

تأثیر اینولین بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کفیر تولید شده از شیر گاومیش

مهدی قصاب‌نژاد^۱، محمد حجتی^{۲*}، حسین جوینده^۲

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۲/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۴/۱۲)

چکیده

کفیر نوشیدنی لبنی تخمیر شده است که با استفاده از دانه‌های کفیر تولید می‌شود و اثرات مفیدی بر سلامت انسان دارد. در این پژوهش تأثیر افزودن اینولین (۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، ویسکوزیته، آب‌اندازی و رنگ)، میکروبی (باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمرها) و حسی (بافت، طعم، بو و پذیرش کلی) کفیر تهیه شده با شیر گاومیش طی پانزده روز نگهداری در یخچال بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش میزان اینولین، مقادیر اسیدیته و ویسکوزیته نمونه‌های کفیر طی مدت نگهداری افزایش یافت در حالی که با افزایش مقدار اینولین، میزان آب‌اندازی نمونه‌ها در روز آخر نگهداری کاهش یافت. اینولین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید در کفیر را افزایش داد که نشانه پری‌بیوتیک بودن اینولین بود ولی بر رشد مخمرها بی‌تأثیر بود. همچنین اینولین شدت روشنایی کفیر را کاهش داد. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که اینولین میزان بو، طعم و بافت را کاهش داد و تأثیر منفی بر پذیرش کلی نمونه‌ها داشت. بر اساس یافته‌های این تحقیق، علیرغم اینکه اینولین ویژگی‌های پروبیوتیکی کفیر را افزایش داد ولی تأثیر منفی بر آب‌اندازی و ویژگی‌های حسی کفیر داشت.

کلید واژگان: تخمیر، نوشیدنی لبنی، پروبیوتیک، کفیر، اینولین

* مسئول مکاتبات: hojjatifood@gmail.com hojjati@asnrukh.ac.ir

۱- مقدمه

کفیر نوعی محصول لبنی تخمیر شده است که با استفاده از دانه‌های کفیر یا استارترهای خشک شده، ساخته می‌شود. این نوشیدنی از اقوام ترکی که در کوه‌های قفقاز زندگی می‌کردند، منشأ گرفته و به دلیل افزایش طول عمر آن‌ها، دارای شهرت است [۱]. دانه‌های کفیر دارای رنگ سفید یا زرد بوده، قطر آن‌ها از ۱-۲ میلی‌متر تا ۳-۲۰ میلی‌متر متغیر و ساختار آن‌ها توده‌ای شکل که همانند یک گل کلم به نظر می‌رسند [۲]. همچنین این دانه‌ها شامل یک ترکیب همزیستی بیش از ۳۰ نوع مختلف از باکتری‌های اسید لاکتیک (10^6 CFU/g)، مخمرها (10^6 CFU/g) و باکتری‌های استیک اسید (10^6 CFU/g) است که درون نوعی ماتریکس پلی‌ساکاریدی بنام کفیران قرار دارند [۳]. شیرهای مختلف حیوانی مانند گاو، گوسفند و بز و همچنین شیرهای مبتنی بر منابع گیاهی مانند سویا، نارگیل، برنج و بادام زمینی می‌توانند برای تولید کفیر استفاده شوند [۴-۵]. شیرگاویش نقش مهمی در تغذیه انسان‌ها بویژه در کشورهای در حال توسعه دارد. شیرگاویش تقریباً حاوی تمام ترکیبات مغذی شیر است. علاوه بر این، مطالعات نشان می‌دهد، کسانی که به شیرگاو آلرژی دارند، می‌توانند شیرگاویش را به راحتی استفاده کنند که این موضوع می‌تواند یکی از مزایای شیرگاویش باشد [۶]. گل و همکاران به بررسی ویژگی‌های کفیر تهیه شده از شیرگاو و گاومیش با استفاده از دانه کفیر و آغازگرهای ایزوله شده پرداختند و گزارش کردند که کفیر شیرگاویش در مقایسه با کفیر شیرگاو، تعداد بیشتری از میکروارگانیسم‌ها را تا پایان دوره ذخیره‌سازی همراه دارد و در نهایت به این نتیجه رسیدند که با توجه به جمعیت میکروبی بیشتر (به‌خصوص مخمرها)، کفیر تولید شده از شیرگاویش بیشتر مورد پذیرش قرار گرفت [۷]. افزودن ترکیبات مختلف در شیر مورد استفاده برای تخمیر می‌تواند ویژگی‌های حسی، تغذیه‌ای و کیفیت این محصولات را بهبود بخشد [۸]. در سال‌های اخیر ترکیبات گوناگونی مانند زانتان [۹] به کفیر افزوده شده و ویژگی آن‌ها بررسی شده است. اینولین جزء طبیعی بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات بوده و خواص تغذیه‌ای آن شناخته شده است [۱۰]. درجه پلیمریزاسیون اینولین نشان‌دهنده تعداد مونوساکاریدهایی است که مولکول آن را تشکیل می‌دهند و می‌توانند ویژگی‌هایی مانند هضم‌پذیری، فعالیت پری‌بیوتیکی، شیرینی و ظرفیت نگه‌داشتن

آب را نسبت به ترکیبات دیگر دارا باشد [۱۱]. مونتاناسی و همکاران تأثیر اینولین بر فعالیت میکروبی، بافت و ویژگی‌های شیمیایی کفیر تهیه شده با شیرکامل و شیر پس‌چرخ را در طول دوره نگهداری بررسی و گزارش کردند که افزودن اینولین تأثیری بر اسیدیته و باکتری‌های اسیدلاکتیک نداشت ولی روی زنده‌مانی باکتری‌های اسید استیک، مخمرها و بافت تأثیرگذار بود [۱۲]. با توجه به مطالعات کتابخانه‌ای مبنی بر عدم استفاده از اینولین در کفیر حاصل از شیرگاویش، هدف از انجام این پژوهش افزودن اینولین در کفیر شیرگاویش و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و ارزیابی حسی کفیر حاصل از آن بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد

شیرگاویش از ایستگاه دامپروری و دانه‌های کفیر از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان (ملائانی-خوزستان-ایران) تهیه شدند. اینولین با درجه خوراکی (Orafti, Tienen, Belgium) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی مورد مصرف در این آزمون از شرکت مرک (مرک، آلمان) تهیه گردیدند.

