مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۸۹
۷۰-۵۷
http://ejfpp.gau.ac.ir

بهینه‌سازی تولید ماست پروبیوتیک حاوی صمغ زدو

*زهرا قاسم‌پور[۱]، محمد علیزاده[۲] و محمود رضازاد[۳]
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، [۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، [۳]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۶ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۷

چکیده

در این مطالعه از طرح Box-Behnken (طرح آماری) به‌منظور بهینه‌سازی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس* اسیدوفیلوس و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در ماست حاوی صمغ ترشحی زدو استفاده شد. تأثیر دما انکوباسیون، زمان نگهداری، غلظت صمغ زدو و نرخ تلقیح پروبیوتیک‌ها بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، ویسکوزیته، مقدار استالدئید و سایر شاخص‌های کیفی ماست بررسی گردید. با توجه به زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، میزان تلقیح پروبیوتیک‌ها، مهم‌ترین فاکتور مؤثر در طول زمان نگهداری بود. صمغ زدو تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نداشت ($\alpha \geq ۰/۰۵$). ویسکوزیته و سینرزیس نمونه‌های ماست با افزودن صمغ زدو بهبود یافت. میزان استالدئید که آرومای شاخص ماست می‌باشد، نیز با استفاده از کروماتوگرافی گازی با دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای اندازه‌گیری شد. مقدار استالدئید نمونه‌ها توسط پروبیوتیک‌ها و صمغ زدو تغییر معنی‌داری نکرد، اما با گذشت زمان افزایش یافت. تلقیح پروبیوتیک‌ها به‌میزان ۱۲/۲٤ گرم به‌ازای ۱۰۰ کیلوگرم شیر، دمای انکوباسیون ٤۱/٦ درجه سانتی‌گراد، زمان نگهداری ۲۸/۸ روز و صمغ زدو با غلظت ۰/۲ درصد به‌عنوان شرایط بهینه تولید ماست پروبیوتیک تعیین فواید گردیدند. تحت این شرایط تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، مقدار ویسکوزیته و استالدئید در ماست کم چرب به‌ترتیب برابر بود با: $۱۰^{۸}$ cfu/g، $۱۰^{۹/٦}$ cfu/g، ۳٦۵۵ cP و ۲۸/۲ ppm.

واژه‌های کلیدی: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، صمغ زدو، استالدئید

* مسئول مکاتبه: ghasempourz@yahoo.com

مقدمه

امروزه محصولات لبنی تخمیری قسمت عمده رژیم غذایی افراد را تشکیل می‌دهند [٦]. در سال‌های اخیر تمایل به غذاهای عمل‌گرا (سلامت‌بخش) مانند محصولات دارای پروبیوتیک به‌دلیل خواص درمانی آن افزایش یافته است [۱۱]. مصرف باکتری‌های پروبیوتیک روشی برای بازسازی تعادل میکروفلور روده می‌باشد [۱۷]. افزودن باکتری‌های پروبیوتیک تنها به‌دلیل تأثیر آن‌ها بر سلامتی نمی‌باشد، بلکه به‌دلیل فواید حسی و همچنین گسترش تنوع محصولات نیز می‌باشد [۱۰]. ماست پتانسیل انتقال باکتری‌های پروبیوتیک را دارد [۱۱] و به تنهایی به‌دلیل مقدار زیاد پروتئین و کلسیم در آن، یک غذای سالم می‌باشد [۲۳]. اما استارترهای سنتی ماست، لاکتوباسیلوس *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، در برابر اسید صفرا مقاوم نیستند و در طی مسیر روده زنده نمی‌مانند [۱۷]. از سوی دیگر پروبیوتیک‌ها به‌دلیل نبود فعالیت پروتئولیتیکی، به کندی در شیر رشد می‌کنند [۱۰، ٢٦]. بنابراین باکتری‌های ماست به‌منظور کاهش زمان تخمیر در محصولات دارای پروبیوتیک به‌کار برده می‌شوند [٢٦]. رایج‌ترین باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات لبنی از دو گونه لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم می‌باشند [۱۲]. برای موثر بودن پروبیوتیک‌ها در سلامتی، غلظت آن‌ها در یک محصول باید بیشتر از $۱۰^{٦}$ cfu mL^{-1} باشد [۸]. مطالعات زیادی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را بررسی و تعداد کم این باکتری‌ها را گزارش کردند [۲۷، ۳۰، ۳۳].

