اثرات نوع و غلظت ماده خشک و pH نهایی تخمیر بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ پروبیوتیک

رضا محمدی [۱](Ph.D)، مریم ذبیح‌زاده [۲](M.Sc)، سارا حسنوند [۱](B.Sc)، زهرا سرلک [۳](Ph.D)، سید امیر محمد مرتضویان [۴] [*](Ph.D)، مهدی شادنوش [۵](Ph.D)، ایاد بهادری منفرد [۶](Ph.D)

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

۲- کمیته تحقیقات دانشجویی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳- گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

۴- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۵- مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی (نمک) و گروه تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان و گروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۶- دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

هدف: در سال‌های اخیر، تقاضا مصرف غذاهای فراسودمند به دلیل افزایش آگاهی مردم از ارزش تغذیه‌ای این محصولات، به شدت افزایش یافته است. هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ پروبیوتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، اثرات نوع (شیر خشک و آب پنیر) و غلظت ماده خشک تشکیل‌دهنده دوغ و pH نهایی (۴/۰و ۴/۴) تخمیر بر شاخص‌های بیوشیمیایی، قابلیت زیستی و خصوصیات حسی دوغ پروبیوتیک طی تخمیر و ۲۱ روز دوره نگهداری یخچالی مورد بررسی قرار گرفت. pH و پتانسیل احیا توسط pH متر اندازه‌گیری شدند. اسیدیته قابل تیتر با روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال بررسی شد. کشت پروبیوتیک‌ها روی محیط کشت MRS-bile آگار انجام شد.

یافته‌ها: تیمار ۵٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر آب‌پنیر با pH نهایی ۴/۴ (۴/۴)-(۱-۶WP) بیش‌ترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک را پس از تخمیر و طی نگهداری یخچالی داراست. تیمارهای ۴٪ پودر شیر بی‌چربی با pH نهایی ۴/۰ (۴/۰-۴SMP)، ۳٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر پروتئین آب‌پنیر با pH نهایی ۴/۴ (۴/۴)-(۱-۴WPC)، ۶٪ پودر شیر بی‌چربی با pH نهایی ۴/۴ (۴/۴-۶SMP)، ۶٪ پودر شیر بی‌چربی با pH نهایی ۴/۰ (۴/۰- ۶SMP) و تیمار ۵٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر آب‌پنیر (۱-۶WP) در هر دو pH نهایی ۴/۴ و ۴/۰ از بالاترین سطوح پذیرش حسی برخوردار بوده‌اند، اما تیمارهای ۴SMP (به‌ویژه در pH نهایی ۴/۴) و ۴/۴-(۱-۴WPC) قابلیت زیستی بالایی را در ارتباط با پروبیوتیک‌ها نتیجه ندادند، با این وجود از نظر ملاحظات اقتصادی توجیه بیش‌تری در مقایسه با درصد ماده خشک ۶٪ دارند.

نتیجه‌گیری: به طور کلی، پودر آب پنیر می‌تواند به عنوان قسمتی از ماده خشک موجود در دوغ پروبیوتیک استفاده شود بدون این‌که خواص حسی و قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها تغییر کند.

واژه‌های کلیدی: آب پنیر، پروبیوتیک، پروتئین، دوغ، ماده خشک

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای (باکتری و مخمر) هستند که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن اساساً روده؛ به‌عنوان فلور طبیعی، از طریق دریافت خوراکی، با عمل

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۲۲۳۶۰۶۵۶

Email: mortazvn@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۶/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۲

زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده (میان ریززنده‌های سودمند و زیان‌بخش)، سبب ایجاد خواص سلامت‌بخش برای میزبان می‌شوند [۱]. 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 [۱-۴]. در تمامی فراورده‌های پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از فراورده در لحظه مصرف، ارزش اساسی فراورده‌های پروبیوتیک محسوب می‌شود؛ به منظور دستیابی به اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها، کمینه ارزش دارویی ml یا 10^7 cfu/gr در فراورده نهایی پیشنهاد شده است [۵،۱-۷]. در میان فراورده‌های غذایی پروبیوتیک، فراورده‌های لبنی پروبیوتیک و به ویژه فراورده‌های تخمیری شیر در جهان از مقبولیت و مصرف بیش‌تر برخوردار هستند. تخمیر در فرآورده‌های لبنی از قدیمی‌ترین شیوه‌های افزایش ماندگاری شیر بوده است و سابقه آن به بیش از ۱۰۰۰۰ سال قبل، یعنی هنگامی که بشر از مرحله جمع‌آوری غذا به تولید غذا روی آورد، باز می‌گردد. خاستگاه بهره‌گیری از تخمیر در شیر را به خاورمیانه و نواحی بالکان نسبت می‌دهند [۸]. امروزه تخمیر نه تنها به عنوان یک روش نگهداری فرآورده‌های لبنی بلکه بیش‌تر به عنوان یک روش برای تولید محصولات با پایه لبنی و با طعم‌های مختلف مطرح است به طوری که امروزه شیرهای تخمیری بیش از ۴۰۰ نوع فرآورده گوناگون را شامل می‌شوند و به صورت سنتی یا صنعتی مورد تولید قرار می‌گیرند [۹]. در کشور ما در میان نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه ماست، دوغ مورد توجه خاص قرار گرفته است [۱۰]. مقبولیت دوغ نه فقط به عنوان فراورده‌ای با ویژگی‌های حسی مطلوب که به عنوان نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش سبب شده است که به عنوان نوشیدنی ملی ایران پذیرفته شود [۱۱]. میزان مصرف سرانه و تولید صنعتی دوغ در سال‌های اخیر رشد قابل توجه داشته است. با توجه به سرانه‌ی بالای مصرف دوغ در ایران، تولید دوغ پروبیوتیک و هم‌چنین استفاده از مواد مفیدی در ماده خشک آن می‌تواند برای سلامت مردم مفید واقع شود، از جمله این مواد می‌توان به آب پنیر اشاره کرد. آب پنیر یا سرم شیر در واقع فاز آبی شیر است که در هنگام پنیرسازی و رسوب کازئین از لخته جدا می‌شود. بنابراین، آب پنیر یک محصول فرعی حاصل از تولید بعضی از انواع پنیر است [۱۲]. در سال‌های اخیر به اثرات مستقیم و قابل اندازه‌گیری اجزای شیر بر سلامت انسان پی برده‌اند. گرچه آب پنیر به عنوان یک محصول فرعی حاصل از تولید پنیر، زمانی بی‌مصرف تلقی می‌شد، ولی هم اکنون تأثیرات مثبت آن بر سلامتی مشخص شده است. مشتقات پروتئین آب‌پنیر (WD) نظیر تغلیظ‌شده پروتئین آب‌پنیر(WPC) ، تفکیک‌شده پروتئین آب‌پنیر (WPI) و پودر آب‌پنیر(WP) غنی از اسیدهای آمینه گوگرددار هستند. این اسیدهای آمینه در جریان فرایند گرمایی آزاد شده و پتانسیل احیا را کاهش می‌دهند [۱۳]. در عین حال از آن‌جا که میزان اسیدهای آمینه ضروری در پروتئین‌های آب‌پنیر بیش‌تر از کازئین‌ها است، پروبیوتیک‌های دارای خاصیت پروتئین کافتی (مانند لاکتوباسیلوس‌ها) به‌طور مستقیم و پروبیوتیک‌های فاقد این خاصیت (بیفیدوباکتریوم‌ها) به واسطه سایر آغازگرهای دارای این توانایی از منابع مغذی ازته برخوردار می‌شوند.

بهینه‌سازی تولید صنعتی دوغ پروبیوتیک وابسته به قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و خواص ارگانولپتیک فرآورده نهایی است [۱۴]. بنابراین در این پژوهش برای دستیابی به خواص ارگانولپتیک بهینه به بررسی اثرات جایگزینی شیر خشک بدون چربی با پودر پروتئین آب پنیر پرداخته شده است و ازآن‌جایی که اسیدیته بالا و pH پایین فرآورده‌های پروبیوتیک تخمیری از مهم‌ترین عوامل کاهش قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها است، به همین خاطر در این مقاله به بررسی pH نهایی تخمیر هم پرداخته‌ایم تا پی ببریم با افزایش pH نهایی

تخمیر می‌توان قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را در محصول افزایش داد.

مواد و روش‌ها

شمارش اختصاصی پروبیوتیک‌ها. شمارش زنده پروبیوتیک‌ها (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12) با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار MRS) آگار و bile به ترتیب ساخت شرکت Merck از کشور آلمان و شرکت Sigma-Aldrich از کشور آمریکا) مطابق با روش مرتضویان و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد [۱۵]. قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی در روزهای صفر، هفت، چهارده و بیست و یک تعیین شد. پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای (۳۷°C) به مدت زمان حداقل ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی و گازپک تیپ A ایجاد شد [۱۶].

آماده‌سازی نمونه‌ها. به منظور تهیه شیر دوغ‌سازی از انواع ماده خشک و غلظت‌های متفاوت آن‌ها استفاده شد. به طوری که ترکیبات ماده خشک شامل ۶٪ پودر شیر بی‌چربی ۶SMP، ۴٪ پودر شیر بی‌چربی ۴SMP، ۵٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر پروتئین آب‌پنیر ۱-۶WPC، ۵٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر آب‌پنیر ۱-۶WP، ۳٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر پروتئین آب‌پنیر ۱-۴WPC و ۲٪ پودر شیر بی‌چربی و ۱٪ پودر پروتئین آب‌پنیر ۱-۳WPC و ۰/۴٪ نمک بودند. پودر پروتئین آب پنیر یکی از محصولات آب پنیر است که از حذف مواد معدنی و لاکتوز آب پنیر به دست می‌آید که مقادیر متفاوتی پروتئین دارد و میزان پروتئین موجود در آن کاربردش را مشخص می‌کند. شیر دوغ‌سازی پس از بازسازی مورد فرایند گرمایی (۹۰°C به مدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفت. پس از سرد کردن نمونه‌ها تا دمای تخمیر، تلقیح آغازگر ABY1 که حاوی باکتری‌های سنتی ماست، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb-12 بود، مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. در ادامه نمونه‌ها در دمای ۳۸°C گرم‌خانه‌گذاری شده و تخمیر تا رسیدن به دو pH ۴ و ۴/۴ انجام شد. شاخص‌های آزمایشی (pH، اسیدیته، 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، از نمونه‌ها کشت میکروبی تهیه شد سپس نمونه‌ها از گرم‌خانه خارج و طی دو مرحله سرد شدند (ابتدا به سرعت تا ۱۵°C و سپس تا ۵°C). شاخص‌های آزمایشگاهی در پایان تخمیر و طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (هر ۷ روز) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری pH و پتانسیل احیاء. pH نمونه‌ها طی تخمیر و پس از پایان آن و طی نگهداری یخچالی با استفاده از pH متر اندازه‌گیری شد.