۲-۲- فعال‌سازی دانه‌های کفیر

به منظور نگهداری دانه‌های کفیر، آن‌ها درون شیر پاستوریزه شده و در یخچال با دمای ۴-۶ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند و جهت فعال‌سازی، دانه‌های کفیر به مدت ۲۴ ساعت درون انکوباتور (Binder-TOBGVD45-Germany) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند.

۲-۳- تولید نوشیدنی کفیر

برای تولید نمونه‌های کفیر ابتدا به میزان ۱/۵ و ۱/۰ درصد اینولین به شیرگاویش با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد اضافه و مخلوط شد و سپس محلول مورد نظر در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه پاستوریزه شد [۱۲]. دانه‌های کفیر به میزان ۳ درصد (وزنی-حجمی) به هر تیمار افزوده گردید و جهت تخمیر درون انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد

اسیدلاکتیک از روش کشت پورپلیت در رقت 10^{-6} و با شرایط بی‌هوازی و پس از ۴۸ ساعت گرم‌خانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت [۲۸]. برای شمارش مخمرها از روش کشت سطحی، پس از گرم‌خانه‌گذاری در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، و پس از ۳-۴ روز انجام شد و از رقت 10^{-4} استفاده شد.

۲-۶- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی (بافت، طعم، بو و پذیرش کلی) نمونه‌های کفیر، توسط ۱۰ نفر ارزیاب حسی در رده سنی ۲۳ تا ۵۰ سال (۶ نفر خانم و ۴ نفر آقا)، از اساتید و دانشجویان کارشناسی ارشد و دکترای دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها از طریق تست هدونیک ۹ نقطه‌ای (۱= بسیار ناخوشایند و ۹= بسیار خوشایند) با یکدیگر مقایسه شدند.

۲-۷- تجزیه و تحلیل داده‌ها

این پژوهش در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام پذیرفت و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات pH و اسیدیته

جدول ۱ تغییرات pH نمونه‌های کفیر حاوی اینولین (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵) را در طی ۱۵ روز نگهداری، نشان می‌دهد. با افزایش میزان اینولین، pH نمونه‌های کفیر کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) داشت به‌طوری‌که کمترین و بیشترین pH به ترتیب مربوط به نمونه‌های حاوی ۱/۵ درصد اینولین و شاهد بودند. با توجه به جدول ۱، pH نمونه‌ها در طول ذخیره‌سازی کاهش معنی‌داری ($p < 0/05$) داشت. بیشترین و کمترین pH به ترتیب مربوط به نمونه‌های کفیر در روز ۱ و روز ۱۵ ذخیره‌سازی بودند. در همین راستا بایرولو و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که pH شیرهای تخمیر شده بعد از گذشت ۴۵ روز از ۴/۷ به ۴/۲۵ کاهش یافت [۱۳]. همان گونه که در جدول ۱ ملاحظه می‌شود با افزودن اینولین به نمونه‌های کفیر، اسیدیته بصورت معنی‌داری افزایش داشت ($p < 0/05$) بطوریکه بیشترین و کمترین اسیدیته مربوط به نمونه حاوی

از گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌ها از انکوباتور خارج و سپس دانه‌های کفیر بوسیله صافی پلاستیکی جداسازی شدند. در نهایت دمای نمونه‌ها کاهش و در یخچال با دمای ۴-۶ درجه سانتی‌گراد نگهداری و طی پانزده روز نگهداری در پایان روز اول و پانزدهم مورد آزمون قرار گرفتند.

۲-۴- خصوصیات فیزیکوشیمیایی کفیر

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر دیجیتالی (مدل 200-A&D/GF-ژاپن)، پس از کالیبره شدن دستگاه، انجام شد. برای اندازه‌گیری اسیدیته از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ ارغوانی و بر حسب اسیدلاکتیک انجام شد و از فنل فتالین به عنوان شناساگر استفاده گردید. اندازه‌گیری ویسکوزیته نمونه‌ها با دستگاه ویسکومتر (DV2TLVTJ0-USA - BROOKFIELD) و به کمک اسپیندل شماره ۳۱، در سرعت ۵۰ rpm و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد صورت پذیرفت. اندازه‌گیری رنگ نمونه‌ها با استفاده از رنگ‌سنج (Konica Minolta، مدل CR-۴۰۰، ساخت ژاپن) انجام شد و شاخص‌های L^* ، a^* و b^* که به ترتیب نشان دهنده سفیدی-سبایی، سبزی-قرمزی و آبی-زردی هستند ارزیابی شدند. جهت کالیبره و تنظیم کردن دستگاه رنگ-سنج، از صفحه سفید مخصوص ($L^* = 94/43$ ، $a^* = 0/25$ و $b^* = 2/04$)، استفاده گردید. جهت اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی نمونه‌ها از دستگاه سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و از رابطه ۱ استفاده شد [۲۸].

