

ارزیابی بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست چکیده سین بیوتیک به کمک روش سطح پاسخ

مریم توکلی فدیهه^{*}، مسعود نجف نجفی^۱، علی محمدی ثانی^۲

^۱دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران
^۲عضو هیأت علمی مرکز آموزش عالی جهاد کشاورزی خراسان رضوی، مشهد، ایران
^۳استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قوچان، قوچان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۱

چکیده

در این پژوهش ماست چکیده سین بیوتیک با استفاده از سیستم Whey less تولید شد. ترکیبات پری بیوتیک (اینولین و الیگو فروکتوز) در سه سطح (۰، ۱/۵ و ۳٪) در مرحله افزودن سایر ترکیبات پودری به شیر اضافه شدند. میکروارگانیسم پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 نیز در سه سطح (۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵٪) همزمان با افزودن باکتری‌های سنتی ماست تلقیح شد. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و بقای میکروارگانیسم پروبیوتیک در ماست چکیده تولیدی در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ نگهداری ارزیابی شدند. نتایج نشان داد که با وجود کاهش pH در مدت نگهداری، استفاده از ترکیبات پری بیوتیک سبب افزایش رشد و بقای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست چکیده تولیدی گشت.

واژه‌های کلیدی: ماست چکیده، پری بیوتیک، پروبیوتیک، سین بیوتیک، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس.

۱- مقدمه

اطلاعات و توسعه دانش در زمینه پروبیوتیک‌ها در ۵۰ سال اخیر (که اوج مطالعات از این دست بوده) نداشته است، بلکه از دستاوردهای علمی دنیا حتی در حد تولید یک فراورده تجاری نیز بهره‌ای نگرفته است.

هدف از انجام این تحقیق تولید ماست چکیده سین بیوتیک به عنوان یک محصول جدید و بررسی ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی (pH و سینرسیس) و بقای باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیر مورد نیاز این پژوهش از شیر صنعتی پاستوریزه و هموژنیزه شده شرکت فراورده‌های لبنی لبن دشت تامین شد. ترکیبات پری بیوتیک-اینولین و الیگو فروکتوز- از شرکت Orafiti کشور بلژیک و پودر WPC 80% (پروژل) و کازینات سدیم (EM7) از شرکت هلندی DMV خریداری شدند. شیر خشک بدون چربی و عاری از آنتی بیوتیک از شرکت فراورده‌های لبنی پالود پاریسین نیشابور تهیه شد.

۲-۲- میکروارگانیزم‌ها

دو کشت باکتریایی تجاری مورد استفاده شامل کشت ترکیبی ماست (YC-380) حاوی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استریپتوکوکوس ترموفیلوس از نوع DVS و به صورت خشک شده انجمادی از شرکت دانمارکی کریستین هنسن تهیه شد. کشت تک سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5)، از نوع DVS و به صورت خشک شده انجمادی از شرکت دانمارکی کریستین هنسن تهیه شد.

۲-۳- تهیه کشت آغازگر

به منظور آماده سازی بسته‌های کشت آغازگر برای استفاده در مقیاس آزمایشگاهی طبق دستورالعمل شرکت سازنده، ابتدا محتوی بسته داخل ۱۰۰۰ میلی لیتر شیر اضافه شد و تا زمان حل شدن کامل گرانول‌ها در داخل شیر مخلوط به آرامی به هم زده شد. سپس از این مخلوط اولیه به ازاء هر یک لیتر شیر ۱۰ میلی لیتر برداشته و به شیر آماده سازی شده اضافه گردید. مقدار اخیر معادل ۲/۵٪ شیر اولیه است.

پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که در غذاهای فراسودمند یا عملگر مورد استفاده قرار می‌گیرند و به واسطه برهمکنش‌ها و مکانیسم‌های خاص با سیستم گوارشی انسان و حیوانات آثار مطلوب خود را اعمال می‌کنند (۱۲).

نکته مهم در تولید یک فراورده پروبیوتیک آن است که به منظور القای خواص پروبیوتیکی به یک فرآورده اعم از لبنی، نوشیدنی یا مکمل در محصول نهایی و طی دوره نگهداری باید تعداد کافی از سلول‌های زنده میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک باقی بمانند و به طور منظم مصرف شوند تا اثرات سلامتی بخش را به مصرف کننده منتقل نمایند. معمول ترین محدوده تعریف شده برای تراکم حضور باکتری‌های پروبیوتیک زنده 1×10^6 تا 5×10^8 cfu در هر گرم فرآورده ذکر شده است (۹).

پری بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیرقابل هضمی هستند که به وسیله تقویت انتخابی مجموعه‌ای از گونه‌های مفید میکروبی در روده بزرگ مثل بیفیدو باکترها و لاکتوباسیلوس‌ها آثار بالقوه مفید خود را بروز می‌دهند (۷).

مصرف فراورده‌های سین بیوتیک (حضور همزمان پروبیوتیک و پری بیوتیک) اثرات سودمند بیشتری بر سلامت مصرف کننده دارد. به علاوه اینکه در فراورده‌های سین بیوتیک بقای باکتری‌های پروبیوتیک در مدت نگهداری فرآورده و نیز عبور آنها از دستگاه گوارش بیشتر میشود (۴؛ ۶).

