

بهینه سازی سه گانه شرایط تخمیر شیر در تولید ماست پروبیوتیک توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مصطفی رفیعی مجد^{a*}، سید ابوالحسن علوی^a

^aگروه مهندسی شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۳/۱۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۵/۲۰

۱۵

چکیده

مقدمه: افزایش تعداد باکتری های پروبیوتیک و طول عمر آن ها در ماست پروبیوتیک یکی از دغدغه های مهم تولید کنندگان این نوع ماست ها می باشد. از طرفی طعم ماست پروبیوتیک متأثر از تعداد باکتری پروبیوتیک می باشد. به این منظور مطالعه حاضر با هدف بهینه سازی ماست پروبیوتیک در سه محور تعداد باکتری پروبیوتیک، طول عمر باکتری پروبیوتیک و طعم ماست پروبیوتیک انجام پذیرفت.

مواد و روش ها: در این پژوهش بهینه سازی تولید ماست پروبیوتیک به کمک چهار فاکتور مستقل، تخمیر دو مرحله ای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، تغییر درصد ماده خشک (۱۲، ۱۴ و ۱۶٪)، تغییر دمای تیمار حرارتی شیر (۶۲ - ۷۲ و ۸۵ °C) و افزودن اسید آسکوربیک، در ۳ مرحله و به مدت بیست روز انجام شد. مرحله اول و دوم به ترتیب به منظور بهینه سازی تعداد باکتری های پروبیوتیک در روزهای اول و بیستم بود. در مرحله سوم تعداد باکتری های مراحل پیشین به همراه نتایج حاصل از ارزیابی حسی و شیمیایی محصول به منظور بهینه سازی سه گانه مورد بررسی قرار گرفت. طراحی آزمایش ها به روش تاگوچی و بهینه سازی نتایج توسط نرم افزار Qualitek-4 انجام گرفت.

یافته ها: موثرترین فاکتورهای بهینه ساز در مراحل اول و دوم به ترتیب زمان تخمیر باکتری (۲ ساعت) و میزان اسید آسکوربیک اضافه شده (۵۰ mg/l) تعیین شد. در مرحله سوم یعنی بهینه سازی سه گانه، اهمیت فاکتورها بترتیب اسید آسکوربیک (mg/l)، تیمار حرارتی (۸۵ °C)، زمان تخمیر (۲ ساعت) و میزان درصد ماده خشک (۱۴٪) بودند.

نتیجه گیری: پس از بهینه سازی مشخص شد که دستیابی همزمان به محصولی با تعداد باکتری بالا، طعم مناسب و ماندگاری طولانی امکان پذیر نمی باشد.

واژه های کلیدی: بهینه سازی، پروبیوتیک، تخمیر دو مرحله ای، تیمار حرارتی، درصد ماده خشک، ماست

