

## بررسی اثرات مشترک نوع باکتری آغازگر، دمای گرم‌خانه‌گذاری و pH نهایی تخمیر بر شاخص‌های میکروبی، بیوشیمیایی و حسیدوغ پروبیوتیک

زهره دلشادیان<sup>۱</sup> (Ph.D Student)، رضا محمدی<sup>۱</sup> (Ph.D Student)، سعیده چله‌دوان<sup>۲</sup> (M.Sc)، مهدی شادنوش<sup>۳،۵</sup> (Ph.D)، الهه احمدی<sup>۴</sup> (Ph.D Student)، سید امیر محمد مرتضویان<sup>۳\*</sup> (Ph.D)

- ۱- کمیته پژوهشی دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۲- گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۳- گروه تغذیه بالینی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۴- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات، تهران، ایران
- ۵- گروه تغذیه بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان، سمنان، ایران

### چکیده

سابقه و هدف: قابلیت زیست‌پروبیوتیک‌ها در محصول نهایی مشخصه‌ی مهم کیفی دوغ است که تحت تاثیر عوامل زیادی از قبیل نوع کشت آغازگر، pH، اسیدیته، پتانسیل احیا، دمای گرم‌خانه‌گذاری، دمای نگه‌داری بیخچالی و زمان نگه‌داری بیخچالی قرار می‌گیرد. در این تحقیق، اثر مشترک سه عامل با اهمیت نوع کشت آغازگر، دمای گرم‌خانه‌گذاری و pH نهایی تخمیر بر قابلیت زیستی دو گونه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و هم‌چنین خواص بیوشیمیایی و ویژگی‌های حسی این محصول مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تیمارهای مختلف دوغ پروبیوتیک توسط تلقیح استارتر معمول ماست به همراه هر دو سوش پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس LA-5* و *لاکتیس BB-12* به شیر بازسازی شده دارای ۶٪ ماده خشک و گرم‌خانه‌گذاری در دو دمای ۳۸°C و ۴۴°C تا رسیدن به pH ۴/۰ و ۴/۵ تهیه شدند و در دمای بیخچالی ۴°C و ۸°C به مدت ۲۱ روز نگه‌داری شدند. شمارش پروبیوتیک‌ها و اندازه‌گیری خواص بیوشیمیایی در حین تخمیر و نگه‌داری بیخچالی انجام شد. ویژگی‌های حسی نمونه‌ها بلافاصله پس از تخمیر و در پایان نگه‌داری بیخچالی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: بیش‌ترین سرعت‌های افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا و کم‌ترین مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری در تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای ۴۴°C و با pH نهایی ۴/۵ مشاهده شد. در میان تیمارهای گزینش شده از نظر مقبولیت طعم، تیمار ۳۸-۴/۵-ABY3 بالاترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک را در هر دودمای ۴°C و ۸°C نشان داد. پس از ۲۱ روز نگه‌داری بیخچالی تیمار ۳۸°C-۴/۰-ABY1 و ۳۸°C-۴/۰-ABY2 به ترتیب بالاترین و کم‌ترین نمرات پذیرش کلی را کسب نمودند.

نتیجه‌گیری: تمامی متغیرهای این تحقیق به طور معناداری بر شاخص‌های کیفی دوغ پروبیوتیک تاثیرگذار بودند. گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۸°C با وجود افزایش زمان تخمیر و هم‌چنین خاتمه تخمیر در pH=۴/۵ هر یک به طور جداگانه منجر به قابلیت زیستی بالای پروبیوتیک‌ها شدند، هرچند که خاتمه تخمیر در pH=۴ ارزیابی حسی بهتری را منجر می‌شد.

واژه‌های کلیدی: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، پروبیوتیک

### مقدمه

زنده‌ها اطلاع داشته باشد شروع شد و امروزه، مقبولیت و مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک در کشورهای جهان به ویژه اروپا، ایالات متحده و ژاپن رواج چشم‌گیر یافته است،

استفاده از ریززنده‌های مفید برای تولید شیرهای تخمیر یاز قرن‌ها پیش، بدون آن‌که انسان از نقش و حضور این ریز

مشکل است، زیرا عوامل یاد شده سبب افت شدید قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک طی تخمیر و نگهداری بیخچالی می‌شوند [۱۲]. دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ویژه ایران با مقبولیت و مصرف سرانه بالا و حاصل تخمیر لاکتیکی شیر است، که ماده خشک آن از طریق رقیق کردن ماست (پس از تخمیر) یا شیر دوغ‌سازی (پیش از تخمیر) استاندارد شده باشد [۱۳]. از آن رو که دوغ فراورده‌ای با خاستگاه ایرانی است، و پژوهش‌های مرتبط با آن در سایر کشورها انجام نشده است، بهینه‌سازی تولید صنعتی دوغ پروبیوتیک از نقطه نظرات قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و خواص ارگانولپتیک فراورده نهایی از راه بررسی اثرات عوامل گوناگون فرمول‌بندی و فرایند اهمیت به سزا دارد.

در مطالعات انجام شده، تا کنون اثرات متقابل سه عامل با اهمیت نوع کشت آغازگر، دمای تخمیر و pH نهایی تخمیر مورد بررسی قرار نگرفته است و فقط اثرات منفرد آن‌ها به طور محدود مورد پژوهش بوده است. بنابراین هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات مشترک و متقابل سه عامل مذکور بر قابلیت زیستی و خواص حسی دوغ پروبیوتیک می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها. شیر دوغ‌سازی از راه بازسازی پودر شیر بدون چربی (۶٪ ماده خشک) ساخته شد و مورد فرایند گرمایی  $90^{\circ}\text{C}$  (به مدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفت و سپس تا دمای تلقیح سرد شد. در این پژوهش کشت‌های آغازگر-ABY-1، 2-ABY و 3-ABY که هر یک شامل مخلوطی ازل. اسیدوفیلوس LA-5، بیفیدوباکتریوم لاکتیس BB-12 و باکتری‌های سنتی ماست (Y) بودند، از شرکت کریستسن هانسن (Chr-Hansen) دانمارک تهیه شدند و مورد استفاده قرار گرفتند. در ادامه، نمونه‌ها در دو دمای  $38^{\circ}\text{C}$  و  $44^{\circ}\text{C}$  گرم‌خانه‌گذاری شدند و تخمیر تا رسیدن به دو pH  $4/5$  و  $4/0$  انجام گرفت. سپس نمونه‌ها از گرم‌خانه خارج و طی دو مرحله سرد شدند (ابتدا به سرعت تا  $15^{\circ}\text{C}$  و سپس تا  $5^{\circ}\text{C}$ ).

طوری‌که بیش از ۹۰ فراورده غذایی پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) و بیفیدوباکتریوم‌ها (*Bifidobacteria*) در سرتاسر جهان تولید می‌شود [۱، ۲، ۳]. از جمله سازوکارهای مثبت پروبیوتیک‌ها می‌توان به تولید مواد ضد میکروبی مثل انواع باکتریوسین‌ها، رقابت با عوامل بیماری‌زا بر سر اشغال گیرنده‌های سلولی میزبان و مواد غذایی موجود، تغییر در گیرنده‌های ویژه عوامل بیماری‌زا در سطح سلول‌های میزبان و کاهش pH محیط اشاره کرد. از جهات دیگر این عوامل در کمک به جذب مواد غذایی، ساخت ویتامین‌ها، خاصیت ضد سرطانی، بهبود عارضه عدم تحمل لاکتوز و کاهش کلسترول خون برای میزبان اهمیت حیاتی دارند [۳-۶]. در تمامی فراورده‌های پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از فراورده در لحظه مصرف، ارزش اساسی فراورده‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود. از این رو، این شاخص تعیین‌کننده کارایی دارویی این محصولات است و باید به اندازه کافی بالا باشد (حداقل ml یا  $10^7$  cfu/gr در فراورده نهایی) تا پس از مصرف، با توجه به نوع فراورده، تعداد کافی سلول‌های زنده پروبیوتیک به محیط روده راه یابند [۳، ۷-۹]. به طور کلی در فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک، عوامل گوناگونی از قبیل نوع کشت آغازگر (Starter culture)، pH و اسیدیته، پتانسیل احیا و غلظت اکسیژن محلول در فراورده، دمای گرم‌خانه‌گذاری، دمای نگهداری بیخچالی و زمان نگهداری بیخچالی قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۷، ۱۰، ۱۱]. در این میان نوع کشت آغازگر، دمای تخمیر و pH نهایی تخمیر فراوان دارند. اسیدیته بالا و pH پایین منجر به کاهش بقای پروبیوتیک‌ها در شرایط برون زیست (*In vitro*) و درون زیست (*In vivo*) می‌شوند. اثر کشندگی اسیدهای آلی اساساً به pH محیط و نوع باکتری وابسته است. بالا بودن اسیدیته موجب افزایش پتانسیل احیای آورده می‌شود و به دنبال آن، پتانسیل احیای بالا قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها را کاهش می‌دهد [۱۰، ۱۱]. تولید صنعتی دوغ پروبیوتیک به دلیل pH پائین ( $4/5$  -  $3/5$ ) بسیار

سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا = (پتانسیل احیا نهایی - پتانسیل احیا اولیه) / زمان  
 تعیین مقدار اسید استیک و اسید لاکتیک: درصد اسید استیک و اسید لاکتیک نمونه‌ها با استفاده از دستگاه HPLC طبق روش شرح داده شده توسط Akalin و همکاران (۲۰۰۴) اندازه‌گیری شد [۱۷]. بدین منظور از دستگاه HPLC و آشکارساز فرابنفش با طول موج ۲۱۰ نانومتر مورد استفاده قرار گرفت. ستون مورد استفاده از نوع NUCLEOSIL® C18 5-100 بود.

آزمون‌های میکروبی. شمارش زنده پروبیوتیک‌ها: شمارش سلول‌های زنده باکتری‌های (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 و بیفیدباکتریوم لاکتیس Bb-12) با استفاده از محیط کشت MRS آگار (شرکت Merck، آلمان) مطابق با روش مرتضویان و همکاران (۲۰۰۷) با عنوان Subtractive enumeration method (SEM) گرم‌خانه‌گذاری در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای ۳۷°C به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. شرایط بی‌هوازی با به کارگیری جار بی‌هوازی و گازیک تیپ A ایجاد شد [۱۸].

ارزیابی حسی. در مرحله اول، پس از تخمیر، با استفاده از روش مقایسه دوتایی (Paired comparison) میان تیمارهای حاوی یک نوع از باکتری‌های آغازگر مورد استفاده (ABY1، ABY2، ABY3) با دو pH نهایی (۴/۵ - ۴/۰) در دو دمای گرم‌خانه‌گذاری (۳۷°C و ۴۴°C) گزینش تیمارها انجام شد و در مرحله بعد، در پایان دوره نگاه‌داری، با استفاده از روش امتیازدهی (Scoring)، ویژگی‌های حسی تیمارهای گزینش شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای این منظور از ۱۲ نفر ارزیاب آموزش‌دیده Trained consumer panelists استفاده شد. بر اساس استاندارد ملی ایران، ویژگی‌های حسی دوغ شامل طعم، بافت، احساس دهانی و ظاهر مورد ارزیابی قرار گرفتند. امتیازدهی به شیوه مقیاس پنج‌نقطه‌ای شامل غیر قابل مصرف = ۰، غیر قابل قبول = ۱، قابل قبول = ۲، مطلوب = ۳ و عالی = ۴ بوده است. ضرایب ۶ برای طعم، ۵/۵ برای

شاخص‌های آزمایشی pH، اسیدیته و پتانسیل احیا هر نیم ساعت در حین تخمیر و بلافاصله پس از آن مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. در پایان تخمیر، برای تعیین قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، طبق استاندارد ملی شماره ۱۱۳۲۵ [۱۴] از نمونه‌ها کشت میکروبی تهیه و در نهایت ارزیابی حسی انجام شد. تیمارهای بهینه از نظر قابلیت زیستی و ارزیابی حسی انتخاب و به مدت ۲۱ روز در دو دمای ۸°C و ۴°C نگاه‌داری شدند. آزمون‌های بیوشیمیایی قابلیت زیستی در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ اندازه‌گیری شدند و خواص حسی نمونه‌ها نیز در پایان دوره نگاه‌داری مجدداً مورد ارزیابی قرار گرفت.

شاخص‌های بیوشیمیایی. اندازه‌گیری pH: pH نمونه‌ها طی تخمیر و پس از پایان آن و همچنین طی نگاه‌داری خجالی با استفاده از pH متر اندازه‌گیری شد. پیش از اندازه‌گیری pH، pH متر توسط بافرهای استاندارد pH ۷ و pH ۴ کالیبره شد. شاخص متوسط سرعت افت pH بر حسب pH بر دقیقه برای تیمارها طی تخمیر از رابطه زیر محاسبه شد [۱۵].

سرعت متوسط افت (pH = pH نهایی - pH اولیه) / زمان  
 اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیترو: برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه به همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ارلن مایر ریخته شد و با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالین تیترو شد. مقدار این شاخص بر حسب درجه دُرینیک محاسبه شد [۱۶].

اسیدیته قابل تیترو = حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر) × ۹  
 سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیترو در نمونه‌ها بر حسب درجه دورینیک بر دقیقه طی تخمیر از رابطه زیر به دست آمد [۱۶]:

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیترو = (اسیدیته قابل تیترو نهایی - اسیدیته قابل تیترو اولیه) / زمان  
 اندازه‌گیری پتانسیل احیا: پتانسیل احیا در نمونه‌ها با استفاده از pH متر مجهز به الکتروود پلاتین اندازه‌گیری پتانسیل احیا و بر حسب میلی‌ولت اندازه‌گیری شد. سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا در نمونه‌ها طی تخمیر بر حسب میلی‌ولت بر دقیقه از رابطه زیر محاسبه شد [۱۶]:

( $p < 0.05$ ) پایین‌تر این شاخص‌ها به تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  و دارای pH نهایی ۴/۰ مربوطه هستند. این روند در رابطه با شاخص سرعت افزایش پتانسیل احیا نیز صدق می‌کند.

تغییرات بیوشیمیایی تیمارها طی دوره نگاه‌داری یخچالی. جدول ۳ نشان‌دهنده میانگین سرعت‌های کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیای تیمارهای بهینه، هم‌راه با pH و اسیدیته نهایی آن‌ها در سرتاسر ۲۱ روز دوره نگاه‌داری یخچالی است.

مطابق با یافته‌های موجود در جدول ۳، تیمار  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY1- نگاه‌داری شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بالاترین سرعت افت pH و تیمارهای  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY1 و  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY2- نگاه‌داری شده در دمای  $8^{\circ}\text{C}$  پایین‌ترین سرعت افت pH را نشان دادند. مقایسه سرعت‌های افت pH در تمامی تیمارها نشان داد که سرعت افت pH در تیمارهای نگاه‌داری شده در دمایی یخچالی  $4^{\circ}\text{C}$  به طور قابل ملاحظه‌ای بیش‌تر از تیمارهای نگاه‌داری شده در دمایی یخچالی  $8^{\circ}\text{C}$  است. بیش‌ترین و کم‌ترین سرعت افزایش اسیدیته قابل تیترا به ترتیب در تیمار  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY1 و  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY3- (نگاه‌داری شده در دمای  $8^{\circ}\text{C}$ ) مشاهده شد. همچنین دو تیمار ذکر شده به ترتیب دارای بیش‌ترین و کم‌ترین سرعت‌های افزایش پتانسیل احیا نیز هستند.

قابلیت زیستی. شمارش زنده پروبیوتیک‌ها پس از تخمیر: جدول ۴ قابلیت زیستی و ضریب نسبت رشد GPI پروبیوتیک‌ها پس از پایان تخمیر را نشان می‌دهد.

همان‌گونه که از داده‌های جدول ۴ برمی‌آید قابلیت زیستی هردو باکتری پروبیوتیک (ل. اسیدوفیلوس La-5 و ب. لاکتیس Bb-12) در تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  با pH نهایی  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY-3،  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY-4،  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY-1 و  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY-2) به طور معنادار بیش‌تر از تیمارهای تخمیر شده در دمای  $44^{\circ}\text{C}$  با pH نهایی  $4/0$  است.

احساس دهانی و ۲ برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد [۱۹].

آنالیز آماری. تمامی نمونه‌ها در سه تکرار تولید شدند و مورد آزمون قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تیمارها (یافتن اختلاف معنادار میانگین تیمارها) با استفاده از آزمون ANOVA در نرم‌افزار Minitab انجام گردید. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

## نتایج

شاخص‌های بیوشیمیایی. تغییرات بیوشیمیایی تیمارها طی تخمیر: جدول ۱ نشانگر میانگین سرعت متوسط افت pH، سرعت متوسط افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا، و جدول ۲ نشانگر مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری، اسیدیته قابل تیترا نهایی، پتانسیل احیای نهایی و مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک در تیمارهای مختلف طی این دوره است.