محصولات لبنی یک روش مناسب جهت رسانش این ترکیبات به محل اثر خود فراهم آورده‌اند که به عنوان یک ماده بافر از آسیب پذیری آنها طی مسیر گوارشی ممانعت کرده و در مقابله به نوعی اثر اسیدیته معده را خنثی می‌کنند (۲؛ ۳؛ ۵).

ماست چکیده محصول تخمیری شیر با بافت خمیری و نیمه جامد است که از تغلیظ شیر یا ماست به روش‌های مختلف تهیه می‌شود و به دلیل داشتن ویژگی‌های تغذیه‌ای بالاتر، قابلیت ماندگاری بیشتر، بافت و طعم مطلوب و امکان تهیه محصولات متنوع غذایی از آن در بین مصرف کنندگان از پذیرش بالاتری نسبت به ماست معمولی برخوردار است. افزایش ماده جامد شیر و تولید مستقیم ماست چکیده به دلایل گوناگون از روش‌های قابل قبول تولید ماست چکیده است (۱؛ ۱۵).

کشور ایران با سابقه تمدن طولانی و پیشینه‌ای ۳۰۰۰ ساله در تولید فراورده‌های لبنی نه تنها سهم قابل توجهی در گسترش

۲-۴- آماده سازی کشت‌های پروبیوتیک

کلیه‌ی آزمون‌ها در چهار هفته (روز اول پس از تولید، روز هفتم، روز چهاردهم و روز بیست و یکم) انجام شد و نتایج به منظور تجزیه و تحلیل نهایی گزارش شدند.

به منظور آماده سازی کشت‌های پروبیوتیکی، طبق دستورالعمل شرکت سازنده ابتدا محتوی بسته داخل ۵۰۰ میلی لیتر شیر اضافه شد و تا زمان حل شدن کامل گرانول‌ها در داخل شیر مخلوط به آرامی هم زده شد. سپس از این مخلوط اولیه به ازای هر یک لیتر شیر ۰/۴، ۱/۲ و ۲ میلی لیتر از کشت پروبیوتیک آماده شده برداشته شد و به شیر آماده سازی شده اضافه گردید. مقدار اخیر به ترتیب معادل ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵٪ از کشت پروبیوتیک نسبت به شیر اولیه است.

۲-۵- آماده سازی شیر

۶-۲- طرح آماری
روش شناسی سطح پاسخ (RSM)، با استفاده از یک طرح چرخش پذیر مرکب مرکزی برای ارزیابی پارامترهای درصد ترکیبات پری بیوتیک و درصد تلقیح بر روی بقای میکرو ارگانیسم‌های پروبیوتیک و میزان آب اندازی و تغییرات pH مورد استفاده قرار گرفت. توابع پاسخ (Y) در مورد پارامترهای اندازه گیری شده با استفاده از یک چندجمله‌ای درجه ساده (معادله ۱) و چندجمله‌ای درجه دوم (معادله ۲) مورد بررسی قرار گرفتند.

شیر پاستوریزه شده (۷۲ درجه سانتی گراد/ ۱۵ ثانیه)، مورد آزمون‌های کیفی اولیه شامل pH، اسیدیته، شمارش کلی میکروبی، اندازه گیری درصد چربی و پروتئین و آزمون عدم وجود انتی بیوتیک قرار گرفت. پس از تأیید فاکتورهای کیفی شیر ترکیبات پودری مورد استفاده به منظور تغلیظ ماست شامل WPC 80%، کازئینات سدیم و شیر خشک به شیر اضافه شد و به صورت دستی مخلوط گردیدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- انتخاب مدل

مدل خطی در مورد پارامتر pH و مدل چند جمله‌ای درجه دوم در مورد پارامترهای درصد آب اندازی و شمارش کلی باکتری پروبیوتیک در برازش داده‌ها نسبت به سایر مدل‌های پیشنهادی اختلاف معناداری داشتند ($P < 0.01$ ، جداول ۱ و ۲). مدل مناسب با توجه به معنی دار بودن آزمون F ($P < 0.01$) و معنی دار نبودن مقدار فقدان برازش ($P > 0.01$) در مورد آن و همچنین مقادیر R^2 و R^2 اصلاح شده و ضریب تغییرات انتخاب شد. با توجه به جداول ۳ و ۴ و مقادیر بالای R^2 شاهد برازش مناسب داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی بودیم. مقدار R^2 برای تغییرات pH، درصد سینرسیس و شمارش کلی باکتری پروبیوتیک به ترتیب ۰/۸۷، ۰/۹۴ و ۰/۹۰ بود. ضریب تغییرات بسیار پایین نیز دلیل دیگری بر این مدعاست که مدل‌ها برازش مناسبی از داده‌ها داشتند.

ترکیبات پری بیوتیکی شامل اینولین و الیگوفروکتوز (در نسبت‌های مشخص شده برای هر تیمار) به شیر اضافه شدند و سپس شیر آماده سازی شده تحت حرارت ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت. پس از اتمام فرایند حرارتی بطری‌های حاوی شیر به سرعت تا دمای کمتر از ۱۰ سانتی گراد با روش حمام آب یخ، خنک گردیده و سپس به مدت یک شب در دمای یخچال نگهداری شدند.

