بررسی اثر فعالیت پروتئولیتیکی و تولید اگزوپلی‌ساکارید توسط آغازگرهای بومی بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست‌های تولیدی

الهه امانی[۱]، محمد هادی اسکندری[۲*]، سید شهرام شکرفروش[۳]، محمد امین حنیف‌پور[۴]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، شیراز
۲- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز
۳- استاد بخش بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز
٤- شرکت شیر پاستوریزه پگاه فارس، شیراز

(تاریخ دریافت: ۹٤/۱/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹٤/۸/۲٤)

چکیده

یکی از مهم‌ترین ارکان در تولید ماست، انتخاب آغازگر مناسب است، از این رو شناسایی، حفظ و کاربرد آغازگرهای بومی در صنعت دارای اهمیت بسیاری می‌باشد. در این پژوهش به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی و ارگانولپتیکی ماست‌های تولید شده توسط آغازگرهای جدا شده از ماست‌های بومی ایران پرداخته شده است. یازده نمونه ماست با انتخاب ۵ جدایه لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و دو جدایه استرپتوکوکوس ترموفیلوس تولید شد. بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی نشان داد که تفاوت قابل ملاحظه‌ای در قدرت تولید اسید جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی-ساکارید (EPS) و جدایه‌هایی که تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید نبودند (NEPS) وجود نداشته است. همچنین جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا (جدایه‌های استفاده شده در نمونه‌های H و I که فعالیت پروتئولیتیکی طی ۲۸ روز نگهداری به ۱ واحد می‌رسد) توانایی تولید اسید کمتری داشته اند و زنده مانی این جدایه‌ها طی دوره نگهداری نیز بیشتر از جدایه‌های دیگر بوده است. نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید، خصوصیات بافتی (قوام، آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب) بهتری نسبت به نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای NEPS نشان دادند. البته در نمونه‌های H و I به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا و نوع اگزوپلی‌ساکارید تولید شده خصوصیات بافتی مطلوبیت کم‌تری داشتند. آب اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری کاهش و ظرفیت نگهداری آب افزایش یافت. ولی روند سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های E، H و I تا روز ۲۱ مشابه نمونه‌های دیگر بوده است و در هفته چهارم روند تغییرات عوض شده و میزان سینرزیس افزایش و ظرفیت نگهداری کاهش یافته است.

کلید واژگان: آغازگر بومی، اگزوپلی‌ساکارید، بافت، فعالیت پروتئولیتیکی

* مسئول مکاتبات: eskandar@shirazu.ac.ir

۱- مقدمه

ماست پرمصرف‌ترین فراورده تخمیری شیر در جهان است که توسط باکتری‌های لاکتیک اسید هموفرمنتاتیو[1] (استرپتوکوکوس ترموفیلوس[2] و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس[3]) تولید می‌شود [۱]. دلیل محبوبیت ماست طبیعی بودن، ویژگی ارگانولپتیکی (مزه ترش، عطر و طعم)، خواص تغذیه‌ای، درمانی و هزینه متوسط تولید (به دلیل تولید بالا) می‌باشد [۲]. در تولید ماست یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موثر بر کیفیت محصول نهایی نوع آغازگر مورد استفاده می‌باشد. مهم ترین ویژگی‌های آغازگرهای ماست شامل پروفایل اسیدی (سرعت اسیدی کردن، پس اسیدی شدن)، عطر و طعم (فعالیت پروتئولیتیکی و تولید استالدهید)، بافت (تولید اگزوپلی‌ساکارید، آب اندازی و سفتی ژل) و ویژگی‌های دیگر (مقاوت به فاژ، ویژگی‌های رئولوژیکی) می‌باشد [۳]. روابط زیستی میان باکتری‌های آغازگر به صورت تقویت‌کنندگی زیستی و پادیاری زیستی می‌باشد. در حالت نخست رشد هر باکتری زمینه‌ساز و تشدیدکننده رشد و یا فعالیت باکتری و یا باکتری‌های دیگر است، حال آن‌که در حالت دوم باکتری‌های آغازگر اثر بازدارندگی بر رشد و یا فعالیت یکدیگر دارند [٤]. سلیک[4] در سال (۲۰۰۷) به بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی و ارگانولپتیکی ماست‌های تولید شده توسط جدایه‌های بومی پرداختند. نتایج نشان داد که ٤ جدایه استرپتوکوکوس ترموفیلوس و ٤ جدایه لاکتوباسیلوس دلبرکی زیرگونه بولگاریکوس توانایی استفاده به عنوان آغازگر در صنعت لبنیات را دارا می‌باشند [۵].

ویژگی‌های تکنولوژیکی مانند فعالیت پروتئولیتیکی تاثیر زیادی بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصول نهایی دارد. پروتئولیز بیش از حد طی گرمخانه‌گذاری باعث افزایش آب اندازی در محصول می‌شود. همچنین افزایش آمینو اسید باعث ایجاد عطر نامطلوب شده که باعث کاهش مقبولیت توسط مصرف‌کنندگان می‌شود [٦]. یکی دیگر از خصوصیات تکنولوژیکی تولید اگزوپلی‌ساکارید است. در صنعت تولید ماست معمولا از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید برای جایگزینی پایدارکننده‌های طبیعی برای کاهش آب اندازی و بهبود ویسکوزیته و بافت استفاده می‌شود. بعضی از محققین بیان داشتند که ماست‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید (EPS)[5] نسبت به آغازگرهایی که تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید نبودند (NEPS)[6] ویسکوزیته بالاتر و آب اندازی کمتری داشتند [۷]. در ایران، سالیان دراز است که تولید و مصرف محصولات لبنی سنتی رواج دارد. این محصولات دارای عطر و طعم مطلوب و بافت مناسبی می‌باشند و با ذائقه مردم ایران سازگار هستند. اما تا کنون پژوهش جامعی که در آن سویه‌های آغازگر غالب در ماست های بومی ایران شناسایی شوند و سپس ویژگی‌های تکنولوژیک و ارگانولپتیک ماست‌های تولیدی از آن‌ها ارزیابی شوند، صورت نگرفته است. از این رو، در این پژوهش به ارزیابی توانایی استفاده از آغازگرهای بومی برای استفاده در صنعت و همچنین بررسی ویژگی‌های تکنولوژیکی این آغازگرها و تاثیر آن‌ها بر یکدیگر و خصوصیات فیزیکوشیمیایی ماست‌های تولیدی پرداخته شده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد نیاز

آگار (ساخت شرکت مرک آلمان)، محیط‌های ام-۱۷- آگار[7] و ام آر اس- آگار[8] (مرک آلمان)، پودر شیر خشک بدون چربی، شیر خشک پرچرب، پودر خامه (تهیه شده از کارخانه پگاه فارس، ایران)، فنل فتالئین، تری کلرو استیک اسید، اتانول ۹۸ ٪، o- فتال دی آلدهید، اسیدکلریک، اسیدسولفوریک، بتامر-کاپتواتانول، سدیم‌تترابورات، سدیم‌دودسیل‌سولفات، سدیم هیدروکسید (همه موادتهیه شده از شرکت مرک آلمان).

1. Homofermentative
2. *Streptococcus thermophilus*
3. *Lactobasillus delbruekii subsp.bulgaricus*
4. Çelik

5.Exopolysaccharid
6. Non-Exopolysaccharid
7. M17 agar
8. MRS agar

۲-۲- انتخاب جدایه‌ها

انتخاب آغازگرها از بین جدایه‌های مختلف لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس (Lb) و استرپتوکوکوس ترموفیلوس (St) جدا شده از ماست‌های بومی مناطق مختلف ایران در دانشگاه شیراز، دانشکده کشاورزی، بخش علوم و صنایع غذایی در سال ۱۳۹۰ انجام شده است [۸]. انتخاب این جدایه‌ها بر اساس اطلاعات بدست آمده از نتایج آزمایشات فنوتیپی و ژنوتیپی انجام شده بر روی آن‌ها صورت گرفته است. در این پژوهش ترکیبی از جدایه ها استفاده شد، کد و ویژگی‌های مربوط به هر ترکیب در جدول ۱ نشان داده شده است، سپس ارزیابی‌های مورد نظر انجام شد.

جدول ۱ کد مربوط به ترکیب جدایه‌های انتخاب شده

ردیف	ترکیب آغازگرها	ویژگی‌های آغازگرها
A[b]	کنترل	Lb (EPS), St (EPS)
B	۸۸s[a],۳w[a]	Lb (EPS), St (NEPS)
C	۸۸s,۵	Lb (EPS), St (NEPS)
D	۹۶,۳w	Lb (EPS), St (NEPS)
E	۹۶,۵	Lb (EPS), St (NEPS)
F	۱۰۵,۳w	Lb (NEPS), St (NEPS)
G	۱۰۵,۵	Lb (NEPS), St (NEPS)
H	۱۱۰p,۳w	Lb (EPS), St (NEPS)
I	۱۱۰p,۵	Lb (EPS), St (NEPS)
J	۱۲۲,۳w	Lb (EPS), St (NEPS)
K	۱۲۲,۵	Lb (EPS), St (NEPS)

a شماره جدایه بومی

b کد مربوط به ترکیب آغازگرها

۲-۳- تهیه آغازگر میکروبی

باکتری‌های جدا شده از ماست‌های بومی ایران در فریزر با دمای ۸۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور تهیه آغازگر برای تلقیح به شیر، بعد از انتخاب جدایه‌ها باید از آن‌ها کشت تازه تهیه شود. بدین منظور لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس در محیط کشت ام آر اس- آگار تحت شرایط بی‌هوازی به مدت ٤٨ ساعت در ۳۷ °C و استرپتوکوکوس ترموفیلوس در محیط کشت ام ۱۷- آگار تحت شرایط هوازی به مدت ٤٨ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس کشت داده شدند. سپس آغازگرها به ۱۰ میلی لیتر محیط کشت ام آر اس- مایع[1] برای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و ام ۱۷- مایع[2] برای استرپتوکوکوس ترموفیلوس تلقیح و به مدت ١٦ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند [۹]. سپس ۱۰ میلی لیتر از محیط کشت حاوی آغازگرهای رشد کرده به ۹۰ میلی لیتر محیط کشت تازه افزوده و به مدت ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. تعداد هر یک از باکتری‌های آغازگر در مایه تلقیح CFU/ml 10^8 در نظر گرفته شد. سپس سانتریفیوژ انجام شده (g × ۱۰۰۰۰، ٤ °C ، ۲۰ دقیقه) (فرویلابو، مدل SW١٤R، ساخت کشور فرانسه) و سلول های ته نشین شده با آب مقطر استریل سه بار شستشو داده و به شیر تلقیح شد [۱۰]. نمونه کنترل توسط آغازگر صنعتی ساکو ٤٨٠ تولید شد، که در آن هر دو آغازگر دارای توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید می‌باشند.