مقدمه

شیر مملو از پروتئین، چربی و انواع ویتامین ها است. امروزه شیر و فرآورده های آن در تغذیه انسان نقش مهمی را ایفا می کنند. مصرف شیر و فرآورده های آن در جهان به سرعت رو به افزایش است. یکی از مهمترین محصولات بدست آمده از شیر ماست می باشد. طبق تعریف ماست فرآورده تخمیری حاصل از شیر است که حاوی دو باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس می باشد (Shrtt, 1999). این دو باکتری به عنوان باکتری های آغازگر ماست شناخته می شوند. ویژگی هایی نظیر اسیدیته، میزان اسید چرب آزاد خواص حسی و تغذیه ای تحت تاثیر ترکیبات شیمیایی شیر، شرایط فرآیند، افزودن طعم دهنده ها و فعالیت باکتری های آغازگر در طی تخمیر شیر است (Hardi & Slacanc, 2000). یکی از ویژگی های محصولات لبنی، فراهم کردن بستر مورد نیاز برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم ها است. از این رو می توان با افزودن یک یا چند باکتری مفید به محصولات لبنی، ارزش غذایی آنها را بالا برد (Kneifel & Jaros, 1993) بخشی از این میکروارگانیسم ها که می توانند در شیر و ماست رشد پیدا کنند باکتری های پروبیوتیک هستند. بنا به تعریف، پروبیوتیک عبارت است از میکروارگانیسم هایی که در پی مصرف خوراکی باعث بهبود خصوصیات میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش میزبان می شوند و اثرات مفیدی بر سلامت مصرف کننده به جا می گذارد (Shrtt, 1990). تاثیر پروبیوتیک ها بر فلور میکروبی دستگاه گوارش و ایفای نقش درمانی آن ها بستگی به مقدار مصرف روزانه این باکتری ها دارد (پریناز طاهری و همکاران، ۱۳۸۵ و Bonczar et al., 2002). بیشترین محدوده تعریف شده برای حضور باکتری های پروبیوتیک زنده از 10^6 تا 10^8 CFU/ml می باشد (IDF, 1998). برای بدست آوردن ماست پروبیوتیک علاوه بر باکتری های آغازگر ماست، باید باکتری پروبیوتیک در حین فرآیند تخمیر و در محصول نهایی وجود داشته باشد. کشت آغازگر ماست می تواند رشد پروبیوتیک ها را از طریق تولید مواد لازم برای رشد آنها تقویت کند. یکی از انواع پروبیوتیک ها لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می باشد. ویژگی های باکتری های پروبیوتیک و محیط کشت مورد

بهینه سازی سه گانه شرایط تخمیر شیر در تولید ماست پروبیوتیک

نیاز آنها متفاوت است. بنابراین می توان با تغییراتی در شرایط تخمیر شیر یا بهینه سازی این فرآیند سعی در افزایش تعداد باکتری پروبیوتیک نمود و یا طول عمر آنها را در ماست افزایش داد.

مشخص شده است که افزایش در میزان ماده جامد کل شیر به میزان ۵ درصد باعث دو برابر شدن ویسکوزیته محصول می شود (Mehaia & El-Khadragy, 1998; Ozer et al., 1999). از طرفی میزان ماده جامد کل (SNF: Solid Non Fat) در حقیقت معرف میزان پروتئین یا اسید آمینه های موجود در شیر می باشد که در حین فرآیند تخمیر به مصرف باکتری های آغازگر و پروبیوتیک می رسد که این مطلب تاثیرگذاری میزان SNF را بر روی تخمیر شیر نشان می دهد. تیمار حرارتی شیر نیز یکی دیگر از فاکتورهایی است که بر رشد میکروارگانیسم ها در شیر تاثیر بسزایی دارد. بررسی های دقیق تر نشان داد که تنها تفاوت ۱۰-۱۵ درجه سانتی گراد در تیمار حرارتی شیر می تواند باعث رشد یا عدم رشد باکتری های آغازگر ماست در فرآیند تخمیر شیر شوند (Green & Jezeski, 1957). افزودن اسید آسکوربیک به شیر نیز توسط Dave و Shah به منظور بررسی رشد باکتری های پروبیوتیک انجام شد که نتایج آن امیدوار کننده نبود. تخمیر دو مرحله ای نیز یکی دیگر از روش هایی است که برای تولید و تکثیر باکتری های پروبیوتیک در حین فرآیند تخمیر شیر بکار می رود. روش کار بدین صورت است که باکتری های پروبیوتیک را جداگانه به شیر تلقیح کرده و پس از گذشت زمان یک یا دو ساعت باکتری های آغازگر را به آن اضافه می کنند. این کار سبب می شود که باکتری پروبیوتیک بتواند بهتر با محیط رشد خود هماهنگ شود (Sodin, 1998). البته تحقیقات در این زمینه زیاد نمی باشد.