۲-۶- تهیه ماست تغلیظ شده

نمونه‌های شیر آماده سازی شده با فرمول‌های مختلف پس از سپری شدن یک شب توسط حمام آب گرم تا دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرم شده و سپس توسط استارتر آماده سازی شده (به نسبت ۲/۵٪) و کشت‌های آماده سازی شده پروبیوتیکی (به نسبت‌های ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵٪) تلقیح شدند. محتویات هر ظرف بعد از اختلاط کامل در ظروف ۱۰۰ تقسیم شده و به گرمخانه با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شدند. در زمان گرمخانه گذاری دمای گرمخانه مرتب کنترل شد. نمونه‌ها در $pH = 4.7$ از گرمخانه خارج شده و به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی گراد انتقال یافت.

۳-۲- اثر افزایش ترکیبات پری بیوتیک بر تغییرات pH

با توجه به جدول تجزیه واریانس، پارامترهای درصد ترکیبات پری بیوتیک و درصد تلقیح اثر معناداری در مدل داشتند و در نتیجه شکل نهایی مدل به صورت زیر قابل تعریف می‌باشد:

$$pH = +4.59 - 0.023 * A - 0.024 * B + 0.018 * C$$

جدول ۱- انتخاب مدل برای تغییرات pH، درصد سینرسیس و شمارش کلی باکتری پروبیوتیک در روز اول پس از تولید

مدل	pH		درصد سینرسیس		شمارش کلی باکتری‌های پروبیوتیک	
	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال
عرض از مبدا	۴۲۰/۷۲		۱۱/۲۱		۰۱۵E+۵/۰۸۸	
مدل خطی		۰/۰۰۰۱<	۰/۰۵۶	۰/۰۰۰۱<	۰۱۵E+۵/۵۱۷	۰/۰۰۲۱
چند جمله‌ای	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۰۰۴E-۶/۵۰۰	۰/۹۰۲۸	۰۱۵E+۱/۶۲۵	۰/۰۶۰۰
چند جمله‌ای درجه دوم	۰۰۴E-۳/۰۶۸	۰/۶۹۲۶	۰/۰۱۱	۰/۰۰۴۲	۰۱۵E+۱/۳۲۹	۰/۰۲۲۶
چند جمله‌ای درجه سوم	۰۰۳E-۱/۱۶۰	۰/۲۲۳۶	۰۰۳E-۱/۵۴۰	۰/۵۳۸۶	۰۱۴E+۳/۰۱۱	۰/۵۸۰۸
باقی مانده	۰۰۴E-۸/۹۸۲		۰۰۳E-۲/۶۹۴		۰۱۴E+۵/۸۴۷	
کل	۴۲۰/۷۴		۱۱/۲۸		۰۱۶E+۱/۴۴۴	

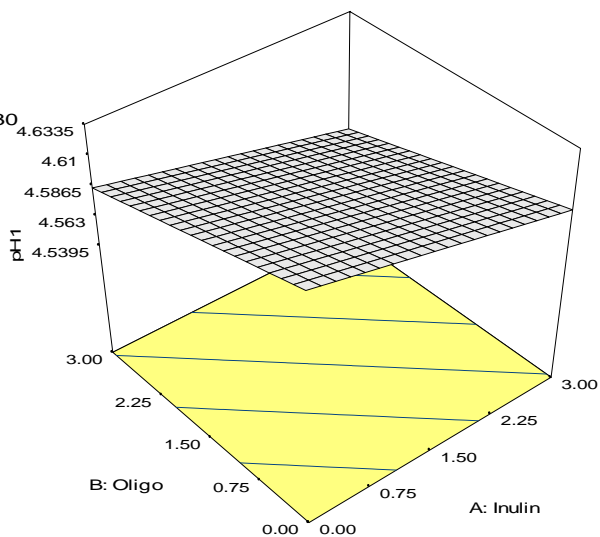
جدول ۲- انتخاب مدل برای تغییرات pH، درصد سینرسیس و شمارش کلی باکتری پروبیوتیک در هفته چهارم پس از تولید

مدل	pH		درصد سینرسیس		شمارش کلی باکتری‌های پروبیوتیک	
	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال	مجموع مربعات	سطح احتمال
عرض از مبدا	۳۶۳/۵۵		۴/۴۸		۰۱۴E+۴/۳۱۲	
مدل خطی	۰/۱۸	۰/۰۰۰۱<	۰/۰۴۹	۰/۰۰۰۱<	۰۱۴E+۵/۱۹۸	۰/۰۰۲۳
چند جمله‌ای	۰۰۳E-۱/۶۳۸	۰/۸۹۴۶	۰۰۳E-۴/۹۵۰	۰/۰۵۰۹	۰۱۴E+۱/۹۸۰	۰/۰۱۵۹
چند جمله‌ای درجه دوم	۰۰۴E-۲/۲۵۰	۰/۹۹۵۵	۰۰۳E-۱/۱۰۹	۰/۵۶۸۸	۰۱۳E+۷/۴۶۴	۰/۱۱۲۲
چند جمله‌ای درجه سوم	۰/۰۲۵	۰/۰۸۷۱	۰۰۳E-۲/۶۰۰	۰/۳۱۵۵	۰۱۳E+۳/۱۴۸	۰/۶۰۵۵
باقی مانده	۰/۰۱۱		۰۰۳E-۲/۶۲۱		۰۱۳E+۶/۵۰۸	
کل	۳۶۳/۷۶		۸/۵۴		۰۱۵E+۱/۳۲۰	