۲-٤- تهیه ماست

. به منظور تهیه شیر برای تولید ماست از شیر باز سازی استفاده شده که حاوی ماده خشک کل بین ١٤-١٢٪ و چربی۲ – ۱/۵ ٪ بود. به این منظور شیر خشک کم چرب حاوی ۰/۱٪ درصد چربی، پروتئین ۲۵/٦۷٪، ماده جامد کل ۹۵/۵٪، اسیدیته ۷/۵ درجه دورنیک با پودر خامه حاوی ۵۷٪ چربی مخلوط کرده تا به محتوای چربی و ماده جامد مورد نظر رسانده شد. سپس شیر بازسازی شده هموژن شد و به منظور هیدراته شدن ۱۰ ساعت در سردخانه ٤ درجه سلسیوس قرار داده شد [۱۱]. برای آماده سازی شیر برای تهیه ماست بعد از هیدراته شدن شیر مرحله تیمار حرارتی (دمای ۹۰ درجه سلسیوس) انجام شده و سپس تا درجه حرارت ٤۵ درجه سلسیوس سرد شده تا آغازگرها افزوده شوند. سپس در ظروف ۱۰۰ گرمی بسته بندی و در درجه حرارت ٤۲ درجه سلسیوس تا رسیدن به pH= ٤/٦ گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از رسیدن به pH=٤/٦ سریعا تا درجه حرارت ٤ درجه سلسیوس به منظور کاهش فعالیت آغازگرها و تولید اسید سرد شدند [۱۲].

1. MRS- broth
2. M17- broth

۲-۵- اندازه گیری pH

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر (اوهاوس، مدل استارتر ۳۰۰۰، ساخت کشور امریکا) اندازه‌گیری شد. به منظور بررسی سرعت تولید اسید توسط هر کدام از نمونه‌ها، pH هر یک ساعت طی زمان گرمخانه‌گذاری اندازه گرفته شد [۱۱].

۲-۶- آزمون پس‌اسیدی شدن و اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون

pH توسط pH متر پس از ۱، ۷، ۱٤، ۲۱ و ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس اندازه گیری شد [۱۳] همچنین اسیدیته قابل تیتراسیون بر اساس درجه دورنیک با استفاده از سود ۰/۱ نرمال و فنل فتالئین به عنوان نشانگر اندازه گیری شد [۱٤].

۲-۷- آزمون میکروبی

بررسی تعداد آغازگرها طی زمان نگهداری مطابق با روش IDF, 1997, 2003 به روش پور پلیت انجام شد و نتایج به صورت لگاریتم تعداد آغازگرها در هر میلی لیتر (log CFU/mL) در روزهای ۱، ۷، ۱٤، ۲۱ و ۲۸ بیان شد [۱۵، ۱٦].

۲-۸- اندازه‌گیری فعالیت پروتئولیتیکی

فعالیت پروتئولیتیکی نمونه‌ها بر اساس میزان اسید آمینه آزاد تولید شده طی زمان نگهداری اندازه گیری شد. ابتدا مقداری نمونه را سانتریفیوژ کرده (g × ٤۰۰۰، ٤ درجه سلسیوس، ۳۰ دقیقه) سپس مایع رویی (فیلتر ۰/٤۵ میکرومتر) فیلتر شد. نمونه‌ها می‌توانند به مدت ۲-۱ هفته در درجه حرارت ۲۰- درجه سلسیوس تا زمان آزمایش نگهداری شوند. هنگام بررسی جذب و اندازه‌گیری میزان فعالیت پروتئولیتیکی ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه با ۳ میلی لیتر معرف o- فتال دی آلدهید (این معرف با افزودن ۲۵ میلی لیتر از محلول ۱۰۰ میلی مولار سدیم تترا بورات، ۲/۵ میلی لیتر از محلول سدیم دودسیل سولفات (wt/wt) ۲۰ ٪، ٤۰ میلی گرم O- فتال دی آلدهید (حل شده در ۱ میلی لیتر متانول)، ۱۰۰ میکرولیتر بتامرکاپتواتانول تهیه شده و با آب به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد) مخلوط شد .سپس به مدت ۵ ثانیه هم‌زده شده و پس از ۲ دقیقه گرمخانه-گذاری در درجه حرارت اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۳٤۰ nm جذب اندازه‌گیری شد. جذب خوانده شده نشان‌دهنده میزان آمینو اسید آزاد شده است که بیانگر فعالیت پروتئولیتیکی طی زمان گرمخانه‌گذاری و نگهداری می‌باشد به منظور تهیه نمونه شاهد pH شیر تلقیح شده قبل از گرمخانه‌گذاری با استفاده از استیک اسید گلاسیال به ٤/۵ رسانده و سانتریفیوژ شده (g× ٤۰۰۰، ٤ درجه سلسیوس، ۳۰ دقیقه) در نهایت مایع رویی فیلتر شد (۰/٤۵ میکرومتر). مایع فیلتر شده را نیز می‌توان تا زمان آزمون به مدت ۲ -۱ هفته در درجه حرارت ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری کرد [۱۷].

۲-۹- اندازه‌گیری اگزوپلی‌ساکارید (EPS) تولید شده توسط جدایه‌ها

۵۰ گرم نمونه سانتریفیوژ شد (g × ۱۱۰۰۰، به مدت ۱۰ دقیقه، ٤ درجه سلسیوس)، سپس مایع رویی (حاوی EPS) جمع و با ۲ حجم اتانول سرد ۹۸٪ مخلوط و در ٤ درجه سلسیوس به مدت ۲۰-۱۸ ساعت نگهداری شد تا EPS رسوب کند و سپس مجددا سانتریفیوژ (g × ۱۱۰۰۰، ٤درجه سلسیوس، ۱۵ دقیقه) انجام شده و ماده رسوب کرده با ۲۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد و ۵۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۸۰٪ نیز به آن اضافه شده و به مدت ۲۰-۱۸ ساعت در ٤ درجه سلسیوس به منظور رسوب پروتئین قرار داده شد. سپس سانتریفیوژ (g× ۲۰۰۰، به مدت ۱۵ دقیقه در ٤ درجه سلسیوس) انجام شده و EPS در مایع رویی با ۲ حجم اتانول مخلوط شده و در ٤ درجه سلسیوس به مدت ۲۰-۱۸ ساعت نگهداری شده تا EPS رسوب کند و سپس سانتریفیوژ انجام داده شد (g × ۲۰۰۰، به مدت ۱۵ دقیقه در ٤ درجه سلسیوس) و مراحل رسوب پروتئین و رسوب دوباره اگزوپلی‌ساکارید بار دیگر تکرار شد. اگزوپلی‌ساکارید در نهایت با سانتریفیوژ کردن (g× ۲۰۰۰، ٤ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه) به دست آمد و در آون تحت خلا با هوای گرم ۵۵ درجه سلسیوس خشک شده و در نهایت مقدار آن به صورت میلی گرم EPS در هر ۱۰۰ گرم ماست بیان شد [۱۷].

۲-۱۰- اندازه‌گیری میزان آب اندازی

برای انجام این آزمون طبق روش ماتوموتو-پینترو[1] و همکاران در سال (۲۰۱۱) از روش سانتریفوژی استفاده شد [۱۸].

۲-۱۱- اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب

۲۵ گرم نمونه مخلوط شیر حاوی آغازگر قبل از گرمخانه-گذاری در لوله سانتریفیوژ ریخته و بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شد، و در روزهای ۱، ۷، ١٤، ۲۱، ۲۸ پس از نگهداری به منظور بررسی میزان ظرفیت نگهداری آب سانتریفیوژ انجام شد (g × ۳۰۰۰، ۱۰ دقیقه، ٤ درجه سلسیوس). سپس مایع رویی را وزن کرده و بر وزن اولیه نمونه تقسیم و نتایج به صورت درصد بیان شدند [۱۹].

۲-۱۲- آزمون بافت

بررسی بافت نمونه با استفاده از روش توصیه شده توسط اسپریتوسانتو و همکاران در سال (۲۰۱۲) با کمی اصلاحات انجام شد. این آزمون با استفاده از دستگاه تجزیه نیمرخ بافت[2] (TA-XT) انجام شد. ۸۰ گرم نمونه را با استفاده از پروب سیلندری شکل (قطر ۳۸ میلی‌متر) با دو سرعت ۲ mm/s (قبل از تست) ۲ mm/s (تست) و ۱۰ میلی متر عمق نفوذ مورد ارزیابی قرار داده شد. با استفاده از نتایج بدست آمده قوام نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۰].

۲-۱۳- آزمون خصوصیات حسی

آزمون حسی توسط روش توصیه شده توسط بیار و همکاران در سال (۲۰۱۱) با کمی تغییرات انجام شد. با انتخاب ۱۰ ارزیاب آزموده بر اساس سن (۵۰ -۲۲ سال)، جنس (۵۰ ٪ زن و ۵۰ ٪ مرد) میزان مصرف ماست (حداقل یک بار در هفته) انجام شد. قبل از تست از آلرژی نداشتن ارزیاب‌ها نسبت به شیر و محصولات تخمیری اطمینان حاصل شد. امتیازبندی در گستره ۱ (خیلی بد) و ۹ (بسیار عالی) انجام می‌شود و نمونه - ها بر اساس طعم و مزه، عطر و رایحه، رنگ و ظاهر، بافت و دریافت کلی بعد از ۷ نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفتند [۲۱].

