



بررسی تولید کره لاکتیک پروبیوتیک: تاثیر نوع سویه و زمان نگهداری بر روی زنده مانی باکتریهای

پروبیوتیک و ویژگی های فیزیکی شیمیایی، میکروبیولوژیکی و ارگانولپتیکی

دلارام کارگر مطلق<sup>۱\*</sup>، انوشه شریفان<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران.

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم تحقیقات تهران.

## اطلاعات مقاله

## چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۸

کلمات کلیدی:

پروبیوتیک،

لاکتوباسیلوس،

بیفیدوباکتریوم،

خصوصیات حسی،

کره لاکتیک.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.39

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.9.6

\* مسئول مکاتبات:

delimotlagh@yahoo.com

هدف از مطالعه حاضر بررسی تولید کره لاکتیک پروبیوتیک با استفاده از استارترهای پروبیوتیک بیفیدوباکتریوملاکتیس (BB-12) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (a-5) و بررسی تاثیر نوع سویه پروبیوتیک و زمان نگهداری بر روی زنده مانی باکتری های پروبیوتیک، ویژگی های فیزیکی شیمیایی (محتوای چربی، pH، ماده خشک، عدد پراکسید و اسیدیته، ارگانولپتیکی (رنگ و ظاهر، طعم، بافت، بو و مقبولیت کلی) و میکروبی (کپک و مخمر، کلی فرم و توتال کانت) بود. در این پژوهش ابتدا خامه در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد بمدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار حرارتی قرار گرفت. سپس به آن اجازه داده شد که تا دمای ۳۰-۳۵ درجه سانتیگراد خنک شود. در یک نمونه از خامه فقط کشت آغازگر اضافه شد. در نمونه دیگر کشت آغازگر به اضافه بیفیدوباکتریوملاکتیس و در نمونه آخر کشت آغازگر به اضافه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس اضافه شدند. سطح تلقیح بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس ۲ درصد حجمی/حجمی بود. نتایج نشان داد که زمان نگهداری بطور معنی داری ( $p < 0.05$ ) بر اکثر ویژگی های ذکر شده تاثیر دارد. روند زنده مانی برای هر دو باکتری به صورت کاهشی بود. بیشترین زنده مانی باکتری های پروبیوتیک مربوط به باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. در آنالیز حسی نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بالاترین امتیاز در پایان دوره نگهداری را داشت. همچنین نمونه حاوی لاکتوباسیلوس بالاترین اسیدیته و کمترین pH و نمونه شاهد بالاترین اندیس پراکسید را داشتند. در میزان ماده خشک و چربی در هر سه نمونه تغییر معنی داری ( $p < 0.05$ ) مشاهده نشد. بنابراین نتایج نشان داد که می توان با استفاده از دو باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوملاکتیس کره لاکتیک با خواص پروبیوتیکی و زنده مانی بالا و خواص حسی مطلوب تهیه نمود. بهترین تیمار در این پژوهش، کره لاکتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شناخته شد.

## ۱- مقدمه

کشت‌های آغازگر، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که می‌توانند به طور مستقیم به مواد غذایی تلقیح شده تا بر فلور موجود غلبه کرده و تغییرات مطلوبی مثل افزایش مدت نگهداری، بهبود ارزش تغذیه‌ای و سلامتی، افزایش کیفیت حسی و افزایش ارزش اقتصادی در محصول نهایی ایجاد کنند [۱]. غذاهای پروبیوتیک گروهی از غذاهای فراسودمند بوده که با داشتن میزان کافی باکتری‌های پروبیوتیک زنده، می‌توانند علاوه بر افزایش ویژگی‌های تغذیه‌ای، همچنین باعث تقویت اثرات سلامتی بخش نظیر کاهش تری گلیسیرید و کلسترول خون، خاصیت ضد سرطانی، ضد توموری و ... بشوند [۲]. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک معمولاً دارای منشأ انسانی یا حیوانی هستند. بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک به جنس بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس‌ها تعلق دارند. اگرچه گونه‌های متعلق به جنس‌های لاکتوکوکوس، انتروکوکوس، ساکارومایسس و پروپیونی باکتریوم نیز به علت اثرات بهبود دهنده‌ای که بر روی سلامتی دارند، به عنوان پروبیوتیک مطرح شده اند [۳ و ۴]. ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) روی پایداری و پارامترهای کیفی کره پروبیوتیک در طول زمان ذخیره سازی در دمای یخچال پژوهش انجام دادند. آن‌ها از لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بعنوان پروبیوتیک استفاده کردند. این محققین اثرات پروبیوتیک‌ها را بر شمارش میکروبی، خصوصیات حسی و شیمیایی کره در طول ذخیره سازی بمدت ۶۰ روز بررسی کردند. نتایج نشان داد که در تمام نمونه‌ها، بالاترین امتیاز خصوصیات حسی در روز اول ذخیره سازی بدست آمد. همچنین نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، خصوصیات پروبیوتیکی را بهتر حفظ کرد [۵]. در پژوهشی دیگر موسی و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی خصوصیات پروبیوتیک کره در طول زمان ذخیره سازی، اظهار داشتند که بهترین تیمار برای نگهداری سلول‌های زنده در نمونه‌ها، تیمار دارای FD + La5 (کشت مزوفیلفلورادانیکا) در درجه حرارت تخمیر  $30 \pm 1$  درجه سانتیگراد بود [۶]. در این تحقیق سعی شد به بررسی تولید کره لاکتیک پروبیوتیک با استفاده از استارترهای پروبیوتیک و بررسی تاثیر نوع سویه پروبیوتیک و زمان نگهداری بر روی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک، ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی (محتوای چربی، pH، ماده خشک، عدد پراکسید و اسیدیته قابل تیتراژ)، ارگانولپتیکی (رنگ و

ظاهر، طعم، بافت، بو و مقبولیت کلی) و میکروبی (کپک و مخمر، کلی فرم و توتال کانت) پرداخته شود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

خامه دارای ۴۰ درصد چربی با اسیدیته ۹/۵ درصد از کارخانه لبنی دامداران در استان تهران خریداری گردید. پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس سویه BB-12 و لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس سویه 5-la از شرکت کریستسنهانس دانمارک خریداری شد. پلیت کانت آگار، MRS، MRS-NNL، کلیه معرف‌ها و استانداردها از شرکت سیگما، مواد شیمیایی از شرکت مرک و حلال‌ها از شرکت دکتر مجلی تهیه شدند.

### ۲-۲- روش‌ها

#### ۲-۲-۱- تهیه کره

تهیه کره لاکتیک بر اساس روش ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفت. ابتدا خامه در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد بمدت ۱۰ دقیقه تحت تیمار حرارتی قرار گرفت. سپس به آن اجازه داده شد که تا دمای ۳۵-۳۰ درجه سانتیگراد خنک شود. در مرحله بعد، در یک نمونه از خامه، فقط کشت آغازگر اضافه شد. در نمونه دیگر کشت آغازگر به اضافه بیفیدوباکتریوم لاکتیس و در نمونه آخر کشت آغازگر به اضافه لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس به نمونه اضافه شدند. سطح تلقیح بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس ۲ درصد حجمی/حجمی بود. بعد از تخمیر بوسیله چرن، کره تولید شد. در ادامه کره تشکیل شده شسته و در بسته‌های ۵۰۰ گرمی بسته بندی شدند. سپس کره‌ها در دمای یخچالی (دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ روز نگهداری و آزمایشات فیزیکی شیمیایی، میکروبی و ارگانولپتیکی روی آن‌ها در فواصل زمانی مختلف انجام گردید [۵].

