مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی تاثیر سولفات منگنز و ویتامین B_{12} بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی شیر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5

معصومه رنجبر حسن باروق [۱]، مرضیه بلندی [۲*]، عبدالرضا محمدی نافچی [۲]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

۲- دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله:

تاریخ دریافت: ۹۹/۰٤/۲٦

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۸/۱٤

کلمات کلیدی:

باکتری‌های اسید لاکتیک،

پروبیوتیک،

زمان تخمیر،

سولفات منگنز،

ویتامین B_{12}.

DOI: 10.52547/fsct.18.02.10

*مسئول مکاتبات:

bolandi75@gmail.com

چکیده

محصولات لبنی غنی شده با عناصر معدنی و ویتامین‌ها نقش مهمی در توسعه غذاهای عملگرا ایفا می‌کنند. در بین باکتری‌های اسیدلاکتیک، استارترهای ماست دارای جایگاه ویژه‌ای از دیدگاه صنعت هستند که نقش سلامت‌زایی آن‌ها نیز تایید شده است. طولانی بودن زمان تخمیر توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک در فرآورده‌های لبنی، مستلزم صرف زمان و انرژی بالایی بوده و منجر به افزایش هزینه‌های تولید می‌شود. بنابراین شناسایی شرایط مناسب رشد سویه‌های مختلف و عوامل تاثیرگذار بر آن‌ها از ملزومات اولیه تولید می‌باشد. از این رو، در این پژوهش، تاثیر افزودن سولفات منگنز (صفر، ۰/۰۰٦ و ۰/۰۳درصد) و ویتامین B_{12} (صفر و ۰/۵پی‌پی‌ام) به تنهایی و همچنین در ترکیب با یکدیگر بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی شیر تخمیر شده تولید شده در حضور باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 بررسی شد. نتایج کاهش pH و افزایش اسیدیته را در طول دوره نگه‌داری نشان داد. مقادیر شاخص‌های L* و b* کاهش و میزان a* نیز طی دوره نگه‌داری افزایش یافت ($P<0/05$). همچنین ویژگی‌های بافتی و میزان آب‌اندازی در نمونه‌های حاوی ۰/۰۰٦ درصد سولفات منگنز و ۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} به تنهایی و تیمار ترکیبی حاوی ۰/۰۰٦ درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} به صورت معناداری بهبود یافت($P<0/05$). با افزایش طول دوره نگه‌داری، مزه ترشی شیر تخمیر شده غنی‌شده با ویتامین و منگنز افزایش یافت ($P<0/05$). در حالی که بدبویی و بدطعمی در این نمونه‌ها حس نشد. همچنین زمان نگه‌داری نیز بر این ویژگی‌های حسی تأثیر معنی‌داری نداشت ($P>0/05$).