۲-۱٤- آنالیز آماری

به منظور آنالیز آماری داده‌ها و بررسی اطلاعات به دست آمده از آزمایش‌های مختلف، از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. آزمون‌ها به صورت عمده در سه تکرار انجام شده و سپس میانگین و انحراف معیار بدست آمد. به منظور تعیین اختلاف بین میانگین اعداد (سه تکرار هر آزمایش)، پس از آنالیز واریانس از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. در تمام مراحل، تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹ صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی روند تغییرات pH و اسیدیته طی ۲۸ روز نگهداری

نتایج مربوط به تغییرات pH و اسیدیته قابل تیتراسیون (بر اساس درجه دورنیک) طی دوره نگهداری در جدول ۲ نشان داده شده است. در همه نمونه‌های تولید شده توسط آغازگر-های بومی pH تا ٤/۳۸-٤/۰۷ کاهش و اسیدیته تا ۱۲٦ -۱۰۹ درجه دورنیک افزایش یافته است. در نمونه‌های B، C، J و K که حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید می‌باشند قدرت تولید اسید همانند نمونه‌های F و G (تولید شده با استفاده از آغازگر NEPS) بوده است. در این پژوهش فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولید کننده EPS و جدایه‌های NEPS مشابه بوده که می‌تواند دلیلی برای یکسان بودن توانایی تولید اسید این جدایه‌ها نیز باشد. آماتایکول[3] و همکاران در سال (۲۰۰٦) بیان داشتند که جدایه‌های تولیدکننده روپی اگزوپلی‌ساکارید قدرت تولید اسید بیشتری نشان داده‌اند [۲۱]. ولی آزر[4] و آتاسوی در سال (۲۰۰۲) بیان داشتند که باکتری‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید اسیدیته را کم‌تر تغییر می‌دهند. به دلیل اینکه گلوکز و گالاکتوز تولید شده توسط این آغازگرها به جای آنکه صرف تولید لاکتیک اسید شوند برای

1. Matumoto-Pintro
2.Texture analyzer
3. Amatayakul
4. Özer

تولید ترکیبات پلی‌ساکاریدی استفاده می‌شوند [۲۲]. در این پژوهش همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های D، E، H و I توانایی تولید اسیدکم‌تری نسبت به نمونه‌های دیگر داشته‌اند. در این نمونه‌ها pH بعد از ۲۸ روز نگهداری به ترتیب به ٤/٣١، ٤/٢٨، ٤/٣٦ . ٣٨/٤ کاهش یافته و اسیدیته به ترتیب به ١٠٩/٣٥، ١١٠/٤٥، ١١٠/٢٥ و ١٠٩/٢٥ درجه دورنیک افزایش یافته است. در حالی‌که در نمونه‌های با فعالیت پروتئینی کم مانند نمونه‌های F و G بعد از ۲۸ روز نگهداری pH به ترتیب به ٤/٢٠ و ٤/٠٨ و اسیدیته به ١١٠/٢٥ و ١٠٩/٢٥ رسیده است. نمونه کنترل نیز توسط سویه‌های با فعالیت پرئوتئولیتیکی پائینی تهیه شده و قدرت تولید اسید پائینی نیز داشته است.

۳-۲- تغییرات تعداد آغازگرها طی نگهداری

نتایج مربوط به تعداد آغازگرها به صورت لگاریتمی در جدول ۳ نشان شده است. اگرچه استانداردهای متفاوتی برای تعداد آغازگرها در ماست وجود دارد ولی تعداد قابل قبول معمولا حداقل 10^7 CFU/g برای هر دو آغازگر می‌باشد[۲۳]. بیشترین کاهش طی ۲۸ روز نگهداری در تعداد آغازگرها مربوط به نمونه‌های B و D (حاوی آغازگر تولید کننده EPS و با فعالیت پروتئولیتیکی پائین) بوده است که تعداد استرپتوکوکوس‌ها به ترتیب به ٧/٨٠ و ٧/٨١ و تعداد لاکتوباسیلوس‌ها به ٨/٤٠ و ٧/٦٠ log CFU/mL کاهش یافته است. تعداد آغازگرها در نمونه‌هایی که با استفاده از جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا تولید شده‌اند (نمونه‌های D، E، H و I) بیشتر از نمونه‌های دیگر بوده است. در نمونه-های H و I که بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی را دارا بوده‌اند تعداد استرپتوکوکوس‌ها افزایش یافته و به log CFU/mL ٩/٢٧ در نمونه H و به log CFU/mL ٩/٢٩ در نمونه I رسیده است و تعداد لاکتوباسیلوس‌ها نیز تغییر معنی داری طی زمان نگهداری نشان نداده‌اند ($p > ٠/٠٥$). در واقع پروتئولیز طی گرمخانه‌گذاری و نگهداری باعث فراهم آوردن آمینو اسیدها و پپتیدهای مورد نیاز آغازگرها شده و در نتیجه باعث افزایش زنده‌مانی آن‌ها در محصول می‌شود [۱۷]. همچنین می-توان زنده مانی بیشتر این آغازگرها نسبت به نمونه‌های دیگر را به تولید اسید کم‌تر طی زمان نگهداری توسط آن‌ها مربوط دانست. تفاوتی در تعداد آغازگرها در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید و نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای NEPS مشاهده نشد. همچنین تعداد استرپتوکوکوس‌ها بالاتر از لاکتوباسیلوس‌ها بوده است که با نتایج محققان دیگر نیز مطابقت دارد [۲۳]. ولی پژوهش بیرولو[1] و همکاران در سال (۲۰۰۰) نشان داد که تعداد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در ماست بالاتر از استرپتوکوکوس ترموفیلوس بوده است [۲].

۳-۳- تغییرات پروتئولیز طی نگهداری

مطابق با نتایج نشان داده شده در جدول ٤ در تمامی نمونه‌ها پروتئولیز طی زمان نگهداری افزایش یافته است. این روند افزایشی طی دوره نگهداری با نتایج محققان پیشین نیز مطابقت داشته‌است [۱۷]. بیشترین فعالیت پروتئولیتیکی مربوط به نمونه‌های I و H بوده که به ۱ واحد در روز ۲۸ می‌رسد. همچنین نمونه کنترل از فعالیت پروتئولیتیکی کم‌تری نسبت به نمونه‌های دیگر برخوردار بوده است و به ۰/۲۹ واحد طی چهار هفته نگهداری می‌رسد. فعالیت پروتئولیتکی نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای بومی بین ۰/۸۹ -۰/۷۹ واحد طی ۲۸ روز نگهداری بوده است. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان داشت که فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولیدکننده (EPS) مشابه فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های NEPS بوده است. ولی رمچندران و شاه در سال (۲۰۱۰) بیان داشتند که فعالیت پروتئولیتیکی جدایه‌های تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید بیشتر می‌باشد [۱۷].

1. Birollo

جدول ۲ تغییرات pH و اسیدیته (درجه دورنیک) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