$$\text{رابطه (۱)} = \frac{\text{حجم فاز جدا شده (میلی لیتر)}}{\text{حجم کل نمونه کفیر (میلی لیتر)}} \times 100 = \text{درصد آب اندازی}$$

۲-۵- آزمون‌های میکروبی

برای شمارش جمعیت باکتری‌های اسیدلاکتیک و مخمرها در نمونه‌های کفیر به ترتیب از محیط کشت MRS^۱ Agar و YGC^۲ (لیوفیلکم، ایتالیا)، بعد از استریلیزاسیون در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، استفاده شد. جهت شمارش باکتری‌های

1. Man-Rogosa and Sharp broth

2. Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar

دیون و همکاران گزارش کردند که اینولین و زمان نگهداری سبب افزایش ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های شیر تخمیری گردیده است [۱۷]، همچنین آکین و کیرماسی نیز مشاهده کردند که ویسکوزیته نمونه‌های لبنی با افزایش مقدار اینولین، افزایش می‌یابد [۱۸].

۳-۳-آب‌اندازی

جداسازی فاز آبی در محصولات شیری تخمیر شده به دلیل جمع شدن ذرات پروتئین در حین نگهداری و رسوب گذاری تحت جاذبه رخ می‌دهد و برخی دیگر از عوامل مانند تثبیت کننده، اسیدیته، جامدات جامد و نوع شیر و کشت می‌توانند بر جداسازی فاز آبی نوشیدنی‌های شیرین تخمیر شده مؤثر باشند [۱۲]. جدول ۱ اثر اینولین و زمان نگهداری بر آب‌اندازی نمونه‌های کفیر را نشان می‌دهد. با افزایش میزان اینولین نمونه‌های کفیر در روز ۱، افزایش معنی‌داری در آب‌اندازی مشاهده شد ($p < 0.05$). بطوریکه کمترین و بیشترین آب‌اندازی به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد و ۱/۵ درصد اینولین بود. با توجه به اینکه میکروارگانیسم‌های کفیر می‌توانند از اینولین بعنوان ترکیب پری‌بیوتیکی استفاده کنند در همین راستا اسید تولید کرده و در نهایت کازئین تجمع یافته در نتیجه باعث افزایش آب‌اندازی در نمونه‌های حاوی بیشترین میزان اینولین در روز ۱ شده است. استفولون و همکاران به بررسی تأثیر فیبرهای گیاهی در دسرهای لبنی پرداخته و مشاهده کردند که نمونه‌های حاوی فیبرهای سیب و بامبو نسبت به اینولین، تأثیر بیشتری در کاهش آب‌اندازی آن‌ها دارد [۱۹]. مطابق با پژوهش حاضر برخی از محققان گزارش کردند که میکروارگانیسم‌های دانه‌های کفیر با تولید پلی‌ساکارید خارج سلولی که عمدتاً کفیران است، می‌توانند ویسکوزیته و پیوند ملکول‌های آب با سایر اجزای شیر را افزایش دهند و سبب افزایش استحکام ماتریکس کازئین در محصول نهایی شوند و در نتیجه آب‌اندازی محصول کاهش یابد [۱۲].

همان‌طور که ملاحظه می‌شود، با افزایش زمان نگهداری، کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) در آب‌اندازی نمونه‌های کفیر مشاهده شد. کاهش آب‌اندازی در پایان ذخیره‌سازی ممکن است به دلیل تولید متابولیت‌هایی مانند کفیران و سایر پلی‌ساکاریدها بوده که سبب محصور کردن آب آزاد نمونه‌ها شده است. در نتیجه با افزایش زمان نگهداری از آب‌اندازی جلوگیری می‌کنند.

۱/۵ اینولین و نمونه شاهد بودند. با توجه به جدول ۱ با افزایش زمان نگهداری، افزایش چشمگیری در میزان اسیدیته نمونه مشاهده شد. بیشترین و کمترین میزان اسیدیته به ترتیب مربوط به نگهداری نمونه‌ها در روز ۱۵ و روز ۱ بودند. با توجه به نتایج بدست آمده، افزایش اسیدیته با افزایش میزان اینولین ممکن است به دلیل استفاده از این ترکیب برای تولید مثل و رشد میکروارگانیسم‌ها بوده که در طول دوره نگهداری، فعالیت نموده و تولید متابولیت‌هایی مثل اسید لاکتیک کردند و در نتیجه اسیدیته نمونه‌های کفیر افزایش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$). مطابق با نتایج پژوهش حاضر، اولیورا و همکاران به بررسی تأثیر اینولین بر ویژگی‌های شیر تخمیر شده پرداخته و مشاهده کردند که پس از ۲۴ ساعت تخمیر، اسیدیته از ۱/۸۰ تا ۳/۱۰ گرم اسید لاکتیک در هر گرم متغیر بود. همچنین آن‌ها وقتی از کشت استارتر St-Lb استفاده کردند مشاهده نمودند که با افزایش غلظت اینولین، مقدار اسید لاکتیک در فرمولاسیون افزایش یافت [۱۴].