۱- مقدمه

کاربرد عناصر معدنی و ویتامین‌ها در محصولات لبنی می‌تواند سبب تولید محصولات عملگرا[1] با خواص سلامت‌بخشی برای مصرف‌کنندگان گردد. تأثیر مطلوب برخی از این افزودنی‌ها بر رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک (LAB)[2] و پروبیوتیک‌ها به عنوان محرک رشد موجب افزایش متابولیسم میکروارگانیسم‌ها و کاهش زمان تخمیر شیر شده و به دنبال آن کاهش هزینه‌های تولید را به همراه دارند[۱]. در صنعت لبنیات، باکتری‌های اسید لاکتیک به طور گسترده به عنوان کشت آغازگر[3] استفاده می‌شوند. رشد و فعالیت این باکترها می‌تواند تحت تأثیر محیط کشت به عنوان تأمین کننده ترکیبات محرک رشد، یون‌های فلزی و ویتامین‌های لازم برای رشد و فعالیت متابولیکی باکتری‌ها قرار گیرد[۲]. علاوه بر موارد ذکر شده، سوش میکروارگانیسم، حالت فیزیولوژیکی آن، نوع حامل پروبیوتیک، پری‌بیوتیک‌های مورد استفاده و همچنین شرایط محیطی از جمله فعالیت آبی، پتانسیل اکسیداسیون-احیاء و شرایط نگه‌داری نیز روی رشد و زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها موثر هستند[۱و۳]. مطالعات نشان داده است که یون‌های فلزی از جمله Mn^{2+} و Mg^{2+} به عنوان تقویت کننده فعالیت آنزیمی نقش مهمی در رشد و فعالیت متابولیکی باکتری‌های اسید لاکتیک ایفا می‌کنند[٤]. علاوه بر عناصر معدنی، ویتامین‌ها نیز در فرایند متابولیسم سلولی موثر بوده و موجب افزایش تقسیم سلولی می‌شوند. از طرف دیگر ویتامین‌ها پیش‌ساز آنزیم‌های مختلفی هستند که جهت انجام واکنش‌های بیوشیمیایی حیاتی در سلول‌های زنده ضروری بوده و باعث تبدیل مواد غذایی به ATP[4] می‌گردند. در بین ویتامین‌ها، ویتامین‌های گروه Bبخصوص B_{12} نقش مهمی در رشد و متابولیسم باکتری‌های اسیدلاکتیک ایفا می‌کنند[٥]. ویتامین B_{12} به عنوان کوفاکتور، دارای کوآنزیم آ بوده که در واکنش‌های کربوکسیلاسیون و همچنین در تقسیم سلولی شرکت می‌کند[٦]. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* به عنوان سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* شناخته شده‌اند. پروبیوتیک‌ها اجزاء فعال زیستی محصولات لبنی تخمیری فراسودمند هستند که اثرات ضد جهش‌زا، ضد سرطان‌زا، بهبود متابولیسم لاکتوز و تحریک سیستم ایمنی بدن برای آن‌ها مطرح شده است[۱]. باتوجه به آهسته بودن میزان رشد باکتری‌های پروبیوتیک در حین تخمیر و به دنبال آن کاهش سرعت تخمیر شیر، طولانی‌تر شدن زمان آن می‌تواند بر عطر و بوی محصول نهایی موثر باشد[۷]. از این رو یکی از راه‌های افزایش سرعت رشد این باکتری‌ها، تقویت ویژگی غذا بعنوان سوبسترا، با افزودن ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه و عناصر معدنی می‌باشد. در این ارتباط در دو پژوهش مختلف، یائو و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند افزودن ویتامین B_9، ویتامین ث و بیوتین جهت تحریک رشد *لاکتوباسیلوس هلویتیکوس* و افزایش متابولیسم گلوکز ضروری بودند[۸]. همچنین دمیرهان و همکاران (۲۰۱۳) نیز به تاثیر مثبت املاح معدنی و ویتامین‌های گروه B بر رشد دانه‌های کفیر اشاره کردند[۹]. علاوه بر این، کاپراسوب و همکاران (۲۰۱۸) اعلام کردند که ویتامین‌های گروه B می‌توانند به عنوان منبع جدید پری‌بیوتیک برای تخمیر سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* استفاده شوند[۱۰]. با توجه به این که اطلاعات مختصری در رابطه با غنی‌سازی محصولات لبنی با سولفات منگنز و ویتامین B_{12} به عنوان ترکیبات فراسودمند و محرک رشد سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* وجود دارد، هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی تأثیر ترکیبات فوق بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی شیر تخمیر شده تولیدی می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

در این تحقیق باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* از شرکت طوبی پایا ایران و سویه پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-٥ از شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه شد. تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش با خلوص آزمایشگاهی از شرکت‌های مرک و سیگما تهیه شدند.