تیمار*	pH					اسیدیته				
	روز نگهداری					روز نگهداری				
	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸
A	٤/٥٨^{aA}±۰/۰۰	٤/٥۰^{aB}±۰/۰۰	٤/٤٦^{aC}±۰/۰۰	٤/٤٥^{aC}±۰/۰۰	٤/٤٥^{aC}±۰/۰۰	۸۳/۲٥^{aC}±۱/۱۸	۱۰۱/۲٥^{dB}±۱/۱۸	۱۰۸/۹۰^{dB}±۱/۳۷	۱۱۱/۱٥^{dA}±۰/٦۳	۱۱۱/۱٥^{eA}±۱/۹۰
B	٤/٥۳^{bcA}±۰/۰۲	٤/۲۹^{dB}±۰/۰۱	٤/۱۸^{dC}±۰/۰۲	٤/۱۷^{dC}±۰/۰۲	٤/۱٥^{dC}±۰/۰۰	۷۲/٤٥^{dD}±۰/٦۳	۱۰٤/٤۰^{cC}±۱/۳۷	۱۱۰/۲٥^{dB}±۱/۹۰	۱۱٦/۱۰^{cA}±۱/۳۷	۱۱۷/۱۰^{cdA}±۱/۳۷
C	٤/٥۰^{bcA}±۰/۰۲	٤/۲۳^{eB}±۰/۰۲	٤/۱۹^{dC}±۰/۰۰	٤/۱٥^{dD}±۰/۰۰	٤/۱۱^{dE}±۰/۰۰	۸۲/۳٥^{abD}±۱/۹۰	۱۰۷/۱^{abC}±۱/۳۷	۱۱٥/٦٥^{bcB}±۱/۹۰	۱۲۰/۱٥^{bA}±۰/٥۳	۱۲۱/۰٥^{bA}±۰/٦۳
D	٤/٥۱^{cA}±۰/۰۱	٤/۲۹^{bcB}±۰/۰۰	٤/۳٥^{bC}±۰/۰۰	٤/۳٥^{bC}±۰/۰۰	٤/۳۱^{bcD}±۰/۰۱	۷۸/۷٥^{cC}±۱/۱۸	۱۰۱/۲٥^{dB}±۱/۱۸	۱۰٦/٦٥^{dA}±۰/٦۳	۱۰۷/٥٥^{eA}±۰/٦۳	۱۰۹/۳٥^{fA}±۰/٦۳
E	٤/٥٦^{abA}±۰/۰۱	٤/٤۰^{bB}±۰/۰۲	٤/۳٤^{bBC}±۰/۰۱	٤/۳۸^{cD}±۰/۰۲	٤/۳۸^{cD}±۰/۰۱	۷٤/۲٥^{dD}±۰/۱۸	۱۰۳/٥۰^{cC}±۰/٦۳	۱۰۸/٤٥^{dB}±۰/٦۳	۱۱۰/٦٥^{dB}±۰/٦۳	۱۱٥/٤٥^{dA}±۰/٦۳
F	٤/٥۲^{bcA}±۰/۰۰	٤/۳٦^{cB}±۰/۰۱	٤/۲۹^{cC}±۰/۰۱	٤/۲٥^{cD}±۰/۰۰	٤/۲۰^{cE}±۰/۰۲	۸٤/٦۰^{aC}±۲/۰۹	۹۸/۱۰^{eB}±۱/۳۷	۱۱۱/۱٥^{cA}±۱/۹۰	۱۱٤/۳^{cA}±۱/۳۷	۱۱۷/۹۰^{dA}±۱/۲۷
G	٤/٥۱^{bcA}±۰/۰۰	٤/۳٤^{cB}±۰/۰۱	٤/۲۱^{cdC}±۰/۰۲	٤/۱٤^{dD}±۰/۰۳	٤/۰۸^{gE}±۰/۰۰	۸۰/٥٥^{bE}±۰/۱۹	۱۰۸/۹۰^{aD}±۱/۳۷	۱۱۳/۸٥^{cC}±۰/٦۳	۱۱٦/٥٥^{cB}±۰/٦۳	۱۲۰/۱٥^{bA}±۰/٦۳
H	٤/٥٤^{bcA}±۰/۰۱	٤/۳۹^{cB}±۰/۰۰	٤/۳۸^{bB}±۰/۰۰	٤/۳٦^{cB}±۰/۰۲	٤/۳٦^{bC}±۰/۰۱	۷٤/۲٥^{dC}±۱/۱۸	۹۸/۱۰^{eB}±۱/۳۷	۱۱۳/۲٥^{cA}±۱/۹۰	۱۱٤/۸٥^{cA}±۱/۲۸	۱۱۰/۲٥^{efA}±۰/٦۳
I	٤/٥٤^{abcA}±۰/۰٤	٤/٤٥^{abB}±۰/۰۰	٤/٤۲^{abC}±۰/۰۲	٤/٤۱^{aC}±۰/۰۱	٤/۳۸^{bC}±۰/۰۰	۷۱/۰۰^{eE}±۱/۰۰	۸۱/۰۰^{fD}±۱/٥۹	۹٦۷٥^{eC}±۰/۳۱	۱۰٥/۳۰^{eAB}±۱/۰۰	۱۰۹/۳٥^{fA}±۰/۹٥
J	٤/٥٥^{abcA}±۰/۰۱	٤/۳۳^{eB}±۰/۰۱	٤/۲۱^{cdC}±۰/۰۰	٤/۱٥^{dD}±۰/۰۰	٤/۱٤^{dD}±۰/۰۱	۸۱/٤٥^{abD}±۰/۸۳	۱۰۱/۲٥^{dC}±۱/۹۰	۱۰۸/۰۰^{dB}±۱/۰٥	۱۱٦/٥٥^{cA}±۰/٦۳	۱۲۰/٦۰^{bA}±۲/٥٤
K	٤/٥۳^{bcA}±۰/۰۰	٤/۳٦^{dB}±۰/۰۱	٤/۱۸^{dC}±۰/۰۱	٤/۰۸^{gC}±۰/۰۰	٤/۰۷^{gC}±۰/۰۰	۷۸/۷٥^{cC}±۱/۰۰	۱۰۸/۰۰^{aB}±۱/۱۰	۱۲۳/۷٥^{aA}±۰/٦۳	۱۲٤/۲۰^{aA}±۱/۰۰	۱۳٦/٤٥^{aA}±۱/۲۷

* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

– اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

– حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشند (p <۰/۰٥).

– حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشند (p <۰/۰٥).

جدول ۳ تغییرات تعداد آغازگرها طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

تیمار*	St					Lb				
	روز نگهداری					روز نگهداری				
	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸
A	۹/٥٥^{aA}±۰/۸٥	۹/۰۹^{abA}±۰/۱۹	۹۳/۸^{aA}±۰/۱۲	۸/۲۹^{dB}±۰/۲۱	۹۳/۷^{aA}±۰/٤۷	۹/٤٤^{abAB}±۰/٦۹	۹/۷٥^{aA}±۰/۳۲	۸/۳۱^{cC}±۰/۳۳	۸/٦۰^{cBC}±۰/۳٤	۷/۳۸^{dD}±۰/۱۲
B	۹/۲۸^{bA}±۰/۰۲	۹/۰۳^{abA}±۰/٤٦	۸/۸۲^{bcA}±۰/۳۱	۸/٦٤^{cdA}±۰/۳٦	۷/۸۰^{eB}±۰/۲۸	۹/۲۹^{bA}±۰/۰۲	۹/۰۸^{bA}±۰/۰۸	۸/۹۹^{bA}±۰/۲٥	۹۳٥^{aA}±۰/۲٤	۸/٤۰^{cB}±۰/۳٥
C	۸/٤٤^{dbA}±۰/٥٦	۷/۹۲^{cA}±۰/۱۰	۷/۹۲^{eA}±۰/۱٦	۸/۱٦^{eB}±۰/۰٥	۷/۸۱^{eA}±۰/۱۱	۹/۲۰^{bA}±۰/۰۷	۸/۹٦^{bcA}±۰/۲۹	۸/۹٦^{bA}±۰/۰٤	۸/۹۸^{abB}±۰/٤٥	۷/٦۰^{dB}±۰/٤۲
D	۹/۳۳^{bA}±۰/٥۱	۹/۰٤^{abA}±۰/۳۷	۹۳٤^{aA}±۰/۰٦	۸/۹۹^{bA}±۰/۱۲	۸/٤۲^{cdA}±۰/٥۹	۹/۱۸^{bA}±۰/۳٤	۹/۰۲^{bA}±۰/۰۳	۸/۹۰^{abA}±۰/۲٤	۸/۹۲^{abA}±۰/۰۳	۸/۹۷^{abA}±۰/۰۳
E	۸/٦٦^{dbA}±۰/۰۸	۸/٥۳^{bA}±۰/۰۸	۸/۱٥^{bA}±۰/۳۲	۸/٤۲^{dA}±۰/٤	۸/۲۳^{dB}±۰/۳۰	۸/٥٦^{cA}±۰/٤۷	۸/٥۰^{cA}±۰/۲۹	۸/٤٦^{bcA}±۰/۰۱	۹/۰۳^{abA}±۰/۰۳	۹/۰۱^{abA}±۰/۰۷
F	۸/۹۱^{dA}±۰/۰۳	۸/۸۲^{bA}±۰/۰۸	۸/۰۲^{eB}±۰/۰٥	۸/۷۰^{cAB}±۰/۱۰	۸/۸٦^{bcA}±۰/۳۹	۸/٦٦^{cA}±۰/۳۷	۸/٥۲^{cC}±۰/۲٥	۸/۹۱^{bB}±۰/۰٥	۸/۹۱^{abA}±۰/۰٥	۸/۸٦^{bcB}±۰/۰۱
G	۸/۳۷^{eAB}±۰/۳۲	۸/٦۰^{bA}±۰/٤۲	۸/٤٦^{cdAB}±۰/۰۲	۸/۸۸^{bcAB}±۰/۱٥	۷/۹۸^{deAB}±۰/۱٥	۸/٦٤^{bcA}±۰/۳٦	۸/۱٤^{bcA}±۰/٥۱	۸/۷۱^{bcA}±۰/۱٦	۸/٦٥^{cA}±۰/٦٤	۸/٦۲^{bcA}±۰/۳٦
H	۸/٤۰^{eB}±۰/۰٦	۹/۲٥^{dbA}±۰/۳۸	۹۳/۸^{aA}±۰/۲٤	۹/۲۰^{dbA}±۰/۲۲	۹/۲۲^{bA}±۰/۱۹	۹/٤۷^{dbA}±۰/۰۸	۹/۰٦^{bA}±۰/۰۲	۹/۳۸^{aA}±۰/۱۲	۹۳٦^{aA}±۰/۱۳	۹/۲۷^{aA}±۰/۲٤
I	۸/۹۱^{dB}±۰/۱۸	۹/٤٥^{aA}±۰/٤۲	۹۳٦^{aA}±۰/۰۲	۹/۳۳^{aA}±۰/۱۷	۹/۲۹^{bA}±۰/۱٦	۹/٥۹^{aA}±۰/٤٦	۹/٤۱^{dbA}±۰/٦۰	۸/۹۹^{bA}±۰/٤۳	۹/۰۸^{abA}±۰/۳۰	۹/۱۰^{aA}±۰/٤۹
J	۸/٦٦^{dB}±۰/۳٦	۸/٥۰^{bB}±۰/۲۸	۸/۱۹^{bA}±۰/۰۷	۹/۱٦^{dbA}±۰/۰٥	۸/٤۰^{cdB}±۰/۱٤	۹/۱۸^{bA}±۰/٤۸	۹/۰٦^{bA}±۰/۰۱	۸/۸۸^{bA}±۰/٤۰	۹/۰۸^{dbA}±۰/۳۰	۸/۷٤^{bcA}±۰/٤۹
K	۹/۱٦^{cA}±۰/٤۳	۸/٥۰^{bAB}±۰/۲۸	۸/۱۷^{dB}±۰/۱۰	۸/۷۸^{cAB}±۰/۱٦	۸/۹٥^{bA}±۰/۳٦	۸/۸۲^{bcA}±۰/۰۳	۸/۸۲^{bcA}±۰/۰٤	۸/٦٦^{bcA}±۰/۰٦	۸/۹٤^{dbA}±۰/۱٤	۸/۷۷^{bcA}±۰/۲٤

* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

– اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

– حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشند (p <۰/۰٥).

– حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشند (p <۰/۰٥).