همچنین امروزه تمایل به محصولات لبنی کم‌چربی یا بدون چربی به‌دلیل تأثیرات ناشی از چربی اضافی بر سلامتی انسان افزایش یافته است [۲۹]. با این وجود، مصرف‌کنندگان محصولات کم‌چربی مشابه با کیفیت محصولات پر چرب را می‌طلبند [۲۳]. بعضی مواد جایگزین مانند ژلاتین، پکتین، اینولین، نشاسته، آگار، صمغ دانه خرنوب، صمغ زانتان و صمغ گوار به‌منظور بهبود بافت ماست کم چرب به‌کار برده شده است [۲۳، ۲۹]. عزیزنیا و همکاران [٦] تأثیر افزودن صمغ تراگاکانت به‌عنوان جایگزین چربی، بر ویژگی‌های بافتی ماست را بررسی و گزارش کردند که صمغ تراگاکانت ویژگی‌های رئولوژیکی بافت را بهبود می‌بخشد. صمغ زدو یک پلی‌ساکارید غیرنشاسته‌ای و هیدروکلوئید محلول در آب می‌باشد، که در این مطالعه به‌عنوان جایگزینی برای چربی در تولید ماست کم‌چرب استفاده شده است. زدو صمغی است شفاف که به‌علت دارا بودن ترکیبات شیمیایی متفاوت رنگ‌های مختلفی دارد. انواع صمغ زدو در رنگ‌های قرمز، زرد و نارنجی مشاهده می‌شود [٤]. صمغ زدو صمغ درخت بادام کوهی (نام علمی گیاه: *Amygdalus scoparia*) می‌باشد و خواص آن شبیه

صمغ عربی است. صمغ زدو مصارف دارویی، صنعتی و غذایی زیادی دارد. اما در مقیاس تجاری در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار نگرفته و فقط در تعدادی از مطالعات آزمایشگاهی مانند تولید مخلوط شیر- آب پرتقال [۵] و ماست [۳] مورد استفاده گرفته است. این صمغ به‌عنوان عامل امولسیون کننده و سوسپانسیون‌کننده به‌همراه کتیرا و صمغ عربی در داروسازی به‌مصرف می‌رسد [٤] و دارای خواص درمانی مانند قطع اخلاط، تحریک اشتها، خرد کردن سنگ مثانه و رفع دندان درد می‌باشد. ترکیب شیمیایی صمغ زدو تا کنون به‌دست نیامده است.

آنالیز عطر و طعم غذاها نیز مهم می‌باشد، چون به تعیین پروفیل عطر غذاها منجر می‌شود که آن هم به نوبه خود برای کنترل کیفی و توسعه تحقیقات مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۰]. عطر و طعم، مواد مغذی نمی‌باشند، اما می‌توانند باعث تحریک اشتها، هشدار در مورد ماندگی و جلوگیری از مسمومیت غذایی شوند [۱۸]. در ماست، استالدئید به‌عنوان آرومای شاخص شناخته شده و ارزیابی عطر ماست معمولاً براساس تولید استالدئید توسط باکتری‌های ماست انجام می‌گیرد [۷]. ترئونین آلدولاز موجود در بسیاری از لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپترکوکوس ترموفیلوس می‌تواند ترئونین را به استالدئید تبدیل کند [۲۵].

هدف از این پژوهش، مطالعه تأثیر نرخ تلقیح پروبیوتیک‌ها، غلظت صمغ زدو، دمای انکوباسیون و زمان نگهداری بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، مقدار استالدئید و سایر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست کم‌چرب (۱ درصد چربی) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طرح آزمایشی و تیمار آماری: ۳۰ تیمار ماست طبق طرح blocked Box-Behnken با چهار متغیر و سه سطح برای هر متغیر ارزیابی شد. برتری این طرح در این است که هر فاکتور تنها در سه سطح مورد مطالعه قرار می‌گیرد و طرح‌های نقاط گوشه‌ای یعنی نقطه‌ای که تمام فاکتورها در سطوح بالا یا در سطوح پایین باشد، در آن وجود ندارد و برای مطالعات صنعتی بسیار مناسب است.

متغیرهای مستقل شامل نرخ تلقیح، غلظت صمغ زدو، دمای انکوباسیون و زمان نگهداری می‌باشد. مقادیر حقیقی فاکتورها به‌ترتیب برای پروبیوتیک‌ها ۰، ۱۰ و ۲۰g/۱۰۰kg، زدو ۰، ۰/۱ و ۰/۲ درصد، دمای انکوباسیون ۳۷، ٤۰ و ٤۳ درجه سانتی‌گراد و روزهای نگهداری ۱، ۱۵ و ۲۹ است. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j$$

که در آن، Y= پاسخ پیش‌بینی شده، β_0= ثابت، β_i= ضریب خطی، β_{ii}= ضریب توان دوم و β_{ij}= ضریب برهم‌کنش می‌باشند. داده‌های تجربی با معادلات سطح پاسخ تطبیق داده شدند و آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP release 7 (SAS Institute Inc.) انجام گرفت.

