

# مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: [www.fsct.modares.ac.ir](http://www.fsct.modares.ac.ir)



مقاله علمی پژوهشی

## بررسی مقایسه‌ای اثر فرآیندهای پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون بر زنده‌مانی باکتری‌های پروپیوتیک و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء ماست قالبی پروپیوتیک

فاطمه جعفری نجف آبادی<sup>۱</sup>، وجیهه فدائی نوغانی<sup>۲\*</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.  
دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	در این پژوهش، تأثیر فرآیندهای مختلف حرارتی شیر، پاستوریزاسیون ( $63^{\circ}\text{C}$ به مدت ۳۰ دقیقه، $74^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۵ ثانیه، $95^{\circ}\text{C}$ به مدت ۵ دقیقه) و استریلیزاسیون ( $120^{\circ}\text{C}$ به مدت ۱۵ دقیقه، اتوکلاو، و $140^{\circ}\text{C}$ به مدت ۴–۲ ثانیه، فرادما)، بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی انتخابی، پذیرش کلی و زنده‌مانی باکتری‌های پروپیوتیک ماست قالبی طی ۲۱ روز نگهداری در سرما مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که طی نگهداری، آب اندازی کاهش پیدا کرد و اسیدیته و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). با افزایش شدت فرآیند حرارتی شیر، کاهش در پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و آب اندازی ( $p < 0.05$ ) و افزایش در اسیدیته و قابلیت زنده‌مانی لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس ( $p < 0.05$ ) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس ( $p < 0.05$ ) مشاهده شد. در نهایت، بهترین نمونه از نظر ارزیابی حسی و زنده‌مانی باکتری‌های پروپیوتیک، نمونه ماست حاصل از شیر تیمار شده در $140^{\circ}\text{C}$ به مدت ۴–۲ ثانیه انتخاب گردید.
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۰۴	کلمات کلیدی:
تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۰۴	ماست پروپیوتیک، پاستوریزاسیون، استریلیزاسیون، پتانسیل اکسیداسیون و احیاء، قابلیت زنده‌مانی
DOI: 10.52547/fsct.18.03.12	* مسئول مکاتبات: Vn.fadaei@gmail.com

## ۱- مقدمه

تولید ماست، نابودی میکروارگانیسم هایی است که ممکن است بیماری زا بوده و یا اثر منفی بر کیفیت ماست تولیدی داشته باشند. حرارت دادن، سطح اکسیژن را در شیر کاهش می دهد؛ همچنین، ترکیباتی نظیر اسید فرمیک تولید می کند که می تواند فرایند تخمیر را سرعت بخشد. تیمار حرارتی شیر یک عامل بحرانی برای تشکیل بافت درنظر گرفته می شود. حرارت دادن، دناטורه شدن پروتئین های آب پنیر را موجب می شود و گروه های جانبی فعال پروتئین های کروی آب پنیر (به ویژه گروه های گوگردی) به علت باز شدن، قابل دسترس می شوند و اکسیداسیون اتصالات دی سولفیدی و اجتماع بین پروتئین های آب پنیر و میسل های کازئین صورت می گیرد. علاوه بر این، پروتئین های آب پنیر دناטורه شده ممکن است از طریق واکنش های آب گریز با کاپا-کازئین، به میسل های کازئینی متصل شوند؛ بنابراین، پروتئین های آب پنیر از طریق پیوند های دی سولفیدی و میانکنش های آب گریز با کاپا-کازئین به میسل های کازئین متصل می شوند. به طور کلی، افزایش دناטורه شدن پروتئین های آب پنیر و عمدتاً بتا-لاکتوگلوبولین، کاهش زمان ژله ای شدن و افزایش pH در ژله ای شدن را در پی دارد. تمامی واکنش های احتمالی، نقش قابل توجه پروتئین های آب پنیر دناטורه شده را در خواص ژل های ماست توجیه می کنند [۴، ۳].

فرایند حرارتی بر طعم شیر نیز اثر گذار است. اثر پاستوریزاسیون ملایم ( $72^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ ثانیه) بر طعم شیر حافظ می باشد و شیر مزه اصلی اش را حفظ می کند؛ تنها یک طعم پختگی بسیار ضعیف ممکن است احساس شود که به علت مقادیر ناچیز سولفید هیدروژن است و هبت-سیس-۴-اپال نقش مهمی در طعم این شیر دارد. طعم شیر پاستوریزه متوسط ( $75^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ ثانیه) خیلی شبیه شیر پاستوریزه ملایم ولی با طعم پختگی کمی بیشتر است. طعم شیر پاستوریزه شدید ( $85^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ ثانیه) دارای طعم پختگی مشخص می باشد، کمی طعم کتونی شیر فرادما و گاهی به میزان ناچیزی طعم کارامل دارد. استریلیزاسیون ( $115^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ دقیقه) که یک تیمار حرارتی شدید محسوب می شود) بر طعم و رنگ محصول تأثیر زیادی می گذارد؛ پروفایل حسی محصول عمدتاً به وسیله یک طعم پختگی شدید، نوع کتونی فرادما و طعم های کاراملیزاسیون/استریلیزاسیون

بالا رفتن سطح آگاهی مصرف کنندگان از اثرات ماده غذایی بر سلامتی، افزایش تمایل به مصرف فراورده های پروپیوتیک را در سراسر جهان موجب شده است. استفاده از شیر و فراورده های آن برای تولید محصولات پروپیوتیک از مطلوبیت ویژه ای برخوردار است زیرا در کنار ارزش تغذیه ای فوق العاده، محیط مناسبی جهت رشد این میکروارگانیسم ها محسوب می شوند. تولید انواع گوناگون ماست پروپیوتیک به کمک باکتری های پروپیوتیک مانند باکتری های لاکتوپاسیلوس اسیلوفیلوس و بیفیدو باکتریوم ها، علاوه بر اثرات سلامت بخشی، در پیشگیری و درمان عوارض سوء برخی از بیماری ها مفید است. زنده مانی باکتری های پروپیوتیک در ماست بستگی به عوامل زیادی مانند نژادهای مورد استفاده، برهم کنش بین گونه ها در داخل فرآورده، هیدروژن پروکسید حاصل از متابولیسم باکتریایی، اسیدیته نهایی فرآورده، در دسترس بودن مواد مغذی، عوامل تحريك کننده و بازدارنده رشد، غلاظت قند ها، اکسیژن محلول، میزان مایه تلقیح، دما و زمان تخمیر و دمای نگهداری دارد. بیفیدو باکتریوم ها به طور طبیعی بسی هوازی اند و بنابراین غلاظت بالای اکسیژن بر روی رشد و بقاء آن ها تأثیر گذار است. علت رشد ناچیز و آهسته بیفیدو باکتریوم ها و لاکتوپاسیلوس اسیلوفیلوس، غلاظت پایین اسیدهای آمینه آزاد و پیتیدهای کوچک در شیر است. بنابراین، افزودن کازئین یا پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده، عصاره ای مخمر، گلوك و ویتامین می تواند رشد آن ها در شیر افزایش دهد [۱].

فرایند حرارتی شیر، یک مرحله ای حساس از مراحل تولید محصولات شیری است و از طریق کاهش بار میکروبی، افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت میکروبی شیر را موجب می شود. فرایند حرارتی از طریق تغییر در عملکرد پروتئین های شیر باعث بهبود ویژگی های حسی و بافتی فرآورده های شیری می گردد؛ و بسته به شرایط آن می تواند منجر به تغییراتی در ساختار پروتئین شیر شود. اثر فرایند حرارتی بر شیر به عنوان ابزاری برای اصلاح خصوصیات عملکردی پروتئین های آن مورد بررسی قرار گرفته است [۲]. حرارت دهنده شیر در تولید ماست ضروری است و شرایط درجه حرارت-زمان ممکن است برای بهبود خواص فیزیکی ماست تغییر یابد. هدف اصلی از فرایند حرارتی شیر در

[۱۵] اشاره داشت که البته در این پژوهش‌ها، بررسی مواد افزودنی پری بیوتیک اثر گذار بر زندگانی پروبیوتیک‌ها لحاظ نشده است.