۳-۲-ویسکوزیته

همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش اینولین افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) در ویسکوزیته نمونه‌های کفیر مشاهده شد بطوریکه بیشترین و کمترین ویسکوزیته با مقادیر ۱۰۴۷/۳۳ و ۲۰۹/۶۷ سانتی‌پواز به ترتیب مربوط به تیمارهای حاوی ۱/۵ درصد اینولین در روز پانزدهم و شاهد در روز اول بودند. مطابق با نتایج پژوهش ما، کیپ و همکاران دریافتند که افزودن اینولین سبب افزایش ویسکوزیته نمونه‌های ماست می‌شود [۱۵]. با توجه به جدول ۱ در طی ذخیره‌سازی افزایش معنی‌داری ($p < 0.05$) در ویسکوزیته نمونه‌های کفیر مشاهده شد، بطوریکه ویسکوزیته همه نمونه‌ها با هر مقداری از اینولین در روز پانزدهم نسبت به روز اول افزایش پیدا کرده بود که دلیل آن ممکن است مربوط به تولید کفیران بوده که سبب افزایش ویسکوزیته در نمونه‌های کفیر شده است. کفیران حاوی D-گلوکز و D-گالاکتوز به نسبت ۱:۱ است و به آرامی در آب سرد و به سرعت در آب گرم حل می‌شود و محلول ویسکوزی را در غلظت ۲ درصد تشکیل می‌دهد [۱۶]. در همین راستا توسط برخی از پژوهشگران گزارش شده است که کفیران می‌تواند بطور مؤثری بر ویسکوزیته و خواص ویسکوالاستیک زل‌های اسیدی، اثر بگذارد [۱۲]. مطابق با پژوهش حاضر،

Table 1 Effect of storage time (day) and the different Inulin (%) on pH, titratable acidity (% lactic acid), viscosity (cp) and syneresis (%) of kefir samples during storage at 4-6 °C.

pH				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
3.76±0.01 ^{Ac}	3.97±0.01 ^{Ab}	4.12±0.01 ^{Aa}	4.16±0.01 ^{Aa}	1
2.74±0.01 ^{Bc}	2.85±0.01 ^{Bb}	2.88±0.01 ^{Bb}	2.91±0.01 ^{Ba}	15
Titratable acidity (% lactic acid)				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
0.55±0.01 ^{Bc}	0.65±0.01 ^{Bb}	0.67±0.01 ^{Bb}	0.72±0.01 ^{Ba}	1
1.96±0.01 ^{Aa}	1.65±0.01 ^{Ab}	1.62±0.01 ^{Ab}	1.55±0.01 ^{Ac}	15
Viscosity (cp)				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
958.00±4.36 ^{Ba}	700.33±2.08 ^{Bb}	413.67±0.58 ^{Bc}	209.67±0.58 ^{Bd}	1
1047.33±1.2 ^{Aa}	767.67±96.46 ^{Ab}	547.33±0.21 ^{Ac}	402.33±0.12 ^{Ad}	15
Syneresis (%)				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
62.20±0.26 ^{Aa}	58.07±0.15 ^{Ab}	54.03±0.21 ^{Ac}	48.87±0.32 ^{Bd}	1
46.67±0.58 ^{Bd}	50.67±0.58 ^{Bc}	52.33±0.58 ^{Bb}	70.67±0.58 ^{Aa}	15

*Values followed by the same caps and small letter at the same column and row are not significantly different ($p < 0.05$)

*The upper and lowercase letters are related to the influence of the time and inulin, respectively.

۳-۴- باکتری‌های اسید لاکتیک

بررسی اثر میزان اینولین و زمان نگهداری نمونه‌های کفیر نشان می‌دهد که با افزایش درصد اینولین، جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک افزایش یافته است. همان‌طور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، بیشترین و کمترین جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک به ترتیب مربوط به نمونه حاوی ۱/۵ درصد اینولین و نمونه شاهد بود. از این مشاهدات می‌توان نتیجه گرفت که باکتری-های اسید لاکتیک از اینولین بعنوان ترکیب پری‌بیوتیکی برای رشد و نمو خود استفاده کردند که سبب افزایش جمعیت آن‌ها شده است. مطابق با پژوهش حاضر برخی از محققان بررسی کردند که اینولین سبب افزایش میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نوشیدنی لبنی شده است [۱۴]. با توجه به جدول ۲ با افزایش زمان نگهداری، جمعیت باکتری‌های اسید لاکتیک افزایش چشمگیری داشت بطوریکه بیشترین تعداد در روز ۱۵ و

کمترین در روز ۱ ذخیره‌سازی بود. دانکور و همکاران دریافتند که افزودن ۲٪ اینولین، ۱٪ رافینوز و ۱٪ گلوکز منجر به افزایش فعالیت پروبیوتیک‌ها در طول تخمیر و نگهداری محصول شده که ممکن است مربوط به فعالیت آنزیم آلفاگالاکتوزیداز در حضور اولیگوساکاریدها بوده باشد [۲۰]. در عدم مطابقت با پژوهش حاضر، بیوریتی و همکاران گزارش کردند که افزودن اینولین تأثیری بر زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در طول نگهداری پنیر خامه‌ای نداشته است [۸]. همچنین مونتاناسی و همکاران گزارش کردند که افزودن اینولین به نمونه‌های کفیر حاصل از شیر کامل و شیر پس‌چرخ تأثیری بر زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نداشته است [۱۲].