#### ۲-۲-۲- آزمون‌های میکروبی

نمونه‌های کره (۱۰ گرم) در ۹۰ میلی لیتر محلول NaCl (۸۵ درصد وزنی/حجمی) استریل پخش شده و در حمام آب گرم در ۴۵ درجه سانتیگراد نگه داشته شد تا کره ذوب شود. تعداد کل باکتری‌های مزوفیل هوازی بر روی محیط کشت PCA و در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد بمدت ۴۸ ساعت شمارش شد [۷]. تعداد بیفیدوباکتریوم بر روی محیط کشت

### ۲-۲-۳- اندازه گیری چربی و میزان ماده خشک

برای اندازه گیری چربی از روش ژربر و برای اندازه گیری ماده خشک از روش آوناستفاده شد [۱۶].

### ۲-۲-۴- اندازه گیری عدد پراکسید

۵ گرم نمونه توزین شده و ۳۰ میلی لیتر محلول اسید استیک-کلروفرم (سه حجم اسید استیک و دو حجم کلروفرم) به آن افزوده شد. پس از مخلوط کردن و حل شدن روغن در حلال، ۰/۵ میلی لیتر محلول اشباع یدید پتاسیم به آن اضافه و به آرامی همزده شد. پس از ۱ دقیقه نگهداری در تاریکی و دمای محیط ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به محلول حاصل اضافه و با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شد. به محض از بین رفتن رنگ زرد محلول، ۱ میلی لیتر شناساگر نشناسته اضافه و تیتراسیون تا از بین رفتن رنگ آبی انجام شد. عدد پراکسید نمونه‌ها با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۱۷]:

$$PV = (V_2 - V_1) \times N \times 1000 / M$$

$V_2$ : حجم تیتر در نمونه  $V_1$ : حجم تیتر در شاهد  $N$ : نرمالینه محلول سدیم تیوسولفات  $M$ : گرم وزن نمونه  $PV$ : عدد پراکسید

### ۲-۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

آزمون‌ها در سه تکرار و در قالب طرح کاملاً تصادفی و به روش آزمون فاکتوریل، آنالیز واریانس ANOVA و مقایسه میانگین دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ( $P < 0/05$ ) انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم افزار Microsoft Office Excel 2010 انجام شد.

## ۳- تجزیه و تحلیل داده‌ها

### ۳-۱- نتایج ارزیابی‌های میکروبی:

میزان زنده ماننی پروبیوتیک‌ها طی یک دوره ۶۰ روزه در شکل ۱ آمده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، میزان زنده ماننی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس تقریباً به یک اندازه می‌باشد و از این نظر اختلاف معنی داری ( $P < 0/05$ ) بین نمونه‌ها مشاهده نشد. مطابق شکل پایین نتایج آزمون فاکتوریل نشان داد که فاکتور زمان بر زنده ماننی باکتری‌های پروبیوتیک فقط در روزهای ۱۵ تا ۳۰ تاثیر معنی داری ( $P < 0/05$ ) دارد. و در سایر زمان‌ها تاثیر معنی داری ( $P < 0/05$ ) مشاهده نگردید.

MRS-NNLP آگار و پس از انکوباسیون بصورت غیر هوازی در ۳۷ درجه سانتیگراد برای ۷۲ ساعت شمارش شدند. مخلوط NNLP با استفاده از نمومایسین سولفات (۱۰۰ میلی گرم بر لیتر)، پارامایسین سولفات (۲۰۰ میلی گرم بر لیتر)، نالیدیسیک اسید (۵۰ میلی گرم بر لیتر) و لیتوم کلرید (۳۰۰۰ میلی گرم بر لیتر) تهیه شد [۱۰-۸]. تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس توسط محیط کشت MRS با آگار و انکوباسیون غیر هوازی در ۳۷ درجه سانتیگراد برای ۷۲ ساعت شمارش شد [۱۱]. کلی فرم‌ها با استفاده از VRBA بعد از انکوباسیون در ۳۵ درجه سانتیگراد برای ۴۸ ساعت شمارش شدند [۸]. مخمرها و کپک‌ها بر روی محیط کشت PDA اسیدی شده با اسید تارتاریک ۱۰ درصد و انکوباسیون در ۲۵ درجه سانتیگراد برای ۵ روز شمارش شدند [۱۲].

### ۲-۲-۳- آنالیز حسی

ارزیابی حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای (از بسیار مطلوب = ۵ تا بسیار نامطلوب = ۱) توسط ۲۰ نفر ارزیاب حسی تعلیم ندیده انجام گرفت و فاکتورهای طعم و مزه، بو، بافت و رنگ و در پایان پذیرش کلی مورد بررسی قرار گرفت. قبل از ارزیابی، نمونه‌های کره به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری و با یک لیوان آب و یک برش نان سرو شدند [۱۳].

### ۲-۲-۴- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

#### ۲-۲-۴-۱- pH

اندازه گیری pH با دستگاه pH متر اندازه گیری شد. ابتدا دستگاه با محلول‌های تامپون ۴ و ۷ کالیبره گردید. در مرحله بعد، ۵۰ گرم از نمونه مورد آزمایش در یک بشر ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و pH آن در دمای محیط، از روی دستگاه pH متر، خوانده شد [۱۴].

#### ۲-۲-۴-۲- درصد اسید لاکتیک

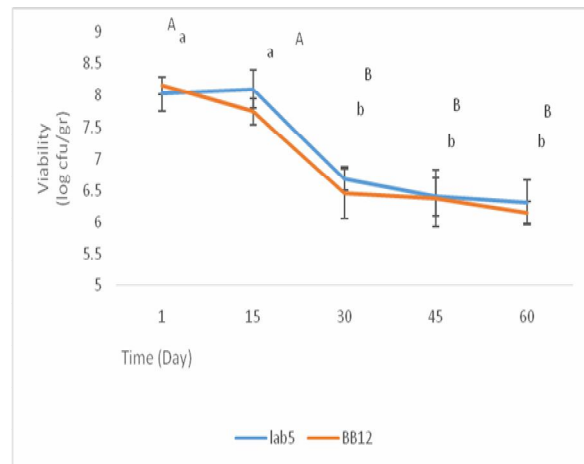
درصد اسید لاکتیک به روش تیتریمتری و در مجاورت فنل فتالین ۱ درصد بعنوان معرف با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ صورتی کم رنگ اندازه گیری شد. یک میلی لیتر سود ۰/۱ نرمال معادل ۰/۰۰۹ گرم اسید لاکتیک است. سنجش اسید بر اساس فرمول زیر انجام گرفت [۱۵].

$$A = V \times 0.0090 \times 100 / m$$

$V$ : حجم سود مصرفی بر حسب میلی لیتر  $m$ : وزن نمونه بر حسب گرم  $A$ : اسیدیته کل بر حسب درصد اسید لاکتیک

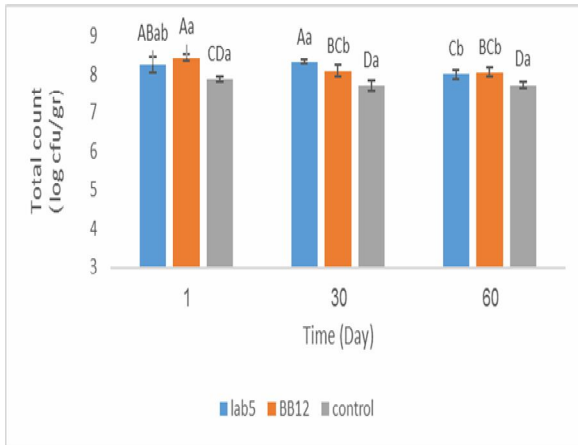
این نتیجه رسیدند که یک سیکل لگاریتمی کاهش در میزان پروبیوتیکها در یک دوره ۶۰ روزه اتفاق می افتاد و فقط در ۳۰ روز اول تعداد پروبیوتیکها از حد تعریف شده بیشتر می باشد [۵]، در نتیجه با نتایج این تحقیق هم خوانی نداشت. زنده مانی و بقای باکتری های پروبیوتیکی در محصولات لبنی لاکتیکی به عوامل مختلفی بستگی دارد که از مهمترین آنها می توان به شرایط کشت، میزان اکسیژن محلول، سطح تلقیح و گونه های پروبیوتیک بکار برده اشاره کرد [۲۲].