جدول ٤ تغییرات پروتئولیز طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

تیمار*	روز نگهداری				
	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸
A	۰/۱۸^{eB}±۰/۰۱	۰/۲۷^{eA}±۰/۰٦	۰/۲۷^{fA}±۰/۰۱	۰/۲۸^{gA}±۰/۰۱	۰/۲۹^{eA}±۰/۰۹
B	۰/٤٤^{bD}±۰/۰۸	۰/۵۱^{bcC}±۰/۰۱	۰/۵۷^{eC}±۰/۰۱	۰/٦٤^{efB}±۰/۰۱	۰/۸۰^{cdA}±۰/۰۳
C	۰/۵۰^{aE}±۰/۰۱	۰/٦۰^{aD}±۰/۰۲	۰/۷۰^{bC}±۰/۰۹	۰/۷۷^{bcB}±۰/۰۱	۰/۸۱^{cA}±۰/۰۱
D	۰/۵۰^{aE}±۰/۰۱	۰/٦۰^{aD}±۰/۰۱	۰/٦۸^{bC}±۰/۰۱	۰/۷۸^{bB}±۰/۰۱	۰/۸۹^{bA}±۰/۰۱
E	۰/٤۸^{aE}±۰/۰۱	۰/۵٤^{bD}±۰/۰۱	۰/٦۳^{cC}±۰/۰۲	۰/۷۳^{cdB}±۰/۰۳	۰/۸۹^{bA}±۰/۰۲
F	۰/۳۳^{dE}±۰/۰۳	۰/٤۸^{cD}±۰/۰۲	۰/۵۹^{deC}±۰/۰۲	۰/٦۵^{eB}±۰/۰۲	۰/۸۰^{cdA}±۰/۰۱
G	۰/۳٤^{dE}±۰/۰۲	۰/۵۱^{bcD}±۰/۰۲	۰/٦۱^{cC}±۰/۰۲	۰/۷۳^{cdB}±۰/۰۲	۰/۸۱^{cA} ±۰/۰۵
H	۰/٤۳^{bE}±۰/۰۰	۰/۵۷^{abD}±۰/۰۲	۰/۷۵^{aC}±۰/۰۹	۰/۸۹^{aB}±۰/۰۲	۱/۰۰^{aA}±۰/۰٤
I	۰/٤۱^{bcE}±۰/۰۳	۰/۵۵^{bD}±۰/۰٤	۰/٦۹^{bC}±۰/۰٤	۰/۸۸^{aB}±۰/۰۳	۱/۰۰^{aA}±۰/۰٤
J	۰/۳۲^{dE}±۰/۰۱	۰/٤۳^{dD}±۰/۰۲	۰/٤۸^{eC}±۰/۰۱	۰/٦۱^{fB}±۰/۰۱	۰/۷۹^{dA}±۰/۰٤
K	۰/۳۷^{cE}±۰/۰۳	۰/۵۷^{abD}±۰/۰۳	۰/٦٤^{cC}±۰/۰۳	۰/۷۰^{dB}±۰/۰۳	۰/۸۰^{cdA}±۰/۰۳

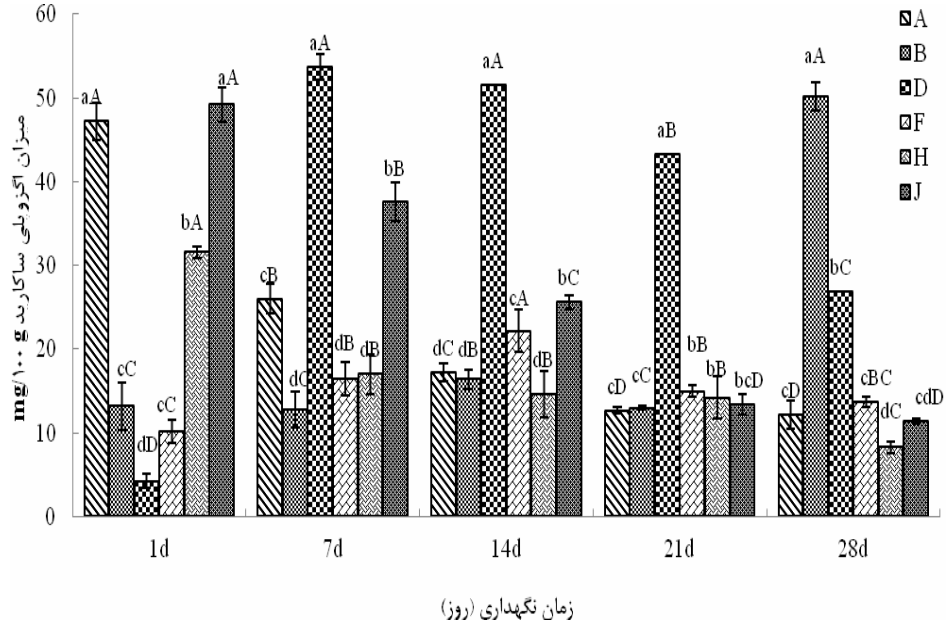
* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.
- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشند (p <۰/۰۵).
- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشند (p <۰/۰۵).

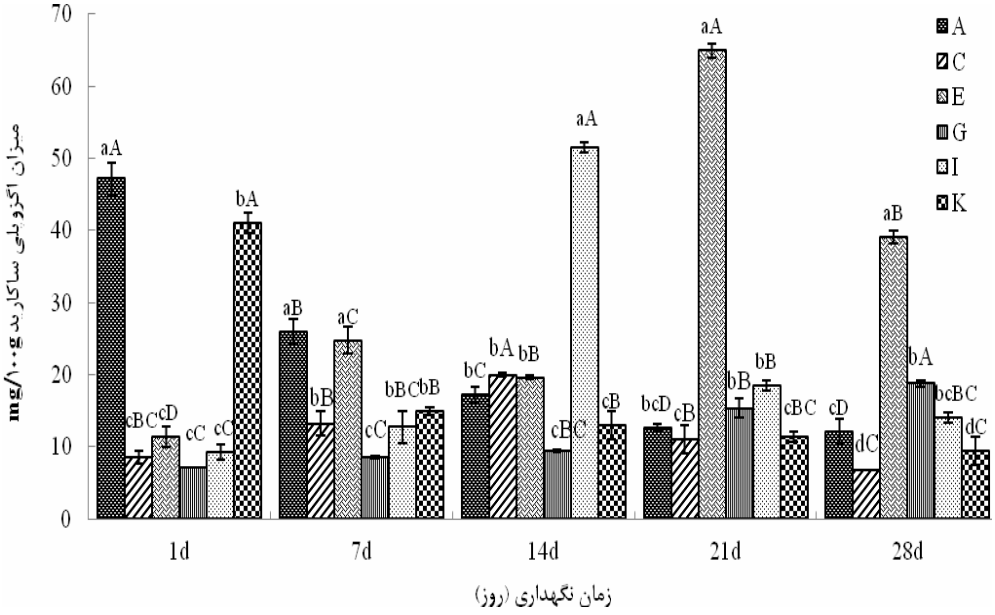
۳-٤- بررسی میزان اگزوپلی‌ساکارید تولید شده

مطابق نتایج بدست آمده در شکل‌های ۱ و ۲ توانایی تولید اگزوپلی‌ساکارید هر کدام از جدایه‌ها با یکدیگر متفاوت بوده و بین میزان اگزوپلی‌ساکارید تولید شده توسط هر کدام از جدایه‌ها طی دوره نگهداری اختلاف معنی‌داری وجود داشته است (p < ۰/۰۵). تولید اگزوپلی‌ساکارید در همه نمونه‌ها به جزء نمونه B (روند افزایشی: از ۱۳/۲۰ mg/۱۰۰g در روز اول به ۵۰/۲۰ mg/۱۰۰g در روز ۲۸ رسیده است) و نمونه-های H، K و کنترل (روند کاهشی) روند افزایشی و سپس کاهشی داشته است. نمونه E بیشترین میزان اگزوپلی‌ساکارید را در مقایسه با نمونه‌های دیگر تولید کرده و به ٦۵ mg/۱۰۰g تا روز ۲۱ رسیده و سپس کاهش می‌یابد. دلیل روند کاهشی تولید اگزوپلی‌ساکارید را اینگونه می‌توان بیان کرد که طی نگهداری بعد از تولید اگزوپلی‌ساکارید ممکن است آغازگره ا در محیط دچار کمبود مواد مغذی شوند بنابراین از اگزوپلی-ساکارید تولید شده در محیط با استفاده از آنزیم‌های تجزیه کننده اگزوپلی‌ساکارید به عنوان ماده مغذی و منبع انرژی استفاده می‌کنند. پژوهشگران دیگر نیز بیان داشتند که ابتدا روند افزایشی وسپس روند کاهشی در میزان اگزوپلی‌ساکارید طی زمان نگهداری مشاهده کرده‌اند [۲۵، ۱۷،۲٤]. پوروواندری[1] و همکاران در سال (۲۰۰۷) بیان داشتند که میزان اگزوپلی-ساکارید تولید شده توسط آغازگرها طی زمان نگهدرای افزایش می-یابد [۲۵]. دولیرز[2] و همکاران در سال (۲۰۰۵) بیان داشتند که طی نگهدرای میزان اگزوپلی‌ساکارید ثابت می‌ماند. همچنین بیان داشتند که تفاوت در روش مورد استفاده، تفاوت در نوع اگزوپلی‌ساکارید و تفاوت در نوع جدایه‌ها باعث ایجاد تفاوت در نتایج گزارش شده می‌شود [۲٦].

1. Purwandari
2. Doleyres



شکل ۱ میزان اگزوپلی‌ساکارید تولید شده در ترکیب آغازگرهای بومی



شکل ۲ نمونه کنترل طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها در یک روز و حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار هر نمونه طی زمان نگهداری ($p < ۰/۰۵$).