شاخص متوسط سرعت افت pH برای تیمارها طی تخمیر از رابطه زیر محاسبه شد [۱۷].

سرعت متوسط افت pH (واحد / pH دقیقه)= pH نهایی − pH اولیه/ زمان (دقیقه)

پتانسیل احیا در نمونه‌ها با استفاده از pH متر مجهز به الکترود پلاتین اندازه‌گیری پتانسیل احیا به میلی‌ولت اندازه‌گیری شد. سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا در نمونه‌ها طی تخمیر از رابطه زیر محاسبه شد [۱۸].

سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا (میلی‌ولت/ دقیقه)= پتانسیل احیا نهایی− پتانسیل احیا اولیه/ زمان (دقیقه)

اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر. برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه را به همراه ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در ارلن مایر ریخته شد و با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد. مقدار این شاخص بر حسب درجه دُرنیک محاسبه شد [۱۸].

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌ها طی تخمیر از رابطه زیر به‌دست آمد [۱۸].

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر (درجه دُرنیک/ دقیقه)= اسیدیته قابل تیتر نهایی− اسیدیته قابل تیتر اولیه/ زمان (دقیقه).

تعیین مقدار اسید استیک و اسید لاکتیک. به منظور تعیین درصد اسید استیک و اسید لاکتیک از دستگاه HPLC، آشکار ساز فرابنفش و ستونNucleosil 100-5c18 با طول موج ۲۱۰ نانومتر استفاده شد ,Akilin(۲۰۰۴). به این ترتیب که ۴ گرم از نمونه در ۲۵ mL محلول ۰/۱ N اسید سولفوریک، رقیق‌سازی و پس از همگن شدن به مدت زمان ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. فاز شفاف (سوپرناتانت) با گذشتن از صافی ۰/۲mμ فیلتر شد. ۲ mL از محلول حاصل برای تزریق به دستگاه مورد استفاده قرار گرفت. سرعت جریان آب مقطر اسیدی و متانول به ترتیب ۰/۸ mL و ۰/۲ و هم‌چنین سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود.

ارزیابی حسی. از هیأت مصرف‌کنندگان ۹ نفره استفاده شد. شاخص‌های حسی شامل: ترشی، طعم نامطلوب، گرانروی ظاهری حسی، همگنی بافت گرانروی دهانی (خوراکی) شوری، کدورت، شدت رایحه، خوشایندی حس دهانی و پذیرش کلی بودند. تیمارهای گوناگون به‌صورت دوبه‌دوی انفرادی یا مرحله‌ای (رشته‌ای) با استفاده از «آزمون مقایسه جفت» که با عنوان «آزمون دوتایی» نیز شناخته می‌شود، به‌صورت آماری با یک‌دیگر مقایسه شدند. به این صورت که هر مرحله از آزمون‌های دوتایی، تیمار/تیمارهای بهینه انتخاب شده و سپس با سایر تیمارها مقایسه می‌شوند تا تیمار بهینه نهایی به‌دست آید. برای یافتن تفاوت معنی‌دار میان تیمارها، از «جدول معنی‌دار بودن آزمون دوتایی» استفاده شد. نمونه‌ها پیش از آزمون شدن، در بطری‌ها به آرامی تکان داده شدند تا همگن شوند.

ارزیابی آماری .تمامی نمونه‌ها در ۳ تکرار تولید شده و مورد آزمون قرار گرفته است. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تیمارها (یافتن اختلاف معنادار میانگین تیمارها) با استفاده از آزمونANOVA در نرم‌افزار Minitab انجام گردید. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شدند.

نتایج

تغییرات pH، اسیدیته قابل‌تیتر و پتانسیل احیا، مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری و درصد اسید استیک. جدول۱ نشان‌دهنده میانگین مدت زمان تخمیر، سرعت‌های افت pH، افزایش اسیدیته، پتانسیل احیا و مقدار اسید استیک مربوط به تیمارها در سرتاسر دوره تخمیر تا رسیدن به pHهای ۴/۰ یا ۴/۴ است. در تیمارهای با pH نهایی ۴، بیش‌ترین سرعت کاهش pH مربوط به تیمار ۱- ۳WPC و کم‌ترین مربوط به تیمار ۶SMP است در حالی که در pH نهایی ۴/۴ میزان اختلاف بین تیمارها کم‌تر است. هم‌چنین با توجه به این جدول مشاهده می‌شود که بیش‌ترین سرعت افزایش اسیدیته قابل تیتر طی تخمیر تا pH نهایی ۴/۴ به تیمارهای ۱- ۶WPC و ۱- ۶WP مربوط می‌شود و تیمار ۶SMP در مقام بعد و تیمار ۱- ۳WPC در رده آخر قرار می‌گیرد، در pH نهایی ۴ نیز بیش‌ترین سرعت افزایش اسیدیته مربوط به تیمارهای ۱- ۶WPC و ۱- ۶WP است و تیمار ۶SMP در مقام بعد و تیمار ۱- ۳WPC در رده آخر قرار می‌گیرد (روند مشابه). در مورد سرعت افزایش پتانسیل اکسیاسیون و احیا در هر دو pH روند مشابه بود به طوری که بیش‌ترین سرعت مربوط به تیمار ۱-۳WPC و کم‌ترین سرعت مربوط به تیمار ۶SMP است. مربوط به تیمار مراجعه به جدول۱ آشکار می‌سازد که تیمار دارای بیش‌ترین درصد ماده خشک و بیش‌ترین ظرفیت بافری ۶SMP، از بیش‌ترین مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری تا pHهای ۴/۴ یا ۴/۰ و تیمار ۱- ۳WPC با صفات عکس، از کم‌ترین مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری تا pH۴/۴ برخوردار است. هم‌چنین بیش‌ترین مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری تا pH ۴/۰ به تیمارهای دارای WP و WPC با ۶٪ ماده خشک مربوط است.

در جدول۱ درصد اسید استیک هر یک از تیمارها در دو pH نهایی ۴/۰ و ۴/۴ نشان داده شده است. مقدار این اسید هم با رشد و یا فعالیت بیفیدوباکتریوم‌ها متناسب است، و هم خواص حسی را تحت تاثیر قرار می‌دهد زیرا در صورت انباشته شدن بیش از حد خاصی سبب بدطعمی سرکه‌ای در

فرآورده می‌شود (در تیمارهای این پژوهش مشاهده نشد- جزئیات نشان داده نشده‌اند) اسید استیک هم‌چنین به‌عنوان اسید آلی باکتری‌کش [۴] ممکن است در کاهش قابلیت زیستی باکتری‌های آغازگر نقش داشته باشد. در تیمارهای با pH نهایی ۴، بیش‌ترین درصد این اسید به تیمار ۶WP-۱ مربوط است ولی در تیمارهای با pH نهایی۴/۴ بیش‌ترین مقدار اسید لاکتیک تولید شده مربوط به تیمار ۳WPC- ۱ می‌باشد و کم‌ترین مقدار اسید استیک تولید شده مربوط به تیمار ۶WP- ۱ است (روند عکس دارند). تیمارهای دارای پودر WPC با pH نهایی ۴ حاوی کم‌ترین مقدار اسید استیک هستند و تیمارهایی که تمامی ماده خشک آن‌ها از پودر شیر بی‌چربی (SMP) تشکیل شده است، در حد واسط قرار می‌گیرند. نکته عجیب قابل توجه آن است که با ادامه گرم‌خانه‌گذاری تا رسیدن به pH ۴/۰ قاعدتاً باید بر مقدار اسید استیک نمونه‌ها افزوده شود یا دست کم از مقدار اولیه آن کاسته نشود، حال آن‌که در سه تیمار ۶SMP، ۴SMP و۶WP- ۱ افزایش اسید استیک داریم و در سایر تیمارها از غلظت آن کاسته شده است.

با توجه به جدول ۱ بالاترین اسیدیته نهایی در هر دو pH نهایی ۴ و ۴/۴ مربوط به تیمار ۶SMP است و کم‌ترین مقدار مربوط به تیمار ۳WPC- ۱ است (در هر دو pH روند تغییرات مشابه است). نکته بر خلاف انتظار این است که با ادامه فرآیند تخمیر و رسیدن به pH۴ اسیدیته کاهش پیدا کرده است که ما انتظار افزایش آن را داشتیم.