۲-۲-روش تولید شیر تخمیر شده

برای تهیه شیر تخمیر شده پروبیوتیک، از شیر بازساخته (شیرخشک بدون چربی[5] پگاه گرگان) استفاده شد که بعد از اعمال فرآیند حرارتی ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه،

1. Functional foods
2. Lactic acid bacteria
3. Starter culture
4. Adenosine triphosphate
5. Skim milk power

تا دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سرد شد. سپس ۵درصد شیر خشک بدون چربی (وزنی–وزنی)، ٤درصد پودر آب پنیر شیرین (کارخانه شیر پگاه گرگان)(وزنی–وزنی) به صورت بازساخته، ۰/۵درصد دکستروز (وزنی–وزنی) (شرکت ایران)، سولفات منگنز مونوهیدارته با درصد خلوص۸۰–۷۸درصد (شرکت صنایع شیمیایی اصفهان) در سه سطح (صفر، ۰/۰۰٦ و ۰/۰۳درصد) و ویتامینB_{12} در دو سطح (صفر و ۰/۵پی‌پی‌ام) به تنهایی و همچنین در ترکیب با یکدیگر (۰/۰۰٦ درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12}) که براساس پیش تیمارهای انجام شده تعیین شدند، جهت غنی‌سازی محصول حاصله به مخلوط فوق اضافه شدند. یک تیمار هم به عنوان شاهد (فاقد سولفات منگنز و ویتامین B_{12}) در نظر گرفته شد[۱و۱۱]. تمامی مواد فوق توسط همزن مخلوط گردیدند و سپس باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*La-۵ به صورت جداگانه به تعداد ٤/۱ و ۵/۲ کلونی در هر میلی‌لیتر به عنوان کشت آغازگر تلقیح شدند و به ترتیب در دمای ٤۲ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه میزان pH، اسیدیته، آب‌اندازی[1]، پارامترهای بافتی شامل سفتی[2] و چسبندگی[3]، شاخص‌های رنگی و ارزیابی حسی محصول خنک شده در روزهای ۱و۲۱ دوره نگه‌داری در یخچال (دمای ٤ درجه سانتی‌گراد) ارزیابی گردید[۱۲].

۲–۳– آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۲–۳–۱– اندازه‌گیری pH و اسیدیته

pH محصول با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm، ۸۲۷، ساخت سوئیس) و اسیدیته قابل تیتر نمونه‌ها برحسب درجه دورنیک اندازه‌گیری شد[۱۳].

۲–۳–۲– اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی

۱۰گرم نمونه شیر تخمیر شده با دور g ×۱۷٦ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۰درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ (LC-04 Zenithlab, CENTRIFUGE، ساخت چین) شد. مایع شفاف رویی دور ریخته شد و لوله به همراه فاز پایینی وزن گردید. میزان آب‌اندازی شیر تخمیر شده براساس وزن اندازه‌گیری شده شیر تخمیر شده به وزن اولیه آن بیان شد[۱٤].

۲–۳–۳– رنگ سنجی

تعیین رنگ نمونه‌ها با دستگاه رنگ سنج هانترلب (Huter Lab, Flex Color, USA)انجام شد. قبل از انجام آزمون، دستگاه با کاشی‌های سفید و سیاه کالیبره و از کاشی زرد جهت کنترل دستگاه استفاده شد. اساس رنگ سنجی در این سیستم، سنجش شاخص‌های *L، *a و*b بود که به ترتیب نشان دهنده روشنی، رنگ سبز تا قرمز و آبی تا زرد هستند[۱٤].

۲–٤– ارزیابی ویژگی‌های بافتی

ارزیابی ویژگی‌های بافتی نمونه شیر تخمیر شده تولیدی از جمله سفتی و چسبندگی آن با استفاده از دستگاه بافت سنج (CT3 Texture Analyzer with Texture Pro CT software, Brookfield AMETEK, USA) صورت گرفت. در این آزمون پروب استوانه‌ای با سطح مقطع صاف به قطر ۳۵ میلی‌متر و سرعت حرکت ۱ میلی‌متر بر ثانیه مورد استفاده قرار گرفت[۱٤].

