مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی اثر آنزیم تریپسین و باکتری‌های پروبیوتیک بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ

لیلا ناطقی[1*]، بهنام صادقیان لودریجه[2]، فاطمه زارعی[3]

۱- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- دکترای علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات حلال جمهوری اسلامی ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۹/۰۷

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۲۳

کلمات کلیدی:

باکتری‌های پروبیوتیک،

پپتیدهای زیست فعال،

زنده‌مانی،

دوغ.

DOI: 10.52547/fsct.18.05.10

* مسئول مکاتبات:

leylanateghi@iauvaramin.ac.ir

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ بود. بدین منظور پپتیدهای زیست فعال به میزان ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به فرمولاسیون دوغ پروبیوتیک که با 10^8 cfu/ml *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* به صورت جداگانه تلقیح شده بودند اضافه گردیدند. آزمونهای pH ، شمارش کپک، شمارش کلی فرم، زنده مانی باکتری های پروبیوتیک، ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی، اندازه‌گیری میزان گاما آمینو بوتیریک اسید و ارزیابی حسی بر روی دوغ انجام شد. نتایج نشان داد که استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک به همراه آنزیم تریپسین و افزایش غلظت آن باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، خاصیت آنتی‌اکسیدانی، میزان تولید گابا، کپک و کلی‌فرم پس از ٦۰ روز، pH و امتیاز ارزیابی حسی بعد از ٦۰ روز نگهداری شد. همچنین باعث کاهش، کپک و کلی‌فرم در دوغ گردید. با افزودن پپتیدهای زیست فعال پذیرش کلی به صورت معنی‌داری در تمامی تیمارها افزایش یافت ($p<0/05$). با استفاده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آنزیم تریپسین می‌توان دوغ فراسودمند حاوی گابا با بار میکروبی کمتر و خواص آنتی‌اکسیدانی و حسی بالاتر تولید نمود.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

۱- مقدمه

قرن‌ها تحقیق نشان داده است که ارتباط مستقیمی بین تغذیه و سلامت وجود دارد. قابلیت غذاها و ترکیبات آنها برای بهبود کیفیت کلی زندگی سالها مورد توجه دانشمندان بوده است. تا به حال ترکیبات زیست فعال بسیاری از ماکروبیومولکولها (مثل لیپیدها و پروتئینها) مشتق شده اند. هرچند که ترکیبات مشتق شده از پروتئینها جزء مهمترین و متداولترین انواع مورد مطالعه هستند [۱]. در بدن انسان بسیاری از محصولات هیدرولیز پروتئینی، منافع سلامت بخشی متفاوتی نشان داده‌اند. محصولات هیدرولیز پروتئینی (پپتیدهای زیست فعال) اجزاء پروتئینی خاصی هستند که دارای اثرات بیولوژیکی قابل توجهی می‌باشند و تأثیر مثبتی بر عملکرد یا شرایط بدن دارند، بنابراین دارای اثرات سلامت بخشی هستند و ازنظر اقتصادی به خاطر کاربردشان در تولید غذاهای فراسودمند و داروها بسیار مورد توجه قرارگرفته‌اند [۲]. نقش‌های مختلف فیزیولوژیکی پپتیدها، آنها را تبدیل به انتخاب مناسبی برای تولید ترکیبات درمانی کرده است. انواع متفاوتی از فعالیتهای فیزیولوژیکی از پپتیدهای زیست فعال گزارش شده‌اند که وابسته به نوع، تعداد، توالی و خواص آمینواسیدهای موجود در پپتیدها می‌باشند [۳]. از دیدگاه تغذیه‌ای، دسترسی زیستی پپتیدها از پروتئینها و آمینواسیدهای آزاد بیشتر است. علاوه بر آن پپتیدهای کوچکتر، دارای اثرات حساسیت زایی کمتری در مقایسه با پروتئینهای اولیه هستند و به همین دلیل محصولات هیدرولیز پروتئینی به طور گسترده ای در فرمولاسیون غذای نوزادان به کار برده می‌شوند [۱].

روش‌های تولید و خالص سازی پپتیدهای زیست فعال عبارتند از؛ تکنیک جداسازی غشا، اولترا فیلتراسیون، کروماتوگرافی غشای و تبادل یونی درروش‌های تولید و پردازش؛ این پپتیدها در ساختار اولیه پروتئین‌های گیاهی و حیوانی به عنوان توالی اسید آمینه پنهان شده‌اند. بعضی از پپتیدهای زیست فعال به طور طبیعی مثل آندروفین هستند [٤]. پپتیدهای فعال زیستی مشتق شده از پروتئین‌های خوراکی اثرات مثبتی از جمله کنترل فشار خون، خاصیت آنتی اکسیدانی، خاصیت ضد سرطانی، مهار کننده آنزیم مبدل آنژیوتانسین[1]، تعدیل کنندگی ایمنی و کاهش لیپید در سلامتی دارند. تا این تاریخ، نگرانی‌های زیادی در مورد ایمنی پپتیدهای زیست فعال مشتق شده از پروتئین خوراکی وجود نداشته است، از این رو بدن به طور فعال پروتئینهای خوراکی را به پپتیدهای زیست فعال هیدرولیز می‌کند. مطالعات بی‌شماری، عدم سمیت این پپتیدها را در محیط کشت سلولی نشان داده است. ولی باید مطالعات مستقیمی بر روی بدن انسان صورت بگیرد تا بتوان مکانیسم‌های مولکولی این فعل و انفعالات را پیدا کرده و از آن به عنوان ابزاری در بهبود سلامت انسان بدست آورد. اطلاعات زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد پپتیدهای مشتق شده از هیدرولیز آنزیمی پروتئین خوراکی با خاصیت چندگانه به ارتقاء سلامتی انسان کمک می‌کند. ولی قبل از تجاری کردن به خصوص بعد از فرایند غذایی اضافی باید ایمنی آن مورد ارزیابی قرار گیرد. زیرا ممکن است روی ساختمان و کیفیت این پپتیدها اثر بگذارد [۵].

امروزه منابع زیادی برای این پتیدها از پروتئین وجود دارد ولی پروتئین‌های شیر، به عنوان منبع مهمی از پپتیدهای زیست فعال، مطرح شده اند البته از دیگر پروتئین‌ها از جمله آب پنیر، گوشت، منابع دریایی و گیاهی نیز می‌توان پپتیدهای زیست فعال تولید کرد. وقتی ترکیبات فراسودمند به غذا یا نوشیدنی افزوده می شوند، در معرض واکنش با ترکیبات دیگر هستند و ممکن است اثرات قابل توجهی بر کیفیت کلی محصول داشته باشند. بنابراین بررسی پایداری و کیفیت، اولین مرحله در تولید غذاهای فراسودمند می‌باشد. از دست رفتن یک یا تعدادی از ترکیبات مغذی یا طعمی یا ایجاد بدطعمی از عوامل کاهش دهنده عمر نگهداری محصولات می‌باشد [٦].

