پائین بر بیفیدوباکتریوم‌ها بیشتر از لاکتوباسیلوس‌ها است. سرا و همکاران (٢٠٠٩)، گزارش کردند که کاهش pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی زمان نگهداری از عوامل مؤثر بر کاهش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشند. همچنین، سارلا و همکاران (٢٠٠٠) ضمن تحقیق بر روی ماست پروبیوتیک، گزارش کردند که اسیدیته فرآورده نه تنها در شرایط برون زیست (در فرآورده) بر قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها اثر منفی دارد بلکه در شرایط درون زیست نیز مرگ آن‌ها را افزایش می‌دهد، زیرا وقتی فراورده تخمیری به معده می رسد pH پائین معده موجب افزایش مقدار اسیدلاکتیک تفکیک نشده می‌شود. بنابر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (٢٠٠٦)، pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد (یخچال)، کاهش و اسیدیته افزایش یافت؛ آن‌ها گزارش کردند که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از طریق تولید اسید لاکتیک و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با تولید اسیداستیک باعث کاهش pH در ماست می شوند. نتایج پژوهش مطالعه حاضر نیز مطابق با پژوهش‌های ذکر شده می‌باشند؛ به‌طوری‌که با افزایش زمان انبارداری، pH نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در ٤ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت ($P<0/01$؛ جداول ٣ و ٤)؛ همچنین، قابلیت زنده مانی پروبیوتیک‌ها کمتر شد و این کاهش در ارتباط با قابلیت زنده مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بیشتر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود.

در این پژوهش، بیشترین مقدار زنده مانی هر دو باکتری پروبیوتیک در نمونه (T٦)، و کمترین مقدار زنده‌مانی در نمونه (T١) مشاهده شد. بیشترین مقدار زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (از

۸/۲۲ به ۷/۸۲ logcfu/ml) در نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T٦) قرار گرفته بود، و کمترین مقدار زنده‌مانی (از ۸/۱۲ به ۷/۷۰ logcfu/ml) این باکتری در نمونه‌ای که تحت کمترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T۱) قرار گرفته بود، مشاهده شد. بیشترین مقدار زنده مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (از ۸/۲۳ به ۷/۷٤ logcfu/ml) در نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای (T٦) قرار گرفته بود، و کمترین مقدار زنده‌مانی (از ۸/۱۲ به ۷/۵۰ logcfu/ml) در نمونه‌ای که تحت کمترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای (T۱) قرار گرفته بود، مشاهده گردید. بر اساس مطالعات پاتریگنانی و همکاران (۲۰۰۷) و برنز و همکاران (۲۰۰۸)، هموژنیزاسیون با فشار ۱۰۰-٦۰Mpa سبب افزایش رشد پروبیوتیک‌ها طی تخمیر و کاهش افت آن‌ها در ماست پروبیوتیک طی نگهداری در یخچال می‌شود. طبق تحقیقات مرتضویان و همکاران (۲۰۰٦)، نقصان فعالیت پروتئین کافتی پروبیوتیک‌ها موجب می‌شود که آن‌ها قادر نباشند با شکستن پروتئین‌های شیر، پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد را فراهم کنند. بر اساس مطالعات پاتریگنانی و همکاران (۲۰۰۷)، افزایش فشار (۱۰۰-٦۰Mpa) با شکستن گویچه‌های چربی و پروتئین‌ها موجب تشکیل پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد می‌شود که این ترکیبات به‌عنوان ترکیبات مغذی مورد نیاز برای رشد پروبیوتیک‌ها، به راحتی در دسترس این باکتری‌ها قرار می‌گیرند و در نتیجه، باعث رشد و فعالیت بهتر و افزایش قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شوند. طی هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای، گلبول‌های چربی و پروتئین‌ها به ذرات بسیار ریزی شکسته می‌شوند (چاندن و کیلارا، ۲۰۱۱). در نتیجه، به راحتی در اختیار باکتری‌های پروبیوتیک به‌عنوان مواد تغذیه‌ای قرار می‌گیرند و باعث رشد و فعالیت بهتر و افزایش قابلیت زنده مانی پروبیوتیک‌ها می‌شوند. در این پژوهش نیز با افزایش فشار (از ۱۰۰ به ۲۰۰ بار) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون (از یک مرحله به دو مرحله)، با افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی (مانند پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد) مورد نیاز پروبیوتیک‌ها، قابلیت زنده مانی آن‌ها افزایش یافت. علاوه بر این، مطابق با تحقیقات کاپرا و همکاران (۲۰۰۹)، با افزایش فشار (>۱۰۰Mpa)، باکتریوفاژها که یکی از مهم‌ترین عوامل در کاهش تعداد باکتری‌ها هستند، غیر فعال می‌شوند. این امر به‌دلیل شکسته شدن و متلاشی شدن باکتریوفاژها در اثر افزایش فشار است که به نوبه خود به افزایش تعداد باکتری‌های زنده پروبیوتیک می‌انجامد.