همان‌طور که در جدول ۱ دیده می‌شود بیش‌ترین میانگین سرعت افت (pH  $0.09/0$  واحد pH بر دقیقه) مربوط به تیمار  $4/5 - 44^{\circ}\text{C}$  ABY1- کم‌ترین آن ( $0.04/0$  واحد pH بر دقیقه) مربوط به تیمارهای  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY2 و  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY3 می‌باشد که با یکدیگر اختلاف معنادار دارند ( $p < 0.05$ ).

بیش‌ترین سرعت افزایش اسیدیته قابل تیترا طی تخمیر به تیمار  $4/5 - 44^{\circ}\text{C}$  ABY3- مربوط می‌شود و تیمارهای  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY3 و  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY2- در رده آخر قرار می‌گیرند. اما با توجه به جدول ۲، بیش‌ترین اسیدیته قابل تیترا نهایی در تیمار  $4/0 - 44^{\circ}\text{C}$  ABY1- و کم‌ترین اسیدیته قابل تیترا نهایی در تیمار  $4/5 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY3- مشاهده شد. مطابق با جدول ۱ بیش‌ترین و کم‌ترین سرعت افزایش پتانسیل احیا به ترتیب مربوط به تیمارهای  $4/5 - 44^{\circ}\text{C}$  ABY1- و  $4/0 - 38^{\circ}\text{C}$  ABY2- است. بنابراین می‌توان دریافت که سرعت‌های به طور معنادار ( $p < 0.05$ ) بالاتر افزایش اسیدیته هم‌چون شاخص سرعت افت pH به تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای  $44^{\circ}\text{C}$  و با pH نهایی  $4/5$  و سرعت‌های به طور معنادار

جدول ۱. میانگین سرعت های افت pH، افزایش اسیدیته قابل تیترو پتانسیل احیای تیمارها در سرتاسر دوره تخمیر\*

شاخص ها			تیمارها		
میانگین افزایش پتانسیل احیا	میانگین افزایش سرعت اسیدیته	میانگین سرعت افت pH (واحد pH/دقیقه)	pH نهایی تخمیر	دمای گرمخانه‌گذاری (°C)	باکتری آغازگر
(میلی ولت /دقیقه)	(درجه درنیک /دقیقه)				
۰.۵۱ <sup>c</sup>	۰.۱۸ <sup>c</sup>	۰.۰۰۸ <sup>b</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۱
۰.۳۱ <sup>g</sup>	۰.۱۳ <sup>e</sup>	۰.۰۰۵ <sup>de</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۱
۰.۵۷ <sup>a</sup>	۰.۲۱ <sup>ab</sup>	۰.۰۰۹ <sup>a</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۱
۰.۳۸ <sup>e</sup>	۰.۱۷ <sup>cd</sup>	۰.۰۰۷ <sup>c</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۱
۰.۳۵ <sup>ef</sup>	۰.۱۲ <sup>ef</sup>	۰.۰۰۶ <sup>d</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۲
۰.۲۴ <sup>fg</sup>	۰.۰۸ <sup>g</sup>	۰.۰۰۴ <sup>f</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۲
۰.۵۶ <sup>ab</sup>	۰.۱۷ <sup>cd</sup>	۰.۰۰۸ <sup>b</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۲
۰.۵۵ <sup>b</sup>	۰.۱۳ <sup>e</sup>	۰.۰۰۶ <sup>d</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۲
۰.۴۶ <sup>d</sup>	۰.۱۲ <sup>ef</sup>	۰.۰۰۷ <sup>c</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۳
۰.۲۶ <sup>f</sup>	۰.۰۸ <sup>g</sup>	۰.۰۰۴ <sup>f</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۳
۰.۵۶ <sup>ab</sup>	۰.۲۳ <sup>a</sup>	۰.۰۰۸ <sup>ab</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۳
۰.۳۱ <sup>g</sup>	۰.۱۳ <sup>e</sup>	۰.۰۰۵ <sup>de</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۳

\* میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند (p&lt;0.05).

جدول ۲. مدت زمان تخمیر، مقدار اسیدیته قابل تیترو پتانسیل احیا در پایان تخمیر، و مقدار اسید لاکتیک و اسید استیک تیمارها در پایان تخمیر\*

شاخص ها						تیمارها		
مقدار اسید استیک (درصد)	مقدار اسید لاکتیک (درصد)	پتانسیل احیای نهایی (میلی ولت)	اسیدیته نهایی (درجه درنیک)	زمان اوج (دقیقه)	مدت زمان تخمیر (دقیقه)	pH نهایی تخمیر	دمای گرمخانه-گذاری (°C)	باکتری آغازگر
۶۲	۳۸	۱۷۰.۸ <sup>d</sup>	۵۱ <sup>f</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۲۴.۰ <sup>gh</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۱
۶۸	۳۲	۱۸۱.۴ <sup>b</sup>	۶۷.۸ <sup>ab</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۴۵.۰ <sup>c</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۱
۶۸	۳۲	۱۶۳ <sup>ef</sup>	۵۲.۲ <sup>e</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۲۱.۰ <sup>ij</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۱
۷۵۲	۲۴۷	۱۸۱.۴ <sup>b</sup>	۶۸.۴ <sup>a</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۳۶.۰ <sup>e</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۱
۶/۶۲	۴۳۷	۱۵۸.۶ <sup>f</sup>	۴۲.۱ <sup>h</sup>	۱۵۰-۱۸۰	۲۷.۰ <sup>f</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۲
۵/۶۱	۵۳۸	۱۷۶ <sup>c</sup>	۴۹.۷ <sup>g</sup>	۱۵۰-۱۸۰	۵۴.۰ <sup>a</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۲
۷/۶۳	۹۳۶	۱۶۸.۲ <sup>de</sup>	۴۹.۷ <sup>fg</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۲۵.۰ <sup>g</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۲
۲/۶۵	۸۳۴	۱۹۹.۹ <sup>a</sup>	۶۳.۶ <sup>c</sup>	۱۸۰-۲۱۰	۴۲.۰ <sup>d</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۲
۵۵	۴۵	۱۵۳.۲ <sup>g</sup>	۳۶.۵ <sup>i</sup>	۱۵۰-۱۸۰	۲۴.۰ <sup>gh</sup>	۴.۵	۳۸	ABY-۳
۴/۵۴	۶۴۵	۱۷۲.۷ <sup>cd</sup>	۵۱.۳ <sup>ef</sup>	۱۵۰-۱۸۰	۵۱.۰ <sup>b</sup>	۴.۰	۳۸	ABY-۳
۵/۵۴	۵۴۵	۱۶۵.۷ <sup>e</sup>	۶۰.۳ <sup>d</sup>	۱۲۰-۱۵۰	۲۲.۰ <sup>i</sup>	۴.۵	۴۴	ABY-۳
۲/۵۶	۷۴۳	۱۸۰.۶ <sup>b</sup>	۶۷.۸ <sup>ab</sup>	۱۲۰-۱۵۰	۴۵.۰ <sup>c</sup>	۴.۰	۴۴	ABY-۳

\* میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند (p&lt;0.05).