دوغ یکی از فرآورده‌های لبنی تخمیری است که از اختلاط ماست با آب و مقداری نمک تهیه می‌شود. این نوشیدنی تخمیری در سطح وسیعی به عنوان یک نوشیدنی فرحبخش در ایران و سایر کشورهای خاورمیانه به ویژه در فصول گرم سال مصرف می‌گردد [۱].

پپتیدهای زیست فعال اجزاء پروتئینی هستند که در درون ساختار پروتئین غیرفعال بوده و وقتی در اثر هیدرولیز آنزیمی آزاد می‌شوند، عملکردهای فیزیولوژیکی مختلفی نشان می‌دهند. امروزه استفاده از تکنیک‌های مبتنی بر کامپیوتر و استفاده از بانک‌های اطلاعاتی مختلف در تکمیل مطالعات آزمایشگاهی، امکان بررسی مکانیسم عملکردی پپتیدهای مختلف را فراهم آورده است [۷]. این پپتیدها در ساختار توالی مولکول پروتئین اصلی غیر فعال هستند اما چنانچه در شرایط

1. Enzyme Inhibitors Angiotensin-Converting (ACE)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]
[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

مختلف از جمله گوارش معده و روده ای شیر، تخمیر شیر با کشت‌های آغازگر پروتئولیتیک و یا هیدرولیز توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک آزاد شوند، دارای فعالیت زیستی خواهند بود که با توجه به نوع پیش ساز پروتئین، فعالیت‌های زیستی متفاوتی را می‌توان به آنها نسبت داد. اساس این تکنولوژی جداسازی غشاء و روش‌های کروماتوگرافی تبادل یونی می‌باشد. انواع مختلف پپتیدهای زیست فعال که بطور طبیعی تشکیل شده‌اند در محصولات لبنیاتی تخمیری از جمله ماست، شیر تخمیری و پنیر یافت شده‌اند [۸].

قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات نهایی، به عنوان مهم‌ترین شاخص کیفی محصولات پروبیوتیک می‌باشند. این ارگانیسم‌ها اغلب قابلیت زیستی ضعیفی در محصولات تجاری به ویژه فراورده‌های لبنی تخمیری دارند. احمدی و همکاران در سال ۲۰۱۳، اثر دو گونه بیفیدوباکتریوم (*بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس* PTCC1631 و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* PTCC1644)، با منشا ایرانی و دو pH نهایی تخمیر (۴/۵، ۴/۲) و ترتیب تلقیح (قبل و بعد از فرآیند تخمیر) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی دوغ پروبیوتیک بررسی کردند. متغیرهای نوع گونه باکتری *بیفیدوباکتریوم* و pH نهایی تخمیر و ترتیب تلقیح، بر قابلیت زیستی سویه‌های بیفیدوباکتریوم بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی به طور معنی‌داری موثر بودند. تعداد دو سویه بیفیدوباکتریوم در تمامی تیمارها در پایان تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی بیش از $\log cfu/ml^{-1}$ ۶ بود. بنابراین، این سویه‌ها قابلیت زیستی بیشتری نسبت به سویه‌های پروبیوتیک تجاری داشتند [۹]. هدف از این پژوهش، بررسی اثر باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش

محیط کشت ام آر اس مایع [1] و محیط کشت بایل، هیدروکسید سدیم و اسیدکلریدریک از شرکت مرک، آلمان و معرف DPPH (۲،۲،۱- diphenyl-1-picrylhydrazyl)، استاندارد گابا و اورتوفتالیک آلدئید (OPA) آنزیم تریپسین نیز از شرکت سیگما آلدریچ آمریکا، خریداری شد.

کشت ترکیبی ماست (YF-3331) باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *اسیدوفیلوس* خشک شده انجمادی نوع DVS[2] از شرکت کریستین هنسن[3] (Chr-Hansen)، دانمارک تهیه گردید. شیر خشک بدون چربی از شرکت پگاه (تهران، ایران) پودر آب پنیر شیرین از شرکت پگاه (گرگان، ایران) و نمک از شرکت گلها، ایران تهیه شد.

۲-۲-آماده سازی سویه‌های پروبیوتیک

سویه‌های *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *اسیدوفیلوس* هر دو به صورت خشک شده انجمادی، نوع DVS استفاده شد. برای فعالسازی کشت ترکیبی ماست، از شیر ماست سازی هموژن شده کارخانه شیر پاستوریزه تهران پگاه استفاده شد که بعد از اِعمال فرایند حرارتی ۹۵°C به مدت ۱۵ دقیقه، یک بسته واحدی از استارتر مورد استفاده به صورت استریل و طبق دستورالعمل شرکت سازنده به یک لیتر آن اضافه و در مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰°C کاملاً حل شد و در زمان تلقیح به صورت درصد حجمی استفاده شد [۱۰و ۱۱].

۲-۳- روش تهیه دوغ

برای تولید شیر پایه از شیر خشک بدون چربی به میزان ۱۴ درصد وزنی/وزنی و پودر آب پنیر شیرین به میزان ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی به صورت بازساخته استفاده شد. سپس فرایند حرارتی ۹۵°C به مدت ۱۵ دقیقه اعمال شد و سپس دما تا درجه حرارت۳۷°C کاهش یافت. آنزیم تریپسین با غلظت‌های ۱/۵ و ۳ (میلی‌گرم/۱۰۰ گرم) اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ °C نگه داشته شدند سپس برای غیر فعال کردن آنزیم تریپسین از حرارت ۱۰۰°C به مدت ۵ دقیقه استفاده گردید. سپس تیمارها در دمای ۳۷°Cبه وسیله کشت آغازگر ماست (۰/۲ درصد حجمی/حجمی) تلقیح شدند. سپس باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و *اسیدوفیلوس* مطابق با جدول تیمارها (جدول ۱) به میزان ۱۰^cfu/ml به نمونه‌ها تلقیح شد. پس از آن همگی تیمارها در دمای ۳۷C° به مدت ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. بلافاصله پس از اتمام زمان مورد نظر نمونه‌های ماست تولیدی

1. MRS Bruth

2. Direct Vat Set
3. Chr- Hansen

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

در حمام آب سرد تا دمای ٤°C خنک شدند. سپس به ماست‌های تولید شده آب به میزان ٥٠ درصد حجمی/حجمی و نمک به میزان ٠/٨ درصد وزنی/حجمی به فراورده اضافه شد و نمونه‌ها در فشار ١٥٠ بار هموژنیزه شدند. نمونه شاهد بدون استفاده از آنزیم تریپسین و تلقیح باکتری پروبیوتیک همانند سایر تیمارها تولید شد. نمونه‌های دوغ تولید شده در دمای ٤°C به مدت ٦٠ روز نگهداری شدند. آزمونهای مربوط به دوغ‌های پروبیوتیک و نمونه شاهد در روز اول (٢٤ساعت پس از تولید)، ٣٠ام و ٦٠ ام تولید انجام پذیرفت [١٢].