همانطور که در شکل ۲ مشاهده می شود در دو نمونه شاهد، نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از روز اول تا روز ۳۰ افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) در تعداد کپک و مخمر بین تیمارهای هر نمونه مشاهده نشد. اما از روز ۳۰ تا روز ۶۰ در هر دو نمونه افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) در تعداد مخمر و کپک بین تیمارهای هر نمونه مشاهده گردید. در مقایسه بین تمام تیمارها، بین هر سه نمونه، نیز از روز اول تا روز ۳۰ افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) بین تیمارها مشاهده نشد. اما از روز ۳۰ تا روز ۶۰ در تمام تیمارها افزایش معنی داری ( $P < 0.05$ ) در تعداد مخمر و کپک بین تیمارها مشاهده گردید. تیمار دارای بالاترین میزان کپک و مخمر، نمونه شاهد در روز ۶۰ ( $2/54 \pm 0/32$ ) بود که تفاوت معنی داری با تیمارهای حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز ۶۰ داشت. در مقایسه با حد مجاز استاندارد ( $2 \log \text{ cfu/gr}$ ) نتایج این تحقیق حاکی از این بود که فقط در نمونه شاهد در روز ۶۰، میزان کپک و مخمر از حد مجاز استاندارد بالاتر است و در بقیه تیمارها میزان آلودگی کمتر از حد مجاز بود که با نتایج اولزوسکا و همکاران (۲۰۱۲) همخوانی نداشت. نتایج شکل ۲ نشان می دهد که در هر ۳ نمونه با گذر زمان میزان کپک و مخمر افزایش پیدا کرده است. از مهمترین دلایل این افزایش در گذر زمان می توان به هوا و محیط عملیات بسته بندی کره اشاره کرد. چون در زمان پاستوریزاسیون خامه از دمای بالای ۸۵ درجه سانتیگراد استفاده می شود که باعث نابودی کپک و مخمر می شود، پس می توان به این نتیجه پی برد که وجود کپک و مخمر در این نمونه ها عمدتاً نشانگر آلودگی ثانویه و پس از پاستوریزاسیون می باشد. از سوی دیگر بدلیل وجود اسپور کپک در هوا، در صورت عدم اجرای نکات بهداشتی، احتمال ورود اسپورها و آلوده کردن کره بسیار بالا می باشد [۶].



**Fig 1** Changes in probiotic counts in butter samples produced by the addition of *B. lactic* and *Lb. acidophilus* during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between samples containing *Lactobacillus acidophilus* and small dissimilar letters are indicate significant differences between samples containing *Bifidobacterium lactis* ( $p < 0.05$ )).

نتایج نشان داد که در پایان دوره نگهداری بیشترین زنده مانی مربوط به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ( $6/31 \pm 0/35$ ) بود. مقاومت بالای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به اسیدیته بالا یکی از مهمترین دلایل این افزایش میزان در زنده مانی می باشد [۱۸]. در هر دو نمونه حاوی پروبیوتیک با گذر زمان میزان زنده مانی پروبیوتیکها کاهش پیدا کرده است. از مهمترین دلایل این کاهش در گذر زمان می توان به تولید ترکیبات ضد میکروبی و حساسیت پروبیوتیک ها به pH پایین اشاره کرد [۱۹ و ۲۰]. در ارتباط با کاهش باکتری های پروبیوتیک طی زمان نگهداری نتایج بدست آمده با نتایج اولزوسکا و همکاران (۲۰۱۲) که بر روی زنده مانی بیفیدوباکتریوم در نمونه های کره حاوی پروبیوتیک در طول زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد پژوهش انجام دادند [۲۱]، مشابه بود. در نمونه های حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس میزان پروبیوتیکها از  $\text{Log CFU/gr}$   $8/02$  به  $\text{Log CFU/gr}$   $6/31$  و در نمونه های حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس از  $\text{Log CFU/gr}$   $8/15$  به  $\text{Log CFU/gr}$   $6/15$  کاهش پیدا کرده است. همانطور که مشاهده می شود در هر دو نمونه تعداد باکتری های پروبیوتیک از میزان تعریف شده ( $10^7 - 10^6 \text{ Log CFU/gr}$ ) کمتر نمی باشد. در یک بررسی که توسط ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) بر روی زنده مانی کره پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم طی یک دوره ۶۰ روزه انجام دادند به

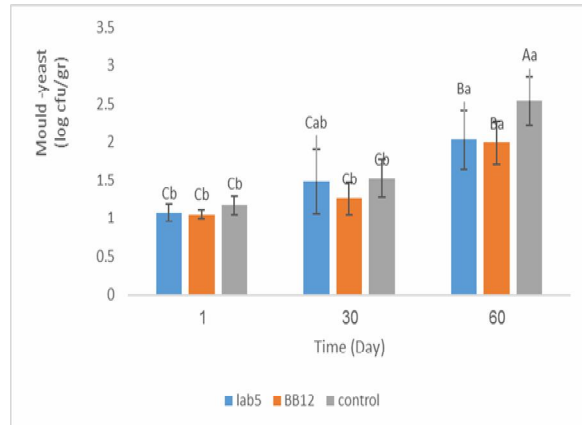


**Fig 3** Changes in total counts in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

نتایج بدست آمده از ارزیابی کلی فرم نمونه‌ها حاکی از آن است که در تمام نمونه‌ها و تیمارها در طی مدت نگهداری هیچگونه کلی فرمی مشاهده نگردید. از اصلی ترین دلایل عدم تشخیص کلی فرم می‌توان به این نکته اشاره کرد که فعالیت کلی فرم‌ها به طور کلی در PH کمتر از ۵/۲ متوقف می‌شود و در نتیجه کاهش PH با رشد کلی فرم رابطه مستقیم دارد، پس کاهش PH و در نتیجه افزایش اسیدیته از عوامل مهم و موثر در عدم تشخیص کلی فرم‌ها در نمونه‌ها بود زیرا PH نمونه‌ها در طی دوره نگهداری کمتر از ۵/۲ بود. نتایج بدست آمده در این پژوهش با نتایج دگمیر و همکاران (۲۰۰۹) که وجود کلی فرم را در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک طی دوره نگهداری گزارش دادند [۲۳]، همخوانی نداشت.