جدول ۳. میانگین سرعت های کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیای تیمارهای بهینه، همراه با pH و اسیدیته نهایی آنها در سر تا سر ۲۱ روز دوره

نگهداری یخچالی\*

شاخص ها					تیمارها			
اسیدیته نهایی	pH نهایی	سرعت افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/روز)	سرعت افزایش اسیدیته (درجه درنیک/روز)	سرعت افت pH (واحد/pH/روز)	دمای نگهداری یخچالی (°C)	pH نهایی تخمیر	دمای گرمخانه گذاری (°C)	باکتری آغازگر
۷۰٫۲ <sup>b</sup>	۴٫۱۹	۰٫۵۲ <sup>d</sup>	۰٫۹۴ <sup>b</sup>	۰٫۱۳ <sup>a</sup>	۴°C	۴٫۵	۲۸	ABY-۱
۶۵٫۷ <sup>c</sup>	۴٫۲۹	۰٫۸۶ <sup>a</sup>	۱٫۰۷ <sup>a</sup>	۰٫۰۸ <sup>c</sup>	۸°C			
۷۰٫۲ <sup>b</sup>	۳٫۹۲	۰٫۳۶ <sup>f</sup>	۰٫۶۰ <sup>c</sup>	۰٫۰۵ <sup>e</sup>	۴°C	۴٫۰	۲۸	ABY-۱
۷۶٫۵ <sup>a</sup>	۳٫۹۴	۰٫۴۸ <sup>d</sup>	۱٫۰۲ <sup>a</sup>	۰٫۰۳ <sup>f</sup>	۸°C			
۷۸٫۳ <sup>a</sup>	۳٫۹۰	۰٫۴۱ <sup>e</sup>	۰٫۶۰ <sup>c</sup>	۰٫۰۵ <sup>e</sup>	۴°C	۴٫۰	۴۴	ABY-۱
۷۳٫۸ <sup>ab</sup>	۳٫۹۱	۰٫۶۱ <sup>bc</sup>	۰٫۶۰ <sup>c</sup>	۰٫۰۵ <sup>e</sup>	۸°C			
۷۱٫۱ <sup>b</sup>	۳٫۸۹	۰٫۶۷ <sup>b</sup>	۱٫۰۲ <sup>a</sup>	۰٫۰۶ <sup>d</sup>	۴°C	۴٫۰	۲۸	ABY-۲
۶۰٫۳ <sup>d</sup>	۳٫۹۳	۰٫۲۶ <sup>g</sup>	۰٫۶۴ <sup>c</sup>	۰٫۰۳ <sup>f</sup>	۸°C			
۵۵٫۸ <sup>de</sup>	۴٫۲۵	۰٫۲۸ <sup>g</sup>	۰٫۴۷ <sup>d</sup>	۰٫۰۵ <sup>e</sup>	۴°C	۴٫۵	۲۸	ABY-۳
۵۴ <sup>e</sup>	۴٫۲۸	۰٫۴۴ <sup>de</sup>	۰٫۳۸ <sup>e</sup>	۰٫۰۹ <sup>b</sup>	۸°C			
۶۱٫۲ <sup>cd</sup>	۳٫۸۷	۰٫۲۷ <sup>g</sup>	۰٫۴۷ <sup>d</sup>	۰٫۰۶ <sup>d</sup>	۴°C	۴٫۰	۲۸	ABY-۳
۵۸٫۵ <sup>d</sup>	۳٫۸۹	۰٫۱۸ <sup>h</sup>	۰٫۳۰ <sup>ef</sup>	۰٫۰۶ <sup>d</sup>	۸°C			

\* میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند (p<0/05).

ABY-۱-۳۸°C بود (p<0/۰۵)؛ این روند در مورد دو باکتری آغازگر دیگر (ABY-۲ و ABY-۳) هم مشاهده شد. در میان تمامی تیمارها، تیمار ۴/۵-۳۸°C-ABY-۲ کمترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک را نشان دادند.

در تیمارهای دارای شرایط یکسان از نظر دمای گرمخانه‌گذاری و pH نهایی تخمیر ولی متفاوت در نوع باکتری آغازگر، مشاهده شد که قابلیت زیستی باکتری‌های آغازگر نوع ۱-ABY > ۲-ABY > ۳-ABY است.

شمارش زنده پروبیوتیک‌ها طی دوره نگهداری یخچالی. جدول ۵ قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک را در شش تیمار گزینش شده از مرحله نخست (تیمارهای دارای بالاترین قابلیت زیستی و مطلوب‌ترین نتیجه ارزیابی حسی) طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی در دمای ۴ و ۸°C نشان می‌دهد.

این وضعیت در قابلیت زیستی مجموع پروبیوتیک‌ها (A+B) نیز به چشم می‌خورد. در مقابل، تیمارهای ۴/۰-۴۴°C-ABY-۱، ۰/۴-۴۴°C-ABY-۳ و ۴/۰-۴۴°C-ABY-۲ کمترین قابلیت زیستی برای باکتری ل. اسیدوفیلوس و تیمارهای ۴/۰-۴۴°C-ABY-۱، ۰/۴-۴۴°C-ABY-۳ و ۴/۰-۳۸°C-ABY-۲ کمترین قابلیت زیستی را برای بیفیدوباکتریوم دارا هستند.

بیشترین و کمترین ضریب نسبت رشد برای هر دو باکتری به ترتیب در تیمار ۴/۵-۳۸°C-ABY-۳ و ۴/۰-۴۴°C-ABY-۱ دیده شد. مطابق با داده‌های ارائه شده در جدول ۴ هم‌چنین مشاهده شد که در تیمارهای دارای باکتری آغازگر یکسان، اثر pH نهایی تخمیر بر قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک در مقایسه با اثر دمای گرمخانه‌گذاری بیش‌تر است. برای مثال قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در تیمار ۴/۵-۴۴°C-ABY-۱ به طور معنادار بیش‌تر از تیمار ۴/۰-

مقبولیت طعم در اکثر تیمارها، انواع pH نهایی ۴/۵ در هر دو دمای گرم‌خانه‌گذاری ۳۸°C و ۴۴°C به طور معنادار ( $p < 0.05$ ) مورد قبول گروه ارزیاب قرار گرفتند. فقط در رابطه با شاخص شوری، تیمارهای با pH نهایی ۴/۰ نسبت به دیگر تیمارها برتری داشتند. البته در مورد تیمارهای حاوی باکتری آغازگر نوع ABY2 شاخص‌های شوری، ترشی و مقبولیت طعم در هر دو pH نهایی تفاوت معناداری را نشان ندادند ( $p > 0.05$ ). در رابطه با شاخص پذیرش کلی، تیمارهای ۴۴°C ABY1، ۳۸°C ABY2 و ۴۴°C ABY3-انواع pH نهایی ۴/۵ به طور معنادار ( $p < 0.05$ ) پذیرش بهتری داشتند ولی در مورد تیمارهای ۳۸°C ABY1، ۴۴°C ABY2 و ۳۸°C ABY3 در هر دو pH نهایی ۴/۵ و ۴/۰ تفاوت معناداری به دست نیامد ( $p > 0.05$ ).

تیمارهای ۴/۰-۳۸°C-۳۸°C-۴/۵، ABY-۳-۳۸°C-۳۸°C-۴/۵ و ABY-۱-۳۸°C-۴/۵ بالاترین و تیمار ۴/۰-۳۸°C-۲-۳۸°C کم‌ترین قابلیت زیستی را برای هر دو باکتری پروبیوتیک در سر تا سر دوره دارویی‌خجالی در هر دو دمای ۴ و ۸°C نشان دادند. کم‌ترین جمعیت زنده سلولی طی این دوره برای باکتری ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم به ترتیب در تیمارهای ۴/۰-۳۸°C-۱-۳۸°C-۴/۰ و ۴°C-۲-۳۸°C-۴/۰ مشاهده شد. با توجه به داده‌های جدول ۵ باکتری ل. اسیدوفیلوس در دمای ۴°C و باکتری بیفیدوباکتریوم در دمای ۸°C قابلیت زیستی بهتری را دارا هستند.

ارزیابی حسی. جدول ۶ نمایانگر نتایج آزمون حسی مقایسه دوتایی میان تیمارها در پایان تخمیر است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در رابطه با شاخص‌های ترشی، عطر و