استفاده از غذاهای سلامتی بخش مانند پروبیوتیک‌ها، خواص دارویی و اثرات سلامت‌بخشی فراوانی دارد و محصولات تخمیری به خصوص ماست به عنوان یکی از مفیدترین و پرصرف‌ترین نوع این غذاها به شمار می‌رود. بنابراین، روشی که به کمک آن بتوان بیشترین مقدار باکتری‌های پروبیوتیک را طی دوران نگهداری حفظ نمود، حائز اهمیت است. همان‌طور که در بررسی پژوهش‌های ذکر شده ملاحظه می‌گردد در هیچ یک از تحقیقات به عمل آمده، اثر مقایسه‌ای روش‌های پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون شیر به تفصیل بر قابلیت زندگانی باکتری‌های پروبیوتیک و کیفیت ماست پروبیوتیک ارزیابی نشده است؛ لذا هدف از این پژوهش، مقایسه اثر فرآیند‌های مختلف حرارتی (پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، پذیرش کلی و قابلیت زندگانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست قالبی پروبیوتیک است.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۱- مواد اولیه

کشت منجمد شده تجاری DVS شامل باکتری‌های پروبیوتیک (لاكتوباسیلوس اسیدوفیلوس، LA5 و بیفیلوباكتریوم لاکتیس، Bb12) و باکتری‌های آغازگر ماست (استریپتوکوکوس ترموفیلیوس و لاكتوباسیلوس بولگاریکوس) و بانام تجاری ABY1 از شرکت کریستین هنسن (کشور دانمارک)، و شیر خشک بدون چربی از کارخانه شیر پاستوریزه پگاه تهران تهیه شد. کلیه مواد شیمیایی مورد نیاز جهت انجام آزمون‌ها از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

### ۲-۲- روش تهیه نمونه‌های ماست

شیر خام (تهیه شده از شرکت پگاه تهران، ایران) پس از استاندارد شدن چربی (۱/۵ درصد) و افزون ۲ درصد شیر خشک بدون چربی، سالم سازی شد. لازم به ذکر است بر اساس شرایط فرآیند حرارتی، پنج تیمار به شرح ذیل تعریف گردید.

تعیین می‌گردد و مواد فرار گوگرد دار که عملتاً همراه با طعم پختگی هستند، به علت دناتوراسیون پروتئین‌های آب پنیر در اثر حرارت به وجود می‌آیند؛ به ویژه بتا-لاکتوگلوبولین در حرارت حدود  $60^{\circ}\text{C}$  شروع به دناتوراسیون می‌کند که در دماهای بالا تسریع می‌شود؛ واکنش مایلارد نیز تحت این شرایط اتفاق می‌افتد و ترکیبات گوگردی و سایر مواد فرار را که اثر زیادی روی طعم دارند ایجاد می‌نماید. فرایند فرادما ( $150-140^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳-۵ ثانیه) بر حسب نوع سیستم حرارتی به تیمار نسبتاً ملایم ( $142^{\circ}\text{C}$  به مدت ۴ ثانیه به روش مستقیم) با پروفایل طعمی نزدیک به شیر پاستوریزه و تیمار نسبتاً سخت ( $150^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ ثانیه به روش غیرمستقیم) با پروفایل طعمی نزدیک به شیر استریلیزه طبقه بندی می‌شود [۴].

واکنش مایلارد، واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنژیمی، از واکنش‌هایی است که حرارت دادن یکی از عوامل مؤثر بر رخداد آن محسوب می‌شود به طوری که با افزایش دما، سرعت آن افزایش می‌یابد. مایلارد یک واکنش شیمیایی میان گروه کربونیل‌های احیاء کننده و گروه آمین آزاد پروتئین یا اسید آمینه است [۷-۵]. به طور عمده، واکنش مایلارد در شیر به واکنش میان لاکتوز و لیزین متصل به پروتئین محدود می‌شود [۸]. این واکنش بر بافت ماده غذایی از طریق اتصالات عرضی طی فراوری ماده غذایی اثر گذار است. مقدار قابل ملاحظه‌ای از کمپلکس‌های پروتئین با وزن ملکولی بالا از طریق ترکیبات دی کربونیل تولید شده با پیشرفت فراورده‌های واکنش مایلارد تشکیل می‌شوند. علاوه بر این، اتصالات عرضی میان ملکول‌ها در میسل‌های کازینی برقرار می‌شود [۷].

کارهای تحقیقاتی زیادی پیرامون قابلیت زندگانی پروبیوتیک‌ها متأثر از شرایط تولید در ماست پروبیوتیک صورت گرفته است که از جمله می‌توان به بررسی نوع بسته بندی شیشه‌ای و پلاستیکی [۹]، زمان گرمخانه گذاری [۱۰]، فرآیند حرارتی (۱۵ دقیقه در دمای  $95^{\circ}\text{C}$  و دمای تخمیر [۱۱]، کاربرد تیمار‌های حرارتی مختلف پاستوریزاسیون ( $90-90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه،  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه و  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه) [۱۲]، دمای مختلف نگهداری (۲، ۵ و ۸ درجه سانتی گراد) [۱۳]، میزان تلقیح و درجه حرارت گرمخانه گذاری در طی و بلافارسله بعد از تخمیر [۱۴] و هموژنیزاسیون تحت شرایط دما، فشار و مراحل متفاوت

استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 اجرا گردید. آزمایش دارای دو فاکتور شامل: فاکتور روش‌های مختلف سالم سازی (شامل پنج روش) و فاکتور زمان (در ۴ سطح روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱) بود. برای هر تیمار، ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در صورت معنی دار شدن تفاوت بین تیمارها، جهت مقایسه میانگین، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۰/۰۵ مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۱-۳- تغییرات اسیدیته طی دوره نگهداری

اسیدیته نمونه‌های ماست پروپیوپتیک طی نگهداری در سرما (جدول ۱) به طور معنی داری افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). به طور کلی، در ماست با تخمیر لاکتوز به اسید لاتکتیک توسط فعالیت باکتری‌های آغازگر، اسیدیته افزایش می‌یابد که در بسیاری از پژوهش‌ها نیز به آن اشاره شده است [۱۹-۲۳]. همچنین، لاکتوپاسیلوس با تخمیر لاکتوز، اسید لاتکتیک تولید می‌کند و اسید استیک، در نتیجه فعالیت بیفیلوباکتریوم لاکتیس تولید می‌شود [۲۴]. نتایج حاضر با نتایج سایر پژوهشگران مبنی بر افزایش اسیدیته نمونه‌های ماست پروپیوپتیک و ساده طی نگهداری مطابقت دارد [۲۴-۲۹].

میزان رخداد واکنش مایلارد به شدت تیمار حرارتی بستگی دارد. افزایش اسیدیته در فرایند های پاستوریزاسیون شدید و استریلیزاسیون را می‌توان به تجزیه فراورده آمادری در واکنش مایلارد نسبت داد زیرا موجب تشکیل اسید هایی نظیر فرمیک و استیک می‌شود که این اسید ها می‌توانند موجب افزایش جزئی اسیدیته در فراورده های شیری شوند [۷]. بیشترین مقدار اسیدیته طی نگهداری در سرما مربوط به  $T_5$  در روز ۱۴ بود و کمترین مقدار اسیدیته را  $T_2$  در روز ۱۴ به خود اختصاص داد. بالاتر بودن اسیدیته  $T_5$  را می‌توان به دمای اعمال شده و احتمالاً اثر تقویت کنندگی افزایش ماده جامد بر رشد میکرووارگانیسم ها نسبت داد. همچنان، با اعمال حرارت شدیدتر، بهبود کیفیت تغذیه ای شیر به دلیل آزاد سازی پیتید های کوچک و اسید های آمینه آزاد حاصل می شود [۱۲]. کاهش اسیدیته نمونه  $T_5$  در روز ۲۱ نسبت به روز ۱۴ را می‌توان به کاهش منابع قندی نسبت داد؛ به طوری که میکرووارگانیسم ها، پروتئین های موجود در محیط را

$63^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ دقیقه،  $T_2$ :  $74^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ ثانیه،  $95^{\circ}\text{C}$ :  $T_3$   $120^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه،  $T_4$ :  $140^{\circ}\text{C}$  به مدت ۱۵ دقیقه،  $T_5$  به مدت ۲-۴ ثانیه.