۲–۵– ارزیابی حسی نمونه‌های شیر تخمیر شده

ارزیابی حسی نمونه‌های شیر تخمیر شده از لحاظ مزه ترش، بدبویی و بدطعمی با استفاده از ۲۰ نفر ارزیاب آموزش دیده صورت گرفت و از آن‌ها درخواست گردید که در فرم‌های پرسشنامه‌ای که به این منظور تدوین گردیده بود، به هریک از فاکتورهای اشاره شده با استفاده از مقیاس ۹ نقطه‌ای (۱=غیر قابل درک تا ۹= به شدت قوی) امتیاز دهند. برای جلوگیری از تداخل طعم‌ها در زمان ارزیابی، داورها قبل از هر آزمایش چشایی، دهان خود را با آب ولرم شستشو دادند [۱۵].

۲–٦– تجزیه و تحلیل آماری نتایج

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲.۰ انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج توسط آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۹۵ درصد انجام شد. نمودارهای مربوطه با Excel نسخه ۲۰۱۳ رسم گردیدند. کلیه آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و بافتی در سه تکرار انجام شدند. نتایج نیز به صورت میانگین± انحراف معیار گزارش گردید.

1. Syneresis
2. Hardness
3. Adhesiveness

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های شیر تخمیر شده غنی شده طی دوره نگه‌داری

در شکل‌های ۱و۲ به ترتیب تغییرات pH و اسیدیته شیر تخمیر شده غنی شده با سولفات منگنز و ویتامینB_{12} در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* (A) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-۵ (B) نشان داده شده است. با توجه به شکل ۱و۲-(A) تغییرات pH و اسیدیته شیر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* نشان داد که در روز اول، اختلاف آماری معنی‌داری بین همه تیمارهای مورد بررسی با تیمار حاوی ۰/۵پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} وجود دارد به طوری که این تیمار منجر به کاهش قابل توجه pH در مقایسه با نمونه شاهد شد ($P<$۰/۰۵). علت عدم تغییر قابل توجه pH و اسیدیته در این تیمارها (تیمار ترکیبی و تیمارهای حاوی سطوح ۰/۰۰۶و ۰/۵درصد منگنز)($P>$۰/۰۵) می‌تواند ناشی از تداخل رشد باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* با باکتری‌های مایه کشت باشد که منجر به تولید آهسته اسید در باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود[۳]. اما در روز۲۱ نگه‌داری، حضور سولفات منگنز در سطح ۰/۰۳درصد اثر متفاوت معناداری بر فعالیت متابولیکی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* داشت و باعث تسریع معنادار کاهش pH و افزایش اسیدیته گردید($P<$۰/۰۵). در حالی که کاهش سولفات منگنز از ۰/۰۳ به ۰/۰۰۶ درصد روی کاهش pH موثر نبود. بررسی‌ها نشان داد با افزودن ۰/۵پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} به محیط کشت، سرعت نزول pH و افزایش اسیدیته قابل توجه بود به طوری که میزان غلظت اسیدلاکتیک تولیدی در این تیمار به طور معناداری افزایش یافت($P<$۰/۰۵). اما نکته قابل توجه در این پژوهش، عدم وجود اختلاف آماری معنی‌دار بین دو تیمار حاوی ۰/۵پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} و تیمار حاوی ۰/۰۳درصد سولفات منگنز بود($P>$۰/۰۵). حداقل میزان pH، حداکثر اسیدیته و بیشترین غلظت اسیدلاکتیک تولیدی در طی تخمیر توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* در تیمار ترکیبی حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} در روز۲۱ تعیین شد($P<$۰/۰۵) که اختلاف آماری معنی‌داری بین این تیمار و تیمار حاوی ویتامینB_{12} به تنهایی وجود نداشت($P>$۰/۰۵). نتایج بدست آمده در تیمار ترکیبی طی دوره نگه‌داری نمونه‌ها می‌تواند ناشی از اثر هم‌افزایی[1] بین این دو ترکیب در کاهشpH و افزایش اسیدیته باشد. تغییرات pH و اسیدیته شیر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-۵ در شکل ۱و۲-(B) حاکی از حداقل میزان pH، حداکثر اسیدیته و بیشترین غلظت اسیدلاکتیک تولید شده در طی تخمیر در تیمار ترکیبی حاوی ۰/۰۰۶ درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} و تیمار حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز به تنهایی در روز اول نگه‌داری بود($P<$۰/۰۵) که اختلاف آماری معنی‌داری بین دو تیمار ذکر شده و نمونه شاهد وجود نداشت($P>$۰/۰۵). در روز ۲۱ نیز به صورت قابل توجهی pH تیمار ترکیبی، تیمار حاوی ویتامینB_{12} به تنهایی و تیمار حاوی ۰/۰۳درصد سولفات منگنز در مقایسه با نمونه شاهد و تیمار حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز کاهش یافت($P<$۰/۰۵) که نشان‌دهنده تاثیر معنی‌دار نوع تیمار و زمان مورد بررسی روی محصولات تولید شده توسط باکتری‌های لاکتیکی طی تخمیر لاکتوز می‌باشد. در واقع سطوح مختلف منگنز و همچنین حضور ویتامینB_{12} توانست در دو بازه زمانی مورد بررسی بر سرعت افت pH، افزایش اسیدیته نمونه‌ها و همچنین غلظت اسیدلاکتیک تولیدی توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-۵ در مقایسه با نمونه شاهد موثر واقع شود.