۳-۵- مخمرها

جدول ۲ اثر درصدهای متفاوت اینولین و زمان نگهداری را بر جمعیت مخمرها نشان می‌دهد. با توجه به نتایج ذکر شده در

جدول ۲، جمعیت مخمرها با افزایش میزان اینولین افزایش یافته است. البته افزودن اینولین در روز ۱ تأثیر معنی داری ($p > 0.05$) نداشت ولی در روز ۱۵ با افزایش میزان اینولین تعداد مخمرها افزایش یافت ($p < 0.05$). با توجه به نتایج بدست آمده، با گذشت زمان نگهداری، تعداد مخمرها افزایش یافت. بیشترین و کمترین جمعیت به ترتیب مربوط به روز ۱۵ و روز ۱ بود. جوان و همکاران تأثیر اینولین را بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی پنیر بررسی کردند. آن‌ها دریافتند که اینولین تأثیری بر pH و کیفیت میکروبیولوژیکی پنیر نداشت [۲۱]. نتایج بیوریتی و همکاران نیز نشان داد که متابولیسم باکتری‌های استارتر و پروبیوتیک، تأثیری معنی داری ($p > 0.05$) بر محتوای فروکتان (اینولین) نداشت [۸].

۳-۶- ویژگی‌های رنگ

اساس رنگ‌سنجی، سنجش شاخص‌های L^* ، a^* و b^* است که به ترتیب نشان‌دهنده روشنی تا سیاهی، سبزی تا قرمزی و آبی تا زردی هستند. جدول ۳ اثر درصدهای متفاوت اینولین و زمان نگهداری را بر پارامترهای رنگی مورد بررسی نشان می‌دهد. با افزایش میزان اینولین کاهش معنی داری در روشنایی نمونه‌های کفیر مشاهده شد ($p < 0.05$). بیشترین و کمترین میزان روشنایی به ترتیب مربوط به نمونه شاهد و نمونه حاوی ۱/۵ درصد اینولین بود. با توجه به جدول ۳ با افزایش زمان نگهداری کاهش چشمگیری در پارامتر روشنایی نمونه‌های کفیر مشاهده شد بطوریکه بیشترین میزان روشنایی مربوط به روز ۱ و کمترین مربوط به نگهداری نمونه‌ها در روز ۱۵ ذخیره‌سازی بود. کاهش پارامتر روشنایی با افزایش زمان نگهداری و میزان اینولین ممکن است به دلیل واکنش میلارد که ناشی از شرکت کردن قندهای احیا کننده و اسیدهای آمینه تولید شده به‌خاطر تجزیه شدن پروتئین شیر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک بوده باشد که باعث تولید رنگدانه قهوه‌ای رنگ ملانوییدین شده و در نتیجه روشنایی نمونه‌ها کاهش یافته است. در عدم مطابقت با پژوهش حاضر، برخی از محققین بررسی کردند که ذرات

اینولین می‌توانند به عنوان مرکز پراکندگی نور عمل کرده و پراکندگی نور در پنیر را افزایش دهند [۲۰]. جدول ۳ اثر درصدهای متفاوت اینولین و زمان نگهداری را بر پارامتر a^* نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که فقط در روز ۱ با افزایش اینولین تا ۱ درصد، پارامتر a^* به سمت سبز گرایش داشت اما در روز ۱۵ با افزایش اینولین، این پارامتر به سمت قرمز میل داشت که البته معنی دار ($p > 0.05$) نبود. همان‌طور که مشاهده می‌گردد با افزایش زمان نگهداری از روز ۱ تا ۱۵ فقط در تیمارهای شاهد و ۰/۵ درصد اینولین در پارامتر a^* کاهش و در نمونه‌های ۱ و ۱/۵ درصد اینولین این پارامتر افزایش یافت. جدول ۳ اثر درصدهای متفاوت اینولین و زمان نگهداری را بر پارامتر b^* نشان می‌دهد. با افزایش اینولین کاهش معنی داری ($p < 0.05$) در پارامتر b^* نمونه‌ها در روز ۱ مشاهده شد. هر چند این تغییرات فقط در نمونه حاوی ۱ درصد اینولین بود. با توجه به جدول ۳ در طی زمان نگهداری در پارامتر b^* فقط در نمونه‌های شاهد و ۰/۵ درصد اینولین کاهش و در نمونه‌های حاوی ۱ و ۱/۵ درصد افزایش معنی داری ($p < 0.05$) مشاهده شد. می و همکاران به بررسی تغییرات رنگ (L^* ، a^* ، b^*) با افزودن ایزومالتوالیگوساکارید در کفیر در طول ۱۴ روز نگهداری، پرداختند. مقادیر L^* به‌صورت معنی داری ($p < 0.05$) تحت تأثیر افزودن ایزومالتوالیگوساکارید در روز ۱ و پایان دوره ذخیره‌سازی قرار گرفت و با افزودن ایزومالت و اولیگوساکارید در پارامتر L^* ، کاهش ایجاد شده و در تمام نمونه‌های کفیر باگذشت زمان در این پارامتر، افزایش مشاهده گردید. رنگ سفید شیر در نتیجه حضور کلئیدهایی مانند گلوبول‌های چربی و میسل‌های کازئین، قابلیت پراکندن نور را دارند. با افزایش میزان ایزومالتوالیگوساکارید در پارامتر a^* نسبت به نمونه شاهد، کاهش مشاهده کردند. در پارامتر b^* ، با افزودن ایزومالت و اولیگوساکارید افزایش ولی با افزایش دوره ذخیره‌سازی کاهش ایجاد شد [۲۲].