جدول ۲ نشانگر میانگین سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا همراه با pH، اسیدیته و پتانسیل احیای نهایی محصول طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (۴ °C) در بازه‌های زمانی ۷ روزه است. تیمارهای گزینش‌شده، تیمارهایی بوده‌اند که بیش‌ترین قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها پس از تخمیر را نتیجه داده‌اند (تیمارهای ۶WP-۱، ۶WPC-۱، ۴SMP و ۶SMP). همان‌طور که مشهود است، سرعت افت pH در تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشته است. هم‌چنین بیش‌ترین سرعت افزایش اسیدیته مربوط به تیمارهای دارای مشتقات آب‌پنیر، یعنی ۶WP- ۱ و ۶WPC- ۱ است که می‌تواند به‌طور نسبی فعال‌تر بودن باکتری‌های سنتی ماست (استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دکبرواکِی‌یی زیرگونه بولگاریکوس) در محیط مغذی‌تر دارای پروتئین‌های آب پنیر به مقدار بیش‌تر باشد. با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود که سرعت افزایش پتانسیل احیا در تیمارهای ۶SMP و ۶WP- ۱ به‌طور معنی‌دار و چشمگیر بیش‌تر از دو تیمار دیگر است. سرعت افزایش اسیدیته نیز در تیمارهای حاوی آب پنیر یعنی ۶WP- ۱ و ۶WPC- ۱ به طور چشمگیری بیش‌تر است. pH نهایی در مورد این درمان‌ها اختلاف چشمگیری باهم ندارند. اسیدیته نهایی در دو تیمار حاوی آب پنیر بسیار بیش‌تر از سایر تیمارها بود.

قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی. جدول ۳ قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها پس از پایان تخمیر و جدول ۴ ضرایب تغییر قابلیت زیستی را نشان می‌دهد. در تیمارهای با pH نهایی ۴/۴، بیش‌ترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک به تیمارهای ۶WP- ۱ و ۶SMP و کم‌ترین آن به تیمار ۴WPC- ۱ و سپس سایر تیمارهای دارای پودر WPC مربوط می‌شود. این وضعیت در قابلیت زیستی مجموع پروبیوتیک‌ها (A+B) نیز به‌چشم می‌خورد. به طور کلی قابلیت زیستی در تیمارها با pH نهایی ۴/۴ در مقایسه با تیمارها با pH نهایی ۴ بیش‌تر است. با مراجعه به جدول ۴ می‌توان دریافت که کم‌ترین ضریب تغییر نسبی (ضریب افت) به تیمار ۶WP- ۱ در ۴/۴ pH و سپس با اختلاف نسبتاً زیاد به تیمارهای ۶SMP در ۴/۴ pH و ۳WPC- ۱ در ۴/۰ pH مربوط می‌شود. بیش‌ترین درصد افت سلولی طی تخمیر به تیمارهای ۴WPC- ۱ در ۴/۴ pH و ۴SMP در ۴/۰ pH و سپس تیمارهای ۶WPC- ۱ در ۴/۰ pH و ۴WPC- ۱ در همین pH مربوط است.

جدول ۵ حاکی از قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در چهار تیمار گزینش‌شده از مرحله نخست (بالاترین قابلیت زیستی و

بهترین خواص حسی طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (۴°C) در بازه‌های زمانی ۷ روزه است (pH نهایی ۴/۴ است). تیمار ۶WP ۱- در سرتاسر دوره نگهداری یخچالی (به‌جز یک مورد در خصوص بیفیدوباکتریوم) بیش‌ترین قابلیت هر دو باکتری پروبیوتیک را به‌دست می‌دهد. کم‌ترین جمعیت زنده سلولی طی نگهداری یخچالی برای ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم به ترتیب اساساً در تیمارهای ۴SMP و ۶SMP مشاهده می‌شود. با مراجعه به جدول ۵ می‌توان دریافت که جمعیت سلولی بیفیدوباکتریوم در تمامی تیمارها و سرتاسر دوره نگهداری یخچالی بیش‌تر از ل. اسیدوفیلوس بوده است.

جدول ۶ بیانگر درصد افت یا افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها نسبت به دو نقطه مرجع روز آغاز نگهداری یخچالی (۰ d) و آخرین روز مربوط به هر دوره ۷ روزه نگهداری یخچالی است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در هفت روز نخست دوره نگهداری، جمعیت هر دو باکتری پروبیوتیک در تیمارهای ۴SMP و ۶WPC ۱- و فقط جمعیت بیفیدوباکتریوم در تیمار ۶WP ۱- افزایش یافته است و در سایر موارد کاهش جمعیت سلولی مشاهده می‌شود. بیش‌ترین درصد افزایش قابلیت زیستی در خصوص بیفیدوباکتریوم به تیمار ۴SMP و در خصوص ل. اسیدوفیلوس به تیمار ۶WPC ۱- باز می‌گردد. بیش‌ترین درصد افت باکتری ل. اسیدوفیلوس به تیمار ۶SMP و بیفیدوباکتریوم به تیمار ۶SMP مربوط می‌شود. در هفت روزه دوم نگهداری یخچالی، بیش‌ترین درصد افت در قیاس با پایان هفت روز اول در مورد هر دو باکتری پروبیوتیک به تیمار ۴SMP و کم‌ترین آن به تیمار ۶SMP اختصاص دارد. در قیاس با روز مرجع نخست، بیش‌ترین افت هر دو باکتری به تیمار ۶SMP و کم‌ترین افت‌ها در ارتباط با ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم به ترتیب به تیمارهای ۶WPC ۱- و ۴SMP مربوط می‌شود. در هفت روزه سوم نگهداری، افت جمعیت ل. اسیدوفیلوس در تمامی تیمارها نسبت به روز آغاز نگهداری به نزدیک ۱۰۰٪ می‌رسد، حال آن‌که جمعیت بیفیدوباکتریوم در تیمارها به مراتب بیش‌تر است و افت در تیمار ۴SMP فقط به ۳۳/۹٪ (کم‌ترین افت) و در تیمار ۶SMP به‌عنوان بیش‌ترین افت، به ۹۸/۳٪ رسیده است.

ارزیابی حسی. به منظور ارزیابی حسی به مقایسه دو به دو و مرحله‌ای تیمارها صورت گرفت. به این صورت که هر مرحله از آزمون‌های دوتایی، تیمار/تیمارهای بهینه انتخاب شده و سپس با سایر تیمارها مقایسه می‌شوند تا تیمار بهینه نهایی به‌دست آید. در مرحله نخست، پذیرش کلی تیمار ۴/۴- ۶SMP بیش از ۴/۰- ۶SMP بوده است و تیمار دوم ترش‌تر تشخیص داده شده است پذیرش کلی تیمار ۴/۰- ۴SMP بیش‌تر از ۴/۴- ۴SMP بوده است و تیمار دوم به عنوان تیمار «بی‌طعم» شناخته شده است. ادامه تخمیر تا رسیدن به pH ۴/۰ بر درجه پذیرش کلی به‌طور معنی‌دار افزوده است ولی شوری آن کاهش یافته است. درک شدت رایحه در تیمارهای ۴/۴- ۶SMP و ۴/۰- ۶SMP یکسان بود. مرحله سوم نشان می‌دهد که ۲٪ افزایش ماده خشک سبب بیش‌تر شدن معنی‌دار گرانروی ظاهری حسی در محصول می‌شود. باتوجه به آن‌که گروه ارزیاب حسی میان دو تیمار ۴/۴- ۶SMP و ۴/۰- ۴SMP، تیمار بهینه انتخاب نکرده است، در مرحله بعد به این دو تیمار ۰/۰۲٪ روغن اسانسی نعنا اضافه شده و آزمون بار دیگر تکرار شده است. مشاهده می‌شود که تفاوت هم‌چنان معنی‌دار نیست. علاه بر این مقایسه دوتایی تیمارهای ۶SMP (به‌عنوان یکی از برگزیدگان مرحله قبل) و ۶WP ۱- در pHهای نهایی یکسان و در دو حالتِ بدون افزودن نمک و اسانس یا با افزودن نمک به میزان ۰/۴٪ و اسانس به میزان ۰/۰۱٪ صورت گرفت. ملاحظه می‌شود که تفاوت میان هیچ‌یک از تیمارها معنی‌دار نیست. تا این مرحله، تیمارهای ۴/۴- ۶SMP، ۴/۰-۴SMP و ۴/۴- (۱- WP6) به‌عنوان تیمارهای دارای بهترین خواص حسی انتخاب می‌شوند. تیمار ۶SMP در دو pH نهایی ۴/۴ و ۴/۰ با تیمار ۶WPC ۱- در همین دو pH مقایسه شد و مشاهده شد که تیمار بهینه در هر دو مرحله مقایسه، تیمار ۶SMP در دو pH نهایی ۴/۰ و ۴/۴ بوده است. گرانروی ظاهری حسی در تیمارهای دارای پودر WPC به‌طور معنی‌دار بیش‌تر بوده

است، اما وجود بافت دانه‌ای از مطلوبیت آن‌ها می‌کاهد. بافت این تیمارها حتی پس از هم‌زنی با هم‌زن نیز به‌طور یک‌نواخت همگن نشد. بافت تیمارهای ۶٪ پیش از هم‌زدن هم‌چون ماست قالبی تشکیل ژل داده بود و تنش تسلیم برای ایجاد جریان یک‌نواخت و سرتاسری در ظرف نمونه طی هم‌زنی به‌طور قابل توجه بالا بود. سفت‌بودن و ناروان بودن بافت در تیمارهای دارای پودر WPC (به‌ویژه ماده خشک ۶٪) تاحدی بوده است که گرانروی دهانی آن‌ها به‌طور معنی‌دار بیش‌تر از تیمار ۶SMP تشخیص داده شده است. بافت دانه‌ای و زبر (با لطافت کم‌تر) این تیمارها از خوشایند بودن احساس دهانی آن‌ها به‌عنوان دوغ به‌طور معنی‌دار کاسته است. هم‌چنین افزودن ۱٪ پودر WPC به‌طور معنی‌دار سفیدی بافت دوغ را افزایش می‌دهد. لازم به ذکر است که به دلیل گرانروی و پیوستگی بالای بافت این تیمارها، حساسیت به کف‌دارشدن آن‌ها به‌ویژه پس از تکان‌دادن، هم‌زدن، همگن‌کردن یا پمپ‌کردن در خطوط صنعتی افزایش می‌یابد. در ادامه تیمارهای ۱- ۳WPC و ۱- ۴WPC در pHهای نهایی ۴/۴ و ۴/۰ با یک‌دیگر مقایسه شده‌اند. تیمار ۴/۰-(۱- ۳WPC) از ترشی تیز و زننده که برخوردار بود. تیمار ۴/۴-(۱- ۳WPC) طعمی مرده و بی‌طعم با ویژگی گچی داشت. مقایسه این تیمار با تیمار ۴/۰-(۱- ۴WPC) در مرحله بعد، برتر دانستن تیمار اخیر را نتیجه داد. سپس تیمار اخیر با تیمار ۴/۴-(۱- ۴WPC) مقایسه شد و به رغم ترش‌تر بودن، هیچ‌یک از دو تیمار برتر شناخته نشد. در ادامه دو نمونه مورد بحث بار دیگر پس از افزودن ۰/۴٪ نمک و ۰/۰۱٪ اسانس نعنا مقایسه شدند. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تیمار ۴/۴-(۱- ۴WPC) بر ۴/۰-(۱- ۴WPC) ارجح دانسته شد. در جدول ۷، تیمارهای ۴/۰- ۴SMP و ۴/۰-(۱- ۴WPC) با یک‌دیگر مقایسه شده‌اند. نمونه‌ها همگن نشده‌اند اما به‌خوبی با هم‌زن هم‌زده شده‌اند. هم‌چنین مقدار نمک از ۰/۵٪ به ۰/۴٪ و مقدار اسانس از ۰/۰۲٪ به ۰/۰۱٪ کاهش داده شد. در این شرایط تفاوت معنی‌دار میان تیمارها مشاهده نشد.