DESIGN-EXPERT Plot

pH 1
X = A: Inulin
Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucluomn = 0.30

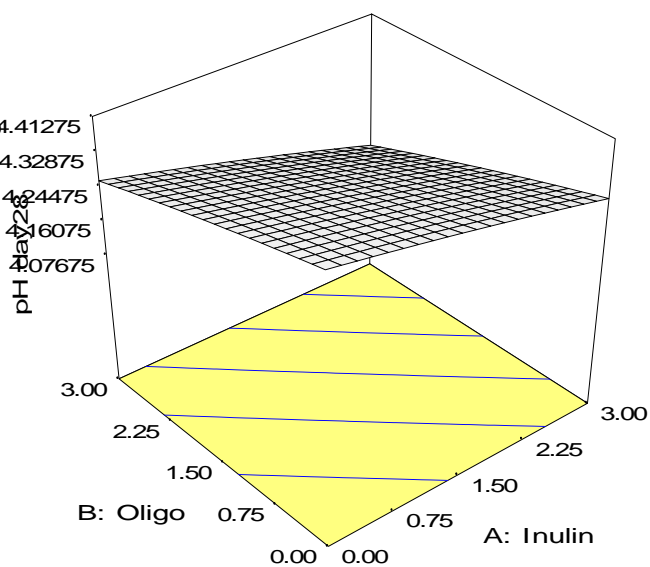


(الف)

DESIGN-EXPERT Plot

pH day28
X = A: Inulin
Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucluomn = 0.30



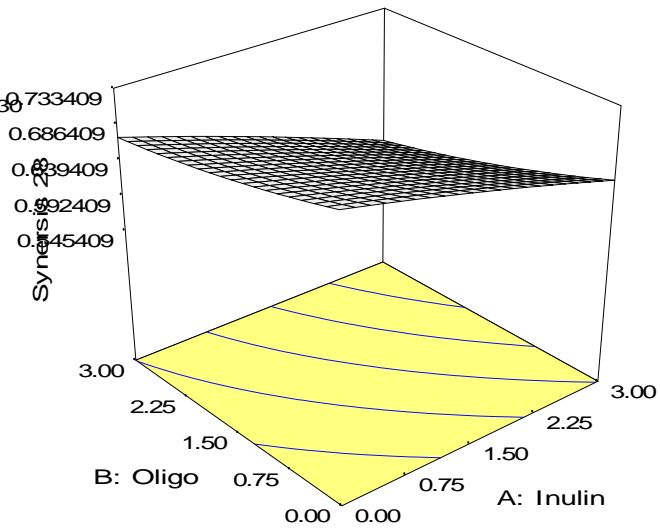
(ب)

شکل ۱- اثر عوامل پری بیوتیک بر تغییرات فاکتور pH در هفته اول (الف) و هفته آخر (ب)

DESIGN-EXPERT Plot

Synerisis 28
X = A: Inulin
Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucloumn = 0.30

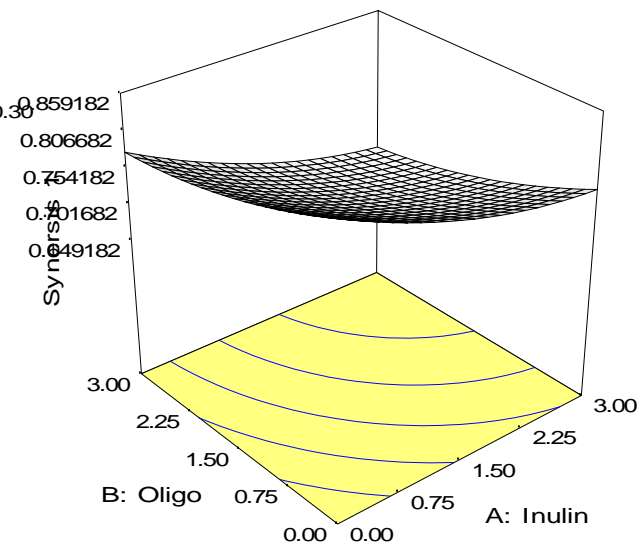


(الف)

DESIGN-EXPERT Plot

Synerisis 1
X = A: Inulin
Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucloumn = 0.30



(ب)

شکل ۲- اثر عوامل پری بیوتیک بر میزان سینرسیس در هفته اول (الف) و هفته آخر (ب)