جدول ۴. قابلیت زیستی و ضریب نسبت رشد (GPI) پروبیوتیک‌ها بلافاصله بعد از تخمیر\*

ضریب نسبت رشد			تعداد نهایی پروبیوتیک‌ها (log cfu/ml)			تعداد اولیه پروبیوتیک‌ها (log cfu/ml)			تیمارها		
A+B	B	A	A+B	B	A	A+B**	B	A	pH نهایی تخمیر	دمای گرم‌خانه‌گذاری (°C)	باکتری آغازگر
۶/۹۱	۶/۸۵	۷	۷/۵۵ <sup>c</sup>	۷/۲۸ <sup>CA</sup>	۷/۲۱ <sup>bAB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۳۸	۱ABY-
۶/۴۳	۶/۴۹	۶/۴۸	۷/۰۶ <sup>g</sup>	۶/۸۳ <sup>fgA</sup>	۶/۶۹ <sup>deAB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۳۸	۱ABY-
۶/۵۹	۶/۵۴	۶/۶۷	۷/۲۳ <sup>f</sup>	۶/۹۸ <sup>efA</sup>	۶/۸۷ <sup>cdAB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۴۴	۱ABY-
۵/۶۸	۵/۷۴	۵/۵۷	۶/۳۲ <sup>e</sup>	۶/۱۸ <sup>iA</sup>	۵/۷۸ <sup>gB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۴۴	۱ABY-
۷/۰۹	۷/۰۴	۷/۱۷	۷/۷۳ <sup>a</sup>	۷/۴۸ <sup>aA</sup>	۷/۴۷ <sup>qB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۳۸	۲ABY-
۶/۶۱	۶/۶۲	۶/۵۹	۷/۲۴ <sup>f</sup>	۷/۰۵ <sup>eA</sup>	۶/۸ <sup>dB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۳۸	۲ABY-
۶/۸۳	۶/۸۲	۶/۸۶	۷/۴۷ <sup>d</sup>	۷/۲۵ <sup>cdA</sup>	۷/۰۷ <sup>bcB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۴۴	۲ABY-
۶/۴۶	۶/۴۲	۶/۶۵	۷/۰۰ <sup>g</sup>	۶/۸۵ <sup>fA</sup>	۶/۴۶ <sup>eB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۴۴	۲ABY-
۷	۶/۹۵	۷/۰۸	۷/۶۴ <sup>b</sup>	۷/۲۸ <sup>bA</sup>	۷/۲۸ <sup>abB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۳۸	۳ABY-
۶/۳۸	۶/۴۶	۶/۴۲	۷/۰۲ <sup>g</sup>	۶/۸۰ <sup>gA</sup>	۶/۶۲ <sup>deAB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۳۸	۳ABY-
۶/۷۸	۶/۷۷	۶/۸۱	۷/۴۲ <sup>d</sup>	۷/۲۱ <sup>dA</sup>	۷/۰۲ <sup>CB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۵	۴۴	۳ABY-
۶/۰۲	۶/۰۷	۵/۹۰	۶/۶۵ <sup>h</sup>	۶/۵۰ <sup>hA</sup>	۶/۱۱ <sup>e<sup>f</sup>AB</sup>	۶/۶۳	۶/۴۴	۶/۲۱	۴/۰	۴۴	۳ABY-

\* میانگین‌هایی که با حروف کوچک و بزرگ متفاوت نشان داده شده‌اند، به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار میان میانگین‌ها در ستون‌ها و سطرها هستند ( $p < 0.05$ ).

\*\* A = ل. اسیدوفیلوس، B = بیفیدوباکتریوم

جدول ۵. قابلیت زیستی تیمارهای انتخاب شده طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی\*

مدت زمان نگهداری یخچالی												تیمارها			
۲۱			۱۴			۷			***			دمای نگهداری	pH نهایی	دمای گرمخانه	باکتری
A+B	B	A	A+B	B	A	A+B	B	A	A+B	B	A	یخچالی	تخمیر	گذاری	آغازگر
۵۷.ᵇ	۵۶.ᵇA	۵۰.ᶜB	۵۸.۴ᵉ	۵۴.ᶠB	۵۶.۹ᵈA	۶۴.۶ᶜ	۶۰.۴ᵉB	۶۲.۵ᵉA	۶۹.۳ᵈ	۶۴.۹ᵈB	۶۷.۴ᵇcA	۴°C	۴/۵	۳۸°C	ABY-۱
۵۴.۲ᵉ	۵۱.۸ᶠA	۴۷.۸ᵈB	۶۰.ᵈ	۵۷.۰ᵉA	۵۶.ᵈeAB	۶۴.۶ᶜ	۶۱.۴ᵈB	۶۲.۵ᵉA	۶۸.۵ᵈe	۶۶.۴ᶜdA	۶۴.۵ᵉB	۸°C			
۶۹.۰ᶠ	۶۷.۰ᶦA	۶۴.۷ᵇB	۵۴.ᶠ	۶۹.۵ᵈgAB	۵۰.۴ᶠA	۶۴.۸ᶜd	۶۱.۷ᵈB	۵۹.۰ᶠA	۶۸.۲ᵉ	۶۴.۱ᵉB	۶۶.ᵈA	۴°C	۴/۰	۳۸°C	ABY-۱
۵۴.۳ᵉ	۵۴.ᵉA	۴۰.ᵈB	۵۸.ᵉ	۵۷.۵ᵈeA	۶۹.ᵇB	۶۰.ᵉ	۵۴.۷ᵇB	۵۸.۴ᶠgA	۶۹.۰ᵈ	۶۴.۳ᵉB	۶۷.ᶜA	۸°C			
۶۷.ᵇ	۶۶.ᵈA	۴۰.ᵈB	۵۸.ᵉ	۵۴.ᶠB	۵۶.ᵈeA	۶۰.۴ᵉ	۵۸.۴ᶠA	۵۶.ᵇB	۶۴.۵ᶠ	۶۲.ᶠA	۶۰.۷ᶠB	۴°C	۴/۰	۴۴°C	ABY-۱
۴۸.۴ᶠg	۶۷.ᵇA	۴۰.ᵈB	۵۱.۴ᵈg	۵۹.ᶜA	۵۷.ᵈB	۶۰.ᵉ	۵۷.۸ᶠgA	۵۶.ᵇB	۶۴.۳ᶠ	۶۸.ᵈA	۶۰.۷ᶠA	۸°C			
۶۹.۰ᶠ	۶۴.ᵇKB	۴۷.۸ᵈA	۶۱.۵ᶜ	۵۸.۱ᵈAB	۵۹.ᵇA	۶۷.۷ᵇ	۶۴.۳ᵇcB	۶۵.۶ᵇA	۷۱.۶ᵇ	۶۷.۶ᶜB	۶۹.۴ᵃA	۴°C	۴/۰	۳۸°C	ABY-۲
۶۹.۵ᶠ	۶۸.۴ᵇhA	۶۴.ᶠB	۶۸.۷ᶜ	۶۰.۴ᵇA	۵۵.۹ᵈeB	۶۷.۴ᵇ	۶۵.ᵇabA	۶۴.ᶜdAB	۷۳.ᵃ	۷۰.۵ᵃA	۶۹.۳ᵃAB	۸°C			
۵۵.۴ᶜ	۵۴.ᵈA	۵۰.ᶜB	۶۴.۸ᵃ	۶۰.۷ᵇA	۶۰.۸ᵃA	۶۹.ᵃ	۶۵.۴ᵃbB	۶۸.ᵃA	۷۱.۲ᵇ	۶۸.۳ᵇA	۶۸.ᵇA	۴°C	۴/۵	۳۸°C	ABY-۳
۵۷.۴ᵇ	۵۵.ᶜA	۵۴.۸ᵇB	۶۴.ᵃb	۶۰.۴ᵇA	۵۹.۵ᵃbA	۶۹.۳ᵃ	۶۵.۶ᵃA	۶۶.۱ᵇA	۷۱.۶ᵇ	۶۸.۵ᵇA	۶۸.۸ᵃbA	۸°C			
۵۴.۴ᵈ	۵۰.ᵈB	۵۲.۵ᵇA	۶۴.۳ᵃ	۵۹.۸ᵇcA	۶۰.۷ᵃA	۶۸.ᵃb	۶۴.۷ᵇA	۶۴.۸ᶜA	۷۰.۸ᵇc	۶۷.۴ᶜB	۶۸.۲ᵇA	۴°C	۴/۰	۳۸°C	ABY-۳
۵۸.۵ᵃ	۵۷.ᵃA	۴۹.۰ᶜB	۶۴.۸ᵃ	۶۴.۳ᵃA	۵۸.۴ᵇcB	۶۷.۸ᵃb	۶۵.۴ᵃbA	۶۴.۱ᶜdB	۷۱.۲ᵇ	۶۷.ᶜB	۶۹.۱ᵃA	۸°C			

\* میانگین‌هایی که با حروف کوچک و بزرگ متفاوت نشان داده شده اند، به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار میان میانگین‌ها در ستون‌ها و سطرها هستند ( $p < 0.05$ ).

\*\*\* = بلافاصله پس از تخمیر

جدول ۶. آزمون حسی مقایسه دوتایی میان تیمارها (pH نهایی ۴/۵ و ۴/۰) در پایان تخمیر\*

شاخص‌ها					تیمارها**	
پذیرش کلی	مقبولیت طعم	عطر	شوری	ترشی	دمای گرمخانه گذاری (°C)	باکتری آغازگر
-	۴/۵ < ۴/۰	-	۴/۰ < ۴/۵	۴/۵ < ۴/۰	۳۸	ABY-۱
۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۰ < ۴/۵	۴/۵ < ۴/۰	۴۴	ABY-۱
۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	-	-	۳۸	ABY-۲
-	-	۴/۵ < ۴/۰	-	۴/۵ < ۴/۰	۴۴	ABY-۲
-	۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۰ < ۴/۵	۴/۵ < ۴/۰	۳۸	ABY-۳
۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۵ < ۴/۰	۴/۰ < ۴/۵	۴/۵ < ۴/۰	۴۴	ABY-۳

\* علامت‌های "<" و ">" به ترتیب نمایانگر تفاوت معنادار ( $p < 0.05$ ) و عدم تفاوت معنادار میان تیمارها هستند.