Table 1 Treatments was used in this research

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)
T1 (Control)	-	-
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5
T5	*Lactobacillus helveticus*	3

٢-٤- آزمون‌ها

٢-٤-١-تعیین pH

برای ارزیابی pH مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ٢٤٥٣ استفاده شد [١٣].

٢-٤-٢- شمارش کپک

شمارش کپک بدین صورت بود که ابتدا به منظور تهیه سوسپانسیون همگن ٢٥ گرم دوغ به همراه ٢٢٥ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ٠/٢ درصد وزنی/حجمی در بسته‌های مخصوص استریل ریخته سپس توسط دستگاه استومکر به مدت ٥ دقیقه هموژن و فیلتر شد تا ذرات معلق آن حذف شود. بدین ترتیب رقت 10^{-1}، تهیه شد. برای تهیه سایر رقت‌ها (10^{-2} تا 10^{-7}) از آب پپتونه ٠/١ درصد وزنی/حجمی استریل استفاده شد. جهت تهیه کشت سطحی ٠/١ سی‌سی از هر رقت بر روی محیط کشت YGC Agar [1] منتقل گردیده و به مدت ٥ روز در دمای ٢٥° C استاندارد ملی ایران به شماره ١٠٨٨٩ گرمخانه‌گذاری شد [١٤].

1. Yeast Extract Glucose chloramphenicol Agar

٢-٤-٣-شمارش کلی‌فرم‌ها

شمارش کلی‌فرم‌ها با استفاده از محیط کشت وی‌آر بی آگار [2] (VRBA) و به روش پور پلیت [3] دو لایه با استفاده از روش استاندارد ملی ایران٩٢٦٣ انجام گردید. میزان ١ میلی‌لیتر از رقت مورد نظر را در یک پلیت خالی ریخته سپس ١٠ تا ١٢ میلی‌لیتر از محیط VRBA به دمای ٤٥°C را به آن اضافه کرده و پس از مخلوط کردن آنها با هم و بستن محیط، ٥ میلی‌لیتر از محیط VRBA را به آن اضافه کرده و این محیط را در دمای ٣٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ١٨ تا ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. کلنی‌های کلی‌فرم‌در این محیط به صورت پرگنه‌های قرمز تا ارغوانی با قطر ٠/٥ میلی‌متر و بالاتر که دارای هاله‌ای از رسوب املاح می‌باشد دیده شدند [١٤].

٢-٤-٤- زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک

بقای باکتریها طی مدت نگهداری از طریق شمارش تعداد *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس و اسیدوفیلوس* در روزهای مورد نظر انجام شد. برای این منظور از ١ میلی‌لیتر نمونه، سری رقت تهیه شد و هر باکتری با سه تکرار و به روش پورپلیت روی محیطهای کشت انتخابی یا افتراقی مورد نظر کشت شد. شمارش *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس و اسیدوفیلوس* روی محیط انتخابی MRS-Bile آگار و بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ٣٧ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ٧٢ساعت در شرایط بی‌هوازی (GasPak System-OXOID) انجام شد. شمارش پرگنه‌های *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس و اسیدوفیلوس* بعد از ٧٢ساعت گرمخانه‌گذاری محیط ام آر اس با pH حدود ٥/٢ در دمای ٤٥ درجه‌سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی انجام شد. برای شمارش *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس و اسیدوفیلوس* از محیط کشت افتراقی M17 آگار در دمای ٣٧ درجه‌سانتی‌گراد به مدت ٧٢ساعت در شرایط هوازی استفاده شد .در نهایت، پلیت‌های حاوی ٣٠ تا ٣٠٠کلنی شمارش و تعداد حاصله به صورت log cfu در میلی‌لیتر محصول گزارش شد. شمارش کپک طی مدت نگهداری بر روی محیط YGC agarبه روش Pour plate انجام شد و پلیتها در دمای ٢٥ درجه‌سانتی‌گراد و شرایط هوازی به مدت ٦٠ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند [١٥].

2. Violet Red Bile Agar
3. Pure Plate

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]
[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

۲-٤-۵- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH در موج nm ۵۱۷انجام شد با استفاده ازدستگاه اسپکتروفوتومتر *اسپکتروفتومتر* UV-VIS مدل GES30 ساخت شرکت Thermo Scientific کشور امریکا در روزهای ۱، ۳۰ و ٦۰ ارزیابی گردید [١٦].

۲-٤-٦- اندازه گیری میزان گابا (گاما آمینو بوتیریک اسید) با استفاده از دستگاه گازکروماتوگرافی با سطح بالا

میزان گابای تولیدی توسط باکتری‌های پروبیوتیک کشت یافته در دو محیط MRS Broth مطابق با شرایط ذکر شده توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع به روش فاز معکوس با کارایی بالا ارزیابی گردید. روش مشتق‌سازی مطابق با روش (۱۷) به شرح زیر انجام گردید. بعد از سانتریفوژ (۱۰g × ۱۲۰۰۰ دقیقه و ۲۵سانتی‌گراد) محیط کشت درحدود ۲۰ میکرولیتر از نمونه که از فاز رویی جدا شده را داخل یک ویال ۲ میلی‌لیتریخته و به آن ۲۰ میکرولیتر بافر بورات افزوده و کاملا مخلوط شد. به نمونه ۱۰میکرولیتر [1] افزوده شده و سپس به مدت ۱ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. مقدار ۵ میکرولیتر اسیداستیک ۵ درصد بعد از۱ دقیقه نگهداری به نمونه افزوده شد پس از مشتق‌سازی، معادل ۲۰ میکرولیتر از هر نمونه به یک ستون C18 (ساخت کره جنوبی) به ابعاد ۰/۵mm×٦/٤mm×µm ۱۵۰ در ۲۵ درجه سانتیگراد، با آشکار ساز UV درطول موج λ ۳۳۸nm = تزریق شد. فاز متحرک A، سدیم دی هیدروژن فسفات ٤۰m ،که pH آن توسط سود تا ۷/۸ تنظیم شده بود، در حالی که فاز متحرک B استونیتریل / متانول/ آب (۱۰/٤۵/٤۵، v/v/v) بود. جداسازی با نرخ جریان از ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه با یک برنامه گرادیان که برای ۲۵ دقیقه در B، ۰درصد و ادامه پیدا کرد برای۲/۵ دقیقه که شوینده B به درصد افزایش یافت. پس از آن عملیات شستشو در B، ۳۳ درصد تا رسیدن به زمان برای ۷ دقیقه و ٦۰ درصد تا رسیدن به برای ۱۳دقیقه ادامه یافت به مدت برای ۲ دقیقه در همین حالت باقی ماند. سپس در ۲۲ دقیقه به ۸۰ درصد B رسید و پس از آن برای ۳۰ دقیقه به ۱۰۰ درصد B رسید و پس از آن به شرایط اولیه برگشت. کل زمان تجزیه و تحلیل ۳۵ دقیقه بود. گابا با توجه به زمان نگهداری و مقایسه آن با محلول‌های استانداردهای مربوطه مشخص می‌شود. منحنی‌های استاندارد در غلظت ۵۰، ٤۰۰،۳۰۰،۲۰۰،۱۰۰، ppm بر اساس سطح زیر منحنی محاسبه گردید و طیف گسترده‌ای از غلظت‌ها را پوشش داد. غلظت گابا بر اساس ppm بیان شد.