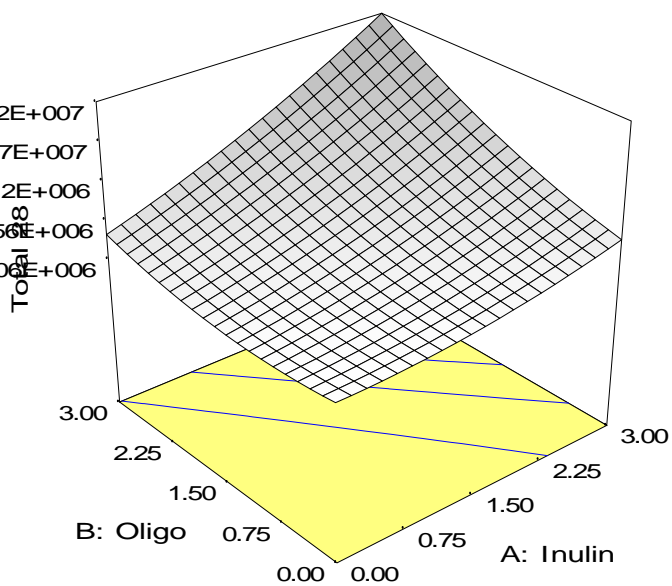
DESIGN-EXPERT Plot

Total 28

X = A: Inulin

Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucloumn = 0.30



(الف)

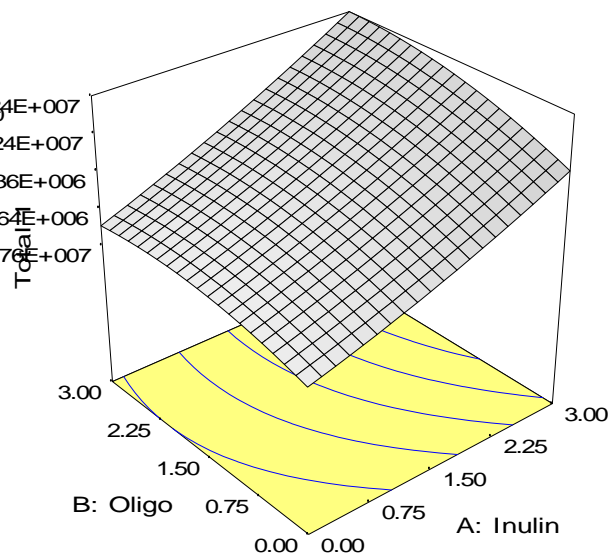
DESIGN-EXPERT Plot

Total 1

X = A: Inulin

Y = B: Oligo

Actual Factor
C: Inucloumn = 0.30



(ب)

شکل ۳- اثر عوامل پری بیوتیک بر تغییرات شمارش کلی باکتری‌های پروبیوتیک در هفته اول (الف) و هفته آخر (ب)

جدول ۳ - آنالیز واریانس پارامترهای تغییرات pH، درصد سینرسیس و شمارش کلی میکروارگانیسم پروبیوتیک در روز اول پس از تولید

Source	درجه آزادی	pH			درصد سینرسیس			شمارش کلی میکروارگانیسم پروبیوتیک		
		ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال	ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال	ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال
عرض از مبدا	۹	۷/۸۸	۰/۰۱۵	۰/۰۰۱۷	۱۷/۶۹	۰/۰۶۷	<۰/۰۰۰۱	۱۰/۶۳	۰۱۵E+۸/۴۷۱	۰/۰۰۰۵
A	۱	۲۵/۷۰	۵/۲۹۰E-۰۰۳	۰/۰۰۰۵	۸۲/۲۲	۰/۰۳۵	<۰/۰۰۰۱	۳۰/۰۷	۰۱۵E+۲/۶۶۳	۰/۰۰۰۳
B	۱	۲۷/۹۹	۵/۷۶۰E-۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۰۲۱	۰/۰۲۱	<۰/۰۰۰۱	۳/۳۲	۰۱۴E+۲/۹۳۸	۰/۰۹۸۶
C	۱	۱۵/۷۴	۳/۲۴۰E-۰۰۳	۰/۰۰۲۷	۴۹/۹۸	۰۰۵E-۴/۰۰۰	۳/۷۶۴۹	۲۸/۹۰	۰۱۵E+۲/۵۶۰	۰/۰۰۰۳
A ²	۱	-	۵/۶۸۲E-۰۰۷	۰/۹۵۹۱	۰/۰۹۴	۰۰۳E-۱/۲۵۵	۰/۱۱۵۸	۰/۰۹۶	۰۱۲E+۸/۴۶۴	۰/۷۶۳۶
B ²	۱	۰/۲۸	۵/۶۸۲E-۰۰۵	۰/۶۱۰۷	۲/۹۶	۰۰۴E-۷/۳۶۴	۰/۲۱۶۶	۰/۰۴۴	۰۱۳E+۳/۸۵۸	۰/۵۲۴۲
C ²	۱	۰/۲۸	۵/۶۸۲E-۰۰۵	۰/۶۱۰۷	۱/۷۴	۰۰۴E-۷/۳۶۴	۰/۲۱۶۶	۹/۲۴	۰۱۴E+۸/۱۸۷	۰/۰۱۲۵
AB	۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۱/۷۴	۰۰۴E-۲/۰۰۰	۰/۵۰۷۵	۰/۵۵	۰۱۳E+۴/۹۰۱	۰/۴۷۴۱
AC	۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۴/۵۰۰E-۰۰۴	۴/۵۰۰E-۰۰۴	۰/۳۲۶۸	۱۷/۷۰	۰۱۵E+۱/۵۶۸	۰/۰۰۱۸
BC	۱	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۰/۴۷	۰/۰۰۰	۱/۰۰۰۰	۰/۰۹۰	۰۱۲E+۸/۰۰۰	۰/۷۶۹۹
باقی مانده	۱۰		۲/۰۵۸E-۰۰۳			۰۰۳E-۴/۲۳۴	۱/۳۳۳E-۰۰۳		۰۱۴E+۸/۸۵۸	
فقدان برازش	۵	۱/۵۷	۱/۲۵۸E-۰۰۳		۲/۱۸	۰۰۳E-۲/۹۰۰	۰/۲۰۶۹	۰/۶۷	۰۱۴E+۳/۵۵۱	۰/۶۶۴۹
خطای خالص	۵		۸/۰۰۰E-۰۰۴						۰۱۴E+۵/۳۰۷	
مجموع مربعات کل	۱۹		۰/۰۱۷			۰/۰۷۲			۰۱۵E+۹/۳۵۷	
R ²		۰/۸۷۶۴			۰/۹۴			۰/۹		
R ² اصلاح شده		۰/۷۶۵۲			۰/۸۸			۰/۸۲		
ضریب تغییرات		۰/۳۱			۲/۷۵			۵۹/۰۱		