تهیه نمونه‌های ماست: ابتدا درصد ماده خشک بدون چربی شیر (شیر استاندارد شده در ۱ درصد چربی، تهیه شده از شرکت اروم بنیان ارومیه) با استفاده از پودر شیر خشک بدون چربی در ۱۰ تنظیم گردید. سپس دمای شیر تا ٤٠ درجه سانتی‌گراد بالا برده شد تا صمغ زدو اضافه گردد. پودر صمغ زدو در غلظت‌های ۰، ۰/۱ و ۰/۲ درصد در دمای ٤٠ درجه سانتی‌گراد همراه با هم‌زدن، به شیر اضافه گردید. سپس، پاستوریزاسیون در ۹۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم انجام گرفت. شیر تا ٤٥ درجه سانتی‌گراد سرد و در ظروف پلاستیکی استریل ریخته شده و با باکتری‌های مناسب تلقیح گردید. مقدار استارتر تجاری ماست در همه نمونه‌ها ثابت و مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده باکتری بود. اما *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در مقادیر ۰، ۱۰ و ۲۰ گرم به‌ازای ۱۰۰ کیلوگرم شیر، اضافه شدند. که مقدار ۱۰ گرم به‌ازای ۱۰۰ کیلوگرم مطابق دستورالعمل شرکت تولیدکننده باکتری می‌باشد. بعد از تلقیح، ظروف درب‌بندی و در دماهای ۳۷، ٤٠ و ٤٣ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ٤ ساعت انکوبه شدند. نگهداری در دما ٤ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. نمونه‌ها در فواصل زمانی ۱، ۱۵ و ۲۹ روز آنالیز شدند.

صمغ زدو از بادام کوهی به کمک کارشناس اداره منابع طبیعی در استان فارس جمع‌آوری شد. نمونه‌ها قبل از آزمایش با استفاده از آسیاب برقی، آسیاب و توسط الک‌هایی با مش‌های مختلف، پودری با اندازه ذرات یکنواخت به‌دست آمد.

آنالیز میکروبی: به‌منظور شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به‌ترتیب MRS-agar، شرایط هوازی و MRS-agar با ۲ درصد لیتیم کلراید و ۳ درصد پروپیونات سدیم، شرایط بی‌هوازی (جار بی‌هوازی)، هر دو در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت، برای کشت پروبیوتیک‌ها به‌کار برده شد [۳۰، ۳۲]. لیتیم کلراید و پروپیونات سدیم توسط فیلتر سرنگی به MRS-agar استریل شده اضافه گردیدند [۳۰]. برای آنالیز، mL ۱ از نمونه به پپتون واتر استریل ۰/۱ درصد افزوده شد و به‌طور متوالی تا رقت‌های ٦، ۷ و ۸ رقیق و mL ۱ از هر یک از این رقت‌ها به

پلیت‌ها انتقال داده و به‌روش پورپلیت کشت داده شدند. محیط کشت MRS-agar و پپتون‌واتر ۰/۱ درصد استریل به روشی که توسط شرکت سازنده بر روی قوطی حاوی این مواد ذکر شده بود، تهیه گردید. پلیت‌های حاوی ۲۰۰-۲۰ کلنی شمارش شدند [۱۰].

ویسکوزیته ظاهری: ویسکوزیته ظاهری با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد اندازه‌گیری شد. در تمام نمونه‌ها سرعت برشی ۳۰ rpm و اسپیندل ٦٤ به‌کار رفتند [۲۸]. نمونه‌های ماست قبل از اندازه‌گیری به‌مدت ۱ دقیقه هم زده شدند [۱۵، ۲۸]. اندازه‌گیری‌ها با استفاده از ۲۵۰ mL نمونه ماست در دما ۱۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت.

سینرزیس: تقریباً ۱۵ گرم نمونه به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۲۲×g و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در سانتریفوژ یخچال دار قرار داده شد [١٦]. سینرزیس بر حسب درصد وزنی سرم جدا شده توسط سانتریفوژ محاسبه گردید [۱۹].

pH: pH نمونه‌های ماست در ۸ درجه سانتی‌گراد با استفاده از pH متر دیجیتالی کالیبره شده با بافر تجاری pH=٤ و pH=۷ اندازه‌گیری شد [٦]. قبل از اندازه‌گیری نمونه‌ها با کمی آب مقطر هم زده شدند.