بررسی نتایج اثر فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون بر پذیرش کلی نمونه‌های ماست پروبیوتیک کم چرب طی نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد: مطابق با مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (٢٠٠٦)، مناسب‌ترین و مرسوم‌ترین شیوه بهبود خواص حسی فرآورده‌های تخمیری پروبیوتیک به خصوص ماست، هم کشت کردن باکتری‌های سنتی ماست با پروبیوتیک‌ها است که در این پژوهش نیز از باکتری‌های سنتی ماست به همراه پروبیوتیک‌ها استفاده شد. مطابق مطالعه انجام شده توسط وارنام و همکاران (١٩٩٤)، ماست پروبیوتیک، طعم ملایم‌تر و ثبات طعم بیشتری در مقایسه با ماست سنتی طی نگهداری در یخچال دارد؛ همچنین، آن‌ها بهبود بافت و قوام ماست را در اثر هموژنیزاسیون تأیید کردند. رابینسون و همکاران (١٩٩٠) اعلام کردند که بیفیدوباکتریوم‌ها طعم ملایم و دلپذیری به ماست پروبیوتیک می بخشند. بر اساس تحقیقات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (٢٠٠٧)، هموژن کردن با افزایش سطح کل چربی باعث تثبیت مواد رایحه‌دار بر سطوح ذرات چربی شده و در حفظ بو و طعم فرآورده مؤثر است. تمیم (١٩٩٩)، هموژن کردن را به‌دلیل شکستن گویچه‌های چربی، توزیع یکنواخت چربی و ممانعت از جداشدن آن در بهبود خواص ظاهری ماست مؤثر دانستند. مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (٢٠٠٦) نشان داد خرد شدن گویچه‌های چربی در اثر هموژنیزاسیون، سطح کلی چربی را افزایش می دهد که نتیجه آن، بازتاب بیشتر نور و سفیدتر شدن رنگ ماست است. طبق مطالعات دآنکوس وهمکاران (٢٠٠٠)، نتیجه هموژنیزاسیون با فشار بالا (١٠٠Mpa<)، تولید ماستی با ظاهر مناسب است؛ همچنین، اثر مطلوب آن بر طعم ماست گزارش شد. به‌طورکلی با گذشت زمان و به‌دلیل افزایش اسیدیته و کاهش pH، پذیرش کلی که در این پژوهش به‌عنوان شاخص نهایی ویژگی‌های حسی در نظرگرفته شده و توسط یک تیم متشکل از ارزیابان حرفه‌ای ارزیابی شده است، اندکی کاهش یافت.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش، فرض اینکه افزایش فشار و تعداد مراحل هموژنیزاسیون می تواند موجبات افزایش قابلیت زنده مانی پروبیوتیک‌ها را فراهم آورد، حمایت می‌کند. در پژوهش حاضر، با افزایش فشار (از ١٠٠ به ٢٠٠ بار) و تعداد مراحل هموژنیزاسیون (از یک مرحله به دو مرحله)، قابلیت زنده مانی پروبیوتیک‌ها (لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم) افزایش یافت و بیشترین قابلیت زنده مانی هر دو باکتری پروبیوتیک در هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای با فشار ٢٠٠ بار مشاهده شد. این نتیجه، از آن رو که

قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک را طی نگهداری ماست در حد مطلـوبی حفـظ مـی‌نمایـد، در تولید صنعتی این فرآورده حائز اهمیت است. بر اساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، نمونه‌ای که تحت بیشترین فشار و هموژنیزاسیون دو مرحله‌ای T٦ قرار گرفته بود، بیشـترین امتیـاز را در پـذیرش کلی به دست آورد و نمونه‌ای که تحت کمترین فشار و هموژنیزاسیون یک مرحله‌ای T١ قـرار گرفتـه بود، کمترین امتیاز را کسب کرد. بنابراین، تیمـار T٦ (بـه‌دلیـل دارا بـودن بیشـترین میـزان زنـده مـانی باکتری‌های پروبیوتیک و بالاترین امتیاز پذیرش‌کلـی) بـه‌عنـوان تیمـار برتـر در ایـن پـژوهش معرفـی می‌شود.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مراتب تشکر و سپاس خود را از شرکت شیر پاسـتوریزه پگـاه تهـران بـه‌دلیـل در اختیار قرار دادن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش اعلام می‌دارند.