در این پژوهش برای اولین بار تاثیر چهار فاکتور فوق بر رشد باکتری پروبیوتیک جهت بدست آوردن ماست پروبیوتیک بررسی شد. طرح آزمایش به روش تاگوچی و با هدف حداکثر رشد و بقای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تعیین شد. نتایج حاصل از این تحقیقات برای بدست آوردن ماست پروبیوتیکی با ارزش غذایی بالاتر سودمند خواهد بود.

مواد و روش ها

- مواد

مواد مورد نیاز آزمون های شیمیایی این پژوهش و محیط کشت MRS متعلق به شرکت مرک آلمان می باشد. شیرخشک (۵/۰٪ چربی) از شرکت لبن پارس قزوین خریداری شد.

کشت آغازگر ماست از نوع DVS و با نام تجاری x-11 از شرکت کریستن هانسن دانمارک خریداری شد. این کشت شامل دو باکتری آغازگر ماست به نسبت یکسان می باشد. از این کشت، یک کشت مادر تهیه شد. همچنین سوش پروبیوتیک این پژوهش یعنی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از مرکز کلکسیون باکتری و قارچ های ایران با شماره شناسه PTTC 1643 بصورت آمپول لیوفلیز شده خریداری گشت. این سوش را در زیر هود میکروبی و شرایط استریل به محیط کشت MRS برات اضافه کرده و این مجموعه را در شرایط بی هوازی ۴۸ تا ۷۲ ساعت در ۳۷°C گرمخانه گذاری کرده و سپس از این محیط که حاوی باکتری های پروبیوتیک می باشد بر روی پلیت های حاوی MRS آگار کشت داده و بار دیگر پلیت ها در ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. بدین ترتیب باکتری پروبیوتیک از حالت منجمد خارج و بر روی پلیت ها منتقل شده و برای مصارف بعدی در یخچال نگهداری می شوند.

- طرح آزمایش

در این پژوهش چگونگی تاثیر چهار فاکتور مستقل (تخمیر دوگانه، SNF، تیمار حرارتی و افزایش اسید آسکوربیک) در سه سطح بر رشد و بقای باکتری های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. فاکتور ها و سطوح آنها در جدول ۱ نشان داده شده اند. در صورتی که تمام آزمایش های ممکن مورد بررسی قرار گیرد به ۸۱ آزمایش نیاز خواهد بود. برای کاهش این تعداد آزمایش به تعداد معقولی از آزمایشات، از طرح عامل کسری و روش آماری تاگوچی استفاده شد. با استفاده از جداول تاگوچی، ۹ ترکیب متفاوت تعریف و در آرایه های متعامد ۹ گانه مطابق جدول ۲ چیده شد. هر کدام از آرایه های جدول با رعایت اصل تصادفی برای آزمایش ها مورد استفاده قرار گرفت و نتایج مربوط به آن اندازه گیری شد.

- تولید ماست پروبیوتیک

برای تولید ماست پروبیوتیک بر طبق جدول ۲، ۹ پایه شامل سطوح مورد نظر برای هر آزمایش آماده شد. سپس هر کدام از آزمایش ها مطابق دستور آزمایش انجام شد. برای مثال تیمار حرارتی آزمایش های ۱، ۴ و ۷ در دمای ۸۵°C و آزمایش های ۲، ۵ و ۸ در دمای ۷۲°C و آزمایش های ۳، ۶ و ۹ در دمای ۶۲°C انجام پذیرفت. موارد تخمیر دو مرحله ای و اضافه کردن اسید آسکوربیک نیز به طور مشابه انجام پذیرفت.