### ۲-۳- نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

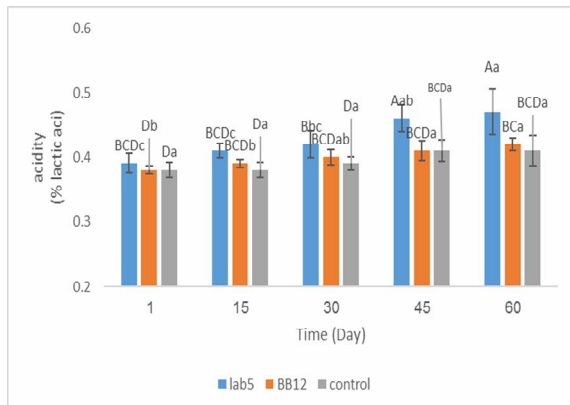
یکی از اصلیترین عواملی که بر کیفیت فرآورده‌های تخمیری بشدت تاثیر گذار است، PH می‌باشد. با توجه به شکل ۴، نتایج آزمون نشان داد که PH دارای یک رابطه عکس با زمان می‌باشد. به بیان دیگر در هر سه نمونه در طول زمان نگهداری مقدار PH کاهش پیدا کرد. طبق نتایج بدست آمده هم در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک و هم در نمونه شاهد از یک روند یکسان طبیعت می‌کنند با این اختلاف که نمونه‌های حاوی پروبیوتیک منجر به کاهش بیشتر PH می‌شود. در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول زمان نگهداری فقط در زمان نگهداری ۳۰-۴۵ روز کاهش PH بصورت معنی دار ( $P < 0.05$ ) نبود و در سایر زمان‌ها PH بصورت معنی



**Fig 2** Changes in mould and yeast counts in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در مقایسه بین سه نمونه کمترین میزان توتال کانت متعلق به نمونه شاهد بود، که از دلایل اصلی آن می‌توان به عدم تلقیح باکتری در نمونه شاهد اشاره کرد. همچنین در هر سه نمونه کمترین میزان توتال کانت متعلق به نمونه‌های روز ۶۰ بود. نتایج مقایسه بین تمام نمونه‌ها نشان داد که در روز اول بالاترین توتال کانت متعلق به نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم و بعد از آن نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، در روز ۳۰ بالاترین متعلق به نمونه حاوی لاکتوباسیلوس و سپس بیفیدوباکتریوم و در روز پایانی بیشترین توتال کانت متعلق به بیفیدوباکتریوم لاکتیس و سپس لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. همچنین در کل نمونه‌ها در کل دوره نگهداری بالاترین میزان توتال کانت در نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در روز اول ( $1.4 \pm 0.32$ ) و نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در روز ۳۰ ( $1.31 \pm 0.32$ ) بود. نتایج شکل ۳ نشان می‌دهد که در هر ۳ نمونه در پایان دوره نگهداری میزان توتال کانت کاهش پیدا کرده است. از مهمترین دلایل این کاهش در پایان دوره نگهداری می‌توان به افزایش اسیدیته و کاهش PH و نابودی میکرورها در طی دوره نگهداری اشاره کرد. در ارتباط با کاهش میزان توتال کانت طی زمان نگهداری نتایج بدست آمده با نتایج اولزوسکا و همکاران (۲۰۱۲) مخالف و با نتایج دگمیر و همکاران (۲۰۰۹) که کاهش میزان توتال کانت را در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک طی دوره نگهداری گزارش دادند [۲۳]، مشابه بود.

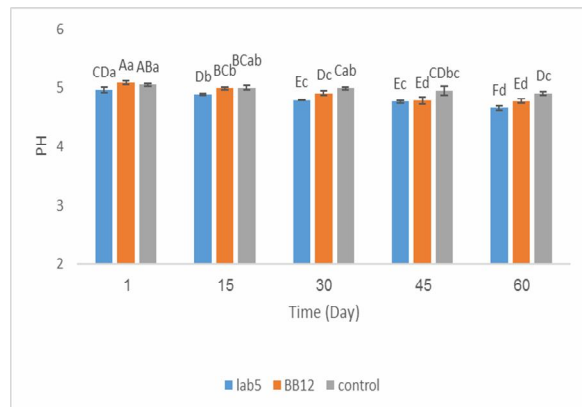
ساد(۲۰۰۵)، دو و شاه(۱۹۹۷) و رانادها و همکاران(۲۰۱۲) مطابقت داشت [۲۶-۲۸] در شکل ۵ نتایج مربوط به اسیدیته آورده شده است.



**Fig 5** Changes in acidity in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

طبق این نتایج تحت تاثیر زمان، در هر سه نمونه شاهد تولید اسید لاکتیک و در نتیجه افزایش اسیدیته بودیم. در بررسی های آکپینار- بایزیت (۲۰۱۰) و تودورو و هولزافل (۲۰۱۴) که بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصولات تخمیری انجام دادند به این نتیجه رسیدند که، در طی دوره نگهداری، اسیدیته افزایش می یابد. که با نتایج این پژوهش هم خوانی داشت [۲۴ و ۲۵]. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسیدیته مربوط به نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با مقدار ( $0.47 \pm 0.03$ ) در روز ۶۰ نگه داری بود. در بین تمام تیمارها، نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از روز ۳۰ نگهداری، نسبت به سایر نمونه ها دارای اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در میزان اسیدیته بود. اما در دو نمونه دیگر هیچگونه اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) در طول دور نگهداری مشاهده نگردید. که نتایج بدست آمده مطابق با نتایج ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) بود. بر اساس این نتایج هر دو نمونه حاوی پروبیوتیک در پایان دوره دارای بیشترین میزان اسیدیته خود بودند. یکی از مهمترین دلایل بالاتر بودن اسیدیته در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، فعالیت متابولیکی بالای باکتری های پروبیوتیک در طی نگهداری در این نمونه بود [۲۹]. میکروارگانیسم ها در طی مدت ماندگاری بوسیله تبدیل لاکتوز به اسیدهای آلی بویژه اسید لاکتیک سبب افزایش اسیدیته می شوند [۳۰]. طبق نتایج بدست آمده در اسیدیته نیز، هم در

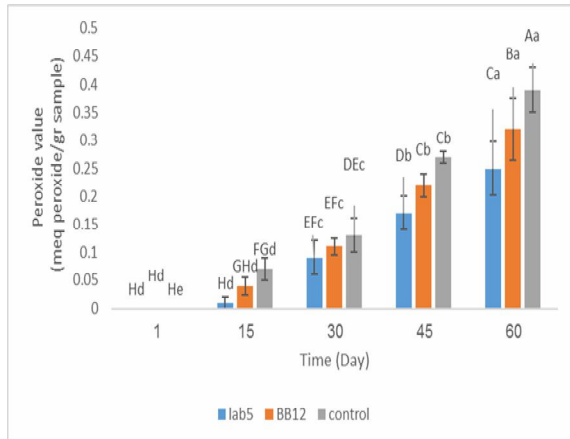
داری ( $P < 0.05$ ) کاهش پیدا کرد. در نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس بجز در زمان نگهداری ۶۰-۴۵ که کاهش PH به صورت معنی دار ( $P < 0.05$ ) نبود در سایر زمان ها، PH بصورت معنی داری ( $P < 0.05$ ) با زمان دارای رابطه عکس بود. در نمونه شاهد نیز در طول دوره نگهداری کاهش PH مشاهده گردید اما این کاهش در اکثر زمان ها بصورت معنی دار ( $P < 0.05$ ) نبود و اولین کاهش معنی دار نسبت به نمونه روز اول، در روز نگهداری ۴۵ مشاهده شد. در فاصله زمانی ۶۰-۴۵ نیز کاهش معنی داری ( $P < 0.05$ ) در نمونه شاهد مشاهده نگردید. طبق نتایج در پایان دوره نگهداری بالاترین PH ( $4.9 \pm 0.3$ ) متعلق به نمونه شاهد و کمترین PH ( $4.66 \pm 0.04$ ) متعلق به نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. بر اساس نتایج بدست آمده، از بین سه نمونه مورد آزمایش، نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارای فعالیت بیشتری در طی دوره نگهداری بوده است. در بررسی هایی که توسط آکپینار- بایزیت (۲۰۱۰) و تودورو و هولزافل (۲۰۱۴) بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصولات تخمیری صورت دادند؛ به این نتیجه رسیدند که در اثر افزایش میزان اسیدهای آلی بخصوص اسید لاکتیک در طی دوره نگهداری، PH کاهش یافته است.