۲-٤-۷-ارزیابی خصوصیات حسی

ارزیابی ویژگی‌ها توسط ۹ نفر ارزیاب آموزش دیده از نظر ویژگیهای ارگانولیپتیکی طعم، شوری، احساس دهانی و از نظر پذیرش‌کلی با روش هدونیک ۵ نقطه‌ای با استفاده از روش استاندارد ملی ایران شماره ٤٦۹۱ مورد استفاده قرار گرفت بطوریکه امتیازهای ۵ ،٤ ،۳ ،۲ و۱ به ترتیب بسیار خوب، خوب، متوسط، بد و بسیار بد در نظر گرفته شد [۱۷].

۵-۲-تجزیه و تحلیل آماری

طراحی تیمارها در قالب طرح کاملا تصادفی بود آزمونها با سه تکرار انجام شد و نتایج حاصل از آزمونها به روش آنالیز واریانس یک طرفه دانکن و در سطح ۹۵ درصد اطمینان با استفاده از نرم افزار مینی‌تب ۱٦ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

۳-نتایج و بحث

۳-۱-اندازه‌گیری pH دوغ

جدول ۱، اثر باکتریهای پروبیوتیک و آنزیم تریپسین برتغییرات pH تولید شده دوغ را نشان می‌دهد. مطابق با نتایج نوع باکتری پروبیوتیک و افزایش غلظت آنزیم تریپسین اثر معنی-داری بر تغییرات pH نمونه‌های مورد بررسی داشت. لازم به ذکر است میزان pH طی دوره نگهداری در تمامی تیمارها کاهش معنی‌داری نشان داد بطوریکه بالاترین میزان pH (۳/۸٤۵) پس از ٦۰ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ شاهد (تیمار T1) بود. پایین‌ترین میزان pH(۳/٦۱۵) در نمونه دوغ حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و mg/100ml ۳تریپسین (تیمار T3) بود که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) بود. علت کاهش pH طی دوره نگهداری می‌تواند مربوط به شکسته‌شدن برخی ازگروه‌های استری و تبدیل آنها به گروه اسیدی باشد. از سوی دیگر رشد باکتری‌های مقاوم به اسید همچون لاکتوباسیلوس‌ها نیز ممکن است در این زمینه مؤثر باشد (۱۲). pH دوغ حاوی باکتریهای آغازگر سنتی

1. Ortho-Phthaldi Aldehyde (OPA)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

ماست و پروبیوتیک‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)، طی دوره نگهداری از ٤/٥ به ٤/٢ کاهش می‌یابد. در دوغ نیز بعضی از باکتری‌ها مانند باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* حتی قادربه کاهش pH به کمتر از ٣/٨ می‌باشد . مرتضویان و همکاران، (٢٠٠٧) گزارش کردند تفاوت در تغییرات pH نمونه‌های مختلف دوغ را می‌توان به گونه‌ها و نژادهای مختلف باکتریایی نسبت داد [١١]. اسیدهای آلی، پراکسید هیدروژن تولید شده در حین تخمیر و نگهداری همچنین بر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء اثر گذاشته و باعث افزایش شاخص یاد شده می‌شوند [١٠]. مطابق استاندارد به شماره ٢٤٥٣ pH دوغ نباید از٤/٥ بیشتر باشد. نتایج جدول ٢ نشان داد pH تمامی تیمارهای مورد آزمون در محدوده استاندارد ملی بودند [١٣].

Table 2 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on pH changes produced by dough and control sample

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	4.135 ± 0.007^{aA}	3.98 ± 0.000^{aB}	$3.845\cdot\pm0.007^{aC}$
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	3.970 ± 0.014^{cdA}	3.825 ± 0.021^{cB}	3.710 ± 0.014^{bC}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	3.925 ± 0.021^{dA}	3.760 ± 0.014^{cB}	3.615 ± 0.021^{cC}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	4.050 ± 0.014^{bA}	3.910 ± 0.014^{bB}	3.825 ± 0.021^{aC}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	4.000 ± 0.000^{bcA}	3.875 ± 0.007^{bcB}	3.750 ± 0.000^{bC}

Results are shown as mean ± standard deviation.

٣-٢- اندازه‌گیری میزان کپک دوغ

بررسی رشد کپک در محصولات غذایی به عنوان شاخصی برای آلودگی مواد غذایی اندازه‌گیری می‌شود [١٤]. مطابق با نتایج جدول ٣ میزان کپک طی دوره نگهداری در بعضی از تیمارها افزایش یافت. نتایج جدول ٢ نشان داد تلقیح نمونه‌ها توسط باکتری پروبیوتیک و استفاده از آنزیم تریپسین اثر معنی‌داری بر کاهش میزان کپک در نمونه‌های تولیدی داشت بطوریکه بالاترین میزان کپک (cfu/ml ٣١) پس از ٦٠ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ شاهد (تیمارT1) و پایین‌ترین میزان کپک (٠) در نمونه دوغ تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *هلوتیکوس* حاوی mg/100ml ٣تریپسین (تیمار T3و T5) بود که از نظر آماری این اختلاف با سایر تیمارها معنی‌دار ($p<$٠/٠٥) بود. پپتیدهای ضد میکروبی هنوز هم سلاح‌های دفاعی قابل باوری هستند، و به این دلیل که باکتریها، قارچها و ویروسها می‌توانند به هر ماده‌ی قابل تصوری مقاوم شوند را باطل می‌کنند لذا میزان کپک در تیمار ٣ و ٥ از بقیه کمتر بود (١٨). مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ٢٤٥٣ میزان کپک در دوغ ساده باید زیر ١٠٠cfu/ml باشد که میزان کپک دوغ در تمامی تیمارهای مورد آزمون پس از ٦٠ روز نگهداری در محدوده قابل قبول استاندارد بود [١٣]. قدرت و همکاران.، (١٣٩٢) در نتیجه تحقیقات خود بیان داشتند استفاده از باکتری‌های مولد باکتریوسین *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در جلوگیری از بروز تغییرات کیفی (کپک) موثر است [١٨].