جدول ۱- فاکتورها و سطوح آنها

سطح	زمان تلقیح پروبیوتیک (h)	تیمار حرارتی (°C)	SNF (%)	مقدار اسید آسکوربیک (mg/l)
۱	۰	۶۲	۱۲	۰
۲	۱	۷۲	۱۴	۵۰
۳	۲	۸۵	۱۶	۱۰۰

بهینه سازی سه گانه شرایط تخمیر شیر در تولید ماست پروبیوتیک

جدول ۲- آزمایش ها و آرایه های مربوط به آن

No.	زمان تلقیح پروبیوتیک	تیمار حرارتی	SNF	مقدار اسید آسکوربیک
۱	۱	۱	۱	۱
۲	۱	۲	۲	۲
۳	۱	۳	۳	۳
۴	۲	۱	۲	۳
۵	۲	۲	۳	۱
۶	۲	۳	۱	۲
۷	۳	۱	۳	۲
۸	۳	۲	۱	۳
۹	۳	۳	۲	۱

- آزمون میکروبی

هر آزمایش سه بار تکرار شد. برای شمارش میکروبی تعداد باکتری های پروبیوتیک، از روش رقت های متوالی استفاده شد. بنابراین از ۱ ml از نمونه، تا رقت 10^{-8} استفاده شد. رقت تهیه شد. از هر کدام از این رقت ها بر روی پلیت ها و با استفاده از محیط MRS-bile کشت انجام شد. تعداد کلونی های موجود آمده بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای 37°C بر اساس استاندارد شماره ۷۷۱۴ استاندارد ملی ایران شمارش شد که نتایج آن برای روزهای اول و بیستم مطابق جدول ۳ و ۴ می باشد.

- اندازه گیری pH

برای تعیین pH نمونه ها، از دستگاه pH متر استفاده شد. قبل از این کار کالیبراسیون با استفاده از بافرهای استاندارد (pH=۷ و pH=۴) انجام پذیرفت. در این تحقیق pH نمونه ها در روز اول و روز بیستم اندازه گیری شد که در نمودار ۱ با یکدیگر مقایسه شده است.

- آزمون ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی ماست پروبیوتیک بدست آمده از استاندارد شماره ۶۹۵ استاندارد ملی ایران استفاده شد. طبق این استاندارد حداکثر امتیاز حاصل شده ۵۰ و حداقل آن صفر می باشد. نتایج حاصل در جدول ۵ نشان داده شده است.

- بهینه سازی

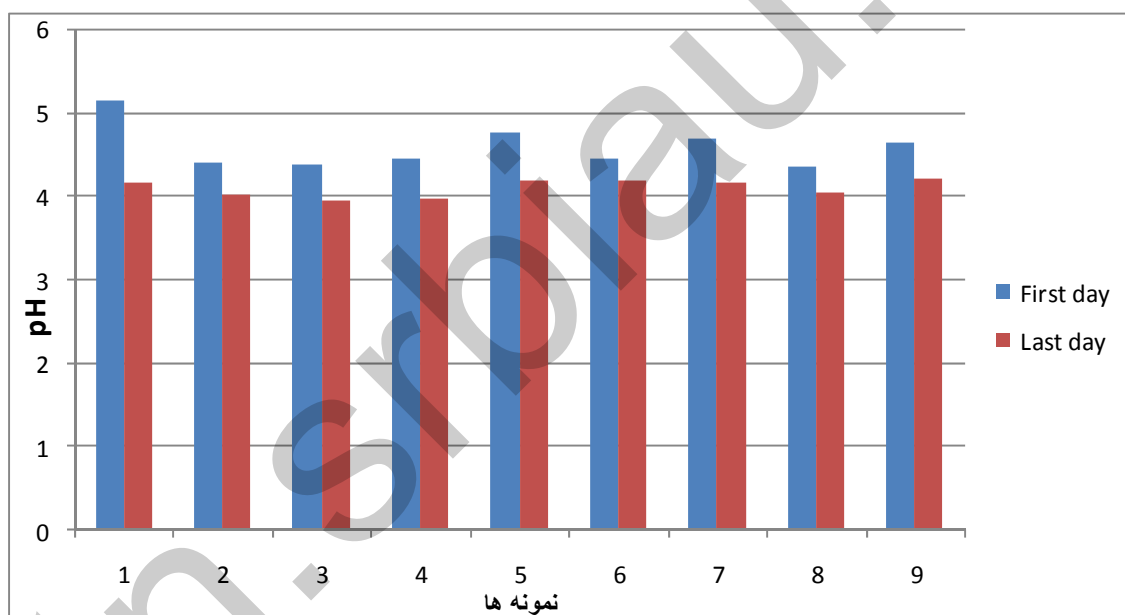
همانطور که اشاره شد برنامه آماری تاگوچی در آرایه ۱، اساس طراحی آزمایشات و برنامه نرم افزاری Qualitek-4 نیز برای تحلیل داده ها استفاده شد. در صورتی که شرایط بهینه بدست آمده از نرم افزار در آزمایش های ۹ گانه انجام شده نباشد، می بایست یک بار دیگر نمونه با شرایط پیشنهادی نرم افزار تهیه شود و سپس با شمارش باکتری های موجود در آن صحت و سقم شرایط بهینه بدست آمده بررسی شود. از آنجا که سه هدف متفاوت مد نظر این تحقیق بود، سه دفعه بهینه سازی انجام پذیرفت که به ترتیب بررسی می شود.