Table 2 Effect of storage time (day) and the different Inulin (%) on Lactic Acid Bacteria (Log cfu/ml) and yeast (Log cfu/ml) of kefir samples during storage at 4-6 °C.

lactic acid bacteria (Logcfu/ml)				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
8.43±0.01 ^{Ba}	8.34±0.00 ^{Bb}	8.12±0.00 ^{Bc}	7.43±0.00 ^{Bd}	1
8.72±0.01 ^{Aa}	8.68±0.00 ^{Ab}	8.47±0.00 ^{Ac}	7.77±0.01 ^{Ad}	15
Yeast (Log cfu/ml)				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
6.33±0.00 ^{Ba}	6.33±0.01 ^{Ba}	6.32±0.01 ^{Ba}	6.28±0.00 ^{Bb}	1
6.65±0.01 ^{Aa}	6.64±0.01 ^{Aa}	6.57±0.00 ^{Ab}	6.61±0.00 ^{Aab}	15

*Values followed by the same capsand smallletter at the same columnand roware not significantly different ($p < 0.05$)

*The upper and lowercase letters are related to the influence of the time and inulin, respectively.

Table 3 Effect of storage time (day) and the different Inulin (%) on the color characteristics ($L^* a^* b^*$) of kefir samples during storage at 4-6 °C.

L^*				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
79.99±0.32 ^{Ad}	81.00±0.73 ^{Ac}	83.40±0.44 ^{Ab}	85.50±0.15 ^{Aa}	1
78.69±1.08 ^{Bc}	79.45±1.03 ^{Bbc}	80.91±0.65 ^{Bb}	83.93±1.92 ^{Ba}	15
a^*				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
-2.76±0.15 ^{Bc}	-2.70±0.46 ^{Bd}	-2.84±0.05 ^{Ab}	-2.96±0.03 ^{Aa}	1
-2.90±0.06 ^{Aa}	-2.76±0.32 ^{Ab}	-2.56±0.05 ^{Bc}	-2.74±0.14 ^{Bbc}	15
b^*				Day/Inulin%
1.5	1	0.5	0	
1.02±0.45 ^{Bb}	0.98±0.29 ^{Bb}	1.72±0.13 ^{Aa}	1.73±0.04 ^{Aa}	1
1.12±0.60 ^{Ab}	1.25±0.37 ^{Aa}	1.03±0.18 ^{Bc}	1.12±0.32 ^{Bb}	15

*Values followed by the same caps and small letter at the same column and row are not significantly different ($p < 0.05$)

*The upper and lowercase letters are related to the influence of the time and inulin, respectively.

ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد و حاوی ۱/۵ درصد اینولین بودند همچنین با گذشت زمان نگهداری کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) در امتیازات این پارامتر (بو) مشاهده شد. همان‌طور که می‌توان مشاهده نمود افزودن اینولین، تأثیر منفی بر پارامتر طعم نمونه‌های کفیر داشت. بیشترین و کمترین امتیاز به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد و حاوی ۱/۵ درصد اینولین بودند همچنین با گذشت زمان امتیازات طعم نمونه‌های کفیر کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) داشت. کاهش امتیاز طعم از ابتدا تا پایان دوره نگهداری ممکن است به دلیل وجود متابولیت‌های ناشی از رشد میکروارگانیسم‌های کفیر مانند اسیدها بوده باشد که سبب کاهش امتیاز حسی نمونه‌های کفیر شده است. از سوی دیگر به دلیل تجزیه شدن پروتئین‌های شیر به پپتیدهایی که سبب ایجاد طعم‌های نامطلوب می‌شوند، بوده باشد. براساس

۳-۷-ویژگی‌های حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های کفیر در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که می‌توان مشاهده نمود، افزایش اینولین سبب کاهش چشمگیری در امتیاز بافت نمونه‌ها شد بطوریکه بیشترین و کمترین امتیاز بافت مربوط به نمونه‌های شاهد و حاوی ۱/۵ درصد اینولین بود. بر اساس نتایج حاصل، با گذشت زمان نگهداری امتیازات بافت نمونه‌های کفیر کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) داشتند. بیشترین امتیاز بافت مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در روز ۱ و کمترین امتیاز مربوط به نمونه‌های روز ۱۵ بود. با توجه به شکل ۱، با افزایش میزان اینولین، کاهش معنی‌داری در امتیازات بو در روز ۱ در نمونه‌های کفیر مشاهده شد بطوریکه بیشترین و کمترین امتیاز بو به

تراتیک و همکاران اثر افزودن اینولین بر کفیر تولید شده از شیر گاو و شیر بز را بصورت مخلوط شده و مجزا بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که در بین کفیرهای شیربز، نمونه‌های همراه با اینولین دارای امتیازات حسی بهتری بودند [۲۵]. رینالدونی و همکاران گزارش دادند که با افزودن اینولین به ماست، تأثیری در ارزیابی رنگ نمونه‌های ماست سویا مشاهده نشد [۲۶]. بزررا و همکاران به بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فرآورده تخمیری شیری حاصل از شیرهای گاو میش و بز پرداختند. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که نمونه‌های حاوی بیشترین نسبت شیر گاو میش، امتیاز مطلوبی از نظر ارزیاب‌ها به دلیل عطر و طعم مناسب به دست آوردند [۲۷].