Table 3 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on the amount of mold (cfu / ml) produced in dough and control sample

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	0.000 ± 0.000^{aC}	17.000 ± 2.828^{aB}	31.000 ± 4.243^{aA}
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	0.000 ± 0.000^{ab}	0.000 ± 0.000^{bB}	13.000 ± 4.243^{bA}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{cA}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	0.000 ± 0.000^{aB}	0.000 ± 0.000^{bB}	17.500 ± 3.536^{bA}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{cA}

Results are shown as mean ± standard deviation.

٣-٣- اندازه‌گیری کلی‌فرم دوغ

جدول ٤، بررسی اثر باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین برمیزان کلی‌فرم در دوغ تولید شده را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد استفاده از آنزیم تریپسین و باکتری پروبیوتیک اثر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

معنی‌داری برکاهش میزان کلی‌فرم نمونه‌های دوغ مورد بررسی داشت بطوریکه میزان کلی‌فرم پس از ۶۰ روز نگهداری در تمامی تیمارهای مورد بررسی به جز نمونه شاهد (۶cfu/ml) منفی بود. علت عدم رشد کلی‌فرم‌ها در نمونه‌های دوغ حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین می‌تواند به دلیل تولید متابولیت‌های خاص مثل باکتریوسین‌ها باشد که از فعالیت پروبیوتیک‌ها بوجود می‌آید و از تکثیر کپک جلوگیری می‌کند [۱۸]. مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۵۳ تعداد کلی‌فرم در دوغ باید زیر ۱۰cfu/ml باشد که در تمامی تیمارها در محدوده قابل قبول استاندارد بود [۱۳]. در تحقیقی که توسط شکوهیان و همکاران. (۲۰۱۳) در بندرعباس بر روی شیر و فرآورده‌های لبنی سنتی انجام شد، مشاهده شد در هیچکدام از ۹۶ نمونه مورد بررسی (ماست، دوغ و شیر پاستوریزه)، کلی‌فرم مدفوعی و *استافیلوکوکوس اورئوس* وجود نداشت [۱۹].

Table 4 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on dough coliform and control sample (cfu / ml)

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	0.000 ± 0.000^{aB}	3.000 ± 2.828^{aAB}	6.000 ± 1.414^{aA}
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{bA}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{bA}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{bA}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	0.000 ± 0.000^{aA}	0.000 ± 0.000^{bA}	0.000 ± 0.000^{bA}

Results are shown as mean ± standard deviation.

۳-۴-اندازه‌گیری قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در دوغ

جدول۵ اثر باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر میزان زنده‌مانی تولید شده در دوغ را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد نوع باکتری پروبیوتیک و افزایش غلظت آنزیم تریپسین اثر معنی‌داری بر افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در دوغ داشت. مطابق با نتایج بالاترین میزان زنده‌مانی (Log_{10} ۷/۰۸cfu/ml) پس از ۶۰ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و حاوی ۳آنزیم تریپسین (تیمار T3) بود. پایین‌ترین میزان زنده‌مانی پس از ۶۰ روز نگهداری متعلق به (۲۲/۶Log10 cfu/ml) در نمونه دوغ تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* و حاوی ۱۳ mg/100m آنزیم تریپسین (تیمار T4) بود که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) بود. مهمترین شاخص کیفی محصولات پروبیوتیک، قابلیت زیستی پروبیوتیکها در آنها، یعنی کمینه تعداد سلولهای زنده پروبیوتیک در هر میلی لیتر یا گرم از فرآورده‌های غذایی در لحظه مصرف /ml ۶ است. در فرآورده‌های تخمیری، دستیابی و حفظ تعداد سلولهای زنده در حد کمینه استاندارد مشکل است و اغلب طی دوره نگهداری افت قابل ملاحظه‌ای در قابلیت زیستی ایجاد می‌شود [۱۱]. عوامل گوناگونی بر قابلیت زیستی کشت‌های آغازگر پروبیوتیک در شیرهای تخمیر شده اثر گذار است. عواملی نظیر اسیدیته، pH، میزان اکسیژن، کمبود مواد مغذی و وجود مواد ضدمیکروبی در فرآورده، می‌تواند قابلیت بقای پروبیوتیکها را تحت تأثیر قرار دهد [۲۰]. اقبال طلب و همکاران در سال ۱۳۹۸ تأثیر افزودن عصاره گیاه جینکو[1] در سطوح مختلف بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک دوغ حاوی g/L ۰/۲ عصاره موسیر طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند با افزایش درصد عصاره جینکو، قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-12 به صورت معنی‌داری ($p\geq0/05$) افزایش یافت [۲۱]. در تحقیقی دیگر دهقان نیری و همکاران در سال ۱۳۹۶ به بررسی اثر افزودن گزیلوالیگوساکارید بر زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) آب زرشک پرداختند. نتایج نشان داد سویه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* توانست شرایط اسیدی آب زرشک را بهتر تحمل نماید و زنده‌مانی بیشتری را نشان داد [۲۲]. چنانچه غنی کردن آبمیوه‌ها قبل از تخمیر توسط قندهایی نظیر گلوکز و لاکتوز صورت بگیرد، موجب افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیکها در فرآورده طی تخمیر می‌شود [۲۳].

1. Ginkgo biloba

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

Table 5 Effect of trypsin enzyme on the viability of probiotic bacteria in buttermilk (Log10 cfu / ml)

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	-	-	0-
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	8.155 ± 0.077^{aA}	7.105 ± 0.063^{abB}	6.415 ± 0.148^{bC}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	8.170 ± 0.155^{aA}	7.625 ± 0.176^{aAB}	7.080 ± 0.099^{aB}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	8.115 ± 0.106^{aA}	6.915 ± 0.091^{bB}	6.220 ± 0.084^{cC}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	8.130 ± 0.155^{aA}	7.260 ± 0.212^{abB}	6.830 ± 0.127^{abB}

Results are shown as mean ± standard deviation.