اسیدیته: تقریباً ۱۰ گرم نمونه با حجم یکسان از آب، قبل از تیتراسیون رقیق شد. مقدار اسیدیته به‌طریق تیتر کردن با N۰/۱ NaOH تا pH=۸/۳±۰/۰۱ با استفاده از pH متر به‌دست آمد. مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون براساس اسید لاکتیک، به‌عنوان اسید غالب، بر حسب گرم اسید لاکتیک بر ۱۰۰ mL محصول به‌دست آمد (۱):

$$\text{Lactic acid}(\%) = \frac{0.1\text{M NaOH(ml)} \times 0.009}{\text{sample(g)}} \times 100$$

اندازه‌گیری استالدئید: مقدار استالدئید توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی اندازه‌گیری گردید. ستون کاپیلاری سیلیسی به طول ۳۰ متر، قطر ۳۲۰ μm و ضخامت فاز ۰/۲۵ μm برای جداسازی مواد فرار به‌کار گرفته شد. گاز N_2 به‌عنوان گاز حامل و شناساگر FID مورد استفاده قرار گرفتند. محلول استاندارد حاوی استالدئید و متیل استات هر یک به‌مقدار ۱۰ μL بود که توسط استون به حجم ۱۰۰ mL رسانده شدند. به‌منظور جداسازی استالدئید، ۳۰ گرم ماست با ٤ mL استون، به‌عنوان حلال، مخلوط شد. بعد از هم زدن از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ به درون ظروف ۲۵ mL فیلتر گردید. بعد از ٤٥ دقیقه، دوباره

٤ mL استون به بالا کاغذ صافی افزوده شد. پس از ٤٥ دقیقه دیگر، به درون فیلترات ۱۰ µl متیل استات (استاندارد درونی)، افزوده شده و با استون به حجم ۲۵ mL رسانیده شد. به این طریق مواد فرار در حلال حل می‌شوند. ۰/۵ µl از محلول حاوی مواد فرار به دستگاه GC تزریق گردید. برای تعیین شرایط بهینه در دستگاه GC، طرح فاکتوریل به‌کار برده شد و شرایط زیر به‌دست آمد:

دما ورودی در مرحله واجذبی در ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد، فشار ستون در ۳۲۹۱۲ $N\ m^{-2}$ و سرعت جریان گاز در ۰/۹ $mL\ min^{-1}$ به‌دست آمد. نسبت تقسیم در موقع تزریق ۱:۷ بود. دما ستون به‌مدت ۵ دقیقه در ٤۲ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس با سرعت ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به ۲۷۰ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و در نهایت تا ٤۲ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. دما شناساگر ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد بود.

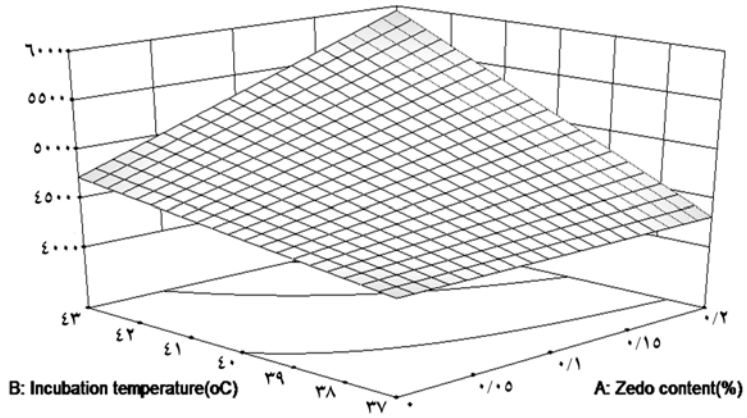
نتایج و بحث

شمارش پروبیوتیک‌ها: تأثیر مقادیر مختلف غلظت پروبیوتیک‌ها، دمای انکوباسیون، مقدار زدو بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طی ۲۹ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به‌دست آمده نشان دادند که با افزایش غلظت تلقیح پروبیوتیک‌ها، زنده‌مانی آن‌ها بهبود یافت. این نتیجه با یافته‌های رضازاد [۲۲] مطابقت دارد. تعداد هر دو پروبیوتیک در طی نگهداری کاهش یافت، که به‌دلیل رابطه آنتاگونیستی بین باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک‌ها در مورد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و همچنین افزایش اسیدیته و هیدروژن پراکسید در طول دوره نگهداری در ارتباط با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌باشد [۱۰، ۲۲]. تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشتر کاهش یافت که به‌دلیل حساسیت بیشتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در محدوده pH=۳/۵-٤/۵ می‌باشد [۳۱]. با این حال تعداد هر دو باکتری در انتهای دوره نگهداری بالاتر از حد سلامتی بود.

صمغ زدو تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نداشت، بنابراین نمی‌تواند به‌عنوان پری‌بیوتیک، مانند اینولین، صمغ کاراگینان و گوار مورد استفاده قرار گیرد. تأثیر مشخصی ناشی از دماهای مختلف انکوباسیون، نیز بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به‌دست نیامد.

ویسکوزیته ظاهری: ویسکوزیته ظاهری شاخص پایداری پروتئین می‌باشد [۱۵] و ویژگی یک ماده در مقابل تغییر شکل را نشان می‌دهد [۹].

نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان داد که تأثیر خطی مقدار صمغ زدو و دمای انکوباسیون و همچنین اثر متقابل آن‌ها بر میزان ویسکوزیته معنی‌دار بود ($\alpha \leq ۰/۰۵$). هر دوی این عوامل باعث بهبود ویسکوزیته شدند. بیش‌ترین مقدار ویسکوزیته در مقادیر بالای زدو و دمای انکوباسیون به‌دست آمد. در حالی‌که همان‌طورکه در شکل ۱ دیده می‌شود، در مقادیر ناچیز صمغ زدو و در دما ۳۷ درجه سانتی‌گراد، مقدار ویسکوزیته کم می‌باشد.



شکل ۱- اثر متقابل مقدار صمغ زدو و دما انکوباسیون بر میزان ویسکوزیته.

تأثیر خطی مقدار تلقیح پروبیوتیک‌ها و زمان نگهداری بر میزان ویسکوزیته معنی‌دار نبود. اما اثر متقابل مقدار تلقیح پروبیوتیک‌ها با دما انکوباسیون و همچنین با زمان نگهداری بر میزان ویسکوزیته نیز به‌دست آمد. در نمونه‌های بدون پروبیوتیک، دما تأثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته نمونه‌های ماست نداشت، اما با افزایش مقدار تلقیح پروبیوتیک‌ها، تأثیر دما انکوباسیون آشکار می‌شود و نمونه‌های انکوبه شده در دماهای بالا (٤٥ درجه سانتی‌گراد) خیلی ویسکوز بودند.

تأثیر صمغ زدو را می‌توان به واکنش با اجزا شیر مانند پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش مقدار هیدراسیون نسبت داد. کاربرد استابیلایزرها به‌شدت تحت‌تأثیر مقدار ماده خشک شیر در محصول می‌باشد. مقدار استابیلایزر مورد نیاز برای رسیدن به یک کیفیت قابل‌قبول در محصول، رابطه عکس با غلظت ماده خشک شیر دارد [۹]. دما بالا بر سرعت رشد باکتری‌ها، تجمع کازئینی و مقاومت شبکه

پروتئینی تأثیر می‌گذارد. تأثیر دما انکوباسیون بر مقدار ویسکوزیته را می‌توان به افزایش سرعت هیدراسیون صمغ زدو در دماهای بالا نسبت داد. تأثیر پروبیوتیک‌ها بر ویسکوزیته را به تولید اگزو پلی‌ساکاریدها [۸] و تأثیر زمان نگهداری را می‌توان به هیدراسیون صمغ با گذشت زمان نسبت داد.

سینرزیس: سینرزیس یک عیب مهم در ماست می‌باشد و به‌عنوان وجود سرم روی سطح ژل تعریف می‌شود [۲۳].

افزودن صمغ زدو به کاهش سینرزیس در طی نگهداری منجر شد. همچنین مقادیر بالاتر صمغ باعث کاهش بیش‌تر سینرزیس گردید. تأثیر متقابل صمغ زدو و زمان نگهداری بر سینرزیس نیز معنی‌دار بود. اما زمان نگهداری به‌تنهایی تأثیر مشخصی بر میزان ویسکوزیته نداشت. افزایش ماده جامد در اثر افزودن صمغ عامل کاهش سینرزیس می‌باشد [٦].

تغییرات اسیدیته و pH: تأثیر خطی تمامی فاکتورهای مورد مطالعه (نرخ تلقیح پروبیوتیک‌ها، غلظت صمغ زدو، دما انکوباسیون و زمان نگهداری) و همچنین تأثیر مربعی دما انکوباسیون و زمان نگهداری بر روی اسیدیته معنی‌دار ($\alpha \leq ۰/۰۵$) بود.

اسیدیته نمونه‌های ماست با اضافه کردن صمغ زدو افزایش یافت، اما pH تغییر چندانی نکرد که می‌توان آن را به ظرفیت بافری صمغ زدو، در نتیجه افزایش ماده جامد [٦] و خاصیت آمفوتری پروتئین‌ها نسبت داد.

مقدار تلقیح با پروبیوتیک‌ها بیش‌ترین تأثیر را بر اسیدیته نمونه‌های ماست گذاشت و با افزایش مقدار تلقیح از ۰ تا ۲۰ گرم به‌ازای ۱۰۰ کیلوگرم، مقدار اسیدیته ۱۷/۵ درصد افزایش یافت. باکتری‌های پروبیوتیک نیز تولیدکننده‌های کند اسید می‌باشند [١٤]. گزارش شده است که در ماست پروبیوتیک، لاکتوباسیل‌ها به‌طور مداوم در رنج pH=٤-٤/٤ رشد می‌کنند و چون قادر به تولید اسید می‌باشند، در نهایت باعث افزایش اسیدیته ماست پروبیوتیک می‌شود [۱۳]. با این‌حال، در حضور پروبیوتیک‌ها، از فعالیت *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* که عامل اصلی تولید اسید می‌باشد، ممانعت می‌شود. بنابراین pH در ماست پروبیوتیک‌دار بیش‌تر می‌باشد [۱۰].