جدول ۳ - تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز اول

cfu/ml $\times 10^7$	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Sample1	۰/۲۷	۲/۴	۰/۲۶	۲/۶	۲/۲	۲/۴	۱۲	۲/۹	۲/۵
Sample2	۰/۲۸	۲/۴	۰/۲۶	۲/۵	۲/۱	۲/۳	۱۲	۲/۸	۲/۴
Sample3	۰/۲۷	۲/۵	۰/۲۶	۲/۷	۲/۲	۲/۲	۱۱	۲/۷	۲/۵

جدول ۴ - تعداد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز بیستم

cfu/ml $\times 10^6$	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Sample1	۰/۱۴	۱/۶	۱/۹	۲/۲	۱/۷	۱/۸	۱۴	۲	۰/۱۴
Sample2	۰/۱۵	۱/۷	۱/۸	۲/۳	۱/۶	۱/۹	۱۲	۲/۱	۰/۱۳
Sample3	۰/۱۵	۱/۶	۱/۹	۲/۲	۱/۷	۱/۹	۱۳	۲/۱	۰/۱۴



نمودار ۱ - pH نمونه ها در روز اول و بیستم

جدول ۵ - میانگین نتایج ارزیابی حسی در اولین و آخرین روز

Time / Samples	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹
First day	۴۸	۴۱/۵	۳۹/۵	۳۹/۵	۴۶	۳۸/۵	۳۷/۵	۳۷/۵	۴۶
Last day	۳۸/۵	۲۸	۰	۲۳/۵	۳۱/۵	۰	۲۳/۵	۰	۲۸

یافته ها

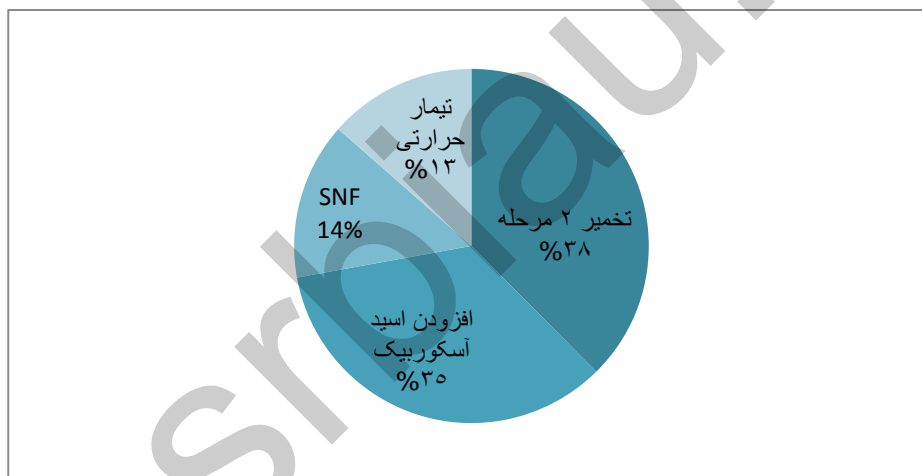
(الف) هدف از این بهینه سازی بدست آوردن بیشترین باکتری پروبیوتیک در ماست تولید شده در روز اول می باشد. نتیجه بهینه سازی در جدول ۶ آورده شده است. همچنین درصد اهمیت فاکتورها در این بهینه سازی در نمودار ۲ نشان داده شده است. میزان باکتری پیشنهاد شده توسط نرم افزار پس از بهینه سازی $10^8 \times 1/88$ CFU/ml می باشد که پس از انجام آزمایش تاییدی مقدار $10^8 \times 1/75$ CFU/ml بدست می آید که درصد اختلاف تنها ۶٪ می باشد که قابل اغماض است. در این بهینه سازی مشخص شد که تخمیر دو مرحله ای بیشترین تاثیر را دارا می باشد.