\*\* به تمامی نمونه‌ها ۰/۵٪ نمک اضافه شده است، اما فاقد ماده طعم دهنده هستند. همه تیمارها برای یکنواخت شدن در شرایط یکسان به آرامی تکان داده شده اند.

جدول ۷. آزمون ارزشیابی رتبه‌ای میان تیمارهای گزینش شده در پایان دوره نگهداری یخچالی\*

شاخص‌ها					تیمارها		
امتیاز کل	بافت غیر دهانی	ظاهر	بافت دهانی	طعم	pH نهایی	دمای گرمخانه گذاری (°C)	باکتری آغازگر
۴۳/۷۶	۳ × (۳) = ۹	۴ × (۲) = ۸	۳ × (۳/۵) = ۱۰/۵	۲/۷۱ × (۶) = ۱۶/۴۶	۴/۵	۳۸	ABY1
۴۵/۵۰	۳ × (۳) = ۹	۴ × (۲) = ۸	۳ × (۳/۵) = ۱۰/۵	۳ × (۶) = ۱۸	۴/۰	۳۸	ABY1
۳۷/۵۵	۱/۷۱ × (۳) = ۵/۱۳	۳/۷۱ × (۲) = ۷/۴۲	۲ × (۳/۵) = ۷	۲ × (۶) = ۱۲	۴/۰	۴۴	ABY1
۲۹/۰۶	۱/۸۶ × (۳) = ۵/۵۸	۴ × (۲) = ۸	۲/۷۱ × (۳/۵) = ۹/۴۸	۱ × (۶) = ۶	۴/۰	۳۸	ABY2
۴۳/۲۷	۳ × (۳) = ۹	۴ × (۲) = ۸	۲/۸۶ × (۳/۵) = ۱۰/۰۱	۲/۷۱ × (۶) = ۱۶/۴۶	۴/۵	۳۸	ABY3
۴۴/۱۷	۳ × (۳) = ۹	۴ × (۲) = ۸	۲/۸۶ × (۳/۵) = ۱۰/۰۱	۲/۸۶ × (۶) = ۱۷/۱۶	۴/۰	۳۸	ABY3

\* میانگین‌هایی که در یک ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند ( $p < 0.05$ ).



بیفیدو باکتریومها  $40^{\circ}\text{C}$ – $37^{\circ}\text{C}$  و برای باکتری‌های سنتی ماست  $45^{\circ}\text{C}$ – $42^{\circ}\text{C}$  است [۲۱]. بنابراین به کارگیری دمای بالای تخمیر (برای مثال  $44^{\circ}\text{C}$  در مقایسه با  $38^{\circ}\text{C}$ ) به قابلیت زیستی به طور معنادار ( $p < 0.05$ ) کم‌تر پروبیوتیک‌ها به دلیل فائق آمدن باکتری‌های ماست بر آن‌ها منجر می‌شود [۲۲]، که با نتایج به دست آمده در این پژوهش هم‌خوانی دارد. در دماهای بالاتر ( $44^{\circ}\text{C}$ ) باکتری ل. دلبروئه کیبی زیر گونه بولگاریکوس فعال‌تر از سایر باکتری‌هاست و اثر آنتاگونیستییک طرفه آن روی ل. اسیدوفیلوس به دلیل رشد سریع، تولید اسید لاکتیک و پروکسید هیدروژن زیاد، بسیار بالا است. هم‌چنین اثبات شده است که سرعت مرگ باکتری‌های پروبیوتیک در دماهای بالا که در حقیقت دمای بهینه رشد آن‌ها هم نیست بسیار بیش‌تر می‌شود [۲۳].

قابلیت زیستی به طور معنادار بیش‌تر پروبیوتیک‌ها در تیمارهای با pH نهایی  $4/5$  رامی‌توان به این صورت توضیح داد که به دلیل افت سریع pH و زودتر رسیدن به pH نهایی مورد نظر ( $4/5$ )، اسیدیته هنوز افزایش کافی برای غیر فعال کردن باکتری‌ها نیافته است و اثر پادپاری زیستی باکتری‌های سنتی ماست بر پروبیوتیک‌ها نیز از جمله به دلیل کم‌تر ترشح کردن ترکیبات ضد میکروبی هم چون پراکسید هیدروژن شدت نیافته است. حال آن‌که در سایر تیمارها به سبب طولانی‌تر شدن مدت زمان تخمیر، اثر پادپاری زیستییک جانبیه باکتری‌های سنتی ماست (به ویژه Lb) بر پروبیوتیک‌ها شدت می‌یابد، از این رو تداوم تخمیر تا  $4/5$  pH سبب افت قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها می‌شود؛ از طرفی افت سریع pH منجر به شوک نسبی pH به سلول‌های پروبیوتیکی می‌شود، به ویژه آن‌که این سلول‌ها نسبت به افت pH بسیار حساس هستند، به همین دلیل است که سرعت افت pH در قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها موثرتر از دمای تخمیر است.

مطابق با جدول ۱، با آن‌که سرعت افزایش اسیدیته بیش‌تر از سرعت کاهش pH است ولی بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها اثر چندانی ندارد، به بیان دیگر نقش افت pH در

جدول ۷ نشان‌دهنده نتایج آزمون ارزشیابی رتبه‌ای میان تیمارهای گزینش شده در پایان دوره نگه‌دارییخچالی است. در ارتباط با اولین شاخص مورد ارزیابی در جدول (طعم)، تیمار  $4/5$ – $38^{\circ}\text{C}$ –ABY2 کم‌ترین و تیمار  $4/5$ – $38^{\circ}\text{C}$ –1–ABY بالاترین امتیاز را کسب کردند. تیمار  $4/5$ – $44^{\circ}\text{C}$ –ABY1 دارای کم‌ترین امتیاز در رابطه با دو شاخص بافت دهانی و بافت غیردهانی در میان سایر تیمارها است. در بررسی ظاهر تیمارها (رنگ)، تیمار  $4/5$ – $44^{\circ}\text{C}$ –ABY1 نسبت به سایر تیمارها امتیاز کم‌تری را به دست آورد.

با نگاهی به رتبه‌بندی نهایی تیمارها می‌توان دریافت که تیمارهای تخمیر شده در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  توسط دو کشت آغازگر ABY1 و ABY3 در هر دو pH نهایی  $4/5$  و  $4/5$  بالاترین پذیرش را داشتند.

## بحث و نتیجه‌گیری

شاخص‌های بیوشیمیایی تیمارها. در نتایج به دست آمده مشاهده شد که سرعت‌های بالاتر افزایش اسیدیته همچون شاخص سرعت افت pH به تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای  $44^{\circ}\text{C}$  و با pH نهایی  $4/5$  و سرعت‌های پایین‌تر این شاخص به تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  و دارای pH نهایی  $4/5$  مربوط بود، این روند در رابطه با شاخص سرعت افزایش پتانسیل احیا نیز صدق می‌کرد. به عنوان قاعده‌ای کلی، روند افزایش شاخص پتانسیل احیا با شاخص اسیدی شدن بایستی موازی باشد، از آن رو که اسیدهای آلی (به جز اسیدآسکوربیک) باعث افزایش پتانسیل احیای محیط می‌شوند [۲۰].

در کشت‌های مخلوط پروبیوتیک، به ویژه وقتی باکتری‌های ماست با پروبیوتیک‌ها هم‌کشت می‌شوند (هم‌چون نوع ABY) تغییر دمای تخمیر به طور معنادار بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها اثر می‌گذارد؛ اگر چه رشد ل. اسیدوفیلوس ممکن است در دمای  $45^{\circ}\text{C}$  هم رخ دهد، با این حال دمای بهینه رشد این باکتری  $42^{\circ}\text{C}$ – $40^{\circ}\text{C}$  است، این رقم برای

کاهش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها قاعدتاً تاثیرگذارتر از اثر افزایش اسیدیته است. با این وجود، مقدار اسیدهای آلیونیزه شده (اثر باکتری‌کشی به مراتب بالاتری نسبت به مولکول‌های یونیزه نشده این اسیدها دارند) را نباید نادیده گرفت. در برخی منابع گزارش شده است که pH پایین فرآورده‌های تخمیری عامل اصلی افت قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و محدود شدن رشد آن‌ها طی تخمیر و نگه‌دارییخچالی است [۲۰].