جدول ۴ - آنالیز واریانس پارامترهای تغییرات pH، درصد سینرسیس و شمارش کلی میکروارگانیسم پروبیوتیک در هفته چهارم تولید

Source	درجه آزادی	pH			درصد سینرسیس			شمارش کلی میکروارگانیسم پروبیوتیک		
		ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال	ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال	ضرایب	مجموع مربعات	سطح احتمال
عرض از مبدا	۹	۵/۶۸	۰/۱۸	۰/۰۰۶۰	۱۱/۶۵	۰/۰۵۵	۰/۰۰۰۳	۹/۱۲	۰/۱۴E+۷/۹۲۴	۰/۰۰۰۹
A	۱	۱۸/۶۰	۰/۰۶۶	۰/۰۰۱۵	۵۷/۹۴	۰/۰۳۰	<۰/۰۰۰۱	۲۲/۰۱	۰/۱۴E+۲/۱۲۵	۰/۰۰۰۹
B	۱	۲۱/۴۵	۰/۰۷۶	۰/۰۰۰۹	۲۹/۱۳	۰/۰۱۵	۰/۰۰۰۳	۱۴/۳۳	۰/۱۴E+۱/۳۸۴	۰/۰۰۳۶
C	۱	۱۰/۵۵	۰/۰۳۷	۰/۰۰۸۸	۶/۲۱	۰/۰۳E-۳/۲۴۰	۰/۰۳۱۹	۱۷/۴۹	۰/۱۴E+۱/۶۸۹	۰/۰۰۱۹
A ²	۱	۰/۰۱۹	۰/۰۵E-۶/۸۷۵	۰/۸۹۱۸	۰/۰۵۳	۰/۰۵E-۲/۷۸۴	۰/۰۸۲۲	۰/۲۹	۰/۱۲E+۲/۸۰۸	۰/۶۰۱۵
B ²	۱	۰/۰۱۹	۰/۰۵E-۶/۸۷۵	۰/۸۹۱۸	۰/۲۴	۰/۰۴E-۱/۲۷۸	۰/۶۳۱۴	۰/۶۱	۰/۱۲E+۵/۸۶۵	۰/۴۵۳۸
C ²	۱	۰/۰۱۹	۰/۰۵E-۶/۸۷۵	۰/۶۸۵۷	۰/۷۴	۰/۰۴E-۳/۸۴۱	۰/۴۱۱۱	۱/۱۵	۰/۱۳E+۱/۱۱۱	۰/۳۰۸۵
AB	۱	۰/۲۹	۰/۰۳E-۱/۰۱۳	۰/۸۹۱۸	۰/۸۶	۰/۰۴E-۴/۵۰۰	۰/۳۷۵۱	۵/۶۵	۰/۱۳E+۵/۴۶۰	۰/۰۳۸۷
AC	۱	۰/۱۷	۰/۰۴E-۶/۱۲۵	۰/۶۰۳۹	۷/۷۶	۰/۰۳E-۴/۰۵۰	۰/۰۱۹۳	۱۱/۵۷	۰/۱۴E+۱/۱۱۸	۰/۰۰۶۷
BC	۱	۰/۰۳E-۳/۵۴۳	۰/۰۵E-۱/۲۵۰	۰/۹۵۳۷	۰/۸۶	۰/۰۴E-۴/۵۰۰	۰/۳۷۵۱	۳/۲۷	۰/۱۳E+۳/۱۶۰	۰/۱۰۰۶
باقی مانده	۱۰		۰/۰۳۵			۰/۰۳E-۵/۲۲۱			۰/۱۳E+۹/۶۵۶	
فقدان برازش	۵	۲/۵۳	۰/۰۲۵	۰/۱۶۵۸	۱/۱۸	۰/۰۳E-۲/۸۲۱	۰/۴۳۱۸	۰/۴۹	۰/۱۳E+۳/۱۵۵	۰/۷۷۶۸
خطای خالص	۵		۰/۰۱۰			۰/۰۳E-۲/۴۰۰			۰/۱۳E+۶/۵۰۱	
مجموع مربعات کل	۱۹		۰/۲۲			۰/۰۶۰			۰/۱۴E+۸/۸۹۰	
R ²		۰/۸۳			۰/۹۱			۰/۸۹		
R ² اصلاح شده		۰/۶۸			۰/۸۳			۰/۷۹		
ضریب تغییرات		۱/۲۳			۳/۲۱			۶۶/۹۱		