(ب) هدف از این بهینه سازی بدست آوردن بیشترین باکتری پروبیوتیک در ماست تولید شده در روز بیستم می باشد. نتیجه بهینه سازی در جدول ۶ آورده شده است.

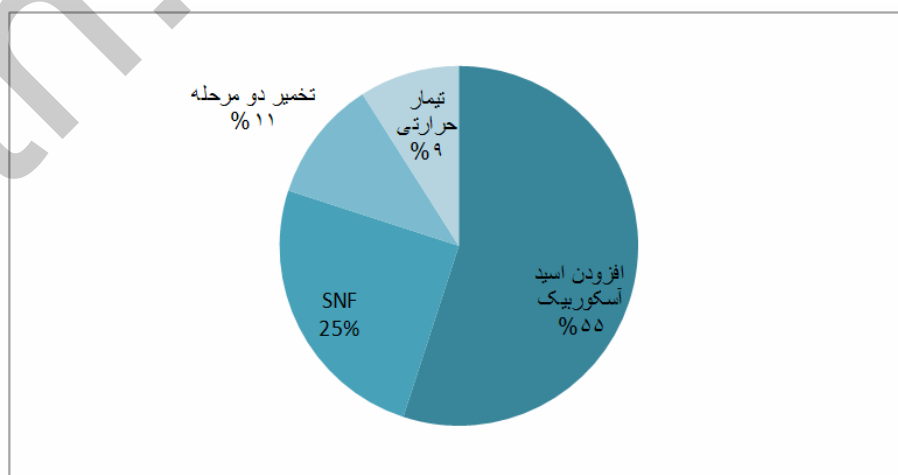
بهینه سازی سه گانه شرایط تخمیر شیر در تولید ماست پروبیوتیک

همچنین درصد اهمیت فاکتورها در این بهینه سازی در نمودار ۳ نشان داده شده است. نتیجه بدست آمده حاکی از آن است که برای شرایط بهینه، می بایست از سطح دوم در فاکتور اول و از سطح دوم در فاکتور دوم و از سطح سوم در فاکتور سوم و از سطح چهارم استفاده نمود. در ضمن مقدار بهینه سازی شده برابر $10^7 \times 1/7$ CFU/ml است. با توجه به اینکه شرایط فوق در میان آزمایش‌های انجام شده وجود نداشت، یک آزمایش دیگری بر اساس شرایط فوق انجام می شود که نتیجه آن $10^7 \times 1/8$ اختلاف کمی با نتیجه بدست آمده از نرم افزار دارد و تنها در حدود ۵ درصد دارای خطا می باشد.