۳-۵- نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دوغ

اثر باکتریهای پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دوغ تولید شده در جدول ٦ نشان داده شده است. نتایج نشان داد تلقیح باکتری پروبیوتیک و استفاده از آنزیم تریپسین و افزایش غلظت آن اثر معنی‌داری بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و یا به عبارتی دیگر کاهش میزان IC_{50}% نسبت به نمونه شاهد گردید. بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی(٦٢/٦٨٥) (٪) IC_{50} پس از ٦٠ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ شاهد (تیمار T1) بودو پایین‌ترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی(٤٦/٥٧٠) (٪) IC_{50} *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* پس از ٦٠ روز نگهداری متعلق به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و حاوی ۳mg/100ml آنزیم تریپسین (تیمار T3) بود که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار($p<$۰/۰۵) بود. علت بالاتر بودن خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های دوغ حاوی باکتری پروبیوتیک و آنزیم تریپسین نسبت به نمونه شاهد می‌تواند حضور ترکیبات و متابولیت‌های حاصل از فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین باشد.

اقبال طلب و همکاران (۱۳۹۸) در تحقیق خود مشاهده نمودند با افزایش درصد عصاره جینکو به دوغ فعالیت آنتی-اکسیدانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*Bb-12 افزایش یافت. آنها گزارش کردند طعم دار کردن دوغ با طعم دهنده‌های سنتی موجود در کشور، راهکاری برای افزایش تنوع بازار نوشیدنی است [۲۱].

ال فتاح و همکاران.، (۲۰۱۸) گزارش کردند ماست حاوی پپتیدهای زیست فعال گاما آمینو بوتیریک اسید دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند. پپتیدهای زیست فعال می‌توانند به عنوان اهدا کننده الکترون عمل کنند و با رادیکالهای آزاد واکنش دهند و آنها را غیرفعال کنند [٢٤]. ساح و همکاران، ۲۰۱۵ گزارش کردند زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماست غنی شده با پوست آناناس نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است [۲۵].

Table 6 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on changes (%) of IC_{50} in produced dough

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	56.640 ± 2.135^{aB}	61.665 ± 0.672^{aAB}	62.685 ± 0.700^{aA}
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	48.635 ± 2.086^{abA}	49.725 ± 02.072^{bA}	52.475 ± 1.945^{bA}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	42.650 ± 2.150^{bA}	44.730 ± 0.636^{cA}	46.570 ± 0.580^{cA}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	49.240 ± 1.527^{abA}	50.99 ± 0.212^{bA}	52.555 ± 0.559^{bA}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	41.835 ± 2.326^{bA}	44.150 ± 1.428^{cA}	46.790 ± 0.919^{cA}

Results are shown as mean ± standard deviation.

۳-٦- نتایج اندازه‌گیری فعالیت گابا دوغ

جدول۷ بررسی اثر باکتریهای پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر تغییرات میزان گابا تولید شده در دوغ را نشان می دهد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان تولید گابا (۳۹۵/۱۵mg/ml) پس از ٦٠ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ تلقیح شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* حاوی ۳mg/100ml آنزیم تریپسین بود و پایین‌ترین میزان تولید گابا (۱۵/۱mg/ml) مربوط به نمونه دوغ شاهد (تیمار T1) بود که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار ($p<$۰/۰۵) بود. نتایج نشان داد با تلقیح *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (تیمار T3)، پروتئولیز توسط تریپسین رشد باکتریها را افزایش داده و باعث افزایش مقدار گابا می‌شود. در تحقیقی که ال فتاح و همکاران انجام دادند

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

گزارش کردند توانایی تولید گابا در ماست توسط لاکتوباسیلوس‌ها در حضور اسید گلوتامیک و پروتئولیز میکروبی افزایش می‌یابد [۲۴]. مطالعات محققین نشان داده است برخی از لاکتوباسیلوس‌ها در مواد غذایی و نوشیدنی-هامی‌توانند گابا تولید نمایند. گابای تولید شده در مواد غذایی می‌تواند علاوه بر خواص درمانی باعث کنترل پاتوژن‌های موجود در مواد غذایی با ترشح باکتریوسین‌ها شود [۲۶]. پپتیدهای زیست فعال قطعات پروتئینی هستند با ترکیب و توالی اسیدهای آمینه های خاص که توسط پروتئولیز آزاد می-شوند. این پپتیدها حاوی ۲-۲۰ آمینو اسید هستند و دارای جرم‌های مولکولی کمتر از ۶۰۰۰ Da هستند. پس از تجویز خوراکی، پپتیدهای فعال زیستی ممکن است با گیرنده‌های منتخب اثر متقابل داشته و منجر به اثرات درمانی مفیدی بر روی سیستم‌های قلبی عروقی، ایمنی و عصبی شوند [۲۷]. تحقیقات نشان داده باکتری‌های پروبیوتیک می‌توانند تحت شرایط شبیه سازی شده گوارشی زنده بمانند و گابا تولید نمایند [۲۸]. محققین سه سویه لاکتوباسیلوس، *پاراکازئی* PF6، *دلبروکی* زیر گونه *بولگاری* و *پلانتاروم* C48 جدا شده از پنیر تحت هضم پپسین و پانکراتین قرار دادند، و گزارش کردند باکتری‌های مذکور توانستند زنده بمانند و گابا تولید نمایند. برای افزایش تولیدگابا، تبدیل گلوتامات دکربوکسیلاز و گلوتامات گابا آنتی پورتر باید بیش از حد بیان شود، و همچنین گابا آمینو ترانسفراز از مصرف گابا تولید شده به عنوان پیش ساز در چرخه کربس جلوگیری می‌کند [۲۹].میزان ۱۱۲ میلی‌گرم/۱۰۰میلی‌لیتر گابای تولید شده در شیر سویا برای فراهم نمودن غذای عملگرا کافی است [۳۰].

Table 7 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on changes in the amount of GABA produced in buttermilk (mg / ml)

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	0.575 ± 0.049^{dB}	0.875 ± 0.049^{eA}	1.150 ± 0.099^{dA}
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	2.655 ± 0.120^{bC}	5.130 ± 0.255^{cB}	6.735 ± 0.148^{cA}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	4.695 ± 0.233^{aC}	12.265 ± 0.163^{aB}	15.395 ± 0.502^{aA}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	1.840 ± 0.127^{cC}	3.230 ± 0.085^{dB}	5.750 ± 0.127^{cA}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	3.215 ± 0.190^{bC}	8.305 ± 0.177^{bB}	10.780 ± 0.552^{bA}

Results are shown as mean ± standard deviation.