جدول ۱. مدت زمان تخمیر، مقدار اسیدیته قابل تیتر، پتانسیل احیا و مقدار اسید استیک تیمارها در پایان تخمیر (تا pH های ۴/۴ و ۴/۰)*.

تیمار	سرعت افت pH /دقیقه) pH (واحد		سرعت افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/دقیقه)		سرعت افزایش اسیدیته (درجه درنیک/دقیقه)		زمان گرمخانه گذاری (دقیقه)		درصد اسید استیک		اسیدیته نهایی (درجه درنیک)	
	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰
۶-SMP**	۰/۰۰۷^{bcA}	۰/۰۰۵^{abB}	۰/۴۳^{eA}	۰/۳۰^{dB}	۰/۱۶^{bA}	۰/۱۳^{bB}	۳۰۰^{a}	۵۱۰^{a}	۰/۰۵^{b}	۰/۰۴^{ab}	۵۶/۵^{a}	۷۷/۵^{a}
۴-SMP	۰/۰۰۸^{bA}	۰/۰۰۶^{aB}	۰/۴۹^{cA}	۰/۳۴^{bB}	۰/۱۲^{cA}	۰/۱۰^{cB}	۲۶۵^{b}	۴۵۰^{c}	۰/۰۵^{b}	۰/۰۴^{ab}	۴۴/۰^{b}	۵۳/۳^{c}
۶-(WPC-۱)	۰/۰۰۸^{bA}	۰/۰۰۶^{aB}	۰/۴۹^{cA}	۰/۳۴^{bB}	۰/۱۷^{aA}	۰/۱۵^{aB}	۲۷۰^{b}	۴۵۰^{c}	۰/۰۲^{c}	۰/۰۴^{ab}	۵۵/۹^{a}	۷۷/۰^{a}
۶-(WP-۱)	۰/۰۰۸^{bA}	۰/۰۰۵^{abB}	۰/۴۷^{dA}	۰/۳۲^{cB}	۰/۱۷^{aA}	۰/۱۵^{aB}	۲۶۷^{b}	۴۵۰^{c}	۰/۰۷^{a}	۰/۰۳^{b}	۵۶/۱^{a}	۷۵/۶^{ab}
۴-(WPC-۱)	۰/۰۰۹^{abA}	۰/۰۰۵^{abB}	۰/۵۳^{bA}	۰/۳۴^{bB}	۰/۱۲^{cA}	۰/۰۹^{cB}	۲۶۵^{b}	۴۸۰^{b}	۰/۰۲^{c}	۰/۰۴^{ab}	۳۹/۶^{bc}	۴۹/۹^{cd}
۳-(WPC-۱)	۰/۰۱۰^{aA}	۰/۰۰۶^{ab}	۰/۵۷^{aA}	۰/۳۵^{aB}	۰/۱۰^{dA}	۰/۰۷^{dB}	۲۳۸^{c}	۴۸۰^{b}	۰/۰۲^{c}	۰/۰۵^{a}	۲۹/۰^{d}	۳۸/۶^{e}

* میانگین هایی که در یک ردیف با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنی دار با یکدیگر متفاوتند (p <۰/۰۵). ** ۶-SMP = ۶ درصد ماده خشک از پودر شیر بی چربی، ۴-SMP = ۴ درصد ماده خشک از پودر شیر بی چربی. (۱-WPC) -۶ = ۶ درصد ماده خشک دارای ۱ درصد پودر تغلیظ شده پروتئین آب پنیر . (۱-WP) -۶ = ۶ درصد ماده خشک دارای ۱ درصد پودر پروتئین آب پنیر . (۱-WPC) -۴ = ۴ درصد ماده خشک دارای ۴ درصد پودر تغلیظ شده پروتئین آب پنیر . (۱-WPC) -۳ = ۳ درصد ماده خشک دارای ۱ درصد پودر تغلیظ شده پروتئین آب پنیر.

جدول ۲. میانگین سرعت های کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیای تیمارها همراه با pH و اسیدیته نهایی آنها در سرتاسر ۲۱ روز دوره نگهداری یخچالی در ۴°C (pH اولیه = ۴/۴).

تیمار	سرعت افتpH (واحدpH/روز)	سرعت افزایش اسیدیته (درجه درنیک/روز)	سرعت افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/روز)	pH نهایی	اسیدیته نهایی
۶-SMP	۰/۰۰۴^{a}	۱/۰۳^{d}	۰/۴۲^{ab}	۴/۲۸۸^{ab}	۷۸/۳^{b}
۴-SMP	۰/۰۰۳^{a}	۱/۲۰^{c}	۰/۲۴^{c}	۴/۲۹۲^{a}	۶۹/۳^{c}
۶-(WPC-۱)	۰/۰۰۴^{a}	۱/۵۸^{ab}	۰/۲۸^{c}	۴/۲۹۰^{a}	۸۹/۲^{a}
۶-(WP-۱)	۰/۰۰۴^{a}	۱/۶۳^{a}	۰/۴۷^{a}	۴/۲۹۱^{a}	۹۰/۰^{a}

جدول ۳. قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در تیمارها در pH های ۴/۴ و ۴/۰ در پایان دوره تخمیر*.

تیمارها	شمارش زنده پروبیوتیک ها (log cfu/ml)					
	ل. اسیدوفیلوس		*بیفیدوباکتریوم*		مجموع پروبیوتیک ها	
	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰	pH۴/۴۰	pH۴/۰۰
۶-SMP	۵/۵۴ ^{bA}	۵/۲۲^{cB}	۶/۲۵^{aA}	۵/۶۷^{bcB}	۶/۳۳^{aA}	۵/۸۰^{bB}
۴-SMP	۵/۰۲ ^{cA}	۴/۶۵^{fB}	۵/۷۳^{dA}	۵/۰۳^{eB}	۵/۸۴^{cA}	۵/۱۸^{dB}
۶-(WPC-۱)	۴/۹۸^{eA}	۴/۸۸^{dB}	۶/۰۴^{cA}	۵/۷۲^{bB}	۶/۰۸^{bA}	۵/۷۸^{bB}
۶-(WP-۱)	۵/۷۶^{aA}	۵/۴۶^{abB}	۶/۱۸^{abA}	۵/۵۲^{dB}	۶/۳۲^{aA}	۵/۷۹^{bB}
۴-(WPC-۱)	۴/۰۰ ^{fB}	۴/۷۸^{eA}	۵/۱۲^{eB}	۵/۵۴^{dA}	۵/۱۶^{dB}	۵/۶۱^{cA}
۳-(WPC-۱)	۵/۰۹ ^{db}	۵/۵۱^{aA}	۵/۷۷^{dAB}	۵/۸۲^{aA}	۵/۸۱^{cB}	۵/۹۹^{aA}

جدول ۴. ضرایب تغییر قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک در تیمارها بلافاصله پس از تخمیر تا pH های نهایی ۴/۴ و ۴/۰.

تیمارها	pH نهایی تخمیر	ضریب تغییر نسبی			ضریب سرعت تغییر (±log cfu/min)			ضریب نسبت تغییر		
		A	B	A+B	A	B	A+B	A	B	A+B
۶-SMP**	۴/۴۰	-۰/۷۸	-۰/۳۵	-۰/۵۱	-۳/۶۲	-۳/۵۱	-۳/۸۷	+۰/۲۱	۰/۶۴	۰/۴۹
	۴/۰۰	-۰/۸۹	-۰/۸۳	-۰/۸۵	-۲/۵۱	-۳/۶۵	-۳/۸۶	+۰/۱۰	۰/۱۷	۰/۱۴
۴-SMP	۴/۴۰	-۰/۸۹	-۰/۷۹	-۰/۸۳	-۳/۷۴	-۳/۹۲	-۴/۱۴	+۰/۱۰	۰/۱۹	۰/۱۶
	۴/۰۰	-۰/۸۹	-۰/۹۵	-۰/۹۵	-۳/۵۵	-۳/۷۷	-۳/۹۷	+۰/۰۳	۰/۰۴	۰/۰۳
۶-(WPC-۱)	۴/۴۰	-۰/۹۳	-۰/۰۶	-۰/۷۲	-۳/۷۵	-۳/۷۹	-۴/۰۷	+۰/۰۶	۰/۰۴	۰/۲۸
	۴/۰۰	-۰/۹۵	-۰/۸۱	-۰/۸۷	-۳/۵۴	-۳/۷۰	-۳/۹۳	+۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۱۴
۶-(WP-۱)	۴/۴۰	-۰/۶۴	-۰/۴۵	-۰/۵۲	-۳/۵۹	-۳/۶۶	-۳/۹۳	+۰/۳۵	۰/۵۵	۰/۴۸
	۴/۰۰	-۰/۸۱	-۰/۸۷	-۰/۸۵	-۳/۴۷	-۳/۷۳	-۳/۹۲	+۰/۱۸	۰/۱۲	۰/۱۴
۴-(WPC-۱)	۴/۴۰	-۰/۹۸	-۰/۹۵	-۰/۹۵	-۳/۷۸	-۴/۰۰	-۴/۲۰	+۰/۰۱	۰/۰۵	۰/۰۳
	۴/۰۰	-۰/۹۵	-۰/۸۷	-۰/۹۱	-۳/۵۱	-۳/۷۰	-۳/۹۲	+۰/۰۴	۰/۱۲	۰/۰۹
۳-(WPC-۱)	۴/۴۰	-۰/۹۳	-۰/۷۹	-۰/۸۵	-۳/۸۰	-۳/۹۶	-۴/۱۹	+۰/۰۸	۰/۲۱	۰/۱۵
	۴/۰۰	-۰/۷۹	-۰/۷۶	-۰/۷۸	-۳/۴۳	-۳/۶۴	-۳/۸۵	+۰/۰۲	۰/۲۴	۰/۲۲