سپس، نمونه ها تا دمای تخمیر ( $42^{\circ}\text{C}$ ) سرد شدند و کشت آغازگر مخلوط ABY1 ( $10^7 \text{ CFU/ml}$ ) تاقيقی شد؛ گرمانه گذاری تا رسیدن به  $\text{pH} 4.5 \pm 0.2$  انجام پذیرفت. پس از رسیدن به pH مذکور، نمونه ها از گرمانه خارج و سرد شدند. سپس، شاخص های فیزیکوشیمیایی و پذیرش کلی و زنده مانی باکتری های پروپیوپتیک در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ پس از تولید طی نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  اندازه گیری گردید.

#### ۲-۳- آزمون ها

##### ۱-۳-۲- فیزیکوشیمیایی

سنجرش اسیدیته قابل تیتر مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ (۱۳۷۴) [۱۶]، انجام پذیرفت. پتانسیل اکسیداسیون و احیاء Mettler Toledo در دمای اتاق با استفاده از pH متر (مدل MA235) مجهر به الکترود (ساخت کشور سوئیس) اندازه گیری شد [۱۶]. میزان آب اندازی نمونه های ماست تولید شده توسط دستگاه سانتریفوژ یخچال دار (مدل Sigma)، ساخت کشور آلمان (ارزیابی گردید [۱۷]).

##### ۲-۳-۲- قابلیت زیستی پروپیوپتیک ها

زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و بیفیلوباکتریوم لاکتیس 12 Bb12 با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار ناجم پذیرفت [۱۲].

##### ۲-۳-۳- حسی

ارزیابی حسی (رنگ، بافت، طعم، بو و پذیرش کلی) توسط نفر ارزیاب آموزش دیده و بر اساس روش هدونیک پنج نقطه ای انجام پذیرفت [۱۸]. لازم به ذکر است از آن جا که شاخص نهایی ارزیابی، پذیرش کلی است، لذا در این پژوهش فقط نتایج پذیرش کلی گزارش شده است.

#### ۴- روش آماری

این پژوهش براساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی (برای آزمون حسی) و طرح کاملاً تصادفی (برای آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و قابلیت زنده مانی پروپیوپتیک ها) و با

مانی بهتر پروبیوتیک ها گردید؛ لذا، می توان نتیجه گرفت با افزایش شدت فرآیند حرارتی و تغليظ شیر، خاصیت بافری افزایش و اسیدیته کاهش می یابد.

صرف کرده و این باعث افزایش pH و کاهش اسیدیته محصول می گردد که با مطالعات واحدی و مظاهری تهرانی [۳۰] همخوانی دارد. تمیم [۱] گزارش کرد که افزودن پروتئین شیر، خاصیت بافری شیرهای تخمیر شده را افزایش داد و باعث زنده

**Table 1** Titratable acidity (<sup>°</sup>Dornic) changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*

21	14	7	1	Day	
				Treatment	
84.96 <sup>b</sup>	80.97 <sup>c</sup>	90.27 <sup>a</sup>	77.60 <sup>a</sup>	T1	
81.83 <sup>b</sup>	74.79 <sup>d</sup>	89.67 <sup>a</sup>	79.30 <sup>a</sup>	T2	
99.30 <sup>a</sup>	95.89 <sup>b</sup>	87.50 <sup>a</sup>	79.87 <sup>a</sup>	T3	
102.67 <sup>a</sup>	95.25 <sup>b</sup>	87.17 <sup>a</sup>	79.33 <sup>a</sup>	T4	
99.93 <sup>a</sup>	102.89 <sup>a</sup>	79.07 <sup>b</sup>	69.17 <sup>b</sup>	T5	
2.36	2.79	1.11	1.10	Standard error of the mean	

\*Means with different superscripts differ significantly ( $p<0.05$ ).

T= Temperature (°C), t= time.

T1: T= 63, t= 30 min; T2: T= 74, t= 15 s; T3: T= 95, t= 5 min; T4: T= 120, t= 15 min; T5: T= 140, t= 2-4 s

بیشتر اکسیژن ملکولی از شیر و آزاد سازی اسید های آمینه گوگرد دار نسبت داد که کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و بالطبع، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی را موجب شد [۱۲]. باز شدن ساختار پروتئین بتا-لاکتوگلوبولین، گروه های سولفیدریل را قابل دسترس می کند. گروه های سولفیدریل می توانند به دلیل انرژی اتصالی نسبتاً پایین پیوند S-H، به عنوان دهنده های اتم هیدروژن عمل کنند و انواع اکسیژن فعال را از بین ببرند. رادیکال های سولفیدریل ایجاد شده، دی سولفید های غیرفعال را در واکنش های زنجیره ای پایانی بوجود می آورند [۴]. اثر دیگر حرارت دادن این است که آنتی اکسیدان ها در دمای بالاتر از ۱۰۰°C در واکنش مایلارد تشکیل می شوند. فعالیت آنتی اکسیدانی واکنش مایلارد به مرحله حد واسطه، و به ویژه، نهایی این واکنش نسبت داده می شود. احتمال می رود فراورده های حاصل از واکنش مایلارد در مراحل اولیه استریلیزاسیون این اثر را موجب شوند. در واقع، این اثر آنتی اکسیدانی مرتبط با فراورده های حد واسطه ردوکتون است که ممکن است زنجیره رادیکالی را از طریق اهدای اتم هیدروژن بشکنند. سایر فراورده های واکنش مایلارد نظیر ملانوئیدین ها نیز جاذب های قوی انواع اکسیژن واکنش پذیر، پراکسی و ۱-دی فنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل محسوب

### ۳-۲- تغییرات پتانسیل اکسیداسیون و احیاء طی دوره نگهداری

پتانسیل اکسیداسیون و احیاء (پتانسیل ردوکس) به معنای به دست آوردن یا از دست دادن الکترون ها در یک سیستم می باشد که گرچه برای کنترل کیفیت فراورده های تخمیری شیری عامل مهمی تلقی می شود ولی به ندرت مورد استفاده قرار می گیرد [۳۱]. این مشخصه نه تنها نشان دهنده ظرفیت اکسیداسیون و احیاء محیط است بلکه فعالیت متابولیکی میکرووارگانیسم ها را نیز منعکس می سازد [۳۲] پتانسیل اکسیداسیون و احیاء نمونه های ماست پروبیوتیک (جدول ۲) طی نگهداری در سرما افزایش یافت (p<0.05). اسید های آلی و پراکسید هیدروژن تولید شده توسط میکرووارگانیسم ها طی تخمیر و نگه داری بر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء اثر گذاشته و باعث افزایش شاخص یاد شده می شوند [۳۳].

با افزایش شدت فرآیند حرارتی، کاهش بیشتر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء مشاهده گردید. بیشترین مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیاء مربوط به T1 (۱۳۶/۴۳ میلی ولت) و کمترین مقدار مربوط به T5 (۱۲۰/۷ میلی ولت) در روز صفر بود؛ علت آن را می توان به اعمال فرآیند حرارتی بیشتر و خروج

زمینه باشند. فراورده های حاصل از واکنش میلارد که در نتیجه واکنش های میان قند ها و اسید های آمینه بازی تشکیل می شوند آنتی اکسیدان های قوی ای محسوب می شوند [۸].

می شوند؛ آن ها چلاته کنندگی فلزات را نیز موجب می شوند [۷]. به طور کلی، احتمال می رود ترکیبات دی کربنیل، ملانوئیدین ها، ردوکتون ها و اینامین ها ترکیبات فعالی در این

**Table 2** Redox potential (mV) changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*

21	14	7	1	Day	
				Treatment	Standard error of the mean
141.46 <sup>a</sup>	139.17 <sup>b</sup>	137.53 <sup>bc</sup>	136.43 <sup>a</sup>	T1	
140.8 <sup>a</sup>	139.1 <sup>b</sup>	138.3 <sup>a</sup>	134.47 <sup>b</sup>	T2	
138.6 <sup>a</sup>	137.4 <sup>b</sup>	137.27 <sup>bc</sup>	132.27 <sup>c</sup>	T3	
139.3 <sup>a</sup>	138.5 <sup>b</sup>	137.6 <sup>b</sup>	130.93 <sup>d</sup>	T4	
140.5 <sup>a</sup>	140.1 <sup>a</sup>	136.46 <sup>c</sup>	120.7 <sup>e</sup>	T5	
0.64	0.48	0.29	1.46		

\*Means with different superscripts differ significantly ( $p<0.05$ ).