هنگامی که pH به حدود ۴/۰ می‌رسد باکتری‌ها احتمالاً در انتهای فاز ثابت یا در مرحله مرگ قرار دارند که نتیجه آن افت فزاینده قابلیت زیستی است با این وجود، به کارگیری pH‌های نسبتاً بالا در حدود ۴/۵ برای تولید دوغ ممکن است خواص حسی مطلوب و مورد انتظار را به دست ندهد [۳]. سرعت کم افزایش پتانسیل احیا در هر تیماری دلیل دیگری بر بالاتر بودن قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در آن تیمار است، زیرا مقادیر بالاتر پتانسیل احیا سبب بازداریا محدودیت رشد و فعالیت سلول‌های پروبیوتیک می‌شود.

قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک. دمای نگه‌دارییخچالی در فرآورده‌های پروبیوتیک به طور مستقیم از طریق اثرگذاری بر قابلیت بقای سلول‌ها و به طور غیر مستقیم به واسطه تولید متابولیت‌های پاد میکروبی، قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را در محصول تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۰].

بررسی قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها طی دوره نگه‌دارییخچالی حاکی از بالاتر بودن معنادار قابلیت زیستی باکتری‌هاییل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم به ترتیب در دماهای ۴°C و ۸°C بود. نتیجه به دست آمده با نتایج مرتضویان و همکاران (۲۰۰۷) هم‌خوانی دارد [۱۸]. مقاومت اندک سلول‌های بیفیدوباکتریوم به دماهای پایین نگه‌داری قبلاً توسط Malcata و Gomes (۱۹۹۹) و هم‌چنین Kailaspathy و Rybka (۱۹۹۷) به اثبات رسیده است [۲۴، ۲۵].

باکتری‌های ماست هر دو در دمای نگه‌دارییخچالی فعال هستند و لاکتوز را به اسید لاکتیک تبدیل می‌کنند و باعث

کاهش قابل توجه pH می‌شوند. معمولاً دمای پایین نگه‌داری باعث رشد باکتری ل. دلبروئه کیبی زیر گونه بولگاریکوس و در نتیجه بیش اسیدی شدن محصول می‌شود. بیش‌تر مطالعات نرخ بقای بالای باکتری‌های اسید لاکتیک در دمای پایین نگه‌دارییخچالی و تحمل کم‌تر بیفیدوباکتریوم‌ها به این دما در مقایسه با ل. اسیدوفیلوس نشان می‌دهند [۲۶]. باکتری ل. اسیدوفیلوس در دمای ۸°C به دلیل فعال‌تر بودن ل. دلبروئه کیبی زیر گونه بولگاریکوس و تولید اسید زیاد و هم‌چنین اثر پادیااریک طرفه باکتری نام‌برده رشد کم‌تری را نشان می‌دهد.

با توجه به جدول ۵ می‌توان دریافت که جمعیت بیفیدوباکتریوم‌ها در مقایسه با ل. اسیدوفیلوس در پایان نگه‌دارییخچالیبه طور نسبی بالاتر است. این بالاتر بودن جمعیت را می‌توان به افزایش قابلیت زیستی طی نگه‌دارییخچالی در برخی تیمارها و احتمالاً مقاومت بیش‌تر این باکتری به شرایط نامناسب فرآورده در این دوره مربوط دانست. به طور مثال گزارش شده است که پراکسید هیدروژن تولید شده توسط باکتری ل. دلبروئه کیبی زیر گونه بولگاریکوس عامل اصلی افت شگرف ل. اسیدوفیلوس به ویژه طی نگه‌دارییخچالی در کشت‌های مخلوط ABY است [۲۷]. بیفیدوباکتریوم‌ها به دلیل مقاومت بالاتر به فاکتورهای محیطی و هم‌چنین هماهنگ شدن سریعاً محیط قابلیت بقای بالایی را نشان می‌دهند.

ارزیابی حسی. به طور کلی تیمارهای تولید شده توسط آغازگرهای پروبیوتیک دارای طعم ملایم‌تر و ثبات طعم بیش‌تر طی دوره نگه‌دارییخچالی در مقایسه با نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای سنتی هستند که موجب مقبولیت آن‌ها در بازارهای جهانی شده است. همان‌طور که در بخش یافته‌ها مشاهده شد، در دماهای ۳۸°C و ۴۴°C و با pH نهایی ۴/۰ به‌طور معنی‌دار مقبولیت بیش‌تری از نظر ترشی، عطر و طعم نسبت به سایر تیمارها وجود داشت. pH و اسیدیته نهایی محصولات تخمیری از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده ویژگی‌های

مختلف این پژوهش، بهتر است که نتایج را به صورت اثر مشترک دمای گرم‌خانه‌گذاری، pH نهایی و نوع کشت آغازگر بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و خواص حسی محصول نهایی بیان کرد.

برای داشتن بالاترین میزان قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک مورد بررسی در محصول نهایی (حضور تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در حد استاندارد IDF)، گرم‌خانه‌گذاری در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  (دمای بهینه رشد پروبیوتیک‌ها) به عنوان دمای بهینه تخمیر در فرایند تولید انتخاب می‌شود، هر چند تخمیر در دمای  $38^{\circ}\text{C}$  بسیار زمان‌بر است ولی قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در آن به طور معنادار بالاتر از تیمارهای تخمیر شده در دمای  $44^{\circ}\text{C}$  است. از طرفی برای حفظ قابلیت زیستی بالای پروبیوتیک‌ها علاوه بر دمای گرم‌خانه‌گذاری  $38^{\circ}\text{C}$ ، بهتر است که تخمیر را در pH ۴/۵ خاتمه دهیم، هر چند این تیمارها از نظر حسی امتیازات کم‌تری را نسبت به تیمارهای گرم‌خانه‌گذاری شده در همین دما ولی دارای pH نهایی ۴/۰ به دست‌آوردند.

در ارتباط با انتخاب نوع کشت آغازگر از نقطه نظر حفظ تعداد باکتری‌های پروبیوتیک طی نگره‌داری‌چجالی نوع ABY3 بهترین نتایج را به دست می‌دهد، اگر چه کشت آغازگر نوع ABY1 همان‌طور که در مطالعات قبلی نیز به اثبات رسیده است هم دارای قابلیت زیستی مناسبی از باکتری‌های پروبیوتیک است و هم بالاترین امتیازات آزمون حسی را به دست آورده است. بررسی نتایج نگره‌داری‌چجالی نشان داد که در مورد تمامی کشت‌های آغازگر، باکتری بیفیدوباکتریوم در دمای  $8^{\circ}\text{C}$  و باکتری اسیدوفیلوس در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بهتر رشد می‌کنند. بنابراین انتخاب دمای نگره‌داری‌چجالی می‌تواند به فاکتورهای متعددی از نقطه نظر تولید و توزیع محصول و حفظ چرخه سرما در زمان نگره‌داری بستگی داشته باشد.

حسی این محصولات می‌باشند. از این رو ادامه تخمیر تا رسیدن به pH نهایی ۴/۰ سبب توسعه طعم مناسب در تیمارهای دارای این pH نهایی می‌شود که بر درجه پذیرش آن‌ها به طور معنی‌داری می‌افزاید. از طرفی ترش نشدن این نمونه‌ها (طبی نگره‌داری‌چجالی) به دلیل توسعه نیافتن اسیدیته و کاهش pH در آن‌ها نیست، بلکه به نظر می‌رسد این امر به نوع اسید لاکتیک تولید شده در آن‌ها (نوع L(+) به جای D(-)) بستگی داشته باشد. در ضمن به دلیل توسعه یافتگی بیش‌تر اسیدیته در این نوع تیمارها میزان ترشی مطلوب ولی شوری آن‌ها کم‌تر درک می‌شود، علت این خاصیت اثر پوشاندگی (Covering) اسیدیته و pH پایین بر سایر طعم‌ها از جمله شوری است.

با توجه به اطلاعات منتشر شده توسط شرکت هسنن، کشت آغازگر ABY1 پس از تخمیر، نمونه‌ای با بافت قوی و طعم ملایم تولید می‌کند و طی نگره‌داری‌چجالی پس اسید سازی بسیار کمی دارد. در مقابل کشت آغازگر ABY2 اسیدساز کند بوده و پس از تخمیر طولانی بافتی نسبتاً ضعیف و طعمی ملایم ایجاد می‌کند نتایج به دست آمده از ارزشیابی حسی در این مطالعه با مطالب بالا هم‌خوانی دارد.