۳-۷- نتایج اندازه‌گیری پذیرش‌کلی دوغ

جدول۸ بررسی اثر باکتریهای پروبیوتیک و آنزیم تریپسین برمیزان پذیرش کلی (امتیاز) دوغ تولید شده را نشان می‌دهد. نتایج جدول ۸ نشان داد بالاترین میزان پذیرش کلی (۴/۸۷) پس از ۶۰ روز نگهداری متعلق به نمونه دوغ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (تیمار T3) حاوی ۳mg/100ml آنزیم تریپسین بودو پایین‌ترین میزان پذیرش‌کلی (۴/۷۲) در نمونه دوغ شاهد (تیمار T1) بود که از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار ($p<0/05$) بود. امتیاز پذیرش کلی متاثر از امتیاز طعم، قوام و بو و مزه محصولات می‌باشد. کاهش امتیاز عطر و بو طی دوره نگهداری می‌تواند بدلیل حضور باکتری‌های پروبیوتیک و مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی در نوشیدنی‌ها باشد [۳۱]. کاهش امتیاز پذیرش کلی در نوشیدنی‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری می‌تواند بدلیل کاهش میزان pH، میزان بریکس، مرگ باکتری‌های پروبیوتیک، افزایش تجمع سلولی، افزایش کدورت و در نهایت کاهش امتیاز عطر و مزه و بو باشد. امتیاز عطر و بو طی دوره نگهداری، بدلیل تخمیر و بدنبال آن افزایش ترکیبات اسیدی‌و تولید گازهای دی سولفیدی می‌تواند باشد [۳۰, ۳۱].

Table 8 Evaluation of the effect of probiotic bacteria and trypsin on total acceptance (score) of produced dough

Treatments	Probiotic Bacteria	Trypsin Enzyme (mg/100ml)	1 Day	30 Day	60 Day
T1 (Control)	-	-	4.180 ± 0.099^{aB}	4.490 ± 0.084^{aAB}	4.725 ± 0.077^{aA}
T2	*Lactobacillus acidophilus*	1.5	4.205 ± 0.134^{aB}	4.680 ± 0.183^{aAB}	4.825 ± 0.106^{aA}
T3	*Lactobacillus acidophilus*	3	4.250 ± 0.141^{aA}	4.740 ± 0.1683^{aA}	4.870 ± 0.127^{aA}
T4	*Lactobacillus helveticus*	1.5	4.205 ± 0.106^{aB}	4.625 ± 0.134^{aAB}	4.760 ± 0.084^{aA}
T5	*Lactobacillus helveticus*	3	4.190 ± 0.127^{aB}	4.685 ± 0.148^{aAB}	4.830 ± 0.113^{aA}

Results are shown as mean ± standard deviation.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

٤- نتیجه گیری

هدف از این پژوهش بررسی اثر باکتری‌های پروبیوتیک و آنزیم تریپسین بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ بود. بدین منظور آنزیم تریپسین به میزان ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر به فرمولاسیون دوغ پروبیوتیک که با 10^8 cfu/ml *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس هلوتیکوس* به صورت جداگانه تلقیح شده بودند اضافه گردیدند. آزمونهای pH، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، کپک، کلی‌فرم، بررسی میزان گابا و ارزیابی حسی طی شصت روز نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت و با نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که استفاده از آنزیم تریپسین و افزایش غلظت آن باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، خاصیت آنتی-اکسیدانی، میزان تولید گابا و کاهش pH، کپک و کلی‌فرم در دوغ گردید. با افزودن پپتیدهای زیست فعال پذیرش کلی به صورت معنی‌داری در تمامی تیمارها افزایش یافت ($p<0/05$). استفاده از آنزیم تریپسین و باکتری‌های پروبیوتیک‌در دوغ نه تنها تأثیر نامطلوب بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ نداشتند بلکه با افزایش فعالیت پروتئولتیکی و تولید گابا و کاهش بار میکروبی موجب بهبود خواص تغذیه‌ای و کیفی، آنتی‌اکسیدانی و پذیرش کلی دوغ گردیدند.

۵-منابع

[1] Tavakoli, R, Karami, M, Darvishi, Sh, & Ghasri, Sh. (2014). Investigating the effect of thyme and Aloe Vera plant's essential oils on the survival of probiotic bacteria lactobacillus acidophilus and the physicochemical properties and sensory properties in doogh. Paper presented at the The first national conference on snacks, Mashhad (In Persian).

[2] Nourmohammadi, E., Sadeghi Mahoonak, A.R., Ghorbani, M., Alami, M., & Sadeghi, M. (2016). Identification of the optimum conditions to anti-oxidative peptides production through the enzymatic hydrolysis of pumpkin oil cake protein by pepsin. iranian journal of food science and technology, 13(61), 135-142 (In Persian).

[3] Davoodi, Sina, & Zomorodi, Shahin. (2013). Investigating the effect of Ziziphora essential oils on the survival of probiotic bacteria lactobacillus casei in Iranian probiotic doogh. Paper presented at the Second National Conference on Food Science and Technology (In Persian).

[4] Mehrab hosseini, Padideh, Esmaeilzadeh, Reza, Rajaee, Peyman, & Moghimi, ALi. (1392). The antioxidant effect of basil extract on the stabilization of sunflower oil. Paper presented at the Second National Conference on Food Science and Technology, Islamic Azad University -Ghochan Branch (In Persian). https://www.civilica.com/Paper-GHOCHANFOOD02-GHOCHANFOOD02_177.html.

[5] Vahid-Moghaddam, Farideh, Mortazavi, Seyyed Ali, & Ghale-Moosiani, Zohreh. (2018). Investigation of the antioxidant activity of Origanum majorana blue extract and its effect on the survival of Lactobacillus plantarum subspecies plantarum in low-fat probiotic yogurt. Innovation In Food Science and Technology, 10(1), 97-107 (In Persian).

[6] Moosavi, Afsoon, & Hosseini-Alhashemi, Marzieh sadat. (1392). Active biopeptides derived from food. Paper presented at the 21st National Congress of Food Science and Technology, Shiraz University (In Persian). https://www.civilica.com/Paper-NCFOODI21-NCFOODI21_515.html.

[7] Mirdamadi, S., Soleymanzadeh, N., Mirzaei, M., & Motahari, P. (2017). Bioactive peptides: production, health effects and application as natural supplements for functional foods production. Journal of Food Hygiene, 7(1), 1-19 (In Persian).

[8] Seifzadeh, Negin, & Seifzadeh, Naghmeh. (1392). Investigating the properties and performance of bioactive milk peptides. Paper presented at the 21st National Congress of Food Science and Technology, Shiraz University (In Persian). https://www.civilica.com/Paper-NCFOODI21-NCFOODI21_515.html.

[9] Ahmadi, E, Mohammadi, r, Rouhi, M, Mortazavian, AM, Khosravi-Darani, K, & Shandnush, M. (2013). Viability of two Iranian isolated species of bifidobacteria in Doogh. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(5), 1-10 (In Persian).