T= Temperature (°C), t= time.

T1: T= 63, t= 30 min; T2: T= 74, t= 15 s; T3: T= 95, t= 5 min; T4: T= 120, t= 15 min; T5: T= 140, t= 2-4 s

اندازی با گذشت زمان خواهد شد [۴۱]. البته با افزایش بیشتر اسیدیته طی انتهای نگهداری به دلیل انقباض شبکه کازئینی [۴۲]، آب اندازی افزایش یافت. در مورد اثر فرآیند سالم سازی شیر بر آب اندازی تیمارها باید گفت که همگام با افزایش شدت فرآیند حرارتی، از میزان آب اندازی کاسته شد ( $p<0.05$ )؛ البته در مورد T1 و T2 این اثر زیاد محسوس نبود و میزان آب اندازی تقریباً مشابه هم بود. بیشترین و کمترین درصد آب اندازی طی ۲۱ روز نگهداری به ترتیب متعلق به T2 (۶۱/۹۱) و T5 (۳۱/۰۸) است. یکی از دلایل کاهش آب اندازی در T5 را می توان به افزایش ماده خشک شیر با افزایش دما نسبت داد. ایزدی و همکاران [۴۰] و تمیم و راینسنون [۲۵] نیز گزارش کردند که افزایش ماده خشک موجب کاهش آب اندازی ماست می گردد؛ علت آن، پایدار کردن شبکه ژل و افزایش ظرفیت اتصال آب است که اثر مطلوبی بر استحکام ژل ماست و کاهش آب اندازی دارد [۴۰]. در مورد T4، احتمالاً واکنش میلارد باعث افزایش میزان آب اندازی نسبت به T3 گردید. در واکنش میلارد مراحل وجود دارد که طی این مراحل، مولکول آب ایجاد می گردد [۷]. احتمال می رود همین امر، افزایش آب اندازی در T4 نسبت به T3 را موجب گردد. بنابراین، در محدوده کمینه و بیشینه حرارت دهی، شرایط حرارتی بهینه وجود دارد. بهینه فرآیند حرارتی بر اساس نوع ماست ممکن است متفاوت باشد. فرآیند حرارتی ناقص به علت کاهش نسبت

### ۳-۳- تغییرات آب اندازی طی دوره نگهداری

درصد آب اندازی (جدول ۳) در تمامی نمونه ها تا روز ۱۴ ام کاهش یافت و سپس در روز ۲۱ ام نگهداری افزایش پیدا کرد ( $p<0.05$ ). ارتباط میان آب اندازی و اسیدیته می تواند علت این رخداد باشد. با افزایش غلظت یون های هیدروژن، نیروهای دافعه کاهش می یابد و میسل های کازئینی تجمع می یابند. بنابراین، به علت ایجاد شبکه پروتئینی مستحکم تر، از میزان آب اندازی کاسته می شود. تولید اگزوپلی ساکاریدها توسط باکتری های پروبیوتیک توجیه دیگری برای کاهش آب اندازی می باشد. نتایج این تحقیق با نتایج برخی محققان مبنی بر کاهش آب اندازی ماست ساده یا پروبیوتیک طی دوره ای نگهداری همخوانی دارد [۳۹-۳۴]. بررسی تغییرات آب اندازی نمونه ها طی نگهداری نشان داد که بیشترین میزان آب اندازی در طی هفته اول نگهداری رخ داد؛ علت آن، افزایش اسیدیته و انقباض شبکه ژلی در اثر سرد کردن است که منجر به افزایش آب اندازی در هفته اول شده است [۴۰]. طی تخمیر با توجه به افت سریع pH شبکه های پروتئینی به صورت نامنظم و غیریکنواخت تشکیل می شوند؛ در نتیجه پیوندهای آب گریز در سطح شبکه ژلی قرار گرفته که در نهایت، موجب افزایش میزان آب اندازی در پایان تخمیر می شوند. اما طی دوره نگهداری در یخچال با گذشت زمان، فرستاده کافی برای بازآرایی شبکه ژلی ماست و افزایش ظرفیت نگهداری آب وجود خواهد داشت که در نهایت باعث کمتر شدن آب

عین حال، اعمال فرآیند حرارتی، کاهش هوای محلول در شیر را در پی دارد که به ایجاد بافتی مطلوب تر می‌انجامد. همچنین، حرارت دهنده شیر با غیرفعال کردن برخی از عوامل ضدرشد و ضدفعایلیت باکتری‌های آغازگر، احتمال اسید سازی ناقص، که مانع تشکیل و تکامل بافت ماست می‌شود، را کاهش می‌دهد. از طرف دیگر، حرارت دهنده موجب افزایش فسفات کلسیم کلوئیدی می‌شود. این پدیده بر پایداری و ثبات میسل های کاژین می‌افزاید و احتمال خرد شدن آن‌ها را در اثر افزایش اسیدیته کاهش می‌دهد [۴۳]. ناکافی بودن دما و زمان حرارت دهنده در T۲ تشکیل ژل ضعیف و آب اندازی بیشتر نسبت به سایر تیمارها شد.

آلفا - لاکتوگلوبولین در سطح میسل های کاژین و به تبع آن، کاهش آبدوستی شبکه ژل، آب اندازی را تشدید می‌کند. فرآیند حرارتی بسیار شدید نیز به آب اندازی می‌انجامد [۴۳]. میزان آب اندازی در T۵ از همه تیمارها کمتر بود. افزایش شدت فرآیند حرارتی، دناتوره شدن گستره‌ی پروتئین های آب پنیر و عمدتاً بتا-لاکتوگلوبولین را سبب می‌شود که به نوعه خود با افزایش ویسکوزیته و سفتی و بالطبع کاهش آب اندازی طی ژله‌ای شدن اسیدی در ارتباط هستند. حرارت دهنده موجب افزایش حجمیت و ظرفیت نگهداری آب در پروتئین‌های آب پنیر و کاهش حلایت آن‌ها می‌شود. مقادیر آب‌گیری برای پروتئین آب پنیر دناتور نشده و دناتوره شده به ترتیب ۰/۳۲ و ۰/۳۴ گرم آب در هر گرم پروتئین گزارش شده است [۴]. در

**Table 3** Syneresis (%) changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*

21	14	7	1	Day	
				Treatment	
56.46 <sup>b</sup>	55.26 <sup>b</sup>	61.02 <sup>a</sup>	62.26 <sup>b</sup>	T1	
61.91 <sup>a</sup>	58.05 <sup>a</sup>	60.38 <sup>a</sup>	63.65 <sup>a</sup>	T2	
41.53 <sup>d</sup>	43.49 <sup>d</sup>	54.31 <sup>b</sup>	59.29 <sup>c</sup>	T3	
50.06 <sup>c</sup>	44.98 <sup>c</sup>	54.81 <sup>b</sup>	59.25 <sup>c</sup>	T4	
31.08 <sup>e</sup>	28.11 <sup>e</sup>	45.80 <sup>c</sup>	48.42 <sup>d</sup>	T5	
2.93	2.83	1.47	1.43	Standard error of the mean	

\*Means with different superscripts differ significantly ( $p<0.05$ ).

T= Temperature (°C), t= time.