زمان نگهداری نیز تأثیر مشخصی بر میزان اسیدیته و pH داشت. مقدار اسیدیته با گذشت زمان افزایش یافت، در حالی‌که pH کاهش یافت. گولر اکین و اکین [۱۰] نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. در طی نگهداری به‌دلیل فعالیت *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در دما یخچال و تولید مقدار کم لاکتیک اسید، pH هم‌چنان کاهش می‌یابد [١٤].

در دماهای بالا انکوباسیون، pH در کم‌ترین مقدار و اسیدیته در بیش‌ترین مقدار بود و در دماهای پایین انکوباسیون به‌دلیل محدود شدن فعالیت *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* [۱۰]، pH به‌میزان کم‌تری کاهش یافت و میزان اسیدیته نیز کم‌تر بود.

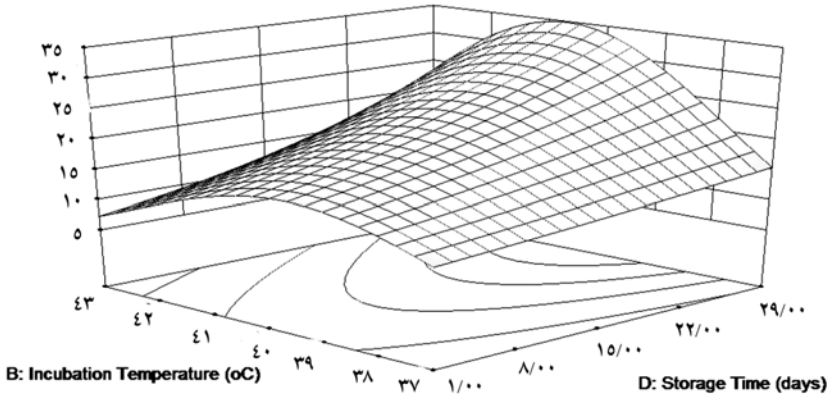
مقدار استالدئید: برای این‌که عطر ماست مطلوب باشد، باید غلظت استالدئید بین ۲۳ و ٤۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم ماست باشد [۲۳].

در این مطالعه، روش GLC برای اندازه‌گیری استالدئید به‌کار برده شد. مرحله اول در آنالیز نمونه‌ها آماده‌سازی نمونه‌ها بود. که در این مطالعه استون به‌عنوان حلال استالدئید در ماست به‌کار برده شد. چون هر دو ساختار مشابهی دارند.

آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر مربعی دما انکوباسیون و تأثیر خطی زمان نگهداری، بر مقدار استالدئید معنی‌دار ($\alpha \leq ۰/۰۵$) بود. تأثیر متقابل دما انکوباسیون و زمان نگهداری بر میزان استالدئید در شکل ۲ نشان داده شده است. میزان استالدئید در طی نگهداری تا ۲۹ روز افزایش یافت. همان‌گونه که در شکل ۲ نشان داده شده، مقدار استالدئید در نمونه‌های انکوبه شده در ۳۷ درجه سانتی‌گراد با گذشت زمان به‌تدریج افزایش یافته، اما سرعت تجمع استالدئید در نمونه‌های ماست انکوبه شده در دما ٤۰ درجه سانتی‌گراد به‌طور مشخصی بالاتر از سایر دماها بود. گولر اکین و اکین [۱۰]، تأثیر دماهای مختلف انکوباسیون بر ویژگی‌های ماست را مطالعه کردند و گزارش کردند که نمونه‌های ماست انکوبه شده در ۳۷ درجه سانتی‌گراد نسبت به نمونه‌های انکوبه شده در ٤۲ درجه سانتی‌گراد، مقدار استالدئید بیش‌تری دارند. اما تأثیر مربعی دمای انکوباسیون در این مطالعه، دما ٤۰ درجه سانتی‌گراد را به‌عنوان مقدار بهینه دما انکوباسیون به‌دست داد. پروبیوتیک‌ها و صمغ زدو تأثیر مشخصی بر میزان استالدئید نداشتند.

کاهش استالدئید به فعالیت الکل دهیدروژناز استارترهای ماست نسبت داده می‌شود که باعث تبدیل استالدئید به اتیل الکل می‌گردد [۱۰، ۲۳]. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای فعالیت آنزیمی کم‌تری نسبت به *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* می‌باشد [۱۰] و در نتیجه باعث تبدیل کم‌تر استالدئید به اتانول و باعث تجمع استالدئید در نمونه‌های ماست می‌شود.

تأثیر صمغ هم بیش‌تر به نوع صمغ تا غلظت صمغ بستگی دارد. بنابراین پیوند شیمیایی بین صمغ و ترکیبات معطر، تأثیر بافت روی آروما را تعیین می‌کند [٢٤]. تأثیر صمغ به‌میزان چربی ماست هم بستگی دارد. طبق یافته‌های نانگونیرما و همکاران [۲۱] در ماست کم‌چرب، افزودن پکتین در کاهش آروما مؤثر نبود.