[10] Bonyadi, M., Ostad Rahimi, M., Nahaie, M.R., Akbari Dibavar, M., & Mirzaee, F. (2011). Frequency of lactobacillus strains in foods of east azerbaijan cities, iran. Medical laboratory journal, 4(2), 38-44 (In Persian).

[11] AM, Mortazavian, MR, Ehsani, A, Azizi, H, Razavi, & J., Rin Himer. (2007). Effect of principal formulating factors and probiotics micro encapsulation on qualitative parameters of probiotic Doogh. Univercity of

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

Tehran; College of Agriculture and Resources, Tehran (In Persian)..
[12] Taheri, P., Ehsani, M. R., & Khosravi-Darani, K. (2009). Effects of Lactobacillus acidophilus La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian Doogh drink during refrigerated storage. Iranian-J-Nutr-Sci-Food-Technol, 4(3), 15-24 (In Persian).
[13] ISIRI, Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009a). Doogh-Specifications and test methods (No. 2453). Karaj (In Persian).
[14] ISIRI, Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009c). Probiotic doogh-Specifications and test methods(No. 11324). Karaj (In Persian).
[15] Vinderola, C. and J. Reinheimer, Culture media for the enumeration of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria. International Dairy Journal, 1999. 9(8): p. 497-505.
[16] Singh, R., K. Chidambara Murthy, and G. Jayaprakasha, Studies on the antioxidant activity of pomegranate (Punica granatum) peel and seed extracts using in vitro models. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. 50(1): p. 81-86.
[17] ISIRI, Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009b). General principles of sensory evaluation of milk and its products by grading method (No. 4691). Karaj (In Persian).
[18] Ghodrat, Mehdi, Hanifpoor, Mohammad-Amin, & Ghasemi, leila. (2013). Inhibiting the growth of mold and yeast in dairy products using bacteriocin producing bacteria. Paper presented at the Twenty-first National Congress of Food Science and Technology(In Persian).
[19] Shokohian S, G, Benazdel, & F., Bahreini. (2013). Microbial evaluation of milk and dairy products of Shamil in the Bandare Abbas province. Paper presented at the Sixteenth National Conference on Environmental Health, Tabriz University of Medical Sciences (In Persian).
[20] Shah, N.P., unctional Foods, Probiotics and Prebiotics. Food Technology, 2001. 55: p. 46-53.
[21] Eghbal-talab, Kourosh, Fadaei-Noghani, Vajiheh, & Judaki, Hassan. (2019). Determining the viability of probiotic bacteria in doogh containing Allium stipitatum and enriched with ginkgo extract. Journal of Food Science & Technology (2008-8787), 16(88), 173-184 ((In Persian).
[22] Dehghan Niri, Rezvan, Daneshi, Mohammad, & Ardakani, Seyed Ali Yasini. (2017). The effect of adding xyloaligosaccharides to the survival of probiotic bacteria in barberry juice. Journal of Applied Microbiology in Food Industry, 3(2), 57-72 (In Persian).
[23] bahadori, zohre, norozi, jamile, akhavan sepahi, abas, sabzevari, jahangir, & razavipoor, roya. (2010). Study of β-galactosidase activity in Lactobacilli separated from milk and cheese by biochemical and PCR methods. scientific magazine yafte, 12(1), 39-48 (In Persian).
[24] Abd El-Fattah, A., et al., Developing functional yogurt rich in bioactive peptides and gamma-aminobutyric acid related to cardiovascular health. LWT, 2018. 98: p. 390-397.
[25] Sah, B., et al., Effect of refrigerated storage on probiotic viability and the production and stability of antimutagenic and antioxidant peptides in yogurt supplemented with pineapple peel. Journal of dairy science, 2015. 98(9): p. 5905-5916.
[26] Chen, T.-H., et al., Microbiological and chemical properties of kefir manufactured by entrapped microorganisms isolated from kefir grains. Journal of dairy science, 2009. 92(7): p. 3002-3013.
[27] Korhonen, H. and A. Pihlanto, Bioactive peptides: production and functionality. International dairy journal, 2006. 16(9): p. 945-960.
[28] Meira, S.M.M., et al., Probiotic potential of Lactobacillus spp. isolated from Brazilian regional ovine cheese. Journal of Dairy Research, 2012. 79(1): p. 119-127.
[29] Le Vo, T.D., T.W. Kim, and S.H. Hong, Effects of glutamate decarboxylase and gamma-aminobutyric acid (GABA) transporter on the bioconversion of GABA in engineered Escherichia coli. Bioprocess and biosystems engineering, 2012. 35(4): p. 645-650.
[30] Xiao, J.-z., et al., Clinical efficacy of probiotic Bifidobacterium longum for the treatment of symptoms of Japanese cedar pollen allergy in subjects evaluated in an environmental exposure unit. Allergology International, 2007. 56(1): p. 67-75.
[31] Yoon, K.Y., E.E. Woodams, and Y.D. Hang, Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. The Journal of microbiology, 2004. 42(4): p. 315-318.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Assessment of the effect of trypsin enzyme and probiotic bacteria on physicochemical, microbial and sensory properties of Dough

Nateghi, L.[1]*, Sadeghian Lodrijeh, B. [2], Zarei, F. [3]

1. Associate professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. M.Sc, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran,
3. PhD, Halal Research Center Islamic Republic of Tehran, Iran

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2020/ 11/ 27
Accepted 2021/ 02/ 11

Keywords:

Bioactive peptides,
Living organisms,
Probiotic bacteria,
Dough

DOI: 10.52547/fsct.18.05.10

*Corresponding Author E-Mail:
leylanateghi@iauvaramin.ac.ir

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of probiotic bacteria and trypsin enzyme on the physicochemical, microbial and sensory properties of dough. For this purpose, bioactive peptides of 1.5 and 3 mg /100 ml were added to the probiotic dough formulation, which were inoculated separately with 10^8 cfu / ml of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus helveticus*. PH tests, mold and yeast counts, coliform counting, probiotic bacterial survival, antioxidant activity evaluation, gamma amino butyric acid measurement and sensory evaluation were performed on dough. The results showed that the use of probiotic bacteria with trypsin enzyme and increasing its concentration was maintained viability increase, probiotic bacteria, antioxidant properties, GABA production rate, and sensory evaluation score after 60 days. It also reduced pH, mold and coliforms in dough. Using *Lactobacillus acidophilus* and the enzyme trypsin 3 mg / 100 ml can produce high-yielding dough containing GABA with lower microbial load and higher antioxidant and sensory properties.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-07-21]

[DOI: 10.52547/fsct.18.114.109]