T1: T= 63, t= 30 min; T2: T= 74, t= 15 s; T3: T= 95, t= 5 min; T4: T= 120, t= 15 min; T5: T= 140, t= 2-4 s

مقایسه با لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به شرایط نامطلوب محیطی بیشتر است [۴۴، ۴۵]. اثر بازدارندگی و کشندگی pH های پایین بر بیفیدوباکتریوم ها بیشتر از لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس است؛ رشد لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس در ۴ $\leq$ pH $\leq$ ۵ تا حد زیادی کاهش یافته یا متوقف می‌شود. از این‌رو، بیفیدوباکتریوم ها در pH طبیعی ماست (۴/۶-۴/۲) رشد و تکثیر مطلوبی ندارند و جمعیت آن‌ها طی نگهداری در سرما کاهش می‌یابد [۴۶]. اثر کشندگی pH های پایین را به پدیده گرسنگی اسیدی نسبت می‌دهند؛ در این پدیده، به دلیل کاهش انرژی سلول، پمپ شدن یون هیدروژن از درون به بیرون سلول متوقف می‌شود و این یون از بیرون به درون آن نشست می‌کند و وقتی pH سیتوپلاسم به کمتر از آستانه مجاز می‌رسد، سلول می‌میرد [۴۷]. بسیاری از پژوهشگران زنده‌مانی پائین باکتری‌های جنس بیفیدوباکتریوم را گزارش کردند

### ۳-۴- تغییرات قابلیت زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس طی دوره نگهداری

طی نگهداری بیست و یک روزه در یخچال، زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس (جدول ۴) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (جدول ۴) تا روز چهاردهم افزایش و سپس، کاهش یافت (p<۰/۰۵). با مقایسه قابلیت زنده مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس می‌توان نتیجه گیری کرد که لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس، توانایی سازگاری بیشتری با محیط داشته است؛ و در توجیه آن می‌توان گفت که بیفیدوباکتریوم ها نسبت به تغییرات pH از لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس حساس‌تر هستند [۱۲]. به طور کلی، حساسیت بیفیدوباکتریوم لاکتیس در

داشته باشد. سپس، در روز بیست و یکم نگهداری کاهش یافته است؛ که دلیل آن می‌تواند کاهش فاکتورهای ضروری [۵۹] و افزایش اسیدیته باشد.

بیشترین میزان مرگ و میر و کمترین رشد بیفیدوپاکتریوم لاکتیس در هفته اول نگهداری مشاهده شد؛ این امر نه تنها به واسطه حساسیت این باکتری نسبت به pH های پائین بلکه به دلیل کاهش روابط همیاری باکتری‌های آغازگر ماست جهت تأمین نیازهای انرژی و رشد بیفیدوپاکتریوم لاکتیس می‌باشد. میزان مرگ و میر در هفته‌های دوم و سوم نگهداری به تدریج کاهش یافت؛ این پدیده به علت سازگار شدن تدریجی این باکتری به شرایط و فاکتورهای محیطی می‌باشد [۶۰]. بنا به دلایل ذکر شده، تعداد باکتری‌های بیفیدوپاکتریوم لاکتیس در نمونه‌های T<sub>2</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> تا روز چهاردهم نگهداری در سرما افزایش، و از روز چهاردهم تا روز بیست و یکم کاهش یافت؛ در حالی که در T<sub>1</sub> تا روز بیست و یکم روند افزایشی مشاهده شد؛ بیفیدوپاکتریوم لاکتیس در T<sub>1</sub> با یک شبیه ملایم و با سرعت کم در حال افزایش بود و تا روز چهاردهم، قابلیت زنده مانی این باکتری از تمام تیمارها کمتر بود و حتی در محدوده قابل قبول هم قرار نداشت و بر خلاف سایر تیمارها که از روز چهاردهم به بعد، کاهش در میزان بیفیدوپاکتریوم لاکتیس مشاهده شد، قابلیت زنده مانی با یک شبیه ملایم در این تیمار افزایش یافت؛ که احتمالاً به دلیل رشد اندک این باکتری تا روز چهاردهم، مواد غذی و فاکتورهای مورد نیاز برای ادامه رشد این باکتری تا روز بیست و یکم در دسترس بوده است. بیشترین زنده مانی این باکتری به ترتیب مربوط به نمونه‌های T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> در روز چهاردهم، و کمترین آن مربوط به T<sub>2</sub> در روز صفر بود که شرایط فرآیند سالم سازی شیر مورد استفاده در تولید ماست پروپیوتیک می‌تواند دلیل این امر باشد. کاهش این باکتری در روز بیست و یکم نگهداری، می‌تواند به علت کاهش فاکتورهای ضروری رشد نظیر ویتامین‌ها و قند باشد [۱۲]. پیتیدها و اسیدهای آمینه از فاکتورهای ضروری رشد برای باکتری‌های اسید لاکتیک محسوب می‌شوند [۶۱، ۶۲].

قابلیت زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های T<sub>1</sub>، T<sub>2</sub>، T<sub>3</sub> تا روز چهاردهم نگهداری در ۴°C در محدوده قابل قبولی قرار داشت؛ در نمونه‌های T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> طی نگهداری در محدوده ذکر شده و قابل قبول قرار داشت؛ دلیل آن هم فراهم بودن مواد غذی تا آخرین روز نگهداری بود که فرآیند حرارتی

[۴۸-۵۰]؛ اما در مقابل، برخی دیگر بقاء مناسب باکتری‌های بیفیدوپاکتریوم را در محصولات شیری تأیید نمودند [۴۶، ۵۱، ۵۲].

به طور کلی، باکتری‌های پروپیوتیک از جمله باکتری‌های لاکتیکی هستند که طی نگهداری میزان ناچیزی اسید تولید می‌کنند؛ اما باکتری‌های آغازگر ماست، لاکتوپاسیلوس بولگاریکوس و استرپتوكوکوس ترموفیلوس، بر خلاف پروپیوتیک‌ها، حتی طی نگهداری نیز فعالیت دارند و از طریق تخمیر لاکتوز، مقداری اسید لاکتیک تولید می‌کنند که باعث کاهش قابل توجه pH می‌شوند. این مسئله باعث پدیده بیش اسیدی شدن<sup>1</sup> در محصولات شیری طی نگهداری می‌شود. بیش اسیدی شدن یکی از دلایل افت پروپیوتیک‌ها طی نگهداری در ماست و محصولات مشابه است [۵۳]. به طور کلی، کاهش pH محیط و افزایش تجمع اسید‌های آلی طی نگهداری از عوامل مؤثر بر کاهش قابلیت زنده مانی باکتری‌های پروپیوتیک در محصول می‌باشند [۵۴]. کاهش زنده‌مانی باکتری‌های پروپیوتیک طی مدت زمان نگهداری توسط بسیاری از محققان گزارش شده است [۴۸، ۵۵-۵۷]. افزایش اسیدیته و پراکسید هیدروژن را از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر زنده‌مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس گزارش کردند. همچنین، تمیم [۱] گزارش کردند که تولید اسید و پروکسید هیدروژن اثر ممانعت کنندگی بر رشد باکتری‌های پروپیوتیک داشتند و همراه با هم، اثرشان تشديد می‌شود.

بیشترین میزان زنده مانی در روز چهاردهم در T<sub>3</sub> و کمترین میزان زنده مانی در روز بیست و یکم در T<sub>2</sub> مشاهده شد؛ اما در T<sub>5</sub>، تا آخرین روز نگهداری میزان زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس در محدوده ای بالاتر از همه تیمارها قرار داشت و کاهش زنده مانی باکتری مذکور با شبیه بسیار ملایمی مشاهده شد. تعداد باکتری‌های لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های T<sub>2</sub>، T<sub>3</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> تا روز چهاردهم طی نگهداری در سرما افزایش و از روز چهاردهم نگهداری تا روز بیست و یکم، T<sub>2</sub> با یک شبیه منفی ملایم و T<sub>3</sub>، T<sub>4</sub> و T<sub>5</sub> با شبیه تند تری کاهش یافتند؛ در حالی که در T<sub>1</sub>، زنده مانی تا روز هفتم افزایش و پس از آن، در روز چهاردهم و بیست و یکم کاهش یافت. نتایج نشان می‌دهد که در مدت زمان دو هفته، باکتری لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس توانسته با محیط (محصول) سازش نماید و رشد هم

1. Post acidification

بیفیدوپاکتریوم ها را به طور معناداری افزایش می دهد[۱۲]. از طرف دیگر، گزارش شده است در برخی شیرهایی که تحت فرایند حرارتی شدید قرار گرفته اند، مقدار لاکتولوز بالاست. لاکتولوز به عنوان پری بیوتیک رشد بیفیدوپاکتریوم ها را تحریک می کند و به عنوان یک شاخص احتمالی تاریخچه حرارتی/فراورده های شیری بسیار مورد توجه قرار گرفته است. غلظت لاکتولوز در شیر فرادما در محدوده  $25\text{--}2\text{ mg/dl}$  ممکن است بیش از  $75\text{ mg/dl}$  باشد. میزان لاکتولوز در شیر های فرادما حرارت دیده به روش غیرمستقیم بیشتر از روش مستقیم است [۸]. همچنین، گزارش شده است که فراورده های واکنش مایلارد که در بدن جذب نمی شوند می توانند توسط میکروب های روده متابولیزه شوند و به عنوان پری بیوتیک عمل کنند [۷]: بنابراین، این فراورده ها نیز می توانند دلیل زنده مانی بیشتر باکتری های پروبیوتیک با افزایش شدت تیمار حرارتی باشند. مرتضویان و همکاران [۱۲] گزارش کردند که تفاوت معناداری میان زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در نمونه های ماست در صورت سالم سازی شیر پایه در دو شرایط  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت  $30\text{ دقیقه}$  و  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت  $5\text{ دقیقه}$  وجود نداشت ولی تفاوت معنی داری میان زنده مانی در صورت سالم سازی در  $95^{\circ}\text{C}$  به مدت  $15\text{ دقیقه}$  با دو شرایط ذکر شده در بالا مشاهده گردید [۱۲]. تمیم [۱] نیز رشد بهتر بیفیدوپاکتریوم ها را با کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء گزارش کردند.