شکل ۲- تأثیر متقابل دما انکوباسیون و زمان نگهداری بر میزان استالدئید.

بهینه‌سازی: مبنای بهینه‌سازی، حداکثر کردن ظرفیت نگهداری آب، ویسکوزیته، مقدار استالدئید، زمان نگهداری و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* می‌باشد. شرایط بهینه در مقدار تلقیح پروبیوتیک به‌میزان ۱۲/۸ گرم به‌ازای ۱۰۰ کیلوگرم، غلظت صمغ ۰/۲ درصد، دما انکوباسیون ٤١/٦ درجه سانتی‌گراد و زمان نگهداری ۲۹ روزه به‌دست آمد. مقدار مطلوبیت کلی برابر ۰/۸٦ بود. تحت این شرایط ظرفیت نگهداری آب، ویسکوزیته، مقدار استالدئید، تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به‌ترتیب برابر بود با: ۳۸/٦ درصد، ۳٦٥٥ cP، ۲۸/۲ ppm، $۱۰^{۸}$ cfu/g، $۱۰^{۹/٦}$ cfu/g.

نتیجه‌گیری

نتایج به‌دست آمده نشان دادند که مقدار تلقیح پروبیوتیک‌ها، مهم‌ترین فاکتور تأثیرگذار بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها بود. مقدار پروبیوتیک‌ها با گذشت زمان کاهش یافت، اما مقدار باقی‌مانده در انتها دوره نگهداری بالاتر از حد آستانه برای سلامتی بود. صمغ زدو باعث بهبود ویسکوزیته و سینرزیس ماست کم‌چرب گردید. بنابراین استفاده از صمغ زدو در تولید ماست کم‌چرب به‌دلیل تأثیرات مثبت آن بر ویژگی‌های ماست کم‌چرب پیشنهاد می‌شود. استفاده از صمغ زدو در تولید ماست کم‌چرب پروبیوتیک، بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تأثیر معنی‌داری نگذاشت. مقدار استالدئید به‌خوبی توسط روش ارایه شده اندازه‌گیری شد. مقدار استالدئید با گذشت زمان افزایش یافت. پروبیوتیک‌ها و صمغ زدو تأثیر معنی‌داری بر مقدار استالدئید ماست نداشتند.

منابع

۱- استاندارد ملی صمغ شیرازی (زدو). ۱۳٤٦. کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره ٤٤۲.

۲- خالصی، ه. ۱۳۸۹. بررسی ویژگی‌های صمغ زدو و تأثیر افزودن ترکیبی صمغ زدو، صمغ تراگاکانت و صمغ عربی در تولید ماست کم‌چرب. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

۳- خرمی، ب. ۱۳۸۵. مهرگیاه: زدو- صمغ فارسی. *مجله دام، کشت و صنعت*، شماره ۸۰، ۲۳.

٤- محمدی س.، عباسی س.، و حمیدی، ز. ۱۳۸۹. تأثیر برخی هیدروکلوئیدها بر پایداری فیزیکی، ویژگی‌های رئولوژیکی و حسی مخلوط شیر- آب پرتقال. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*. سال پنجم، شماره ٤، ۱۲-۱.

5.Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., and Rahimi, J. 2008. Whey Protein Concentrate and Gum Tragacanth as Fat Replacers in Non-fat Yogurt: Chemical, Physical, and Microstructural Properties. *Journal of Dairy Science*, 91, 2545-2552.

6.Beshkova, D., Simova, E., Frengova, G., and Simov, Z. 1998. Production of flavour compounds by yogurt starter cultures. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 20, 180-186.

7.Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., and Shah, N.P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yogurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17, 657-665.

8.Duboc, P., and Mollet, B. 2001. Applications of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11, 759-768.

9.Güler-Akın, M.B., and Akın, M.S. 2007. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chemistry*, 100, 788-793.

10.Hekmat, S., and Reid, G. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt are comparable to standard yogurt. *Journal of Nutrition Research*, 26, 163-166.

11.Heller, K.J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *American journal of Clinical Nutrition*, 73, 374S-9S.

12.Hussain, I., Rahman, A.U., and Atkinson, N. 2009. Quality comparison of probiotic and natural yogurt. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8, 9-12.

13.Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt. *LWT*, 39, 1221-1227.

14.Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., and Kondyli, E. 2002. Manufacture of yogurt rom stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77, 413-420.

15.Keogh, M.K., and O'kennedy, B.T. 1998. Rheology of Stirred Yogurt as Affected by Added Milk Fat, Protei and Hydrocolloids. *Journal of Food Science*, 63, 108-112.