شکل ۱ بهترین امتیاز پذیرش کلی، مربوط به نمونه شاهد در روز ۱ نگهداری بود و کمترین امتیاز به نمونه حاوی ۱/۵ درصد اینولین نسبت داده شد. با گذشت زمان، کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) در امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های کفیر مشاهده شد بطوریکه بیشترین امتیاز مربوط به نمونه‌های نگهداری شده در روز ۱ و کمترین امتیاز مربوط به نمونه‌های روز ۱۵ بودند. کریمی و همکاران تأثیر اینولین را بر ارزیابی حسی (رنگ، طعم و بو) نمونه‌های پنیر بررسی کردند [۲۳]. مودزلسکا کپیتولا و همکاران دریافتند که افزایش میزان اینولین در نمونه‌های پنیر سبب افزایش امتیازات ارزیابی حسی شده است. آن‌ها دریافتند که اینولین تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی نمونه‌های پنیر نداشت ($p > 0.05$) [۲۴]. در عدم مطابق با پژوهش حاضر،

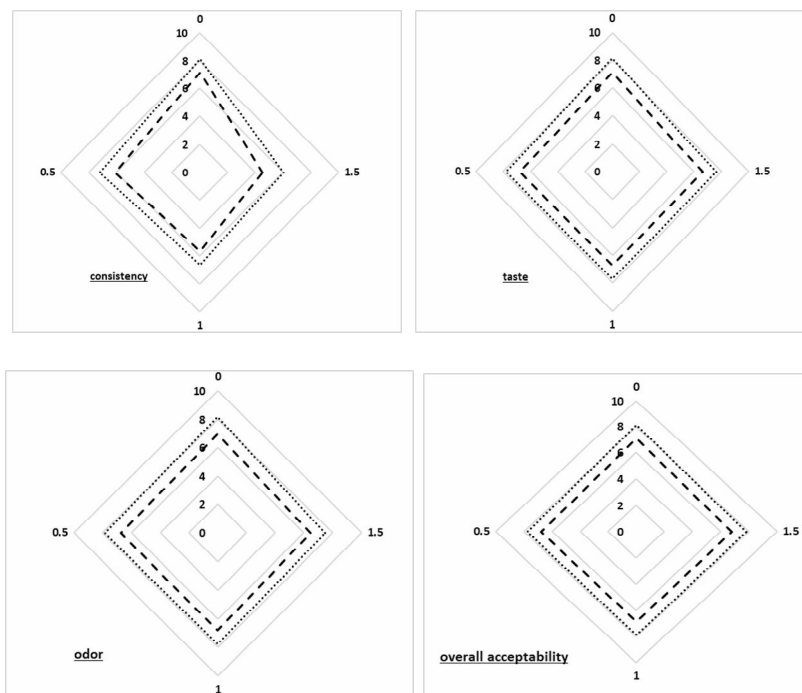


Fig 1 Effect of storage time (day) and the different Inulin (%) on the sensory characteristics (odor, taste and overall acceptability) of kefir samples during storage at 4-6 °C (.... day1 , ---- day15).

مقادیر مختلف اینولین بر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی کفیر طی پانزده روز نگهداری در یخچال نشان داد که افزودن اینولین به نوشیدنی کفیر افزایش اسیدیته و ویسکوزیته را به همراه دارد از طرفی اگرچه افزودن اینولین به کفیر موجب افزایش جمعیت باکتری‌های لاکتیکی و مخمرها می‌شود ولی ویژگی‌های حسی آن‌را کاهش می‌دهد. بنابر نتایج

۴- نتیجه گیری

در سال‌های اخیر توجه مردم به نوشیدنی‌های سالم و پروبیوتیک مانند کفیر افزایش یافته است به همین منظور توجه محققین به بررسی این گونه نوشیدنی‌ها افزایش یافته است. امید بر این است مطالعات گسترده‌تری در شناخت و بهبود عملکرد این نوشیدنی‌ها انجام شود. در بررسی حاضر تأثیر

- [8] Buriti, F. C., Cardarelli, H.R., Filisetti, T.M., & Saad, S.M. (2007). Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. Food Chemistry, 104(4), 1605-1610.
- [9] Sabooni, P., Pourahmad, R., & Adeli, H. (2018). Improvement of viability of probiotic bacteria, organoleptic qualities and physical characteristics in kefir using transglutaminase and xanthan. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 17(2), 141-144-6.
- [10] González-Tomás, L., Bayarri, S., Coll-Marqués, J., & Costell, E. (2009). Flow behaviour of inulin-enriched dairy desserts: influence of inulin average chain length. International Journal of Food Science and Technology, 44(6), 1214-1222.
- [11] Pimentel, T.C., Cruz, A.G., & Prudencio, S.H. (2013). Influence of long-chain inulin and *Lactobacillus paracasei* subspecies *paracasei* on the sensory profile and acceptance of a traditional yogurt. Journal of Dairy Science, 96(10), 6233-6241.
- [12] Montanuci, F.D., Pimentel, T.C., Garcia, S., & Prudencio, S.H. (2012). Effect of starter culture and inulin addition on microbial viability, texture, and chemical characteristics of whole or skim milk Kefir. Food Science and Technology, 32(4), 54-60-4-665.
- [13] Birollo, G. A., Reinheimer, J. A., & Vinderola, C. G. (2000). Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. Food Research International, 33(9), 799-4-605.
- [14] De Souza Oliveira, R.P., Perego, P., Converti, A., & De Oliveira, M.N. (2009). The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented milk. International Journal of Dairy Technology, 62(2), 195-203.
- [15] Kip, P., Meyer, D., & Jellema, R. H. (2006). Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. International Dairy Journal, 16(9), 1094-6-1103.
- [16] Farnworth, E. R. (2006). Kefir—a complex probiotic. Food Science and Technology Bulletin: Fu, 2(1), 1-17.
- [17] Debon, J., Prudêncio, E.S., & Petrus, J.C.C. (2010). Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic

این تحقیق اگرچه اینولین می‌تواند خاصیت پری‌بیوتیکی در نوشیدنی کفیر داشته باشد ولی به دلیل کاهش خصوصیات حسی نمی‌تواند افزودنی مناسبی برای کفیر به حساب آید و نیاز به تحقیقات بیشتری در زمینه کاربرد سایر افزودنی‌ها به همراه اینولین جهت بهبود ویژگی‌های کفیر می‌باشد.