جدول۵. قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک (log cfu/mL) در تیمارها طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (۴^{oC}) در بازه های ۷ وزه

تیمارها	پروبیوتیک ها	زمان نگهداری(روز)			
		۰***	۷	۱۴	۲۱
۶-SMP**	A****	۵/۵۴^{e}	۴/۵۴^{j}	۳/۹۴^{j}	۱/۸۶^{e}
	B	۶/۲۵^{b}	۵/۷۷^{g}	۵/۶۳^{e}	۴/۴۹^{d}
	A+B	۶/۳۳^{a}	۶/۲۸^{i}	۶/۱۵^{a}	۴/۷۰^{c}
۴-SMP	A	۵/۲۰^{f}	۴/۰۴^{g}	۲/۶۶^{d}	۱/۷۲^{g}
	B	۵/۷۲^{cd}	۶/۷۱^{a}	۵/۹۸^{ab}	۵/۵۵^{a}
	A+B	۵/۸۴^{c}	۶/۷۲^{a}	۵/۹۹^{b}	۵/۵۶^{a}
۶-(WP-۱)	A	۵/۷۶^{c}	۶/۰۲^{d}	۵/۰۵^{f}	۱/۹۹^{ef}
	B	۶/۱۸^{b}	۶/۲۶^{c}	۵/۹۶^{b}	۵/۵۴^{a}
	A+B	۶/۳۲^{a}	۶/۴۶^{b}	۶/۱۰^{a}	۵/۵۵^{a}
۶-(WPC-۱)	A	۴/۹۸^{g}	۵/۳۰^{ef}	۴/۷۲^{i}	۱/۹۶^{f}
	B	۶/۰۴^{c}	۶/۲۲^{e}	۵/۷۷^{d}	۵/۴۰^{b}
	A+B	۶/۰۸^{c}	۶/۳۵^{c}	۵/۸۹^{c}	۵/۴۱^{b}

جدول۶. درصد افت/افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک ها طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی در بازه های زمانی ۷ روزه، در مقایسه با دو نقطه مرجع پایان دوره تخمیر و روز پایانی هر دوره ۷ روزه.

تیمارها	پروبیوتیک ها	روزهای نگهداری				
		۰-۷	۷-۱۴		۱۴-۲۱	
		LP_0/IP_0 (%)*	LP_0/IP_0 (%)	$LP_۷/IP_۷$ (%)	LP_0/IP_0 (%)	$LP_{۱۴}/IP_{۱۴}$ (%)
۶-SMP	B	-۶۶/۸	-۷۶/۰	-۲۷/۶	-۹۸/۳	-۹۲/۸
	A+B	-۱۰/۹	-۳۳/۹	-۲۵/۹	-۹۷/۶	-۹۶/۴
	A	-۹۳/۱	-۹۹/۷	-۹۵/۸	-۹۹/۹(≈۱۰۰)	-۸۸/۵
۴-SMP	B	+۸۵۵/۰	+۸۲/۰	-۸۰/۹	-۳۳/۹	-۶۲/۸
	A+B	+۶۵۸/۶	+۳۸/۰	-۸۱/۸	-۴۷/۵	-۶۲/۸
	A	+۸۲/۰	-۸۰/۵	-۸۹/۳	-۹۹/۹(≈۱۰۰)	-۹۶/۷
۶-(WPC-۱)	B	+۲۰/۲	-۳۹/۷	-۴۹/۹	-۷۷/۱	-۶۲/۰
	A+B	+۳۸/۰	-۳۹/۷	-۵۶/۳	-۸۳/۰	-۷۱/۸
	A	+۱۰۸/۹	-۴۵/۰	-۷۳/۷	-۹۹/۹(≈۱۰۰)	-۹۹/۸
۶-(WP-۱)	B	+۵۱/۴	-۴۶/۳	-۶۴/۵	-۷۷/۱	-۵۷/۳
	A+B	+۸۶/۲	-۳۵/۴	-۶۵/۳	-۷۸/۶	-۶۶/۹
	A	-۹۰/۰	-۹۷/۵	-۷۴/۹	-۹۹/۹≈(۱۰۰)	-۹۹/۲

* IP/LP = ضریب افت یا ضریب افزایش ([جمعیت اولیه /جمعیت اولیه – جمعیت ثانویه] × ۱۰۰)

جدول ۷. آزمون حسی " مقایسه دوتایی" میان دو تیمار بهینه گزینش شده پس از افزودن نمک و اسانس*.

نمونه های مورد مقایسه		تفاوت در شاخص ها								
A	B	ترشی	طعم نامطلوب	گرانروی ظاهری حسی	یکدستی و یکنواختی بافت	گرانروی دهانی	خوشایندی حس دهانی	نخی بودن	کدری	شوری	شدت رایحه	پذیرش کلی
۴-SMP-۴/۰	۴-(WPC-۱)-۴/۴	A>B (p<۰/۰۵)	_**	B>A (p<۰/۰۱)	A>B (p<۰/۰۵)	B>A (p<۰/۰۵)	_***	-	A>B (p<۰/۰۱)	-	-	_***

* به تمامی نمونه ها ۰/۴۵٪ نمک و ۰/۰۱٪ اسانس کاکوتی/نعنا اضافه شده است. همه تیمارها همگن نشده‌اند، اما برای یکنواخت شدن در شرایط یکسان به آرامی تکان داده شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

ویژگی‌های بیوشیمایی. باتوجه به نتایج مشاهده می‌شود که در تیمارهای با pH نهایی ۴، بیش‌ترین سرعت کاهش pH مربوط به تیمار ۱- ۳WPC و کم‌ترین مربوط به تیمار ۶SMP است. علت آن کم‌تر بودن درصد ماده خشک در تیمار نخست و در نتیجه ظرفیت تامپونی پایین‌تر آن در قیاس با تیمار دوم است. تیمار ۱- ۴WPC پس از تیمار ۱- ۳WPC در مقام دوم قرار دارد. جالب توجه آن‌که شاخص یادشده در خصوص تیمارهای ۴SMP، ۱-۶WPC و ۱- ۶WP یکسان است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ظرفیت تامپونی پودر آب پنیر (WP) و پودر تغلیظ‌شده پروتئین آب‌پنیر (پودر WPC) تفاوت معنی‌دار نداشته‌اند. در مقابل، پودر شیر از ظرفیت تامپونی بالا برخوردار بوده است، زیرا مقادیر تیمار ۴SMP با تیمارهای ۱- ۶WPC و ۱- ۶WP از نظر آماری یکسان بوده است. ظرفیت تامپونی بالای پودر شیر قاعدتاً باید به پروتئین کازئین آن مربوط شود تا پروتئین‌های آب پنیر؛ زیرا افزایش درصد ماده خشک با پروتئین‌های اخیر تفاوت معنی‌دار به‌دست نداده است. این واقعیت در متون علمی نیز مورد اشاره قرار گرفته است [۱۹].

با توجه به جدول ۱مشاهده می‌شود که بیش‌ترین سرعت افزایش اسیدیته قابل تیتر طی تخمیر تا pH نهایی ۴/۴ به تیمارهای ۱- ۶WPC و ۱- ۶WP مربوط می‌شود و تیمار ۶SMP در مقام بعد و تیمار ۱- ۳WPC در رده آخر قرار می‌گیرد از آن جایی که میزان ظرفیت بافری با شاخص مورد بحث هم‌بستگی مستقیم دارد. بر اساس این منطق، بیش‌ترین سرعت اسیدی‌شدن می‌بایست در تیمار ۶SMP مشاهده می‌شد نه تیمارهای دارای یک درصد مشتقات آب پنیر. این خاصیت را می‌توان چنین توجیه کرد که در سطوح به اندازه بالا کافی پودر شیر (SMP) در فرمول‌بندی دوغ، مقوی‌سازی با ۱٪ پروتئین‌های آب پنیر اثر تحریک‌کننده بر باکتری‌های آغازگر