**Fig 4** Changes in pH in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

آن ها فعالیت باکتری های پروبیوتیک و تبدیل لاکتوز به اسید آلی را دلیل این امر می دانستند؛ که با نتایج این پژوهش هم خوانی داشت [۲۴ و ۲۵]. همچنین نتایج این بررسی در خصوص کاهش PH در مدت زمان نگهداری با نتایج بریتی و

سوپراکسید دیسموتاز که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشند، برای به دام اندازی رادیکال اکسیژن دارند [۳۷-۳۹].



**Fig 6** Changes in peroxide value in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

در شکل ۷ نتایج مربوط به میزان ماده خشک نمونه‌های کره آورده شده است. طبق این نتایج در طول زمان نگره داری تاثیر معنی داری در نمونه‌ها مشاهده نشد، و در هر سه نمونه یک کاهش غیر معنی داری در نمونه‌ها مشاهده گردید. نوت و همکاران (۱۹۹۷) علت کاهش میزان مواد جامد پس از دوره تخمیر را تجزیه کربوهیدرات بویژه قندها توسط پروبیوتیک‌ها و تولید اسیدهای آلی، دی اکسید کربن و مواد تشکیل دهنده آروما بیان کردند [۴۰]. همانطور که در شکل ۷ مشاهده می‌شود، زمان و نوع پروبیوتیک بر میزان ماده خشک کره تاثیر معنی داری ندارد. طبق نتایج بدست آمده در مقایسه بین سه نمونه، نمونه حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دچار بیشترین کاهش و نمونه شاهد دچار کمترین تغییر در میزان ماده خشک در طی دوره نگهداری شد. در گزارشی بیان شد که میزان انرژی لازم برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های مختلف متفاوت می‌باشد. طبق این گزارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای رشد و فعالیت به میزان مواد مغذی بیشتری نسبت به اکثر میکروارگانیسم‌ها دارد و در نتیجه سبب کاهش بیشتر در میزان ماده جامد می‌شود [۴۱]. نتایج این گزارش با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. طبق نتایج بدست آمده در این پژوهش در پایان دوره نگهداری نمونه شاهد دارای بالاترین میزان چربی بود هر چند با نمونه‌های حاوی پروبیوتیک اختلاف معنی داری نداشت. که با نتایج بدست آمده توسط ساگدیک و همکاران (۲۰۰۲ و ۲۰۰۴) و سیمسک

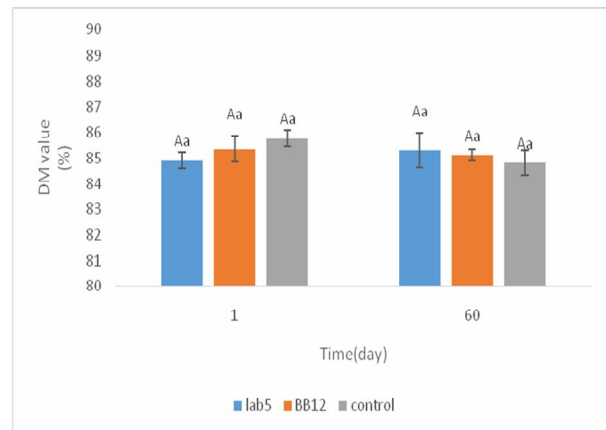
نمونه‌های حاوی پروبیوتیک و هم در نمونه شاهد از یک روند یکسان تبعیت کردند با این اختلاف که نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس منجر به افزایش بیشتر اسیدیته شد. که این نتایج با نتایج سنل و همکاران (۲۰۱۱)، سیمسک (۲۰۱۱) و ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت نداشت. زیرا نتایج آن‌ها در طی مدت زمان نگهداری از یک روند خاص و یکپارچه طبیعت نمی‌کرد [۳۱ و ۳۲].

یکی از شاخص‌های پایداری اکسایشی روغن‌ها اندیس پراکسید می‌باشد. در اثر اکسایش‌لیپیدها، اسید چرب‌های غیر اشباع، اکسیژن جذب کرده و هیدروپراکسیدها را بعنوان محصولات اولیه اکسیداسیون تولید می‌کنند [۳۳]. یک رابطه مستقیمی بین عدد پراکسید و فساد شیمیایی روغن‌ها وجود دارد [۳۴]. فاکتورهای مختلفی در پایداری اکسایشی محصولات لبنی موثر می‌باشد؛ که از آن جمله می‌توان به غلظت اکسیژن، آنتی‌اکسیدان‌ها، فلزات (مثل مس و آهن) و فعالیت آبی اشاره کرد [۳۵]. بهمین دلیل اظهار نظر در مورد اندیس پراکسید مشکل می‌باشد [۳۱]. تغییرات اندیس پراکسید نمونه‌ها در طی دوره نگهداری در شکل ۶ آورده شده است. همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در طی دوره نگهداری در هر سه نمونه به روند افزایشی مشاهده می‌شود، که این افزایش در نمونه شاهد از روز اول نگهداری و در دو نمونه دیگر حاوی پروبیوتیک از روز ۱۵ نگهداری بصورت معنی دار ( $P < 0.05$ ) بود. که از این نظر نتایج بدست آمده در این پژوهش با نتایج ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) همخوانی نداشت. این محققین بیان کردند که اندیس پراکسید در طی دوره نگهداری دارای یک رفتار سینوسی (کاهشی و افزایشی) می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده در هر سه نمونه میزان عدد پراکسید بصورت معنی داری ( $P < 0.05$ ) از حد استاندارد کمتر بود. نتایج نشان داد که در هر سه نمونه کمترین عدد پراکسید در روز اول نگهداری و بالاترین عدد در روز پایانی مشاهده شد. که از این نظر با نتایج دگدمیر و همکاران (۲۰۰۹)، اوزتورک و کاکماکی (۲۰۰۶) و سیمسک (۲۰۱۱) مشابه بود [۲۳ و ۳۶ و ۳۲]. در مقایسه بین تمام تیمارها در طول دوره نگهداری کمترین میزان اندیس پراکسید متعلق به نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیشترین میزان اندیس پراکسید در نمونه‌های شاهد مشاهده گردید. دلیل این امر نیز این می‌باشد که اکثر لاکتیک اسید باکتری‌ها یک سیستم آنزیمی، مانند آنزیم کاتالاز و