۵- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶- منابع

- [1] Esener, O. B. B., Balkan, B. M., Armutak, E. I., Uvez, A., Yildiz, G., Hafizoglu, M., ... & Gurel-Gurevin, E. (2018). Donkey milk kefir induces apoptosis and suppresses proliferation of Ehrlich ascites carcinoma by decreasing iNOS in mice. Biotechnic and Histochemistry, 93(6), 424-431.
- [2] Kesenkas, H.A., Yerlikaya, O., & Ozer, E. (2013). A functional milk beverage: Kefir. Agro Food Industry Hi-Tech, 24(6), 53-55.
- [3] Fouladgar, S., Shahraki, A. F., Ghalamkari, G. R., Khani, M., Ahmadi, F., & Erickson, P. (2016). Performance of Holstein calves fed whole milk with or without kefir. Journal of Dairy Science, 99(10), 8081-8089.
- [4] Yilmaz-Ersan, L., Ozcan, T., Akpinar-Bayazit, A., & Sahin, S. (2018). Comparison of antioxidant capacity of cow and ewe milk kefirs. Journal of Dairy Science, 101(5), 3788-3798.
- [5] Bensmira, M., & Jiang, B. (2011). Organic acids formation during the production of a novel peanut-milk kefir beverage. British Journal of Dairy Sciences, 2(1), 18-22.
- [6] El-Salam, M.H.A., & El-Shibiny, S. (2011). A comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. Dairy Science and Technology, 91(6), 663.
- [7] Gul, O., Mortas, M., Atalar, I., Dervisoglu, M., & Kahyaoglu, T. (2015). Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. Journal of Dairy Science, 94-6(3), 1517-1525.

- [24] Modzelewska-Kapitula, M., & Klebukowska, L. (2009). Investigation of the potential for using inulin HPX as a fat replacer in yoghurt production. *International Journal of Dairy Technology*, 62(2), 209-214.
- [25] Tratnik, L., Božanić, R., Herceg, Z., & Drgalić, I.D.A. (2006). The quality of plain and supplemented kefir from goat's and cow's milk. *International Journal of Dairy Technology*, 59(1), 40-46.
- [26] Rinaldoni, A.N., Campderrós, M.E., & Padilla, A.P. (2012). Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultrafiltered soymilk concentrate added with inulin. *LWT-Food Science and Technology*, 45(2), 142-147.
- [27] Bezerra, M.F., Souza, D.F., & Pcorreia, R.T. (2012). Acidification kinetics, physicochemical properties and sensory attributes of yoghurts prepared from mixtures of goat and buffalo milks. *International Journal of Dairy Technology*, 65(3), 437-443.
- [28] Temiz, H., & Dağyıldız, K. (2017). Effects of microbial transglutaminase on physicochemical, microbial and sensorial properties of Kefir produced by using mixture sow's and Soymilk. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 37(4), 606-616.
- microfiltered fermented milk. *Journal of Food Engineering*, 99(2), 124-6-135.
- [18] Akın, M. B., Akın, M. S., & Kırmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104(1), 93-99.
- [19] Staffolo, M.D., Sato, A.C., & Cunha, R.L. (2017). Utilization of plant dietary fibers to reinforce low-calorie dairy dessert structure. *Food and Bioprocess Technology*, 10(5), 914-925.
- [20] Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N.P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17(6), 657-665.
- [21] Juan, B., Zamora, A., Quintana, F., Guamis, B., & Trujillo, A.J. (2013). Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66(4), 478-483.
- [22] Mei, J., Feng, F., & Li, Y. (2017). The effect of isomaltooligosaccharide as a fat replacer on the quality of nonfat kefir manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 70(3), 407-414.
- [23] Karimi, R., Azizi, M.H., Ghasemlou, M., & Vaziri, M. (2015). Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers*, 119, 4-65-100.

Effect of inulin on physico-chemical, microbial and sensory properties of the kefir produced of buffalo milk

Ghasab-nezhad, M.¹, Hojjati, M.^{2*}, Jooyandeh, H.²

1. MS Graduated, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan

2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan

(Received: 2019/04/29 Accepted: 2019/07/03)

Kefir is a fermented dairy drink that are produced using kefir grain and has beneficial effects on human health. In this study, the effects of the addition of Inulin (0.5, 1, 1.5%) on the physicochemical (pH, acidity, viscosity, syneresis and color), microbial (lactic acid bacteria and yeast) and organoleptic characteristics of kefir prepared with buffalo milk were investigated during 15 days refrigerator storage. The results showed that with increase of inulin content, the acidity and viscosity of kefir samples increased during storage period, while with increasing inulin content, the syneresis of the samples decreased on the last day of storage. Inulin also increased the number of lactic acid bacteria in kefir, indicating that the inulin was a prebiotic, but did not affect yeast growth. In addition, inulin reduced the lightness of kefir. Sensory evaluation results showed that inulin reduced the odor, taste and texture and had a negative effect on the overall acceptance of samples. According to the findings of this study, although inulin increased the probiotic properties of kefir, it had a negative effect on syneresis and sensory attributes of kefir.

Keywords: Fermentation, Dairy beverage, Probiotic, Kefir, Inulin

*Corresponding Author E-Mail Address: hojjati@asnrukh.ac.ir hojjati@gmail.com hojjatifood@gmail.com