**Table 4** Probiotic viability ( $\log \text{cfu/ml}$ ) changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*

21	14	7	1	Day Treatment	Characteristics
5.97 <sup>b</sup>	8.32 <sup>b</sup>	8.35 <sup>a</sup>	7.22 <sup>ab</sup>	T1	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
5.75 <sup>b</sup>	8.50 <sup>b</sup>	7.88 <sup>b</sup>	7.09 <sup>ab</sup>	T2	
5.99 <sup>b</sup>	9.80 <sup>a</sup>	7.82 <sup>b</sup>	6.90 <sup>b</sup>	T3	
7.90 <sup>a</sup>	9.70 <sup>a</sup>	7.71 <sup>b</sup>	7.46 <sup>a</sup>	T4	
8.40 <sup>a</sup>	9.41 <sup>ab</sup>	7.96 <sup>b</sup>	7.02 <sup>ab</sup>	T5	
0.304	0.229	0.061	0.060		Standard error of the mean
6.37 <sup>a</sup>	4.24	3.72	2.68 <sup>a</sup>	T1	<i>Bifidobacterium lactis</i>
5.00 <sup>b</sup>	5.27	4.47	2.63 <sup>a</sup>	T2	
4.01 <sup>c</sup>	6.78	4.94	3.06 <sup>a</sup>	T3	
5.32 <sup>b</sup>	7.28	5.40	2.98 <sup>a</sup>	T4	
4.32 <sup>c</sup>	7.15	5.45	3.01 <sup>a</sup>	T5	
0.223	0.481	0.361	0.870		Standard error of the mean

\*Means with different superscripts differ significantly ( $p<0.05$ ).

T= Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ), t= time.

T1: T= 63, t= 30 min; T2: T= 74, t= 15 s; T3: T= 95, t= 5 min; T4: T= 120, t= 15 min; T5: T= 140, t= 2-4 s

شدیدتر این امکان را فراهم کرد. قابلیت زنده مانی بیفیدوپاکتریوم لاكتیس در نمونه های T<sub>5</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub> فقط در روز چهاردهم و در T<sub>1</sub> فقط در روز بیست و یکم در محدوده قابل قبول قرار داشت؛ و در T<sub>2</sub> فقط در روز چهاردهم در محدوده ای نزدیک به محدوده قابل قبول مشاهده گردید.

در مورد اثر فرآیند سالم سازی شیر بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک باید گفت همگام با افزایش شدت فرآیند حرارتی، و به دنبال آن، فراهم آمدن شرایط بهینه رشد (به دلیل حذف اختصاصی تر میکرووارگانیسم های رقبه در شیر پایه)، بهبود کیفیت تغذیه ای شیر باز طریق آزاد سازی پیتید های کوچک و اسید های آمینه آزاد به عنوان ترکیبات مغذی مورد مصرف پروبیوتیک ها به ویژه از پروتئین های آب پنیر، خروج بیشتر اکسیژن میان بافتی و آزاد سازی بیشتر گروه های سولفیدریل)، قابلیت بقاء این باکتری ها افزایش یافت ( $p<0.05$ ؛ البته بین T<sub>1</sub> و T<sub>2</sub> تفاوت زیادی در میزان زنده مانی مشاهده نشد [۲۵]). زنده مانی بیفیدوپاکتریوم لاكتیس در T<sub>3</sub> و T<sub>5</sub> تقریباً مشابه هم بود. با افزایش شدت فرآیند حرارتی زمینه برای رشد بهتر و بیفیدوپاکتریوم لاكتیس فراهم شد. در مورد بیفیدوپاکتریوم ها حرارت دادن صحیح مهم تر است زیرا حذف مؤثر تر اکسیژن محلول که اثر منفی بر زنده مانی بیفیدوپاکتریوم ها دارد را موجب می شود؛ و همچنین، کاهش پتانسیل ردوکس را به دلیل حذف اکسیژن ملکولی و آزاد سازی اسید های آمینه گوگرد دار در پی دارد. کاهش اکسیژن محلول و پتانسیل ردوکس رشد

میکروبی و آب اندازی بیشتر در قیاس با سایر نمونه های ماست پروپویوتیک می باشد. با افزایش شدت فرآیند حرارتی (به استثناء T<sub>4</sub>، امتیاز ارزیابی حسی در نمونه های ماست پروپویوتیک افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) و بهبود پذیرش کلی حاصل شد؛ به طوری که کمترین امتیاز پذیرش کلی به T<sub>4</sub> تعلق داشت. حرارت دهی شدید ممکن است به سبب انجام واکنش های مایلارد باعث ظاهر شدن طعم های نامطلوب همچون طعم کارامل شود و به سبب آزاد شدن ترکیبات گوگردی، طعم پخته پدید آید [۴۳]. با گذشت زمان طی نگهداری در یخچال، مقبولیت نمونه ها کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). پایین آمدن مقبولیت نمونه ها از روز ۱۴ام به بعد به موازات افزایش اسیدیته در نمونه ها می تواند نشانگر تأثیر نامطلوب ترشی محصول بر خواص حسی باشد؛ همچنین می توان به کاهش استالدئید نسبت داد [۳۶]. برخی از پژوهشگران نیز کاهش پذیرش حسی ماست را با افزایش زمان نگهداری گزارش کرده اند [۳۶، ۳۸، ۶۳]؛ به طور کلی، علت تغییر طعم ماست طی نگهداری، فعالیت و تولید متابولیت توسط میکروارگانیسم ها است.

**Table 5** Overall acceptability changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*(Mean ± Standard deviation)

21	14	7	1	Day Treatment
2.00±0.00 <sup>e</sup>	2.33±0.52 <sup>d</sup>	3.00±0.00 <sup>c</sup>	3.00±0.00 <sup>e</sup>	T1
2.00±0.00 <sup>e</sup>	2.33±0.52 <sup>d</sup>	3.00±0.00 <sup>c</sup>	3.00±0.00 <sup>e</sup>	T2
3.67±0.52 <sup>b</sup>	3.83±0.41 <sup>b</sup>	4.00±0.00 <sup>b</sup>	4.00±0.00 <sup>b</sup>	T3
2.00±0.00 <sup>e</sup>	2.00±0.00 <sup>e</sup>	2.00±0.00 <sup>e</sup>	2.00±0.00 <sup>e</sup>	T4
4.83±0.41 <sup>a</sup>	5.00±0.00 <sup>a</sup>	5.00±0.00 <sup>a</sup>	5.00±0.00 <sup>a</sup>	T5

\*Means with different superscripts differ significantly ( $p < 0.05$ ).

T= Temperature (°C), t= time.

T1: T= 63, t= 30 min; T2: T= 74, t= 15 s; T3: T= 95, t= 5 min; T4: T= 120, t= 15 min; T5: T= 140, t= 2-4 s

اسیدیاسیون و احیاء و آب اندازی و افزایش در اسیدیته و قابلیت زنده مانی لاکتوپاسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس نمونه های ماست تولیدی مشاهده شد.