۳-۵- آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب

نتایج مربوط به آب اندازی نمونه‌های مختلف طی زمان نگهداری در جدول ۵ آورده شده است. ظرفیت نگهداری آب در ارتباط با آب اندازی می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که آب اندازی بیشتر نمونه‌ها به‌طور معنی داری طی دوره نگهداری کاهش یافته است و میزان کاهش با توجه به نوع جدایه متفاوت بوده است. همچنین ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها طی دوره نگهداری افزایش یافته است. کاهش آب اندازی و افزایش ظرفیت نگهداری آب طی زمان نگهداری را می‌توان به فعالیت متابولیکی آغازگرها و کاهش فشار در شبکه پروتئینی مربوط دانست [۲۷]. در پژوهش‌های دیگر بیان شده آب اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری افزایش می‌یابد [۲۸]. در نمونه‌های E، H و I آب اندازی تا روز ۲۱ روند کاهشی داشته و در روز ۲۸ افزایش یافته است. همچنین ظرفیت نگهداری این نمونه‌ها نیز تا روز ۲۱ روند افزایشی نشان داده و سپس کاهش یافته است. رمچندران و شاه در سال (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که آب اندازی طی زمان نگهداری تا روز ۱٤ کاهش می‌یابد که نشان دهنده بازیابی سریع بافت بعد از تخریب ساختار می‌باشند ولی در روز ۲۱ روند افزایشی نشانداده شده است که نشان‌دهنده از هم پاشیدگی ساختار می‌باشد [۱۷]. می‌توان فعالیت پروتئولیتیکی بالا در این نمونه‌ها را دلیل از هم‌پاشیدگی ساختار آن‌ها بعد از گذشت مدت مشخصی از زمان نگهداری مربوط دانست. ماست‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده EPS مانند نمونه C (آب اندازی از ٦/۳۱٪ در روز اول به ۲/۷۱٪ در روز ۲۸ کاهش و ظرفیت نگهداری از ٦۷/۱۱٪ به ۷۵/۸۲٪ افزایش یافته است) نمونه D (آب اندازی از ۵/۲۰٪ در روز اول به ۲/۹۳٪ در روز ۲۸ کاهش و ظرفیت نگهداری از ٦۹/۱۵٪ به ۷۸/۰۸٪ افزایش یافته است) کم‌ترین میزان آب اندازی و بیشترین ظرفیت نگهداری را در مقایسه با جدایه‌های دیگر داشته‌اند. در واقع ترکیبات پلی‌ساکاریدی به علت قابلیت جذب آب زیاد، افزایش گرانروی محصول، به تأخیر انداختن جدایی سرم باعث کاهش آب اندازی محصول طی دوره نگهداری را می‌شوند [۲۹، ۳۰]. همچنین ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده EPS که فعالیت پروتئولیتیکی بالایی داشته‌اند کم بوده، همچنین آب اندازی این نمونه‌ها نیز بالا بوده است. مانند نمونه‌های H و I که در این نمونه‌ها به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا بعد از ۲۱ روز نگهداری دچار از همپاشیدگی ساختار شده و روند تغییرات آب اندازی و ظرفیت نگهداری آب معکوس شده است.

جدول ۵ تغییرات سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب (گرم مایع جدا شده در ۱۰۰ گرم نمونه) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

تیمار*	آب اندازی				ظرفیت نگهداری آب			
	روز نگهداری				روز نگهداری			
	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸	۱	۷	۱٤	۲۱	۲۸
A	٦/۰۲^{cA}±۰/۰۷	۵/۱٦^{dB}±۰/۱۳	٤/۹۸^{cB}±۰/۲۵	٤/۱۷^{bC}±۰/۳۲	۳/٤۳^{aD}±۰/۰۹	٦٤/٤۵^{dD}±۰/۰۸	٦۷/۵۹^{dC}±۰/۱۲	۷٤/۱٦^{aB}±۰/۵۹	۷۵/۳۳^{aB}±۰/۸۲	۷۷/۰۸^{aA}※±۰/۳۰
B	۵/۳۳^{dA}±۰/۸۱	٤/۸٦^{eAB}±۰/۲۹	٤/۹۱^{cAB}±۰/۱۵	۳/۹٦^{cBC}±۰/۵۰	۳/۲۵^{dC}±۰/۰٤	٦٦/۹۳^{bC}±۱/۱۱	٦۷/۰۷^{dC}±۰/۳٦	٦۷/۸۹^{dB}±۰/٦٤	۷۲/۳۱^{cA}±۰/٤۸	۷۳/۱۹^{cA}±۰/٤۹
C	٦/۳۱^{bA}±۰/۲۵	٦/۲٤^{bA}±۰/۳۳	۵/۱۷^{bB}±۰/۰۷	۳/۱۵^{dC}±۰/٤۷	۲/۸۱^{hC}±۰/۱۹	٦۷/۱۱^{bE}±۰/۱٦	٦۹/۸۹^{cD}±۱۰	۷۲/۲٤^{bC}±۰/۰٤	۷٤/۱۱^{abB}±۰/۲۳	۷۵/۸۲^{bA}±۰/٦۱
D	۵/۲۰^{eA}±۰/۱٤	٤/۲۰^{fB}±۰/۱٤	۳/۵۷^{gC}±۰/۲٤	۳/۳۵^{eCD}±۰/۲۱	۲/۹۳^{gD}±۰/۰۹	٦۹/۱۵^{aD}±۰/۲۱	۷۲/۳۵^{aC}±۰/٤۹	۷۲/۷۵^{bBC}±۰/۳۵	۷٤/۵۰^{abB}±۰/۷۰	۷۷/۰۸^{aA}±۱/٤۱
E	۵/٤٦^{dB}±۰/۰۵	٦/۲۰^{bBC}±۰/۵۸	٤/۸۵^{cBC}±۰/۲۹	۳/۸٤^{cdC}±۰/۰۸	۸/۰۵^{aA}±۰/۰۷	٦۹/۷٤^{aB}±۰/۸۹	۷۱/۱۱^{abAB}±۰/۳٤	۷۱/۳۱^{bcAB}±۰/۹۸	۷۳/۱۲^{bcA}±۰/۸۸	۷۲/۳۹^{dAB}±۰/۳٤
F	٦/۲۸^{bA}±۰/٦۱	۵/۲٦^{dAB}±۰/۱۲	٤/۸٤^{cBC}±۰/۸۰	٤/۰۷^{bBC}±۰/٤	۳/۹۰^{dC}±۰/۰۵	٦٤/۸۷^{dE}±۰/۳۱	٦۷/۹۷^{cD}±۰/۲۵	۷۰/۹۸^{bC}±۰/٤٤	۷۳/٤۲^{bcB}±۰/٦۱	۷٦/۲۲^{abA}±۰/٤۵
G	۷/۵۸^{aA}±۰/۵۲	٦/۷۹^{aA}±۱/٦۲	۵/۵۷^{aAB}±۰/۳۳	۳/٤۹^{eB}±۰/۱٤	٤/۵۵^{cB}±۰/۲٤	٦۵/٦۱^{bcdC}±۱/۰۵	٦٦/٦۷^{deBC}±۰/٤۸	٦۷/۳۳^{cdBC}±۰/۵۱	٦۹/۳۹^{dAB}±۰/۳۵	۷۱/۳۳^{dA}±۱/۲۱
H	۵/٤۷^{dA}±۰/۲۰	۵/۳۱^{dA}±۰/۱۷	۳/۹۸^{cB}±۰/۰٦	۳/۸٦^{bcB}±۰/۰٦	۵/۱۳^{bA}±۰/۱۲	۷۰/۰۰^{aC}±۰/٤۹	۷۰/۵۷^{bcC}±۰/۳۹	۷۲/۹٦^{dbB}±۰/۵۹	۷٤/۳۳^{abA}±۰/۵۰	۷۰/۲٤^{eC}±۰/۱۱
I	۵/۱۹^{eA}±۰/۰۰	٤/۸۷^{eA}±۰/۲۹	٤/۰٤^{eB}±۰/۰٤	۳/۹۲^{cB}±۰/۰۲	٤/۸۳^{bA}±۰/۳۵	٦٤/۹۵^{dC}±۰/٤۳	٦٦/۷۸^{eB}±۰/٤۸	٦۵/۷٤^{eBC}±۰/۲۹	٦۹/۱۵^{cdA}±۰/۱٦	٦۷/۳۰^{fA}±۰/٦۸
J	۵/۳۳^{dbA}±۰/۳٤	٤/۳۳^{fB}±۰/۰۵	۳/۳۳^{fD}±۰/۰۰	۳/۱۰^{fgD}±۰/۰٦	۳/۱۰^{fgD}±۰/۰٦	٦۵/۱۳^{eDE}±۰/۳۳	۷۱/۲۷^{abC}±۰/۰۹	۷۲/۵۳^{bB}±۰/۵۲	۷٤/۲۹^{abA}±۰/٤٦	۷٤/٤۱^{bcA}±۰/٦۰
K	٦/۳۹^{bA}±۰/۲۲	۵/۹۹^{cAB}±۰/۲۸	۵/۳٤^{bB}±۰/۱۵	٤/۳٤^{aC}±۰/۰۵	۳/۸٦^{dC}±۰/۰٦	٦۳/۵٤^{eC}±۰/۵٤	٦٤/۸۲^{gC}±۰/٤۰	٦٦/٤۳^{eB}±۰/٤۰	٦۷/٦۰^{eB}±۰/۵٦	٦۷/۱۷^{fA}±۰/۵۰

* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

-اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

-حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشند ($p < ۰/۰۵$).

-حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشند ($p < ۰/۰۵$).