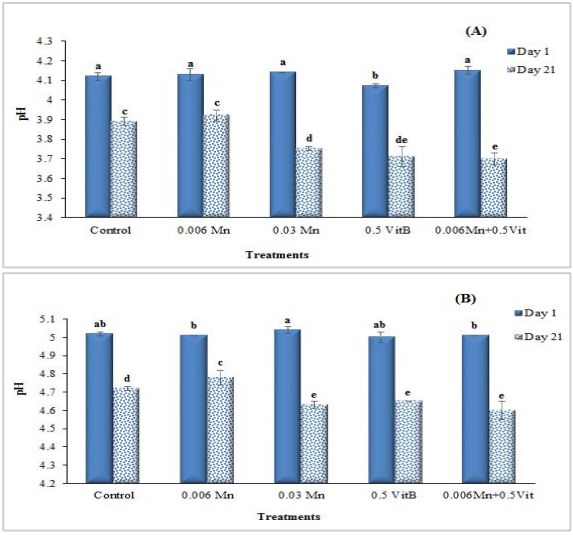

Fig 1 pH changes of fermented milk enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12} in the presence of *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* (A) and *Lactobacillus acidophilus* La-5 (B) during storage
Different letters shows significant differences between the treatments (P<0.05).

1. Synergistic effect

این نتایج با نتایج اعلام شده توسط سانتیلان-اورکوئیزا و همکاران (۲۰۱۷) هم‌خوانی داشت[۱۴].

آن‌ها بیان کردند افزودن عناصر کلسیم، آهن و زینک به فرمولاسیون محصولات غذایی اسیدی نظیر ماست منجر به رهایش اسیدلاکتیک شده و پیامد آن افزایش اسیدیته و کاهش pH تیمارها طی دوره نگه‌داری می‌باشد[۱۴]. بورگین و همکاران (۲۰۱۴) ثابت کردند که وجود Mn^{+} در محیط کشت، رشد *لاکتوباسیلوس کازیی* را افزایش می‌دهد[۱۶و۱۷]. در بررسی تاثیر حضور نمک‌های آلی و ویتامین‌ها در فرآورده‌های تخمیری نتایج متفاوتی توسط پژوهش‌های مختلف اعلام شدند. از آن جمله زنامیروسکا و همکاران (۲۰۱۹) دریافتند که افزودن نمک‌های سیترات و پیدولات منیزیم به شیر بز تخمیری تغییر معنی‌داری در میزان pH محصولات تولیدی نسبت به نمونه شاهد ایجاد نکرد[۱۸]. آریانا (۲۰۰۳) بیان کرد که افزودن سطوح مختلف اسیدفولیک به فرمولاسیون ماست قالبی، تأثیر معنی‌داری بر میزان pH نمونه‌ها نداشت[۱۹] که با نتایج بدست آمده در روز اول پژوهش حاضر همسو بود.