## 5- سپاسگزاری

نگارندگان مقاله مرتاب تشکر و سپاس خود را از جناب آقای دکتر محمد دانشی (گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یزد،

## 3-5- تغییرات پذیرش کلی طی دوره نگهداری

هر چند ارزش اساسی فرآورده های پروپویوتیک را قابلیت زیستی باکتری های پروپویوتیک تعیین می کند، اما خواص حسی نیز جایگاه بسیار مهمی دارند زیرا میزان میل و رغبت مصرف کننده را تعیین می کنند. طعم و بافت ماست بسیار حائز اهمیت است. اسیدیته ماست نقش مهمی در طعم ماست دارد و بر روی سایر ویژگی های ماست نیز اثر گذار است [۳]. مطلوب ترین نمونه ماست از نظر پذیرش کلی به T<sub>5</sub> تعلق داشت (جدول ۵)؛ که عمدۀ ترین دلیل، بافت غلیظ تر این نمونه بود. تجربیات به عمل آمده آشکار ساخته اند که سرعت اسید سازی طی نگهداری در یخچال در شیر پایه ای که تحت فرآیند حرارتی شدیدتر قرار می گیرد به مراتب بیشتر از شیری است که به روش معمولی پاستوریزه شده است. همچنین، طعم ماست حاصل از فرآیند حرارتی با شدت بالا به مراتب دلپذیرتر از ماست حاصل از فرآیند حرارتی با شدت کم است [۴۳]. پایین ترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به T<sub>1</sub> و T<sub>2</sub> بود که به دلیل اعمال دمای پایین تر و به دنبال آن ماده خشک کمتر، به دلیل عدم حذف اختصاصی تر میکروارگانیسم های رقیب در شیر پایه، تولید متابولیت های بیشتر

## 4- نتیجه گیری

در میان فرآورده های پروپویوتیک، فرآورده های تخمیری و به ویژه ماست، به دلیل خواص حسی کم نظیر از مقبولیت جهانی برخوردار هستند؛ بنابراین، تولید ماست پروپویوتیک با ویژگی های فیزیکو شیمیایی، حسی و قابلیت زنده مانی باکتری های پروپویوتیک در حد مطلوب بسیار حائز اهمیت است. در این پژوهش، با افزایش شدت فرآیند حرارتی شیر، کاهش در پتانسیل

دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران) برای راهنمایی در تمامی مراحل این پژوهش اعلام می‌دارند.

## ۶- منابع

- Emamdjomeh, Z., Sohrabvandi, S. and Rezaei, K. 2006. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment incubation temperature on the viability if the probiotic microorganisms in freshly made yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 59: 8-11.
- [12] Mortazavian, A. M., Sohrabvandi, S., Mousavi, S. M. and Reinheimer, J. A. 2006. Combined effects of temperature-ralated variables on the viability of Probiotic microorganisms in yogurt. Australian Journal of Dairy Technology, 61 (3): 248-252.
- [13] Mortazavian, A. M., Ehsani, M.R., Mosavi, S. M., Rezaei, K., Sohrabvandi, S. and Reinheimer, J. A. 2007. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. International Journal of Dairy Technology, 2: 123-127.
- [14] Mortazavian, A. M., Ghorbanipour, S., Mohammadifar, M. A. and Mohammadi, M. 2011. Biochemical Properties and Viable Probiotic Population of Yogurt at Different Bacterial Inoculation Rates and Incubation Temperatures. Philipp Agric Scientist, 2: 111-116.
- [15] Masoud, R.; Fadaei, V.; Khosravi-Darani, K. and Nikbakht, H. M. 2015. Improving the viability of probiotic bacteria in yoghurt by homogenization. Journal of Food Processing and Preservation. 39(6): 1-7.
- [16] ISIRI. 2006. Milk and Milk products. Determination of pH and acidity. ISIRI No 2852. Karaj, Iran. (In Persian)
- [17] Al-Kadamany, E., Khattar, M., Haddad, T. and Toufeili, I., 2003. Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physiological characterization during storage. Journal Dairy Science, 85:1023–1030.
- [18] Meilgaard, M., Civille, G. V. and Carr, B. T. 2006. Sensory Evaluation Techniques. New York: CRC Press. 453.
- [19] Cho, W. Y., Kim, D. H., Lee, H. J., Yeon, S. J. and Lee, C. H. 2020. Quality characteristic and antioxidant activity of yogurt containing olive leaf hot water extract. CyTA – Journal of Food, 18 (1): 43-50.
- [20] Jeong, C. H., Ryu, H., Zhang, T., Lee, C.H., Seo, H. G. and Han, S. G. ۲۰۱۸. Green tea
- [1] Tamime, A. Y. 2006. Probiotic Dairy Products. Tamime, A.Y., Saarela, M., Korslund, S., Mistry, V. V. and Shah, N. P. Production and Maintenance of Viability of Probiotic Micro-organisms in Dairy Product. Wiley-Blackwell Publishing, 39-63.
- [2] Raikos, V. 2010. Effect of heat treatment on milk protein functionality at emulsion interfaces. Food Hydrocolloids, 24: 259-265.
- [3] Temesgen, M. 2015. Effect of Application of Stabilizers on Gelation and Syneresis in Yoghurt. Food Science and Quality Management, 37: 90-102.
- [4] Pourahmad, R. and Fadaei, V. 2007. Milk processing: improving quality. Tehran: Marz-e-Danesh, Vol 1. 230-233; 196-206. (In Persian)
- [5] Troise, A.D. 2019. Maillard Reaction and Food Safety. In: Ferranti, P., Berry, E.M. and Anderson, J.R. (Eds.). Encyclopedia of Food Security and Sustainability. Elsevier, Vol. 2. 364–369.
- [6] Bertrand, E., El Boustany, P., Faulds, C.B. and Berdagué, J-L. 2018. The Maillard Reaction in Food: An Introduction. Reference Module in Food Science. Elsevier, 1–10.
- [7] Nunes, L., Martins, E., Tuler Perrone, I. and Fernandes de Carvalho, A. 2019. The Maillard Reaction in Powdered Infant Formula. Journal of Food and Nutrition Research, 7 (1): 33-40.
- [8] Pourahmad, R. and Fadaei V. 2009. Dairy industry 1. Varamin: Islamic Azad University, Varamin-Pishva Branch, 137-140; 88. (In Persian)
- [9] Dave, R. and Shah, N. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commerical starter cultures. International Dairy Journal, 7: 31-41.
- [10] Shah, N. P. 2000. Symposium: probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science, 83: 894-907.
- [11] Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Reinheimer, J. A.,

- National Congress of Food Industry. Orumiyeh. (In Persian)
- [31] Bulut, M., Tunceturk, Y. and Alwazeer, D. 2019. The Role of Redox Potential on Aroma Components of Yoghurt. Uluslararası GAP Trimm Ve Hayvancılık Kongresi. 25 - 27 Nisan Şanlıurfa.
- [32] Liu, C. G., Jin-Cheng Qin, J. C. and Lin, Y. H. 2017. Fermentation and Redox Potential. <https://www.researchgate.net/publication/313542677>.
- [33] Dini, A., Razavi, SH. and Mousavi, SM. 2013. Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doogh. Journal of Food Industry Researches. 23 (3): 367-380. (In Persian)
- [34] Barrantes, E., Tamime, A. Y., Sword, A. M., Muir, D. D. and Kalab, M. 1996. The manufacture of set-type natural yoghurt containing different oils. Rheological properties and microstructure. Dairy Journal, 6: 827-837.
- [35] La Torre, L., Tamime, A. Y. and Muir, D. D. 2003. Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter culture. International Journal of Dairy Technology, 56: 163-170.
- [36] Guler-Akin, M. B. and Serdar Akin, M. 2005. Effect of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yoghurt made from goat's milk. Food Chemistry, 100: 788-793.
- [37] Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 39: 1221-1227.
- [38] Mumtaz, S., Rehman, S. U., Huma, N., Jamil, A. and Nawaz, H. 2008. Xylooligosaccharide enriched yoghurt: physicochemical and sensory evaluation. Pakistan Journal of Nutrition, 7(4): 566-569.
- [39] Souza, C. H. B. and Saad, S. M. I. 2009. Viability of *Lactobacillus acidophilus* La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt starter culture and implications on physicochemical and related properties on minas fresh cheese during storage. LWT- Food Science and Technology, 42: 633-640.
- powder supplementation enhances fermentation and antioxidant activity of set-type yogurt. Food Science and Biotechnology, 27 (5): 1419-1427.
- [21] Tarakci, Z. 2010. Influence of Kiwi marmalade on the Rheology characteristics, color values and sensorial acceptability of fruit yogurt. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 16 (2): 173-178.
- [22] Bakirci, I. and Kavaz, A. 2008. An investigation of some properties of banana yogurts made with commercial ABT-2 starter culture during storage. International Journal of Dairy Technology, 61(3): 270-276.
- [23] Walstra, P., Wouters, J. and Geurts, T. 2006. Dairy Science and Technology. New York: CRC Press.
- [24] Beheshtipour, H., Mortazavian, A. M., Mohammadi, R., Sohrabvandi, S. and Khosravi-darani, K. 2013. Supplementation of spirulina pelatensis and chlorella vulgaris algea into probiotic fermented milks comprehensive. Reviews in Food Safety, 12: 144-154.
- [25] Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 2007. Yoghurt Science and Technology. Boca Raton: CRC Press. 791.
- [26] Zamberlin, Š., Mio, Q. B. and Samaržija, D. 2011. Influence of yoghurt cultures on some chemical parameters of sheep's milk yoghurt during storage. In Proceedings. 46th Croatian and 6th International Symposium on Agriculture Opatija. Croatia, 908-911.
- [27] Bano, P., Abdullah, M., Nadeem, M. and Babar, M. E. 2011. Preparation of functional yoghurt from sheep and goat milk blends. Pakistan Journal of Agriculture Science, 48 (3): 211-215.
- [28] Papastoyiannidis, G., Polychroniadou, A. and Michaelidou, A. M. 2006. Alichanidis E. Fermented milks fortified with B-group vitamins: vitamin stability and effect on resulting products. Food Science and Technology International, 12: 521–529.
- [29] Salwa, A. A., Galal, E. A. and Elwa, N. A. 2004. Carrot yoghurt: sensory, chemical, microbiological properties and consumer acceptance. Pakistan Journal of Nutrition, 3: 322-330.
- [30] Vahedi, N. and Mazaheri-Tehrani, M. 2007. Optimazation of fruit yogurt formulation and investigating it quality during storage time. 17<sup>th</sup>