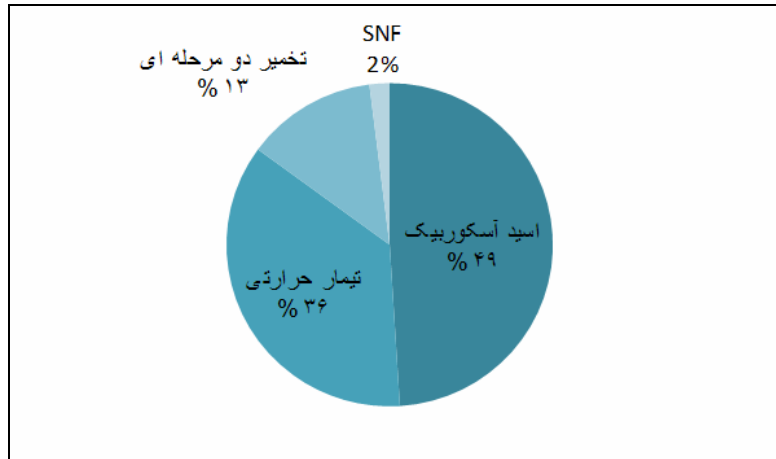
تاثیر افزودن اسید آسکوربیک در زنده ماندن باکتری پروبیوتیک قابل توجه می باشد که با توجه به غیر هوازی بودن اختیاری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس توجه می شود.



نمودار ۲- مقایسه تاثیر درصد فاکتور ها بر تعداد باکتری پروبیوتیک در روز اول



نمودار ۳- مقایسه تاثیر درصد فاکتور ها بر تعداد باکتری پروبیوتیک در روز بیستم



نمودار ۴ - درصد اهمیت فاکتورها در بهینه سازی نهایی

می باشد و کم اثرترین فاکتور نیز دمای تیمار حرارتی می باشد.

در بهینه سازی دوم هدف از بهینه سازی، تعداد باکتری زنده پروبیوتیک در روز آخر (بیستم) بود که در این بهینه سازی فاکتور اسید اسکوربیک مهمترین تاثیر را در مقدار بهینه دارا می باشد. در سومین بهینه سازی که یک بهینه سازی کلی بود، مقدار باکتری در ابتدا و انتها و همچنین شرایط شیمیایی و فیزیکی بهینه سازی شد که نتایج آن با دو بهینه سازی قبلی تفاوت داشت. در این بهینه سازی اگرچه اسید اسکوربیک موثرترین فاکتور شناخته شد اما تیمار حرارتی نیز دارای اهمیت بسزایی در نتیجه نهایی می باشد و برعکس مورد دوم، درصد ماده خشک کمترین تاثیر را دارا می باشد.

نتیجه گیری

از سه بهینه سازی فوق می توان نتیجه گرفت که برای آنکه بتوان ماستی تولید کرد که دارای طعم و pH خوب و مناسبی باشد، باید از افزایش تعداد باکتری صرف نظر کرد و در صورتی که هدف دستیابی به میزان بالای باکتری باشد، مزه و طعم مناسب نخواهد بود (نمودار ۵).

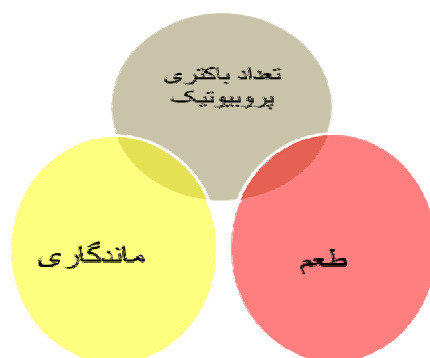
ج) هدف از بهینه سازی کلی این است که شرایطی بدست آورده می شود که در آن ماست بدست آمده دارای شرایط بهینه همزمان تعداد باکتری در ابتدا و انتها و همچنین بهترین ارزیابی حسی باشد. برای این کار از نرم افزار به گونه ای استفاده می شود که چند پاسخ همزمان را بررسی کند. برای این کار طبق دستور نرم افزار، برای هر کدام از پاسخها درصد اهمیت و نوع پاسخ مشخص می شود. به دلیل آنکه تعداد باکتری پروبیوتیک هدف اصلی این پروژه می باشد درصد اهمیت بیشتری به تعداد باکتری اختصاص داده می شود (۵۰٪). درصد اهمیت ارزیابی حسی و pH نیز یکسان در نظر گرفته شد (۲۵٪). نتیجه بهینه سازی در جدول ۶ آمده است. اهمیت درصد فاکتور ها نیز در نمودار ۴ نشان داده شده است.