دارد، زیرا این پروتئین‌ها از اسیدهای آمینه ضروری برای رشد و/ یا فعالیت باکترها غنی هستند. از این گذشته در شرایطی که مقدار فرآیند گرمایی به اندازه کافی بالا بوده باشد، بر مقدار پپتیدهای کوتاه- زنجیر و اسیدهای آمینه آزاد در شیر افزوده می‌شود که این ترکیبات محرک رشد باکتری‌ها هستند [۲۱،۲۰]. تیمار ۱- ۳WPC به‌سبب دارا بودن کم‌ترین مقدار ماده خشک، کم‌ترین سرعت اسیدی شدن را نیز داراست که علت آن را باید از یک سو در کاهش ظرفیت تامپونی و از سوی دیگر کاهش ارزش مغذی شیر برای باکتری‌های آغازگر بررسی کرد. در تیمارهای با pH نهایی ۴، بیش‌ترین سرعت افزایش پتانسیل احیا در تیمار ۱- ۳WPC و کم‌ترین آن در تیمار ۶SMP مشاهده می‌شود. به‌عنوان قاعده‌ای کلی، روند افزایش شاخص مورد بحث با شاخص اسیدی شدن بایستی موازی باشد، از آن‌رو که اسیدها باعث افزایش پتانسیل احیای محیط می‌شوند. بنابراین بیش‌تر بودن سرعت افزایش پتانسیل احیا در تیمار ۱- ۳WPC که کم‌ترین سرعت افزایش اسیدیته را دارد، باید توجیه دیگری داشته باشد. علت این ویژگی به احتمال زیاد پایین بودن درصد ماده خشک شیر است، زیرا همان‌گونه که اشاره شد ماده خشک پروتئینی بالاتر به‌ویژه چنان‌چه فرآیند گرمایی دوغ‌سازی به اندازه کافی شدید باشد، با آزادسازی اسیدهای آمینه آزاد، پپتیدهای کوچک و گروه‌های تیول [۱۳] از افزایش سریع پتانسیل احیا جلوگیری می‌کند. روابط عنوان شده در ارتباط با تیمارهای با pH نهایی ۴/۴ در خصوص شاخص‌های سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا دارای مطابقت اساسی است، حال آن‌که در مورد شاخص سرعت کاهش pH تفاوت‌های بنیادی وجود دارد. برای مثال تیمارهای ۴SMP و ۱- ۶WPC که در تیمارهای با pH نهایی ۴/۴ در رتبه دوم قرار داشته‌اند، در تیمارهای با pH نهایی ۴/۰ در رتبه نخست قرار گرفته‌اند و به‌طور کلی اختلاف معنی‌دار میان بیش‌ترین و کم‌ترین تیمار بسیار اندک است. این مشاهده می‌تواند بدین صورت توجیه شود که در پایین pH۴/۴، در نمونه‌هایی که به سبب درصد ماده خشک بالاتر دارای ظرفیت تامپونی به همان نسبت بالاتر نیز بوده‌اند، از ظرفیت تامپونی به‌تدریج کاسته شده تا آن‌جا که سرعت کاهش pH برای مثال در نمونه دارای ماده خشک ۶٪ به نمونه حاوی ماده خشک ۳٪ بسیار نزدیک می‌شود. به سخن دیگر، هم‌بستگی درصد ماده خشک با ظرفیت بافری شیر همگام با کاهش pH، کاهش می‌یابد.

یکسان بودن مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری در ارتباط با تیمارهای ۴SMP و ۱- ۶WPC می‌تواند نشان‌دهنده ظرفیت بافری نسبتاً مشابه آن‌ها و در نتیجه نقش بیش‌تر پروتئین‌های کازئین در قیاس با پروتئین‌های آب‌پنیر در افزایش ظرفیت بافری شیر باشد. البته فرضیه دیگری را نیز می‌توان حتی با صحت بیش‌تر از فرضیه نخست یا همراه با آن در نظر گرفت. از آن‌جا که افزودن پودر WPC می‌تواند سبب تحرک رشد و/ یا فعالیت باکتری‌های آغازگر (پروبیوتیک‌ها و/ یا باکتری‌های سنتی ماست) شود، مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری کاهش می‌یابد [۱۹]. از همین‌روست که این شاخص در تیمارهای ۱- ۶WPC و ۴SMP تفاوت معنی‌دار ندارد، اما در تیمار نخست بیش از تیمار ۶SMP (با ماده خشک یکسان) است. هم‌چنین مراجعه به جدول ۱ آشکار می‌سازد که سرعت اسیدسازی در تیمار ۱- ۶WPC در هر دو pH نهایی به‌طور معنی‌دار از تیمارهای ۴SMP و ۶SMP بیش‌تر است. با این وجود، سرعت افزایش اسیدیته در ارتباط با تیمارهای ۴SMP و ۱- ۴WPC تفاوت معنی‌دار ندارد. سرعت کاهش pH در تیمار ۱- ۴WPC در pH نهایی ۴/۴ بیش‌تر و در pH نهایی ۴/۰ کم‌تر است. تیمار ۱- ۳WPC به‌سبب دارا بودن پایین‌ترین ظرفیت بافری دارای پایین‌ترین میزان اسیدیته قابل تیتر پس از تخمیر در هر دو pH نهایی ۴/۰ و ۴/۴ است، حال آن‌که مقدار مورد نظر در خصوص تیمارهای با ظرفیت بافری بالاتر به‌طور معنی‌دار بیش‌تر است. با توجه به نتایج به‌دست آمده مشاهده می‌شود که با ادامه گرم‌خانه‌گذاری تا رسیدن به pH ۴/۰ قاعدتاً باید بر مقدار اسید استیک نمونه‌ها افزوده شود یا حداقل از مقدار اولیه آن کاسته نشود، حال آن‌که در تیمارهای ۱- ۴WPC و ۱- ۶WPC از غلظت آن کاسته شده است. بیش‌ترین کاهش اسیدیته نهایی در خصوص تیمار دارای پودر

آب‌پنیر مشاهده می‌شود. چنین خاصیتی در نتایج منتشرشده توسط آدهی‌کاری و همکاران (۲۰۰۰) در نمونه‌های ماست نگهداری شده در $4/4^{\circ}C$ طی ۳۰ روز قابل مشاهده است، هر چند این پدیده در مقاله آن‌ها مورد اشاره و بحث قرار نگرفته است. به‌نظر می‌رسد کاهش اسید استیک بایستی با پاره‌ای از اتصالات شیمیایی ایجاد شده مولکول‌های این اسید با پروتئین کازئین نقش داشته و به pH نیز وابسته باشد. بر اساس یک فرضیه می‌توان چنین تصور کرد که پس از افت pH پایین pH هم‌بار (ایزوالکتریک) میسل‌های کازئین (حدود ۴/۶-۴/۵)، بار خالصِ غالبِ آن‌ها را بارهای مثبت تشکیل می‌دهند و مولکول‌های اسید استیک یونیزه‌شده یا یونیزه‌نشده که به ترتیب به‌طور خالص یا غیرخالصِ پاره‌ای، دارای بار منفی هستند به بخش‌های مختلف این میسل‌ها متصل شده و در روش استخراج این اسید از محصول، همراه با پروتئین‌های منعقدشده در فاز رسوب باقی می‌مانند و به فاز شفاف که به HPLC تزریق می‌شود، راه نمی‌یابند. هنگامی که پودر تغلیظ‌شده پروتئین آب‌پنیر به تیمارها افزوده می‌شود، بر مقدار پروتئین‌های آب‌پنیر در شیر دوغ‌سازی به‌طور چشمگیر افزوده می‌شود. در حین فرآیند گرمایی شیر، این پروتئین‌ها به مقدار بیش‌تر با اتصال به یک‌دیگر و در نهایت به سطح میسل‌های کازئین به‌وسیله کمپلکس بتا-لاکتوگلوبولین/کاپا-کازئین، راه اتصال مولکول‌های اسید استیک به سطح میسل‌ها را در pHهای کم‌تر از ۴/۴ طی تخمیر مسدود می‌کنند و مولکول‌های این اسید برای استخراج در روش مربوط باقی می‌مانند. حال این پرسش مطرح می‌شود که چرا چنین ویژگی‌ای برای اسید لاکتیک صادق نیست (جدول۱). پاسخ ممکن است تفاوت در روش اندازه‌گیری (تیترکردن با سود) یا ابعاد هندسی یا ویژگی‌های الکتریکی این اسید در مقایسه با اسید استیک باشد.

قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها

در منابع گوناگون اشاره شده است که افزودن مشتقات آب‌پنیر به شیر پایه به دلایل مقوی‌سازی ازته (به‌ویژه اسیدهای آمینه ضروری)، کاهش پتانسیل احیا و مقوی‌سازی یون‌های پتانسیم (به‌ویژه) و منیزیم، بر رشد و قابلیت زیستی هر دو باکتری ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم اثر مثبت دارد [۲۲-۲۴]. از آن‌جایی که نیاز بیفیدوباکتریوم به مکمل‌های رشد یعنی ازت آلی کوچک مولکول بیش‌تر از اسیدوفیلوس است، در تیمارهای حاوی آب پنیر به دلیل وجود این مواد رشد آن‌ها پیشی می‌گیرد. اما نتایج حاصل از این پژوهش آشکار می‌سازند که این ترکیبات ممکن است بیش از آن‌که رشد و/ یا فعالیت پروبیوتیک‌ها را تقویت کنند، در کشت‌های مخلوط حاوی باکتری‌های سنتی ماست، به افزایش جمعیت باکتری‌های اخیر منجر شوند؛ به‌ویژه آن‌که باکتری‌های سنتی ماست از نظر متابولیک نسبت به پروبیوتیک‌ها فعال‌تر بوده و عموماً در رقابت با آن‌ها تواناتر هستند. نتیجه، کاهش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها خواهد بود. البته کم و کیف اثرگذاری مشتقات آب‌پنیر بر قابلیت زیستی به نوع این ترکیبات، سویه باکتری‌های مورد استفاده و شرایط فرآورده بستگی دارد. این موضوع که کاهش مدت زمان گرم‌خانه‌گذاری در تیمار ۱- ۶WPC و یکسان بودن آماری آن با تیمار ۴SMP می‌تواند به‌سبب افزایش فعالیت و/ یا رشد باکتری‌های سنتی ماست و نه پروبیوتیک‌ها باشد، دور از منطق نیست؛ زیرا از یک سو جمعیت باکتری‌های اخیر در تیمار ۱- ۶WPC پایین بوده است و از سوی دیگر تیمارهای دارای پودر WPC کم‌ترین درصد اسیداستیک را داشته‌اند. با مراجعه به جدول ۱در می‌یابیم که دو تیمار ۱- ۶WP و ۶SMP که بیش‌ترین قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها را نتیجه داده‌اند، دارای بیش‌ترین درصد اسید استیک نیز هستند. با مقایسه قابلیت زیستی تیمارها در pH ۴/۰ (در مقایسه با pH ۴/۴) می‌توان دریافت که بیش‌ترین و کم‌ترین تیمارها اساساً متفاوتند. برای مثال بیش‌ترین قابلیت زیستی باکتری ل. اسیدوفیلوس مربوط به تیمار ۱- ۳WPC است که در ستون با pH ۴/۴ دارای کم‌ترین قابلیت زیستی بود. همین ویژگی درخصوص بیفیدوباکتریوم نیز صادق است. تیمارهای ۱- ۶WP و ۶SMP که در ستون با pH ۴/۴ بیش‌ترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک را دارا بودند، در ستون با pH ۴/۰ به‌ویژه