### ۳-۳- نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها

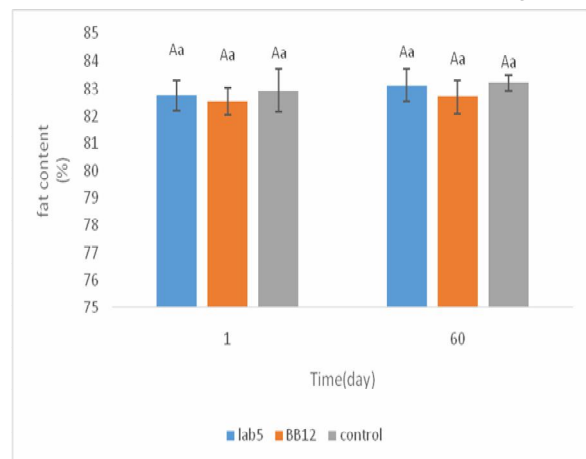
از مهمترین عوامل پذیرش و استقبال مصرف کننده از محصولاتی مانند کره ویژگی‌های حسی آن محصولات می‌باشد. به بیان دیگر کیفیت مواد غذایی تابعی از ویژگی‌های حسی آن می‌باشد. به همین دلیل ارزیابی خصوصیات حسی با توجه به تاثیر آن در بازار پسندی محصول امری بسیار مهم و لازم می‌باشد [۴۵]. اشکال ۹ تا ۱۳ چگونگی تغییرات در ویژگی‌های حسی نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌ها را در اثر زمان در طی دوره نگهداری نشان دادند. بطور کلی نتایج نشان دادند که در پایان دوره نگهداری، بجز خصوصیات طعم و بو نمونه حاوی بیفیدوباکتریوملاکتیس که در حد متوسط بودند، سایر نمونه‌ها، در حد مطلوب و قابل پذیرش توسط ارزیابان بودند. در پژوهش حاضر بطور کلی تفاوت معنی داری در خواص حسی نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم با نمونه شاهد مشاهده نشد در نتیجه نمونه حاوی پروبیوتیک‌های بیفیدوباکتریوملاکتیس از نظر پذیرش با نمونه شاهد در یک سطح قرار داشت. در مقایسه خواص حسی نمونه حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس و نمونه شاهد تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) بین این دو نمونه مشاهده شد؛ بطوریکه نمونه حاوی پروبیوتیک بصورت معنی داری دارای خواص حسی بالاتر نسبت به نمونه شاهد بود. یکی از دلایل اصلی افزایش خصوصیات حسی بویژه در طعم و مزه نمونه حاوی لاکتوباسیلوس نسبت به نمونه حاوی بیفیدوباکتریوملاکتیس و نمونه شاهد میزان اسید ترش تر بیشتر توسط لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و مزه نسبتاً ترش تر نمونه حاوی آن می‌باشد. که از این نظر با نتایج سالمرون و همکاران (۲۰۱۴) که بر روی خصوصیات حسی چند نوشیدنی تخمیری بررسی انجام دادند و به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های با تولید اسید بالاتر و مزه ترش تر، مورد پسندتری هستند، همخوانی داشت [۴۶]. همچنین از لحاظ بو بدلیل تولید مواد فرار طعمی مثل استالید توسط لاکتوباسیلوس‌ها، نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس نسبت به دو نمونه دیگر دارای امتیاز بالاتری بودند. که از این نظر نیز با یافته‌های هیلاند و همکاران (۲۰۰۴) که بر روی خصوصیات یک نوع محصول تخمیری تولید شده توسط باکتری‌های پروبیوتیک بررسی انجام می‌دادند و به این نتیجه رسیدند که نمونه حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس دارای بالاترین امتیاز در عطر و بو، بدلیل میزان تولید بیشتر استالید، است [۴۷] و سالمرون و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت داشت [۴۶]. با توجه به نتایج بدست آمده توسط ارزیابی حسی در این پژوهش، به نظر می‌رسد که نگهداری محصولات تخمیری در یخچال برای زمان طولانی

(۲۰۱۱) همخوانی نداشت [۳۲ و ۴۲ و ۴۳].



**Fig 7** Changes in dry matter in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

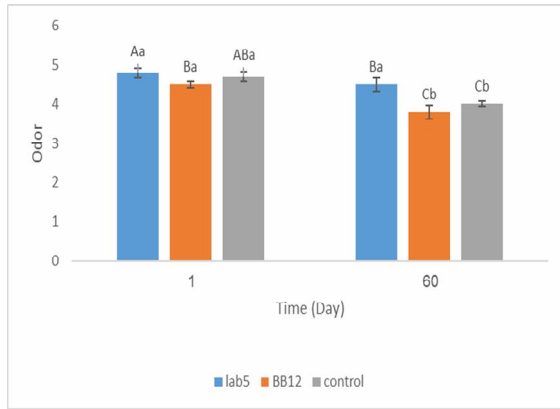
نتایج مربوط به میزان تغییرات چربی در طول دوره نگهداری در شکل ۸ آورده شده است.



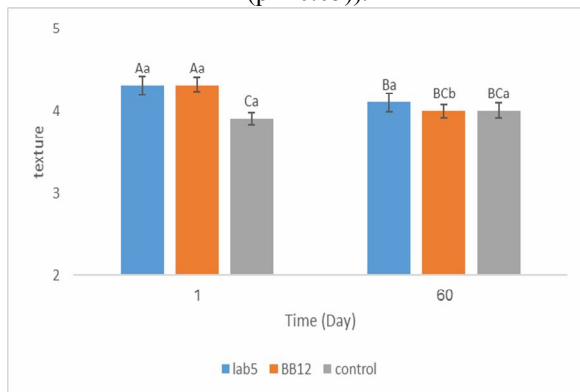
**Fig 8** Changes in fat content in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

همانگونه که مشاهده می‌شود؛ میزان چربی در هر سه نمونه تقریباً یکسان بوده و هیچ اختلاف معنی داری در میزان چربی نمونه‌ها در اثر زمان نگهداری و نوع ترکیب میکروبی مشاهده نگردید. که این نتایج با نتایج ارکایا و همکاران (۲۰۱۵) و با نتایج کایا و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت داشت [۴۴]. بیشترین میزان چربی ( $83.32 \pm 0.58$ ) در نمونه حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس مشاهده شد. در هر سه نمونه یک افزایش غیر معنی داری در میزان چربی نمونه‌ها در پایان دوره نگهداری مشاهده شد.

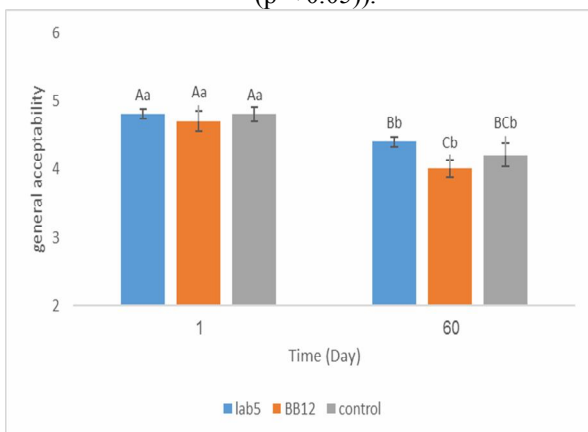




**Fig 11** Changes in odor in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

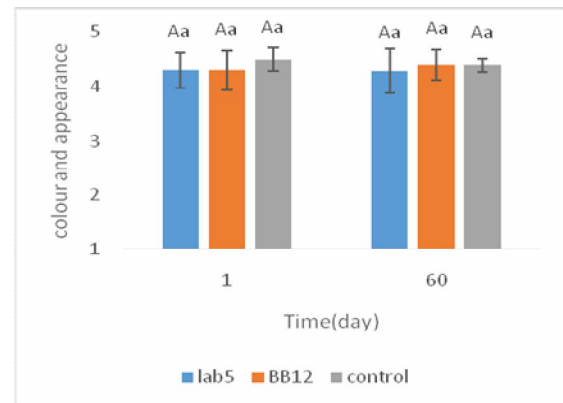


**Fig 12** Changes in Texture in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

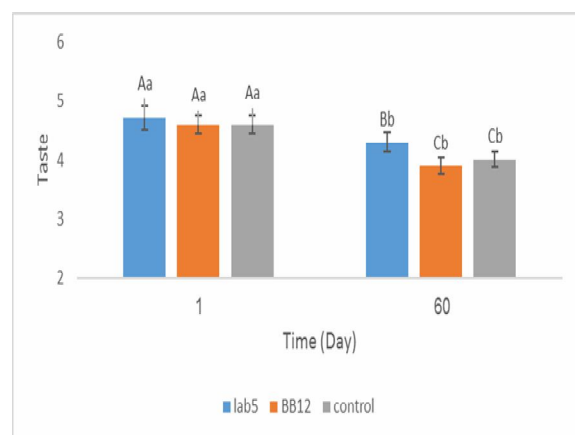


**Fig 13** Changes in general acceptability in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

منجر به کاهش کیفیت و خصوصیات کیفی این محصولات می‌شود. ازین نظر نتایج بدست آمده توسط ارباس و همکاران (۲۰۰۵) که کاهش کیفیت و خصوصیات حسی سوپ تخمیری در طی دوره نگهداری را بدلیل انجام واکنش‌های نامطلوب توسط میکروارگانیسم‌ها را در طی مدت زمان نگهداری گزارش کردند [۴۸]، هم خوانی داشت. همچنین در بررسی که دانشی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه شیرانجام دادند به این نتیجه رسیدند که در طی دوره نگهداری ویژگی‌های حسی این محصولات کاهش پیدا می‌کند که دلیل آن را فعالیت میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه ایجاد تغییرات شیمیایی و تولید اسیدهای آلی و در نتیجه افزایش اسیدیته بیان کردند [۴۹]، که با نتایج این پژوهش هم خوانی داشت.