منابع

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

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

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

4. Chandan, R.C., and Arun Kilara, A. 2011. Dairy Ingredients for Food Processing. Blackwell, 2512p.

De Ancos, B., Pilar, M., and Gomes, R. 2000. Effect of high pressure treatment on the composition and properties of dairy products. Journal of Food Chemistry, 48:3542-3548.

Gardiner, G., Ross, R.P., Kelly, P.M., Stanton, C., Collins, K., and Fitzgerald, G. 2002. Microbiology of therapeutic milks. In: Handbook of Dairy Microbiology. Robinson, R.K. John Wiley and Sons, New York. 35-44.

Gross, M.L., Ganner, A., and Teilab, D. 2004. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*–associated diarrhea with high

morbidity and mortality.International Journal of Immunology and Medical Microbiology, 24:47-50.

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

Mortazavian, A.M., and Sohrabvandi, S. 2007. Probiotics and Probiotic Food Products, Tehran: Ata Publishing. 483.

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

Patrignani, F., Iucci, L., Lanciotti, R., Vallicelli, M., Maina Mathara, J., Holzapfel, W.H., and 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 Pro biotic fermented milk. American Dairy Science Association, 14:28-32.

Robinson, P.K. 1990. The Microbiological quality of Milk and Milk products. Dairy Micro biology, 53:15-22.

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

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

Sarrela, M., Mogensen, G., Fonden, R., and Sandholm, T.M. 2000. Probiotic bacteria safety, functional properties. Journal of Biotechnology, 84:197-215.

Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 1999. Yoghurt Science and Technology. Wood head publishing and CRC Press. 338-341.

Thompson, A., Boland, M., and Harjinder, S. 2009. Milk proteins.Food science and Technology, 533p.

Varga L., Szigeti J., Kovacs R., Foldes T., Buti S. 2002. Influence of a spirulina platensis biomass on the microflora of fermented ABT milks during storage. International Journal of Dairy science, 85:1031-1038.

Varnam, A.H., Sutherl and J.P. 1994. Milk and Milk Products. Chapman and Hall, London, pp.347-380.

EJFPP, Vol. 6 (1): 37-52
http://ejfpp.gau.ac.ir

The effect of homogenization pressure and stages on viability of probiotic bacteria and overall acceptability of low-fat probiotic yoghurt

R. Masoud[1], V. Fadaei Noghani[2*] and K. Khosravi-Darani[3]

[1]Graduated from Department of Food Science & Technology, Agricultural Faculty, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, [2]Assistant professor of Department of Food Science & Technology, Agricultural Faculty, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad university, Tehran, Iran, [3]Associate Professor (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Abstract

Nowadays, the usage of probiotic products especially yoghurt due to having wonderful and health properties has become popular in the world. In this study, the effect of homogenization pressures (100, 150 and 200 bar) and stages (1 and 2) on viability of probiotic bacteria and sensory properties was investigated. The milk used for producing yoghurt samples was preheated at 60 ºC and homogenized at 100, 150 and 200 bar; then, heated at 85°C for 30 minutes. After cooling milk up to fermentation temperature (42ºC), it was inoculated with mixture starter culture ABY1 and incubated. During fermentation, pH dropped until it reached 4.5. After fermentation, prepared yoghurt samples were held in refrigerator. Viability of probiotic bacteria and overall acceptability was determined during a 21-days cold storage (4ºC). With increasing pressure and stages of homogenization during storage, viability of probiotic bacteria increased ($P<0.05$). Also, the overall acceptability of the samples improved with increasing the pressure and stages of homogenization ($P<0.01$). The result of this study showed that with changing homogenization conditions, the viability of probiotic bacteria could be increased.

Keywords: Probiotic yoghurt, homogenization pressure, the number of homogenization stages, probiotic viability, overall acceptability.

*Corresponding author; vn.fadaei@gmail.com