در میان تیمارهای بهینه انتخابی، تیمار ۴/۰ - ۳۸ - ABY1 بالاترین امتیاز را از گروه ارزیاب دریافت کرد. پذیرش بالای این نوع نمونه‌ها در پژوهش‌های مرتبط قبلی نیز به دست آمده است [۱۶]. تیمار ۴/۰ - ۳۸ - ABY2 به دلیل طعم بسیار ضعیف و بافت نامناسب کم‌ترین امتیاز را پس از ۲۱ روز نگره‌داری‌چجالی به دست آورد. تیمارهای تخمیر شده توسط کشت آغازگر ABY3 نتایجی مشابه کشت آغازگر ABY1 به دست آوردند که آن را نیز می‌توان به بالا بودن سرعت اسیدسازی و افت pH این نوع آغازگر (مثل نوع ABY1) در نمونه نسبت داد.

بررسی نتایج پژوهش روشن ساخت که روابط میان متغیرهای مورد بحث بسیار پیچیده است و هر یک از تیمارها دارای مزایا و معایبی هستند. بنابراین با توجه به متغیرهای

## تشکر و قدردانی

[13] Institute of standards and industrial research of Iran, plain yogurt drink (doogh)- features and test methods. ISIRI No 2453, 2th Revision. 2007. (Persian).

[14] Institute of standards and industrial research of Iran, probiotic yogurt- features and test methods. ISIRI No 11325, 1st Edit. 2007. (Persian).

[15] Vinderola CG, Reinheimer JA. Culture media for the enumeration of bifidobacterium bifidum and lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria. *Int Dairy J* 1999; 9: 497-505.

[16] Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh. *Italian J Food Sci* 2009; 22: 98-104.

[17] Akalin AS, Fenderya S, Akbulut N. Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *Int J Food Sci Technol* 2004; 39: 613-621.

[18] Mortazavian AM, Ehsani MR, Reinheimer J, Sohrabvandi S. MRS-bile agar: Its suitability for enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft* 2007; 62: 270-272.

[19] Institute of standards and industrial research of Iran. sensory evaluation method of fermented milk products. ISIRI No 4940. 1997. (Persian).

[20] Mortazavian AM, Sohrabvandi S, Mousavi SM, Reinheimer JA. Combined effects of temperature-related variables on the viability of probiotic microorganisms in yogurt. *Aust J Dairy Technol* 2006; 61: 248-252.

[21] Lacroix C, Yildirim S. Fermentation technologies for the production of probiotics with high viability and functionality. *Curr Opin Biotech* 2007; 18: 176-183.

[22] Tamime AY, Saarela M, Sondergaard AK, Mistry VV, Shah NP. Production and maintenance of viability probiotics microorganism in dairy products. In: Tamime AY, editor. *Probiotic dairy products*. London, UK: Blackwell Publishing Ltd; 2005; pp: 39-97.

[23] Dave RI, Shah NP. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. *Int Dairy J* 1997; 7: 31-41.

[24] Gomes AM, Malcata FX. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trend Food Sci Technol* 1999; 10: 139-157.

[25] Rybka S, Kailasapathy K. Effect of freeze drying and storage on the microbiological and physical properties of AB-yoghurt. *Milchwissenschaft* 1997; 52: 390-394.

[26] Hughes DB, Hoover DG. Viability and enzymatic activity of bifidobacteria in milk. *J Dairy Sci* 1995; 78: 268-276.

[27] Shah NP. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *J Dairy Sci* 2000; 83: 894-907.

از معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور بهدلیل حمایت‌های مالی، صمیمانه‌قدردانی می‌شود. این مقاله از پایان‌نامه‌دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی استخراج شده‌است.

## منابع

[1] Oliveira RP, Perego P, Converti A, Oliveira MN. The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented milk. *Int J Dairy Technol* 2009; 62: 195-203.

[2] Granato D, Branco GF, Cruz AG, Faria JA, Shah NP. Probiotic dairy products as functional foods. *Comp Rev Food Sci Food Safety* 2010; 9: 455-470.

[3] Mortazavian AM, Sohrabvandi S. *Probiotics and Food Probiotic Products; Based on Dairy Probiotic Products*. Tehran: Eta Publication; 2006; p: 483.

[4] Gismondo MR, Drago L, Lombardi A. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 12: 287-292.

[5] Holzapfel WH, Schillinger U. Introduction to preand probiotics. *Food Res Int* 2001; 35: 109-116.

[6] Shah NP. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol* 2001; 55: 46-53.

[7] Brabandere AG, Baerdemaeker JG. Effect of process conditions on the pH development during yogurt fermentation. *J Food Eng* 1999; 41: 221-227.

[8] Gueimonde M, Delgado S, Mayo B, Madiedo PR, Margolles A, Reyes-Gavilan CG. Viability and diversity of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium populations included in commercial fermented milks. *Food Res Int* 2004; 37: 839-850.

[9] Salminen S, Ouwehand A, Benno Y, Lee YK. Probiotics: how should they be defined?. *Food Sci Technol* 1999; 10: 107-110.

[10] Hattingh AL, Viljoen BC. Yogurt as probiotic carrier food (Review). *Int Dairy J* 2001; 11: 1-17.

[11] Talwalkar A, Kailasapathy K. A review of oxygen toxicity in probiotic yogurts: Influence on the survival of probiotic bacteria and protective techniques. *Food Sci Food Safety* 2004; 3: 117-124.

[12] Mortazavian AM, Ehsani MR, Azizi M, Razavi SH, Mousavi SM, Sohrabvandi S, Reinheimer JA. Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under stimulated gastrointestinal conditions. *Aust J Dairy Technol* 2008; 63: 25-30.

# Combined effects of incubation temperature, type of starter bacteria and final pH of fermentation on microbiological, biochemical and sensory characteristics of probiotic Doogh (Iranian drink based on fermented milk)

Zohre Delshadian (Ph.D Student)<sup>1</sup>, Reza Mohammadi (Ph.D Student)<sup>1</sup>, Saeedeh Cheledavan (M.Sc)<sup>2</sup>, Mehdi Shadnoush (Ph.D)<sup>3,5</sup>, Elahe Ahmadi (Ph.D Student)<sup>4</sup>, Amir Mohammad Mortazavian (Ph.D)<sup>\*2</sup>

1- Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2- Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- Dept. of Clinical Nutrition, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 - Young Researchers and Elites club, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

5 - Dept. of Clinical Nutrition, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

(Received: 29/4/1393; Accepted: 29/9/1393)

**Introduction:** Viability of probiotic microorganisms in the final product is the most important qualitative parameter which is affected by many factors, including type of starter culture, pH, acidity, redox potential, incubation temperature and refrigerating temperature and time. In this study, the combined effects of three important factors including; type of starter culture, incubation temperature and final pH of fermentation on viability of two probiotic species; *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* and also the biochemical and sensory characteristics of their product, doogh, were investigated.

**Materials and methods:** Different treatments of probiotic Doogh were prepared with yoghurt starter culture and two probiotic strains; *Lactobacillus acidophilus* La-5 (A) and *Bifidobacterium lactis* Bb-12 (B) using reconstituted skim milk powder with 6% of nonfat solid milk by incubating at 38°C or 44°C until pH 4.0 or 4.5 and keeping in 4°C or 8°C storage temperature for 21 days. The count of probiotic bacteria and biochemical characteristics were performed during fermentation and over the refrigerating period. The sensory attributes of treatments were determined at the end of fermentation and refrigeration.

**Results:** In general, the greatest drop in mean pH rate, increase in mean acidity rate, increase in mean redox potential rate and shortest incubation time were observed in treatments with incubation in 44°C and final pH of 4.5. Among the selected treatments regarding the taste acceptance, ABY3-38-4.5 treatment revealed the greatest viability of the two probiotic bacteria in both storage temperature of 4°C and 8°C. After 21 days of refrigeration, ABY1-38°C-4.0 and ABY2-38°C-4.0 achieved the highest and lowest total acceptance scores, respectively.

**Conclusion:** All of the variables in this research significantly affected the qualitative properties of probiotic yogurt. Either the fermentation temperature of 38°C (in spite of need for prolonged fermentation) or the final pH of 4.5 resulted in increased viability of the probiotics, although the final pH of 4 resulted in better sensory evaluation.

**Keywords:** *Lactobacillus Acidophilus*, *Bifidobacterium Lactis*, Probiotic

\* Corresponding author. Tel: +98 21 22376480  
mortazvn@sbmu.ac.ir