**Fig 9** Changes in colour and appearance in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).



**Fig 10** Changes in Taste in butter samples during storage. (Big dissimilar letters are indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters are indicate significant differences between in each of the samples ( $p < 0.05$ )).

## ۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، نتایج نشان داد که زمان نگهداری بطور معنی داری ( $p < 0/05$ ) بر اکثر ویژگی‌های ذکر شده تاثیر دارد. روند زنده مانی برای هر دو باکتری بصورت کاهشی بود. در هر دو نمونه کاهش فقط در فواصل زمانی ۱۵ تا ۳۰ روز بصورت معنی دار ( $p < 0/05$ ) بود. همچنین بیشترین زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک مربوط به باکتری لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس بود. شمارش کپک و مخمر با گذشت زمان بطور معنی داری ( $p < 0/05$ ) در هر سه نمونه افزایش یافت و بالاترین میزان در نمونه حاوی استارتر بود و در پایان دوره ماندگاری، در دو نمونه حاوی پروبیوتیک تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. در توتال کانت، در نمونه حاوی استارتر و بیفیدوباکتریوملاکتیس تا روز ۳۰ و در نمونه حاوی استارتر و لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس از روز ۳۰ تا ۶۰ نگهداری، کاهش معنی داری ( $p < 0/05$ ) در میزان باکتری‌ها مشاهده گردید. در نمونه شاهد کاهش معنی داری ( $p < 0/05$ ) در طول زمان مشاهده نشد. همچنین در هر سه نمونه پس از گذشت ۶۰ روز کلی فرمی مشاهده نگردید. از طرف دیگر، زمان نگهداری، تاثیر معنی داری ( $p < 0/05$ ) بر کاهش ویژگی‌های حسی در نمونه شاهد و نمونه حاوی بیفیدوباکتریوملاکتیس داشت. در آنالیز حسی نمونه حاوی مخلوط استارتر و لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس بالاترین امتیاز در پایان دوره نگهداری را داشت و کاهش معنی داری ( $p < 0/05$ ) (بجز طعم و پذیرش کلی) در این نمونه در طی مدت ماندگاری مشاهده نگردید. اسیدیته و اندیس پراکسید با گذشت زمان در هر سه نمونه بصورت معنی داری ( $p < 0/05$ ) افزایش داشتند. نمونه حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس بالاترین اسیدیته و نمونه شاهد بالاترین اندیس پراکسید را داشتند. در pH نیز در هر سه نمونه با گذشت زمان بصورت معنی داری ( $p < 0/05$ ) کاهش pH مشاهده شد. کمترین pH مربوط به نمونه حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس بود. در میزان ماده خشک و چربی در هر سه نمونه تغییر معنی داری ( $p < 0/05$ ) مشاهده نشد. بنابراین نتایج نشان داد که می‌توان با استفاده از دو باکتری لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوملاکتیس کره لاکتیک با خواص پروبیوتیکی و زنده مانی بالا و خواص حسی مطلوب تهیه نمود. بهترین تیمار در این پژوهش، کره لاکتیک حاوی لاکتوباسیلوساسیدوفیلوس شناخته شد.

## ۵- منابع

- [1] Reid G, Burton J. 2002. Use of Lactobacillus to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes Infect.* 4(3):319-24.
- [2] FAO/WHO. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. 1-Cordoba, Argentina.
- [3] Sanders ME. 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J Nutr.* ;130(2S Suppl):384S-90S.
- [4] Danova S, Petrov K, Pavlov P, Petrova P. 2005 Isolation and characterization of Lactobacillus strains involved in koumiss fermentation. *Int J Dairy Technol.* 58: 100-105.
- [5] Erkaya T, Ürkek B, Doğru Ü, Çetin B, Şengül M. 2015. Probiotic butter: Stability, free fatty acid composition and some quality parameters during refrigerated storage. *International Dairy Journal* ; 49: 102-110.
- [6] Musiy, L. Tsisaryk, O. Slyvka, I. Mykhaylytska, O. Gutyj, B. 2017. Study Of Keeping Probiotic Properties Of Sour-cream Butter At Storage. *EUREKA: Life Sciences.* No 2.
- [7] Messer, J. W., Behney, H. M., & Leudecke, L. O. 1985. Microbiological count methods. In G. H. Richardson (Ed.), *Standard methods for the examination of dairy products* (15th ed.). (pp. 133-149). Washington DC, USA: American Public Health Association.
- [8] Speck, N. L. 1976. *Compendium of methods for the examination of foods.* Washington, DC, USA: American Public Health Association.
- [9] Cabezas, L., Sanchez, I., Poveda, J. M., Sesena, S., & Palop, M. L. 2007. Comparison of microflora, chemical and sensory characteristics of artisanal Manchego cheeses from two dairies. *Food Control*, 18, 11-17.
- [10] Dave, R. I., & Shah, N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31-41.
- [11] Lima, K. G. C., Kruger, M. F., Behrens, J., Destro, M. T., Landgraf, M., & Franco, B. D. G. M. 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lb. acidophilus*, *Lb. casei* and *B. animalis* in the presence of *Lb.*