بحث

همان طور که مشاهده شد، در این پروژه بهینه سازی سه بار و برای اهداف متفاوتی انجام شد. در بهینه سازی اول، هدف از بهینه سازی بدست آوردن تعداد بیشتری از باکتری پروبیوتیک در ابتدای تولید محصول بود که نتایج آن حاکی از آن بود که عنصر اصلی در این بهینه سازی ترتیب تلقیح باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شیر

جدول ۶ - سطوح بهینه هر فاکتور در ۳ بهینه سازی انجام شده

Ascorbic acid (mg/l)	Thermal care(°C)	SNF (%)	Fermentation (h)	Aim	Optimization
۵۰	۷۲	۱۴	۲	تعداد باکتری پروبیوتیک در روز اول	۱
۵۰	۷۲	۱۶	۱	تعداد باکتری پروبیوتیک در روز بیستم	۲
۰	۸۵	۱۴	۲	بهینه سازی کلی	۳



نمودار ۵ - سه هدف بهینه شده و اشتراک آنها با یکدیگر

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

Hardi, J. & Slacanc, V. (2000). Examination of coagulation kinetics and rheological properties of fermented milk products: Influence of starter culture, milk fat content and addition of inulin. *Mljekarstvo*, 50(3), 217-226.

International Dairy Federation. (1998). Fermented milks: science and technology. *IDF Bulletin*, 227.

Greene, V. W. & Jezeski, J. J. (1957a). *Journal of Dairy Science*, 40, 1046.

Kneifel, W., Jaros, D. & Erhard, F. (1993). Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt-related products fermented with commercially available starter cultures. *Int J Food Microbiol.*, 18, 179-189.

Mehaia, M. A. & El-Khadragy, S. M. (1999). Compositional characteristics and sensory evaluation of labnen made from goat's milk. *Milchwissenschaft*. 57(8), 447-450.

Ozer, B. H., Bell, A. E., Grandison, A. S. & Robinson, R. K. (1998). Rheological properties of concentrated yoghurt. *J. Tex Stu*, 29, 67-79.

Shrft, C. (1999). The probiotic century historical and current perspectives. *Trends Food Sci Technol.*, 10 (12), 411-417.

Sodin, F. (1998). Effect of continuous prefermentation of milk with on immobilized cell bioreactor on fermentation kinetics curd properties.

برای ادامه کار و استفاده از نتایج این تحقیق، پیشنهاد می شود که ضمن استفاده از سایر سوش های پروبیوتیک و بررسی بقا و ویژگی های محصول، از افزودنی دیگری همانند قندها استفاده شود تا تاثیرات نامطلوب اسید آسکوربیک را بر طعم بهبود ببخشد و علاوه بر آن به عنوان یک ماده غذایی مناسب برای باکتری های پروبیوتیک به حساب آید.

سپاسگزاری

از مسئولان مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات که شرایط انجام آزمایش ها را فراهم نمودند قدردانی می شود.

۲۲

منابع

طاهری، پ. (۱۳۸۷). تاثیر ترکیب شیر، درصد تلقیح و دمای تغییر بر رشد لاکتوباسیلوس la-5 در ماست پروبیوتیک. *مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران*، سال سوم، شماره اول (پیاپی هشتم)، صفحات ۱ تا ۱۰.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۳). ماست- شناسایی میکروارگانیسم های پایه تولید کننده ماست- روش شمارش کلنی در ۳۷ درجه سلسیوس. استاندارد ملی ایران، شماره ۷۷۱۴، چاپ اول

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. (۱۳۸۳). ماست- ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد ملی ایران، شماره ۶۹۵، چاپ اول

Bonczar, G., Wszolek, A. & Siuta, A. (2002). The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. *Food Chemistry*, 79, 85-91.