- [50] Modler, H. W. and Villa-Garcia, L. 1993. The growth of *bifidobacterium longom* in whey-based medium and viability of this organism in frozen yogurt with low and high levels of developed acidity. Cultured Dairy products Journal, 4-8.
- [51] Samona, A. and Robinson, R. K. 1994. Effect of yoghurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. Journal of the Society of Dairy Technology, 47: 58-60.
- [52] Smaczna, T. and Reinartz, M. T. 1982. Yoghurt, bioghurt, and biogarde products, a comparison from microbiological and nutritional points of view. Verbraucherdiest, 27(11): 255-258.
- [53] Voosogh, A. S., Khomeiri, M., Kashani Nejad, M. and Jafari, S. M. 2009. Survival of *Bifidobacterium lactis* and *Lactobacillus acidophilus* in Iranian doogh flavored by ziziphora extract. JFST. 6 (4): 77-85. (In Persian)
- [54] Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. and Shah, N.P. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotic in yogurt during cold storage. International Dairy Journal, 16: 1181-1189.
- [55] Dave, R. I. and Shah, N. P. 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus*, *Lactobacillus delbrueckii* spp. *Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. Journal of Dairy Science, 79: 1529-1536.
- [56] Kailasapathy, K. and Rybka, S. 1997. *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.: their therapeutic potential and survival in yoghurt. Journal Dairy Technol, 52: 28-35.
- [57] Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 39: 1221-1227.
- [58] Dave, R. I. and Shah, N. P., 1997. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial produced by *Lactobacillus acidophilus* LA-5. International Dairy Journal, 10: 213-220.
- [59] Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Reinheimer, J. A., Emamdjomeh, Z., Sohrabvandi, S. and Rezaei, K. 2006. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment incubation [40] Izadi, Z., Garoosi, G., Nasirpour, A., Ahmadi, J. and Bahrami, B. 2011. Optimization of producing enriched yogurt with phytosterols in order to reducing cholesterol content. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 7 (2), 156-163. (In Persian)
- [41] Ghorbani, A., Pourahmad, R., Fallahpour, M. and Mazaheri-asadi, M. 2014. Investigating Phisycico-chemical, reological and microbial properties of probiotic soy yogurt during 21-day storage. Foods Technology and Nutrition. 11 (1): 43-49. (In Persian)
- [42] Jozve-Zargarabadi, E., Fadaei, V. and Fallah Huseini., H. 2020. Viability of Starter Bacteria and Anti-Oxidative Activity of a Functional Yogurt Containing *Silybum marianum* Seed Extract. Applied Food Biotechnology, 7 (3):135-142.
- [43] Mortazavian, A. and Sohrabvandi, S. 2004. Probiotic and probiotic food products. Tehran: Ata, 486. (In Persian)
- [44] Martensson, O., Oste, R. and Holst, O. 2002. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based non-dairy products. Food Research International, 35:775-784.
- [45] Vinderola, C. G., Bailo, N. and Reinheimer, J. A. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurt during refrigerated storage. Food Research International, 33: 97-102.
- [46] Medina, L. M. and Jorjdano, R. 1994. Survival of constitutive microflora in commercially fermented milk containing bifidobacteria during refrigerated storage. Journal of Food Protection, 56(8), 731-733.
- [47] Kashket, E. R. 1987. Bio-energetics of lactic acid bacteria: cyto-plasmic pH and osmotolerance. FEMS Microbiology Reviews, 46-233.
- [48] Hamilton-miller, J. M. T., Shah, S. and Winkler, J. T. 1999. Public health issues arising from microbiological and labeling quality of foods and supplements containing probiotic microorganisms. Public Health and Nutrition, 2(2): 223-229.
- [49] Klaver, F. A. M., Kingma, F. and weerkamp, A.H. 1993. Growth and survival of bifidobacterianin milk. Netherland Milk Dairy Journal, 47: 151-164.

- Review article. International Dairy Journal, 7: 1-11.
- [62] Shihata, A. and Shah, N. P. 2000. Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria. International Dairy Journal, 10: 401-408.
- [63] Cinbas, A. and Yazici F. 2008. Effect of addition of blueberries on selected physicochemical and sensory properties of yoghurts. Food Technology and Biotechnology, 46(4): 434-441.
- temperature on the viability if the probiotic microorganisms in freshly made yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 59: 8-11.
- [60] Dini, A., Razavi, SH. and Mousavi, SM. 2013. Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doog. Food Technology Research Journal, 3: 367-379. (In Persian)
- [61] Law, J. and Haandrikman, A. 1997. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria.

**Iranian Journal of Food Science and Technology**



Homepage:[www.fsct.modares.ir](http://www.fsct.modares.ir)

**Scientific Research**

**Comparative investigating the effect of pasteurization and sterilization processes on survival of probiotic bacteria and redox potential of probiotic set-type yoghurt**

**Jafari-Najafabadi, F.<sup>1</sup>, Fadaei-Noghani, V.<sup>2\*</sup>**

1. MSc Graduated from Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Associated professor, Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

**ARTICLE INFO**

**ABSTRACT**

**Article History:**

Received 25 July 2020

Accepted 24 November 2020

**Keywords:**

Probiotic yogurt,  
Pasteurization,  
Sterilization,  
Redox potential,  
Viability.

**DOI:** [10.52547/fsct.18.03.12](https://doi.org/10.52547/fsct.18.03.12)

\*Corresponding Author E-Mail:  
[Vn.fadaei@gmail.com](mailto:Vn.fadaei@gmail.com).

In this research, the effect of different thermal processes of milk, pasteurization (63°C for 30 min, 74°C for 15 s, 95°C for 5 min) and sterilization (120°C for 15 min and 140°C for 2-4 s), on the selective physicochemical, sensory and microbial properties of probiotic yoghurt was investigated during cold storage for 21 days. Results showed that during storage time, syneresis decreased and acidity and redox potential increased ( $p<0.01$ ). By increasing the severity of thermal processing, the decline in syneresis and redox potential ( $p<0.01$ ) and the increase in acidity and viability of *Lactobacillus acidophilus* ( $p<0.05$ ) and *Bifidobacterium lactis* was observed ( $p>0.05$ ). Finally, regarding to the highest sensory evaluation and probiotic bacteria viability, the yoghurt sample produced from milk treated at 140°C for 2-4 s was selected as the best sample.