درخصوص بیفیدوباکتریوم در مقام‌های بعد قرار گرفته‌اند. علت این مشاهده را می‌توان به‌صورت زیر بیان کرد: از آن‌جا که در تیمار دارای کم‌ترین درصد ماده خشک و کم‌ترین ظرفیت بافری ۱- ۳WPC طی تخمیر، pH در مقایسه با سایر تیمارها به سرعت افت می‌کند و به pH نهایی ۴/۴ می‌رسد (مدت‌زمان گرم‌خانه‌گذاری تیمارها در جدول ۱ قابل مقایسه است)، اسیدیته هنوز افزایش کافی برای غیرفعال کردن باکتری‌ها نیافته (جدول ۱) و اثر پادیاری زیستی باکتری‌های سنتی ماست بر پروبیوتیک‌ها نیز ازجمله به‌دلیل کم‌تر ترشح کردن ترکیبات ضدمیکروبی همچون پراکسید هیدروژن شدت نیافته است؛ حال آن‌که در سایر تیمارها به سبب طولانی‌تر شدن مدت زمان تخمیر، به‌ویژه اثر پادیاری زیستی یک‌جانبه باکتری‌های سنتی ماست (به‌ویژه Lb) بر پروبیوتیک‌ها شدت می‌یابد. از این‌رو تداوم تخمیر تا pH ۴/۰ سبب افت قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها می‌شود به‌همین دلیل است که در ارتباط با هر دو باکتری پروبیوتیک، قابلیت زیستی برای چهار تیمار ۶SMP، ۴SMP، ۱-WPC ۶ و ۱- ۶WP در pH ۴/۴ بیش از pH ۴/۰ است؛ اما برای دو تیمار دیگر، عکس این وضعیت صدق می‌کند. نتایج این مشاهده در تحقیق دیگری که قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را در دوغ پروبیوتیک در دو pH ۴/۵ و ۴/۰ اندازه‌گیری کرده بود،هم‌خوانی داشت [۲۵].

با مراجعه به جدول ۵ می‌توان دریافت که جمعیت سلولی بیفیدوباکتریوم در تمامی تیمارها و سرتاسر دوره نگهداری یخچالی بیش‌تر از ل. اسیدوفیلوس بوده است. علت بالاتر بودن چشمگیر جمعیت بیفیدوباکتریوم در مقایسه با باکتری پروبیوتیک دیگر در پایان نگهداری یخچالی بیش‌تر بودن جمعیت زنده این باکتری پس از تخمیر (هنگام ورود به نگهداری یخچالی)، افزایش درصد قابلیت زیستی طی نگهداری یخچالی در برخی تیمارها (جدول ۶) و احتمالاً مقاومت بیش‌تر این باکتری به شرایط نامناسب فرآورده در این دوره است. برای مثال گزارش شده است که پراکسید هیدروژن تولید شده توسط باکتری ل. دلبرواکی زیرگونه بولگاریکوس عامل اصلی افت شگرف باکتری مورد نظر به‌ویژه طی نگهداری یخچالی در کشت‌های مخلوط ABY است [۲۷،۲۶]. در ضمن pH نهایی تیمارها در انتهای دوره نگهداری یخچالی تا آن حد کاهش نیافته است که مرگ بالای بیفیدوباکتریوم‌ها را نتیجه دهد (جدول ۲).

ویژگی‌های حسی

در مرحله نخست ارزشیابی حسی، پذیرش کلی تیمار ۶SMP -۴/۴ بیش از ۶SMP -۴/۰ بوده است. به‌دلیل توسعه یافتگی بیش‌تر اسیدیته در تیمار دوم، این تیمار ترش‌تر تشخیص داده شده است، اما شوری آن کم‌تر درک می‌شود. علت این خاصیت اثر پوشانندگی اسیدیته و pH پایین بر سایر طعم‌ها از جمله شوری است [۱۳]. در مرحله دوم ارزش‌یابی حسی پذیرش کلی تیمار ۴SMP -۴/۰ بیش‌تر از ۴SMP -۴/۴ بوده است زیرا وقتی ماده خشک از ۶٪ به ۴٪ کاهش می‌یابد، سرعت افت pH افزایش یافته (اثر بافری کم‌تر) و گرم‌خانه‌گذاری بدون توسعه کافی مزه و رایحه به پایان می‌رسد. از این‌رو تیمار دوم به عنوان تیمار «بی‌طعم» شناخته شده است. ادامه تخمیر تا رسیدن به pH ۴/۰ به سبب توسعه طعم بر درجه پذیرش کلی به‌طور معنی‌دار افزوده است. میزان شوری تیمار با pH نهایی ۴/۰ به‌سبب اثر پوشانندگی اسیدیته و pH پایین، کم‌تر تشخیص داده شده است. نکته جالب توجه آن‌که در همین تیمار به همین دلیل، شدت رایحه درک شده نیز ضعیف‌تر بوده است، اما این پرسش مطرح می‌شود که چرا درک شدت رایحه در تیمارهای ۶SMP -۴/۴ و ۶SMP -۴/۰ یکسان بود! پاسخ را احتمالاً باید در اثر بیش‌تر بودن ماده خشک (به اندازهٔ ۲٪) جستجو کرد، زیرا به‌طور کلی پروتئین‌های شیر به‌ویژه کازئین‌ها اثر پوشانندگی نسبی بر طعم‌ها دارند [۱۳]. در مرحله‌ای که به تیمارها اسانس نعنا افزوده شد تفاوت معنی‌داری بین تیمارها به وجود نیامد به‌ویژه آن‌که اسانس‌ها به سبب نافذ بودن از قابلیت درک تفاوت‌های طعمی در گروه ارزیاب حسی می‌کاهند. معنی‌دار نبودن تفاوت این دو تیمار چه با افزودن اسانس و چه بدون آن بر خوشایندبودن ویژگی‌های حسی هر دو نمونه و سلیقه‌ای بودن پذیرش آن دلالت دارد. از این نتیجه می‌توان دریافت که

pH و اسیدیته نهایی محصولات تخمیری از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده ویژگی‌های حسی آن‌ها است، زیرا در تیمارهای بالا از یک سو مقایسه میان pH های نهایی یکسان صورت گرفته است و از سوی دیگر اسیدیته نهایی آن‌ها نیز تفاوت معنی‌دار نداشته است (جدول ۱). در مقایسه‌ای که بین تیمارهای ۱- ۳WPC و ۱- ۴WPC در pHهای نهایی ۴/۴ و ۴/۰ صورت گرفت، کم بودن ماده خشک از یک سو و ادامه تخمیر تا pH ۴/۰ از سوی دیگر سبب شده بود که تیمار ۴/۰- (۱- ۳WPC) از ترشی تیز و زننده که ناخوشایند است برخوردار باشد. تیمار ۴/۴-(۱- ۳WPC) نیز به سبب توسعه‌نیافتگی مزه و رایحه طعمی مرده و بی‌طعم (عمدتاً به‌دلیل اسیدیته پایین و pH بالا) با ویژگی گچی داشت. به دلیل pH بالا، رایحه‌ای قوی، غیرطبیعی و به‌طور نسبی ناخوشایند به مشام می‌رسید. ویژگی‌های یادشده سبب شدند که گروه ارزیاب حسی تیمار با pH نهایی ۴/۰ را به ۴/۴ ترجیح دهد. در نمونه اسیدی‌تر با pH پایین‌تر، پس از نوشیدن، رایحه اسانس با سرعت نسبتاً بالا محو می‌شد اما مزه نمک باقی می‌ماند که امری نامطلوب است. در نمونه با ۴/۴ pH، اثر رایحه اسانس با تیزی و شدت بالا باقی می‌ماند و شوری آن نیز زیاد حس می‌شد. برای دستیابی به حالت بهینه تیمار با pH نهایی ۴/۴ بایستی از درصد نمک و اسانس کاسته شود. نمونه‌های دارای پودر WPC حساس به دانه‌ای شدن، کف‌دار شدن و کم‌تر بودن لطافت دهانی بافت هستند؛ اما نقاط قوتی همچون گرانروی ظاهری و دهانی بیش‌تر و رنگ سفیدتر در آن‌ها وجود دارد. لازم به اشاره است که فرآیند همگن‌کردن مشکل دانه‌ای شدن بافت و کاهش لطافت دهانی در این تیمارها را تقریباً به‌طور کامل برطرف می‌کند (نتایج نشان داده نشده‌اند). با این وجود، همگن‌کردن دوغ میزان سرم‌دهی آن را به‌طور شگرف افزایش می‌دهد در این ارتباط، استفاده از پایدارکننده‌های کلوئیدی همچون صمغ‌های گوار، K کاراگینان، زانتان و ژلان یا ترکیبات آن‌ها در غلظت‌های مناسب توصیه می‌شود.