- 2011; 4(32): 73-82 [in Persian].
- [23] Dagdemir, E., Cakmakci, S., & Gundogdu, E. 2009. Effect of *Thymus haussknechtii* and *Origanum acutidens* essential oils on the stability of cow milk butter. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1118-1123.
- [24] Akpinar-Bayazit, A Yilmaz-Ersan, L. and Ozcan, T. 2010. Determination of boza's organic acid composition as it is affected by raw material and fermentation. *International Journal of Food Properties*, 13: 648-656.
- [25] Todorov, S. D. and Holzapfel, W. H. 2014. Traditional cereal fermented foods as sources of functional microorganisms. *Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits*, 123.
- [26] Buriti, F. C. A., Rocha, S. J., & Saad, M. I. S. 2005. Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage. *International Dairy Journal*, 15, 1279-1288.
- [27] Dave, R. I., & Shah, N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 31-41.
- [28] Ranadheera, C. S., Evans, C. A., Adams, M. C., & Baines, S. K. 2012. Probiotic viability and physico-chemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. *Food Chemistry*, 135, 1411-1418.
- [29] Shori, A. B. 2013. Antioxidant activity and viability of lactic acid bacteria in soybean-yogurt made from cow and camel milk. *Journal of Taibah University for Science* 7: 202-208.
- [30] Bensmira, M. and Jiang, B. 2011. Organic acids formation during the production of a novel peanut-milk kefir beverage. *Dairy Sci.* 2, 18-22.
- [31] Senel, E., Atamer, M., & Öztekin, F.S. . 2011. The oxidative and lipolytic stability of Yayik butter produced from different species of mammals milk (cow, sheep, goat) yoghurt. *Food Chemistry*, 127, 333-339.
- [32] Simsek, B. 2011. Studies on the storage stability of yayik butter. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*, 6, 175-181.
- [33] Adegoke, G., Vijay Kumar, M., Gopala Krishna, A., Varadaraj, M., Sambaiah, K., & Lokesh, B. 1998. Antioxidants and lipid delbrueckii subsp. bulgaricus and *Streptococcus thermophilus*. *Food Science and Technology*, 42, 491-495.
- [12] Koburger, J. A., & Marth, E. H. 1984. Yeasts and molds. In M. L. Speck (Ed.), *Compendium of methods for the microbiological examination of foods* (pp. 197-201). Washington, DC, USA: American Public Health Association.
- [13] Bodyfelt, F. W., Tobias, J., & Trout, G. M. 1988. *The sensory evaluation of dairy products*. New York, NY, USA: Van Nostrand Reinhold.
- [14] ISIRI, 1394. *Flavored cream Specifications and Test Methods* Iranian National Standardization Organization.
- [15] Iran National Standard, *Acidity measurement of edible fats and oils*. ISIRI no 4178. Karaj: ISIRI; 1998 [in Persian].
- [16] Parvaneh, V. 1995. *Food quality control & chemical experiments*. Tehran University publishing Institute. Iran, PP. 166-179.
- [17] A.O.C.S. 2003. *Official method of analysis*. Cd 8-53. American Oil Chemical Society Washington, DC.
- [18] Yoon, S. J., Park, J. M., Gu, J. G., Lee, J. S., An, J. H., Kim, S. H. and Yang, C. Y. 2013. Establishment of quality criteria and estimate of shelf-life for yogurt beverage and stirred-type yogurt in Korea. *Food Science and Biotechnology*, 22: 477-483.
- [19] Mousavi, Z E., Mousavi, S M., Razavi, S H., Hadinejad, M., Emam-Djomeh, Z. and Mirzapour, M. (2013). Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. *Food Biotechnology*, 27: 1-13.
- [20] Tripathi, M. K. and Giri, S. K. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9: 225-241.
- [21] Olszewska, M., Staniewski, B., & Łaniewska-Trokenheim, Ł. 2012. Cell viability of *Bifidobacterium lactis* strain in long-term storage butter assessed with the Plate Count and Fluorescence Techniques. *Czech Journal of Food Sciences*, 30, 421-428.
- [22] Aghajani AR, Pourahmad R, Mahdavi Adeli H. The Effect of prebiotics on probiotic yogurt containing *Lactobacillus casei*. *Food Science and Nutrition*

- [42] Sagdiç, O., Arici, M., & Sims, ek, O. 2002. Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt. *Food Microbiology*, 19, 303-312.
- [43] Sagdiç, O., Dönmez, M., & Demirci, M. 2004. Comparison of characteristic and fatty acid profiles of traditional Turkish yayik butters produced from goats', ewes' or cows' milk. *Food Control*, 15, 485-490.
- [44] Kaya S. 2002. Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining, *Journal of Food Engineering*, 52: 155-159.
- [45] Civille, G. V. 1991. Food quality: Consumer acceptance and sensory attributes. *Journal of Food Quality*, 14: 1-8.
- [46] Salmerón, I., Thomas, K. and Pandiella, S. S. 2014. Effect of substrate composition and inoculum on the fermentation kinetics and flavour compound profiles of potentially non-dairy probiotic formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 55: 240-247.
- [47] Helland, M. H., Wicklund, T. and Narvhus, J. A. 2004. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria, in maize porridge with added malted barley. *International Journal of Food Microbiology*, 91: 305-313.
- [48] Erbaş, M., Certel, M. and Uslu, M. K. 2005. Microbiological and chemical properties of Tarhana during fermentation and storage as wet—sensorial properties of Tarhana soup. *LWT-Food Science and Technology*, 38: 409-416.
- [49] Daneshi, M., Ehsani, M. R., Razavi, S. H. and Labbafi, M. 2013. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. *Electronic Journal of Biotechnology*, 16: 5-5.
- oxidation in foods: A critical appraisal. *Journal of food science and technology*, 35(4), 283-298.
- [34] Hoseini, Z. 2007. Common methods in food analytical. Shiraz University publishing Institute. Iran, 6. 124-149.
- [35] O'Connor, T. P., & O'Brien, N. M. 2006. Lipid oxidation. In P. F. Fox, & P. L. H. McSweeney (Eds.), *Advanced dairy chemistry* (Vol. 2, pp. 557-600). New York, NY, USA: Springer.
- [36] Ozturk, S., & Cakmakci, S. 2006. The effect of antioxidants on butter in relation to storage temperature and duration. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 108, 951-959.
- [37] Leeuwenburgh, C., & Heinecke, J. 2001. Oxidative stress and antioxidants in exercise. *Current Medicinal Chemistry*, 8(7), 829-838.
- [38] Saide, J., & Gilliland, S. 2005. Antioxidative activity of lactobacilli measured by oxygen radical absorbance capacity. *Journal of Dairy Science*, 88(4), 1352-1357.
- [39] Wang, Y. C., Yu, R. C., & Chou, C. C. 2006. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Food Microbiology*, 23, 128-135.
- [40] Nout, M. J. R. and Motarjemi, Y. 1997. Assessment of fermentation as a household technology for improving food safety: a joint FAO/WHO workshop. *Food Control*, 8: 221-226.
- [41] Rathore, S., Salmerón, I. and Pandiella, S. S. 2012. Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. *Food Microbiology*, 30: 239-244.



## Evaluation of probiotic lactic butter production: effect of strain and storage time on probiotic viability, physicochemical, microbiological and organoleptic properties

Kargarmotlagh, D.<sup>1\*</sup>, Sharifan, A.<sup>2</sup>

1. M.Sc. student, Dept. of Food Science & Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

2. Assistant Professor, Dept. of Food Science & Technology Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2021/ 07/ 11

Accepted 2022/ 02/ 27

#### Keywords:

Probiotic,  
Lactobacillus,  
Bifidobacterium,  
Sensory properties,  
Lactic butter.

**DOI:** 10.52547/fsct.19.124.39

**DOR:** 20.1001.1.20088787.1401.19.124.9.6

\*Corresponding Author E-Mail:  
[delimotlagh@yahoo.com](mailto:delimotlagh@yahoo.com)

### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of probiotic lactic butter production and the effect of strain and storage time on probiotic viability, physicochemical (fat content, pH, dry matter, peroxide value and acidity (lactic acid %)), organoleptic (color and appearance, taste, texture, odor and general acceptability), and microbiological properties (the counts of mold and yeast, coliform and total count). In this study, at first, cream was heat treated at 85 ° C for 10 minutes and then allowed to cool to 30-35 ° C. In one sample of cream only starter culture was added. In the other sample, starter culture and *Bifidobacterium lactis* were added and in the last one, starter culture and *Lactobacillus acidophilus* were added. The inoculation level of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* was 2% (v/v). The results showed that the storage time had a significant effect ( $p < 0.05$ ) on the most of the mentioned characteristics. Viability was reduced for both bacteria. Also, the highest probiotic viability was related to *Lactobacillus acidophilus*. The lowest total count was in the sample containing starter and there were no significantly different results among butter samples containing probiotic during storage period ( $P > 0.05$ ). In sensory analysis, the sample containing *Lactobacillus acidophilus* had the highest score at the end of the storage period. Also, the sample containing *Lactobacillus* had the highest acidity and the lowest pH value and the control sample had the highest peroxide value. There was no statistically significant difference ( $P > 0.05$ ) between the dry matter values and the fat content of butter samples during storage. Therefore, the results showed that lactic butter with high probiotic properties and viability and optimal sensory properties can be prepared using two bacteria, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*. The best treatment in this study was lactic butter containing *Lactobacillus acidophilus*.