کاهش میزان آب اندازی طی روزهای اول تا چهاردهم معنادار بوده است اما از روز چهاردهم تا بیست و یکم سینرسیس به مقدار کمی افزایش یافته است. این افزایش در میزان آب اندازی می‌تواند به دلیل کاهش pH طی دوران نگهداری باشد

۳-۴- اثر عوامل پری بیوتیک بر رشد و بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

پارامترهای درصد ترکیبات پری بیوتیک و درصد تلقیح باکتری پروبیوتیک اثر معناداری در سطح ۹۹٪ در مدل چندجمله‌ای درجه دوم مربوط به شمارش کلی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشتند.

$$\begin{aligned} \text{Total} &= +2.403\text{E}+006 + 1.010\text{E}+006 * \\ A^2 &+ 1.460\text{E}+006 * B^2 + 2.010\text{E}+006 * \\ C^2 &+ 2.612\text{E}+006 * A * B - 3.738\text{E}+006 * A * C - \\ &1.988\text{E}+006 * B * C \end{aligned}$$

شکل ۳-الف و ب- به بررسی اثر ترکیبات پری بیوتیک بر بقا باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی هفته اول و آخر نگهداری پرداخته است. در کلیه نمونه‌ها تعداد باکتری‌های زنده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی ۲۱ روز کاهش می‌یابد. روند کاهش در تمام نمونه‌ها طی ۲۱ روز اختلاف معناداری داشته است ($P < 0.05$).

افزایش درصد ترکیبات پری بیوتیک باعث افزایش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده در نمونه‌های ماست می‌شود. این افزایش در نمونه‌های حاوی ۳ درصد اینولین و ۳ درصد الیگو فروکتوز بیشتر از سایر نمونه‌ها است. علی‌رغم پایین‌تر بودن مقدار عددی pH در نمونه‌های با میزان بیشتر ترکیبات پری بیوتیک، بقای باکتری‌ها در این نمونه‌ها بیشتر بوده است. به طوری که در نمونه حاوی ۳٪ اینولین و ۳٪ الیگو فروکتوز بیشترین بقا و در نمونه فاقد ترکیبات پری بیوتیک کمترین بقا مشاهده شده است.

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که غیر از کاهش pH عوامل دیگری در کاهش تعداد باکتری‌های زنده در طی نگهداری ماست دخیل هستند. حضور ترکیبات پری بیوتیکی و اثرات حفاظتی و تحریک‌کنندگی آنها بر روی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک یکی از دلایل بقای بیشتر این باکتری‌ها است.

نتایج اندازه‌گیری pH نمونه‌ها طی هفته اول و آخر نگهداری در شکل ۱-الف و ب- نشان داده شده است. نمودارها به ترتیب مربوط به اندازه‌گیری pH در روزهای اول و بیست و یکم می‌باشد.

همان‌طور که مشاهده می‌شود در طی مدت زمان نگهداری pH به طور تدریجی کاهش پیدا کرده است. روند کاهش pH در مدت زمان نگهداری از رابطه خطی پیروی می‌کند. با افزایش درصد ترکیبات پری بیوتیک مقدار pH کاهش بیشتری پیدا کرده است. به طوری که بیشترین مقدار pH مربوط به روز اول و نمونه فاقد ترکیب پری بیوتیک و کمترین مقدار pH مربوط به روز آخر و نمونه حاوی ۳٪ اینولین و ۳٪ الیگو فروکتوز است.

به طور کلی علت کاهش pH فعالیت باکتری‌های سنتی موجود در ماست و باکتری‌های پروبیوتیک است که سبب افزایش تعداد باکتری‌های زنده و در نتیجه تجزیه لاکتوز و افزایش تولید اسید لاکتیک می‌گردد.

۳-۳- اثر عوامل پری بیوتیک بر میزان سینرسیس

جدول ANOVA نشان داد که پارامتر درصد ترکیبات پری بیوتیک و درصد تلقیح اثر معناداری در مدل داشتند و پارامتر درصد ترکیبات پری بیوتیک بیشترین اثر را در این مدل داشت.

$$\text{Syneresis} = +0.65 - 0.055 * A - 0.039 * B + 0.018 * C - 0.023 * A * C$$

مقایسه میزان آب اندازی نمونه‌ها طی ۲۱ روز نگهداری در شکل ۲-الف و ب نشان داده شده است. کاهش میزان آب اندازی که در نتیجه افزایش درصد ترکیبات پری بیوتیک ایجاد شده است امری بدیهی است. این مساله به دلیل افزایش ماده جامد کل نمونه‌ها در اثر افزودن اینولین و الیگو فروکتوز حاصل شده است. افزودن ترکیبات پری بیوتیک و در نتیجه افزایش ماده جامد کل شیر، میزان آب آزاد نمونه‌ها را کاهش داده لذا نمونه‌های با ماده جامد بالاتر آب خارج شده کمتری داشته‌اند. میزان آب اندازی نمونه‌ها به دلیل تحکیم ژل کازینی طی هفته دوم و سوم به تدریج کاهش یافته است. شاه و همکاران (۲۰۰۸)، نتایج مشابهی را بعد از افزودن مقادیر متفاوت بتا گلوکان به ماست بی چربی به دست آورده‌اند.