این پژوهش روشن ساخت که روابط میان متغیرهای مورد بحث بسیار پیچیده است و هر یک از تیمارها دارای مزایا و معایبی هستند. تیمار ۴/۴-(۱-WP6) بیش‌ترین قابلیت زیستی هر دو باکتری پروبیوتیک را پس از تخمیر و طی نگهداری یخچالی داراست. تیمارهای ۴/۰- ۴SMP، ۴/۴-(۱- WPC ۴)، ۴/۴-SMP ۶، ۴/۰-SMP ۶ و ۱- ۶WP در هر دو pH نهایی ۴/۴ و ۴/۰ از بالاترین سطوح پذیرش حسی برخوردار بوده‌اند، اما تیمارهای ۴SMP (به‌ویژه در pH نهایی ۴/۴) و ۴/۴-(۱- ۴WPC) قابلیت زیستی بالایی را در ارتباط با پروبیوتیک‌ها نتیجه ندادند، با این وجود از نظر ملاحظات اقتصادی توجیه بیش‌تری در مقایسه با درصد ماده خشک ۶٪ دارند. تیمارهای دارای پودر آب‌پنیر در مجموع مطلوب هستند، اما درصد سرم‌دهی آن‌ها نسبتاً بالاست و از طرفی احتمال ایجاد بافت شنی وجود دارد که باعث نامطلوب شدن حس دهانی می‌شود. توصیه می‌شود تیمارهای ترکیبی از پودر آب‌پنیر و پودر WPC مورد مطالعات تکمیلی قرار گیرند و ماده خشک کل نیز بین ۶ و ۴٪ متغیر باشد زیرا همان‌طور که مشاهده شد تیمار با ماده خشک ۳ ٪ از ویژگی‌های حسی مطلوبی برخوردار نبود و از طرفی ظرفیت تامپونی پایینی داشت و قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها کم‌تر بود. در مورد pH نهایی می‌توان گفت که ۴/۴pH برای رشد پروبیوتیک‌ها مناسب‌تر از ۴pH است همان‌طور که از نتایج هم مشهود است قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در pH ۴/۴ بیش‌تر است. اثر کشندگی pHهای پایین را به پدیده گرسنگی اسیدی نسبت می‌دهند. در پدیده گرسنگی اسیدی، به دلیل کاهش انرژی سلول، پمپ شدن یون هیدروژن از درون به بیرون سلول متوقف می‌شود و این یون از بیرون سلول به درون آن نشت می‌کند. وقتی pH سیتوپلاسم به کم‌تر از آستانه مجاز می‌رسد سلول می‌میرد [۲۸] هم‌چنین در برخی مطالعات مشاهده شده است که برخی از پروبیوتیک‌ها پس از تولید حد خاصی از اسید و کاهش pH به همان نسبت، بر سلول خود اثر خودبازداری دارند. اثر خودبازداری ممکن است به توقف رشد سلول یا مرگ آن در اثر خود کافت منجر شود [۲۹].

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به دلیل حمایت های مالی صمیمانه تشکر می شود.

منابع

[1] Delshadian Z, Mohammadi R, Cheledavan S, Shadnoush M, Ahmadi E, Mortazavian AM. 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). Koomesh 2015; 16: 636-647.

[2] Rouhi M, Taslimi A, Sarlak Z, Mohammadi R, Shadnoosh M, Mortazavian AM, Sabouri S. Sucrose and D - tagatose fermentation profile by different probiotic strains and its effect on physical properties of chocolate milk. Koomesh 2015; 17: 239-249.

[3] Holzapfel WH, Schillinger U. Introduction to pre- and probiotics. Food Res Int 2002; 35: 109-116.

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

[5] Ebrahimi B, Mohammadi R, Rouhi M, Mortazavian AM, Shojaee-Aliabadi S, Koushki MR. Survival of probiotic bacteria in carboxymethyl cellulose-based edible film and assessment of quality parameters. LWT - Food Sci Technol. 2018; 87: 54-60.

[6] Gueimonde M, Delgado S, Mayo B, Ruas-Madiedo P, Margolles A, de los Reyes-Gavilán CG. Viability and diversity of probiotic Lactobacillus and Bifidobacterium populations included in commercial fermented milks. Food Res Int 2004; 37: 839-850.

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

[8] Tamime A. Fermented milks: a historical food with modern application-a review. Eur J Clin Nutr 2002; 56: S2-S15.

[9] Koushki MR, Koohy-Kamaly P, Azizkhani M, Hadinia N. Microbiological quality of pasteurized milk on expiration date in Tehran, Iran. Journal of Dairy Science 2016; 99: 1796–1801.

[10] Mortazavian A, Azizi A, Ehsani M, Razavi S, Mousavi S, Sohrabvandi S, Reinheimer J. Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions. Milchwissenschaft 2008; 63: 427.

[11] Sarlak Z, Rouhi M, Mohammadi R, Khaksar R, Mortazavian AM, Sohrabvandi S, Garavand F. Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). Food Control 2017; 71: 152-159.

[12] Keri Marshall N. Therapeutic applications of whey protein. Altern Med Rev 2004; 9: 136-156.

[13] Dave R, Shah N. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Sci 1998; 81: 2804-2816.

[14] Ahmadi E, Mortazavian AM, Fazeli MR, Ezzatpanah H, Mohammadi, R. The effects of inoculants variables on the physicochemical and organoleptic properties of Doogh. Int J Dairy Technol 2012; 65: 274-281.

[15] Mortazavian A, Ehsani M, Mousavi S, Sohrabvandi S, Reinheimer J. Combined effects of temperature-related variables on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. Aust J Dairy Technol 2006; 61: 248.

[16] Mortazavian A, Ehsani M, Sohrabvandi S, Reinheimer J. MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. Milchwissenschaft 2007; 62: 270-272.

[17] Vinderola C, Reinheimer J. Culture media for the enumeration of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria. Int Dairy J 1999; 9: 497-505.

[18] Mortazavian A, Khosrokhavar R, Rastegar H, Mortazaei G. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic doogh (Iranian fermented milk drink). Italian J Food Sci 2010; 22.

[19] Ishibashi N, Shimamura S. Bifidobacteria: research and development in Japan. Food Technol 1993.

[20] Medina L, Jordano R. Population dynamics of constitutive microbiota in BAT type fermented milk products. J Food Protect 1995; 58: 70-75.

[21] Varnam AH, Sutherland JP. Dairy protein products. Milk and Milk Products: Springer; 1994. p. 159-82.

[22] Oliveira M, Sodini I, Remeuf F, Corrieu G. Effect of milk supplementation and culture composition on acidification, textural properties and microbiological stability of fermented milks containing probiotic bacteria. Int Dairy J 2001; 11: 935-942.

[23] Martın-Diana A, Janer C, Peláez C, Requena T. Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria. Int Dairy J 2003; 13: 827-833.

[24] Baig MI, Prasad V. Effect of incorporation of cottage cheese whey solids and Bifidobacterium bifidum in freshly made yogurt. J Dairy Res 1996; 63: 467-473.

[25] Amid BT, Mirhosseini H. Optimisation of aqueous extraction of gum from durian (Durio zibethinus) seed: A potential, low cost source of hydrocolloid. Food Chem 2012; 132: 1258-1268.

[26] Hull R, Roberts A. Differential enumeration of Lactobacillus acidophilus in yoghurt. Aust J Dairy Technol 1984; 39: 160.

[27] Mohammadi R, Sohrabvandi S, Mortazavian AM. The starter culture characteristics of probiotic microorganisms in fermented milks. Engineer Life Sci 2012; 12: 399-409.

[28] Kashket ER. Bioenergetics of lactic acid bacteria: cytoplasmic pH and osmotolerance. FEMS Microbiol Rev 1987; 3: 233-244.

[29] Sieber R, Dietz UT. Lactobacillus acidophilus and yogurt in the prevention and therapy of bacterial vaginosis. Int Dairy J 1998; 8: 599-607.

Effects of type and concentration of dry matter and final pH of fermentation on biochemical, microbial and sensory properties of probiotic dough

Reza Mohammadi (Ph.D)[1], Maryam Zabihzadeh (M.Sc) [2], Sara Hasanvand (B.Sc)[1], Zahra Sarlak (Ph.D)[3], Amir Mohammad Mortazavian (Ph.D)[*4], Mahdi Shadnoosh (Ph.D)[5], Ayad Bahadori Monfared (Ph.D)[6]

1- Dept. of Food Science and Technology, School of Nutrition Science and Food Technology, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

2- 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 Food Hygiene and Quality Control, School of Nutrition and Food Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

4- Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5- Food (Salt) Safty Research Center, and Dept. of Nutrition, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran, and Dept of Clinical Nutrition, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

6- Dept. of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 5 Sept 2016; Accepted: 24 Jul 2017)

Introduction*:* Recently, the demand for functional foods consumption is growing rapidly due to the increased awareness of the consumers from the impact of these foods on health. The aim of this study was to assess microbiological, biochemical and sensory aspects of probiotic Doogh.

Materials and Methods*:* In this research, the effects of type (skim milk power and whey protein) and percents of dry matters and final pH of fermentation (4 and 4.4) on biochemical viability of probiotics and sensory properties of probiotic Doogh during fermentation and 21 days in refrigerated storage were studied. In this way, pH and redox potential values were measured by pH-meter. Titrable acidity value was determined by titration with 0.1 N NaOH. Probiotic bacteria were enumerated using MRS-bile agar medium.

Results*:* Treatment with 4% skim milk power and 1% whey protein at pH of 4.4 (6 WP-1) -4.4) showed the highest viability of both probiotic bacteria after fermentation and during refrigerated storage. Treatments 4% skim milk power at pH of 4.0 (4 SMP-4.0), 3% skim milk power with 1% whey protein concentrate at pH of 4.4 (4 WPC-1) -4.4), 6% skim milk power at pH of 4.4 (6-SMP-4.4), 6% skim milk power at pH of 4.0 (6 SMP-4.0) and 5% skim milk power with 1% whey protein (6 WP-1) in both final pH 4.4 and 4.0 had the highest level of organoleptic acceptance. However, they have more economic considerations than 6% of dry matter.

Conclusion*:* Overall, whey protein can be used as part of the dry matter Doogh without changes of organoleptic properties and viability of probiotic Doogh.

Keywords*:* Whey protein, Probiotic, Protein, Doogh, Dry matter

* Corresponding author. Tel: +98 21-223 606 56

mortazvn@sbmu.ac.ir