۳-٦- قوام

نتایج مربوط به قوام نمونه‌ها در جدول ٦ نشان داده شده است. قوام همه نمونه‌ها طی زمان نگهداری روند افزایشی داشته است و در نمونه‌های H و J و نمونه کنترل روند کاهشی داشته است. نمونه C بیشترین قوام را در بین نمونه‌ها داشته است که به g.s ٥٦٩/٥٠ در روز ١٤ رسیده و سپس کاهش می‌یابد. کم‌ترین قوام نیز مربوط به نمونه H بوده که تا ٤٦٦/٦٠ در روز ١٤ افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد. به طور کلی نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده EPS قوام بالاتری داشته‌اند. مطابق بر پژوهش‌های پیشین با استفاده از این جدایه‌ها سفتی افزایش و خصوصیات رئولوژیکی بهبود یافته و باعث احساس دهانی بهتر و ظرفیت نگهداری آب بالاتر می‌شود [۲۹]. جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی ساکارید در محصولات تخمیری شیر باعث افزایش سفتی می‌شوند [۲۷، ۳۱]. ولی رمچندران و شاه در سال (۲۰۰۹) بیان داشتند که سختی نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده EPS کم‌تر از نمونه‌های حاوی آغازگرهای تولید کننده NEPS بوده است [۱۷]. البته می‌توان آنرا اینگونه توجیح کرد که بین بعضی از اگزوپلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها نا سازگاری وجود دارد. به دلیل این‌که در نقطه پائین‌تر از نقطه pH ایزوالکتریک پروتئین‌ها، اگزوپلی‌ساکارید و پروتئین‌ها دارای بار مشابه می‌باشند که باعث جلوگیری از اتصال آن‌ها با یکدیگر و حتی اتصال پروتئین‌ها با هم و در نتیجه باعث تفاوت در مکانیسم رسوب پروتئین‌ها می‌شود [۲۱]. اسپریتوسانتو و همکاران در سال (۲۰۱۲) بیان داشتند ماست تولید شده با استفاده از جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید دارای بافت یکنواخت‌تر و ویسکوزیته ظاهری بیشتر بعد از ۵ روز بوده است که نشان دهنده این است که اگزوپلی‌ساکارید از ایجاد نقص در بافت در اثر جابجایی و عوامل مکانیکی جلوگیری می‌کند ولی سفتی ماست تهیه شده کمتر می‌باشد به دلیل اینکه اگزوپلی‌ساکاریدها در ایجاد شبکه پروتئینی تداخل ایجاد کرده و باعث ایجاد ژلی ضعیف و در نتیجه بافتی نرم‌تر می‌شوند [۱۳]. با این‌حال پوروندراری و همکاران در سال (۲۰۰۷) بیان داشتند که ارتباط ضعیفی بین میزان اگزوپلی‌ساکارید و خصوصیات بافتی وجود دارد[۲۵]. این تفاوت در نتایج را می‌توان به تفاوت در درجه روپی بودن، ترکیب قند و میزان شاخه‌ای بودن اگزوپلی‌ساکاریدهای تولید شده توسط آغازگرها مربوط دانست در واقع نوع اتصال پروتئین و اگزوپلی‌ساکارید بر بافت تاثیر می‌گذارد [۳۲]. همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های H و I دارای بافت ضعیف‌تری نسبت به نمونه‌های دیگر بوده‌اند.

جدول ٦ تغییرات قوام (g.s) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

تیمار*	روز نگهداری				
	١	٧	١٤	٢١	٢٨
A	٥٣٧/٩١^{aB}±١٢/٠٢	٥٣٨/٩٢^{bB}±١٢/٦٤	٥٧٦/٣٨^{aA}±٢/٤٦	٣٦٢/٤٣^{dC}±٩/٩٧	٣٦٠/٠٠^{dC}±١٠/١٩
B	٣٨٧/٣٦^{dC}±٦/٧٢	٤٠٠/٥٠^{fC}±٣/٥٣	٤٢٤/٢٩^{dB}±٨/٠٧	٥١١/٤٢^{aA}±٧/٥٨	٥٠٨/٥٠^{aA}±٩/١٩
C	٥٢٨/١٨^{aB}±١١/٥٦	٥٦٩/٥٠^{aA}±١/٧٢	٥٥٩/٠٤^{aA}±١٢/٧٧	٥٢٧/٩٨^{aB}±٨/٥١	٤٢٢/٨٣^{cC}±٦/٧٦
D	٣٨٧/١٥^{dC}±١٥/٤٠	٣٩٥/٥٠^{fgC}±٧/٧٧	٣٥٢/٩٣^{fD}±١/٨٠	٤٣٤/٠٩^{bcB}±٥/٥٢	٤٥٦/٩٤^{bA}±٤/٣٢
E	٤٢٧/٣٥^{cB}±١٠/٣٨	٤٣٠/٢٦^{eB}±١٠/٩٥	٤٤٠/٣٣^{cdAB}±٠/٤٥	٤٤٣/٠٠^{bAB}±٦/٠٨	٤٥٢/٢٧^{bA}±١١/٧٦
F	٢٨٢/٣٩^{fC}±٧/٩٣	٣٨٩/٠٤^{fgA}±١٢/٧٨	٣٥٨/٢٤^{fB}±٧/٩٨	٢٩٧/٨٤^{fC}±١٢/٣١	٣٧٩/١٢^{dAB}±١٢/٥٥
G	٣٣٨/٦٥^{eC}±١١/٥٢	٣٤٠/٠٩^{hC}±١٥/٤٢	٣٥٥/٢٩^{fBC}±١/٠١	٣٦٨/٤٣^{dAB}±٧/٦٨	٣٨٢/٠١^{dA}±٨/٩٤
H	٤٦٢/٢٨^{bA}±٧/٤٦	٤٦٦/٦١^{dA}±١/٩٦	٤٥٠/٤٨^{cA}±١٢/٦٠	٤١٥/٧٢^{cB}±٧/٧٤	٣٦٢/٥٢^{dC}±١٢/١٨
I	٤٨٣/٤٨^{bB}±٤/٤١	٤٩٢/٦٩^{cB}±٣/٢٦	٥١٤/٥٠^{bA}±١٢/٠٢	٣٣٤/٥٠^{eC}±٧/٧٧	٢٨٧/٦٦^{eD}±٤/٩٩
J	٤٥٩/١٥^{bA}±١٠/٥٠	٤٤٠/٢٨^{eAB}±٧/٣٨	٤٢١/٦٧^{eB}±١٠/٤٠	٣٧٤/٤٨^{dC}±١٣/٥٦	٣٦١/٦٦^{dC}±٨/٢٥
K	٣٤٥/٣٦^{eC}±١٣/٢٦	٣٧٦/٥٢^{gB}±٨/٥٢	٣٨١/١٨^{eB}±١٥/٩٥	٤٤٣/٩٩^{bA}±١٥/٨٨	٤٦٣/٦٣^{bA}±١٤/١٠

* اطلاعات مربوط به هر تیمار در جدول ۱ آورده شده است.

- اعداد میانگین سه تکرار به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

- حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین نمونه‌ها می‌باشند ($p < ۰/۰۵$).

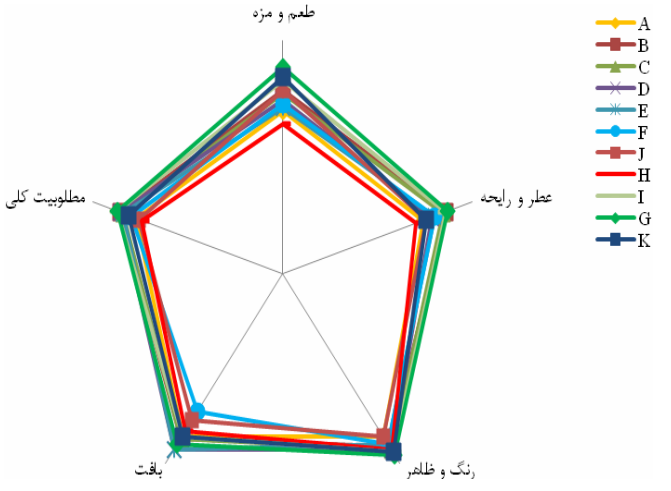
- حروف بزرگ متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار نمونه‌ها در روزهای مختلف نگهداری می‌باشند ($p < ۰/۰۵$).

۳-۷- خصوصیات حسی

به طور کلی کیفیت و مقبولیت محصولات تخمیری مانند ماست در نهایت توسط آزمون حسی مشخص می‌شود و تحت تاثیر عواملی مانند میزان ترکیبات آروما، بافت و ظاهر محصول می‌باشد[۳۳]. به طور کلی بین نمونه‌های تولید شده از نظر طعم و مزه،عطر و رایحه، رنگ و ظاهر، بافت و مطلوبیت کلی تفاوت معنی داری از نظر میانگین آماری وجود نداشته است ($p > ۰/۰۵$). نمونه‌ها امتیاز ۵ – ٦ را در تمامی خصوصیات حسی از نظر ارزیاب‌ها دریافت کرده‌اند که بیان کننده خوب تا قابل قبول بودن نمونه‌ها می‌باشد. همچنین نمونه کنترل نیز در همه خصوصیات حسی امتیاز ۵ (قابل قبول) دریافت کرده است. مقایسه بین نمونه‌های تولید شده توسط آغازگرهای بومی و آغازگر صنعتی نشان می‌دهد که این آغازگرهای بومی از نظر خصوصیات حسی مانند آغازگرهای های صنعتی عمل کرده و مقبولیت نمونه‌های تولید شده توسط آن‌ها مانند نمونه-های تولید شده توسط آغازگرهای صنعتی بوده است. نمونه-های تولید شده با استفاده از جدایه‌های تولید کننده اگزوپلی-ساکارید از نظر بافتی مقبولیت بالاتری داشته‌اند ولی از نظر دیگر خصوصیات حسی مانند نمونه‌های حاوی NEPS بوده-اند. همچنین نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای با فعالیت پروتئولیتیکی خیلی بالا مانند نمونه‌های H و I در تمام خصوصیات حسی مقبولیت کمی داشته‌اند.