7. Hara, T., Ikeda, N., Hatsumi, K., watabe, J., Iino, H., and Mitsouoka, K. 1997. Effect of small amount ingestion of soybean oligosaccharides on bowel habits and fecal flora of volunteers. *Japanese Journal of Nutrition*, 55: 79-84

8. Hayakawa, K., Mizutain, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I., and Mitsuoaka, T. 1990. Effect of soybean oligosaccharides on human micro flora. *Journal of Microbiology Ecology Health Distribution*, 3: 293-303

9. *International Dairy Federation*. Fermented milks: science and technology. IDF Bulletin 1998; 227.

10. Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurts. *LWT-Food Science and Technology*, 39: 1221-1227.

11. Kneifel, W., Jaros, D., and Erhard, F. 1993. Micro flora and acidification properties fermented with commercially available starter culture. *International Journal of Food Microbiology*. 18: 179-189.

12. Krutman, J. 2009. Prebiotic and probiotics for human skin. *Journal of Dermatol Science*. 54: 1-5.

13. Marakoudakis, Petros A. 2006. *International Dairy Journal*, 16, 52-60.

14. Martinez-Villaluenga, C., Frias, J., Gomez, R., and Vidal-Valverde, C. 2006. Influence of addition of raffinose family oligosaccharides on probiotic survival in fermented milk during refrigerated storage. *Journal of International Dairy Journal*. 16: 768-774.

15. Mohammed, H.A., Abu-Jdayil, B., and Al-shawabkeh, A. 2004. Effect of solid concentration on the rheological properties of Labneh (concentrated yoghurt) produced from sheep milk. *Journal of Food Engineering*. 61:347-352.

16. Niazmand, R., Arab Pouryan, N., Doaei, A., Niazmand, A., and Sarabi Jamab, M. 2005. Effect of yoghurt enriched with *Bifidobacterium bifidum* or *Lactobacillus acidophilus* on fatty metabolites of serum and colonic micro flora in healthy subjects. *Journal of Iranian Food science and Tech. Res.* 1:2. 55-64.

17. Playne, M. 1994. Probiotic foods. *Food Australia*. 46: 8. 36-45.

18. Shaker, R.R., Obeidat, B., and Abu-Hshmis, M.A 2002. Influence of coagulum pH at draining on the quality and yield of concentrated yoghurt (Labne). *Egyptian Journal of Dairy science*. 30: 1. 27-34

۴- نتیجه گیری

افزودن ترکیبات پری بیوتیک به فرمولاسیون ماست چکیده سبب افزایش رشد و بقای میکروارگانیزم پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کاهش pH و کاهش مقدار آب اندازی شد. علی رغم پایین تر بودن مقدار عددی pH در نمونه‌های با میزان بیشتر ترکیبات پری بیوتیک، بقای باکتری‌ها در این نمونه‌ها بیشتر بوده است. بنا بر این می‌توان نتیجه گرفت که غیر از کاهش pH عوامل دیگری در کاهش تعداد باکتری‌های زنده در طی نگهداری ماست دخیل هستند. حضور ترکیبات پری بیوتیکی و اثرات حفاظتی و تحریک کنندگی آنها بر روی میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک یکی از دلایل بقای بیشتر این باکتری‌ها است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از ترکیبات پری بیوتیک سبب افزایش رشد و بقای میکروارگانیزم‌های پروبیوتیک، حتی تا مقادیر بالاتر از استانداردهای تعیین شده می‌شود.

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توانیم ماست چکیده سین بیوتیک را به عنوان یک محصول فراسودمند جدید به بازار تولید فراورده‌های لبنی عرضه نماییم.

۵- منابع

1. Al- kadamany, E., Khattar, M., Haddad, T., and Toufeili, I. 2003. Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 36: 407-41

2. Benno, Y., Endo, K., Shiragani, K., Sayama, T., and Mtsuoka, T. 1987. Effect of raffinose intake on human fecal micro flora. *Bifidobacterium Micro flora* 6: 59-63

3. Boehm, G., and Stahl, B. 2003. *Functional dairy products*. CRC London. Press, 95p.

4. Bourne, M.C. 2002. Food texture and viscosity concept and measurement, Florida Academic press. 450p.

5. Founden, R., Mogenson, G., Tanaka, R., and Salimen S. 2000. Culture-containing dairy products-effect on intestinal micro flora, human nutrition and health-current knowledge and future perspectives. *Bulletin of International Dairy Federation* 352: 1-37.

6. Hamann, W.T., and Marth, E.H. 1983. Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yoghurts. *Journal of food Principle*. 47: 10. 781-786.