16.Lourens-Hnattingh, A., and Viljoen, B.C. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal*, 11, 1-17.
17.Mariaca, R., and Bosset, J.O. 1997. Instrumental analysis of volatile (flavour) compounds in milk and dairy products. *Lait*, 77, 13-40.
18.Matumoto-Pintro, P.T., Rabiey, L., Robitaille, G., and Britten, M. 2010. Use of modified whey protein in yoghurt formulations. *International Dairy Journal,* xxx, 1-6.
19.Mortazavian, A.M., Rezaei, K., and Sohrabvandi, S. 2009. Application of Advanced Instrumental Methods for Yogurt Analysis. *Journal of Food Science and Nutrition*, 49, 153-163.
20.Nongonierma, A.B., Springett, M., Le Que´re´, J.L., Cayot, P., and Voilley, A. 2006. Flavor release at gas/matrix interfaces of stirred yogurt models. *International Dairy Journal*, 16, 102-110.
21.Rezazad Bari, M., Ashrafi, R., Alizadeh, M., and Rofehgarineghad, L. 2009. Effects of Different Contents of Yogurt Starter/Probiotic Bacteria, Storage Time and Different Concentrations of Cysteine on the Microflora Characteristics of Bio-Yogurt. *Research journal of biological sciences*, 4, 137-142.
22.Sahan, N., Yasar, K., and Hayaloglu, A.A. 2008. Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a β-glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22, 1291-1297.
23.Saint-Eve, A., Paçi Kora, E., and Martin, N. 2004. Impact of the olfactory quality and chemical complexity of the flavoring agent on the texture of low fat stirred yogurts assessed by three different sensory methodologies. *Food Quality and Preference*, 15, 655-668.
24.Shah, N.P. 2000. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods. *Journal of Dairy Science,* 83, 894-907.
25.Shihata, A., and Shah, N.P. 2000. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 10, 401-408.
26.Talwalkar, A., and Kailasapathy, K. 2004. Comparison of selective and differential media for the accurate enumeration of strains of *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus casei* complex from commercial yogurts. *International Dairy Journal*, 14, 143-149.
27.Trachoo, N., and Mistry, V.V. 1998. Application of Ultrafiltered Sweet Buttermilk and Sweet Buttermilk Powder in the Manufacture of Non fat and Low Fat Yogurts. *Journal of Dairy Science*, 81, 3163-3171.
28.Ű̈nal, B., Metin, S., and Işıklı, N.D. 2003. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yogurt. *International Dairy Journal*, 13, 909-916.

29. Van de Casteele, S., Vanheuverzwijn, T., Ruyssen, T., Van Assche, P., Swings, J., and Huys, G. 2006. Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of *lactobacilli* and *bifidobacteria* in combination with yogurt or cheese starters. *International Dairy Journal*, 16, 1470-1476.
30. Vinderola, C.G., Bailo, N., and Reinheimer, J.A. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33, 97-102.
31. Vinderola, C.G., Costa, G.A., Regenhardt, S., and Reinheimer, J.A. 2002. Influence of compounds associated withfermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12, 579-589.
32. Vinderola, C.G., and Reinheimer, J.A. 1999. Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yogurt bacteria. *International Dairy Journal*, 9, 497-505.

EJFPP., Vol. 2 (3): 57-70
http://ejfpp.gau.ac.ir

Optimization of probiotic yogurt production containing Zedo gum

***Z. Ghasempour[1], M. Alizadeh[2] and M. Rezazad[3]**
[1]Ph.D. Student, Dept. of Food Science and Technology, Urmia University,
[2]Assistant Prof., Dept. of Food Science and Technology, Urmia University,
[3]Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Urmia University
Received: 2011-08; Accepted: 2011-10

Abstract

A Box-Behnken design (statistical design) was applied to optimize the survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in bio-yogurt containing a new exudative Zedo gum. The effect of incubation temperature, storage time, Zedo gum concentration and probiotic inoculation load on probiotics survival, viscosity, acetaldehyde content and other quality indices of yogurt were explored. With respect to probiotics survival, probiotic inoculation load was found to be the most important factor followed by storage time. Zedo gum didn't show significant effect on probiotics survival ($\alpha \geq 0.05$). Viscosity and syneresis of yogurt samples were improved by addition of Zedo gum. Acetaldehyde content, the most potent odorant in yoghurt, was measured using GC-FID. Acetaldehyde content of the samples was not affected by probiotics and Zedo gum but increased by storage time. The optimum conditions of bio-yogurt production were: probiotic inoculation load, 12.24 g/100 kg of milk; incubation temperature, 41.6 $^{\circ}$C; storage time; 28.8 days; and Zedo gum concentration, 0.2%. Under such conditions, the predicted *Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum* counts, viscosity and acetaldehyde content were 10^{8}, $10^{9.6}$ cfu/g, 3655 cP and 28.2 ppm.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium bifidum*; Zedo gum; acetaldehyde

* Corresponding Author; Email: ghasempourz@yahoo.com