٤- نتیجه‌گیری کلی

نتایج بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها نشان داده که با توجه به خصوصیات تکنولوژیکی هر آغازگر خصوصیات فیزیکوشیمیایی محصولات تولید شده نیز با یکدیگر متفاوت بوده است. آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید قدرت تولید اسید مشابه آغازگرهای NEPS داشتند به جزء نمونه-های D, E, H و I (حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی-ساکارید) که دارای فعالیت پروتئولیتیکی بالایی بوده و قدرت تولید اسید کم‌تری داشته‌اند. تفاوتی در تعداد آغازگرها در نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید و نمونه‌های تولید شده با استفاده از آغازگر-های NEPS مشاهده نشد. همچنین تعداد استرپتوکوکوس‌ها بالاتر از لاکتوباسیلوس‌ها بوده است. تعداد آغازگرها در جدایه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالاتر بیشتر بوده به دلیل این‌که آمینواسیدهای لازم برای رشد آن‌ها به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا فراهم شده است. قوام نمونه‌های حاوی آغازگر تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید بالاتر از نمونه‌های تولید شده توسطآغازگر NEPS بوده است. البته به جزء در نمونه-های H و I که به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی بالا خصوصیات بافتی مطلوبیت کم‌تری نشان داده‌اند. آب اندازی نمونه‌ها طی زمان نگهداری کاهش و ظرفیت نگهداری آب افزایش یافته است ولی در نمونه‌های با فعالیت پروتئولیتیکی بالا مانند نمونه‌های E، H و I آب اندازی تا روز ۲۱ روند کاهشی داشته و در روز ۲۸ افزایش یافته است همچنین ظرفیت نگهداری در این نمونه‌ها تا روز ۲۱ افزایش و سپس کاهش می‌یابد. بررسی خصوصیات حسی نمونه‌ها نیز نشان داده است که نمونه‌های تولید شده دارای ویژگی‌های ارگانولپتیکی مشابه و حتی بهتر از نمونه کنترل بوده‌اند و پتانسیل استفاده در صنعت را دارا می‌باشند.



شکل ۳ خصوصیات حسی طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس

۵- تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شیراز جهت تامین هزینه های این پژوهش سپاسگذاری می شود. همچنین از شرکت شیر پاستوریزه پگاه فارس و بخش بهداشت دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز جهت حمایت‌ها و در اختیار گذاشتن مواد و دستگاه‌های مورد نیاز تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

٦- منابع

[1] De Brabandere, A. G., and De Baerdemaeker, J. G. 1999. Effects of process conditions on the pH development during yogurt fermentation., Journal of Food Engineering, 41, 221-227.

[2] Birollo, G. A., Reinheimer, J. A., Vinderola, C. G. 2000. Viability of lactic acid microfora in different types of yoghurt. Food Research International, 33, 799-805.

[3] Yildiz, F. 2010. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. Copyright Clearance Center, Inc.

[4] Zourari, A., Accolas, J. P., Desmazeaud,. M. J. 1992. Metabolism biochemical characteristics of yogurt bacteria. review . Food Science and Technology, 72, 1-34.

[5] Çelik, E. S. 2007. Determination of Aroma Compounds and Exopolysaccharids Formation by Lactic acid Bacteria Isolated from Tradational Yoguorts. Thesis (Msc). School of Engineering and Sciences of Izmir Institute of Technology. Turkish. 111pp.

[6] Slocum, S. A., Janisksi, E. M., Kilara ,A. 1988. Processing Variables Affecting Proteolysis in Yogurt During Incubation. Journal of Dairy Sciences, 71, 596-603.

[7] Folkenberg D. M., Dejmek, P. Skriver, A., Guldager, H. S., Ipsen, R. 2006. Sensory and rheological screening of exopolysaccharide producing strains of bacterial yogurt cultures. International Dairy Journal, 16, 111–118.

[8] Bianchi-Salvadori, B., Camaschella, P., Cislaghi, S. 1995. Rapid enzymatic method for biotyping and control of lactic acid bacteria used in the production of yogurt and some cheeses. Journal of Food Microbiology, 27, 253-261.

[9] RoushanZadeh, S., Eskandari, M. H., Shekarforoush, S. S., Hosseini, A. 2014. Phenotypic and genotypic diversity of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional yoghurts produced by tribes of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 15(4), 347-352.

[10] Lim, O., Suntornsuk, W., Suntornsuk, L. 2009. Capillary zone electrophoresis for enumeration of *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in yogurt. Journal of Chromatography, 877, 710-718.

[11] Marafon, A., Sumi, P. A., Alcântara, M. R., Tamime, A. Y., de Oliveira, M. 2011. Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. Food Science and Technology, 44, 511-519.

[12] Ramirez-Santiago, C., Ramos-Solis, L., Lobato-Calleros, C., Peña-Valdivia, C., Vernon-Carter, E. J., Alvarez-Ramírez, J. 2010. Enrichment of stirred yogurt with soluble dietary fiber from Pachyrhizus erosus L . Urban: Effect on syneresis, microstructure and rheological properties. Journal of Food Engineering, 101, 229-235.

[13] Espírito Santo, A. P.do., Perego, P., Converti, A., Oliveira, M. N.. 2012. Influence of milk type and addition of passion fruit peel powder on fermentation kinetics, texture profile and bacterial viability in probiotic yoghurts. Food Science and Technology, 47, 393-399.

[14] Fadela, C., Abderrahim, C., Ahmed, B. 2009. Sensorial and Physico-Chemical Characteristics of Yoghurt Manufactured with Ewe's and Skim Milk. Journal of Dairy Sciences, 4, 136-140.

[15] IDF. 1997. Dairy starter cultures of lactic acid bacteria (lab)–Standard of identity. IDF Standard No. 149A. Federation International Dairy, Brussels, Belgium.

[16] IDF. 2003. Yoghurt/enumeration of characteristic microorganisms–Colony count technique at 37°C. IDF Standard No. 117. Federation International Dairy, Brussels, Belgium.

and rheological properties of set-type yogurt. International Dairy Journal, 17, 1344–1352.

[26] Doleyres, Y., Schaub, L., Lacroix, C. 2005. Comparison of the functionality of exopolysaccharides produced in situ or added as bioingredients on yogurt properties. Journal of Dairy Sciences, 88, 4146–4156.

[27] La Torre, L., Tamime, A. Y., Muir, D. D. (2003). Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter culture. Journal of Dairy Technology, 56, 163–170.

[28] Aryana, K. J. and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. Food Science and Technology, 40, 1808–1814.

[29] Welman, A. D., Maddox, I. S., Archer,R . H. 2003. Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of *Lactobacillus delbruecki subsp. Bulgaricus*. Journal of Food Microbiology, 95, 1200–1206.

[30] Prasanna, P. H. P., Grandison, A. S., Charalampopoulos, D. 2011. Effect of dairy based protein sources and temperature on growth, acidification and exopolysaccharide production of Bifidobacterium strains in skim milk. Food Research International, 47, 6–12.

[31] Damin, M. R., Alcaˆntara, M., Nunes, R., Oliveira, M. N. 2009. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. Food Science and Technology, 42, 1744-1750.

[32] Hassan, A. N., Corredig, M., Frank, J. F. 2002. Capsule formation by non ropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yogurt during structure formation. Journal of Dairy Sciences, 85, 716–720.

[33] Smit, G., Smit, B. A., Engels, W. J. M. 2005. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. FEMS Microbiology. Reviews, 29(3), 591–610.

[17] Ramchandran, L., Shah, N. P. 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. Food Science and Technology, 43, 819–827.

[18] Matumoto-Pintro, P. T., Rabiey, L. ,Robitaille, G., Britten, M. 2011. Use of modified whey protein in yoghurt formulations. International Dairy Journal, 21, 21-26.

[19] Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D, J., Lyng, J. G. 2009. The effect of thermosonication of milk on selected physicochemical and microstructural properties of yoghurt gels during fermentation. Food Chemistry, 114, 905–911.

[20] Bayarri, S., Carbonell, I., Barrios, E. X., Costell, E. 2011. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. International Dairy Journal, 21,111-118.

[21] Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F., Shah, N. P. 2006. Physical characteristics of yogurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal, 16, 40–51.

[22] Özer, B and Atasoy, F. 2002. Effect of addition of amino acids, treatment with b-galactosidase and use of heat-shocked cultures on the acetaldehyde level in yoghurt. International Journal of Dairy Technology, Vol 55, No. 4.

[23] Irkin, R, and Eren, U. V. 2009. A Research about Viable Lactobacillus bulgaricus and

Streptococcus thermophilus Numbers in the Market Yoghurts. World J. Dairy & Food Science, 3, 25-28.

[24] Degeest, B., Mozzi, F., De Vuyst, L. 2002. Effect of medium composition and temperature and pH changes on the exopolysaccharide yields and stability during *Streptococcus thermophilus LY03* fermentation. Journal of Food Microbiology, 79, 161–174.

[25] Purwandari, U., Shah, N. P., Vasiljevic, T. 2007. Effects of exopolysaccharideproducing strains of *Streptococcus thermophilus* on technological

Investigation the effects of proteolytic activity and exopolysaccharide production by native starter bacteria on technological and organoleptic properties of yogurts

Amani, E. [1], Eskandari, M. H. [2*], Shekarforoush, Sh. [3], Hanif Pour, M. A. [4]

1. Educated of department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz University
2. Associate Professor of department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Shiraz University
3. Professor of department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University
4. Pegah Fars Dairy Company, Shiraz

(Received: 94/1/31 Accepted: 94/8/24)

One of the most important points for yogurt production is the selection of starter culture, and also because of the necessity to preserve our natural starter cultures and to increase the availability of them for industrial use, the aim of this project was to determine the technological and organoleptic properties of yogurts producted by starter culture isolated from Iranian native yogurts. Eleven different yogurt samples were produced using 5 *Lactobasillus delbruekii subsp.bulgaricus* and 2 *Streptococcus thermophiles* isolates. Results showed there were no significant differences between acidifying activity of EPS-producing and non-EPS-producing starter cultures. Also isolates with a high proteolytic activity (isolates used in the examples H and I that proteolytic activity reaches during 28 days to 1 unit) have less the ability to produce acid during storage and viability of these isolates had been more than other strains. Samples that produced by EPS-producing starter culture exhibited better texture properties (consistency, syneresis and water holding capacity) than samples that produced using NEPS-producing starter culture. However, H and I samples due to high proteolytic activity and type of the exopolysaccharide is produced had less desirable textural properties. Syneresis reduced during storage and water holding capacity increased. But the synersis and water holding capacity of the samples produced using starters with high proteolytic activity, such as samples E, H, I similar to other samples until day 21, and in the fourth week the trend of changes has was reversed and the amount of synersis increased and water holding capacity is reduced.

Keywords: Native starter culture, Exopolysaccharide, Texture, Proteolytic activity

[*] Corresponding Author E-Mail Address: eskandar@shirazu.ac.ir