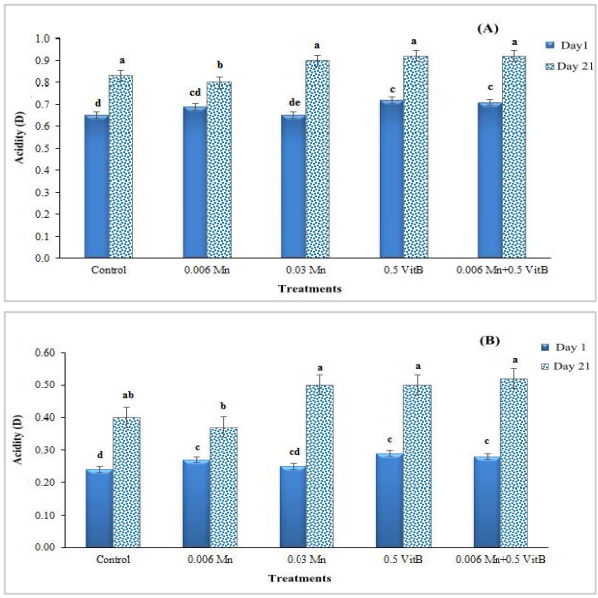

Fig 2 Acidity changes of fermented milk enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12} in the presence of *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* (A) and *Lactobacillus acidophilus* La-5 (B) during storage
Different letters shows significant differences between the treatments (P<0.05).

اما سزاجنار و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که غنی‌سازی با لاکتات منیزیم سبب افزایش معنی‌دار pH و کاهش اسیدیته نسبت به نمونه شاهد گردید[۲۰]. دیانتی و همکاران (۲۰۱۸) نیز علی‌رغم نوسانات pH، قابل پذیرش بودن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی کفیر شیر بز غنی شده با ویتامین‌های B_{12} و D_3 را اعلام کردند[۲۱].

۳-۲- میزان آب‌اندازی نمونه‌های شیر تخمیر شده غنی شده در طول دوره نگه‌داری

یکی از مهم‌ترین اهداف صنعت، تولید محصولات مطلوب با حداقل آب‌اندازی در طی نگه‌داری و یا حمل و نقل است. ساختار ماست را می‌توان به صورت شبکه سه بعدی از زنجیره‌ها و خوشه‌های میسل‌های کازئین که شکل کروی خود را حفظ کرده‌اند، تعریف کرد. آب‌اندازی عموماً به دلیل تغییر و شکست در شبکه پروتئینی ماست، چروکیدگی ساختار آن و کاهش قدرت اتصال پروتئین‌های آب پنیر به شبکه کازئینی در طی نگه‌داری و اعمال تنش رخ می‌دهد[۲۲]. نتایج آب‌اندازی شیر تخمیر شده غنی شده با سولفات منگنز و ویتامین B_{12} که در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی*(A) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5(B) تولید شدند در شکل ۳ نمایش داده شده است. با توجه به شکل ۳-(A) اثر نوع تیمار و زمان روی شیر تخمیر شده تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* معنی‌دار ارزیابی شد(P<۰/۰۵). بیشترین میزان آب‌اندازی در روز اول، در تیمار حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز رخ داد که اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت(P>۰/۰۵). در حالی که افزایش میزان سولفات منگنز به ۰/۰۳درصد و از طرف دیگر حضور ویتامین B_{12} منجر به کاهش آب خارج شده از بافت در مقایسه با نمونه شاهد شد هر چند که از نظر آماری نتایج معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). اما کمترین درصد آب‌اندازی در تیمار ترکیبی حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه شاهد و سایر تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش در روز اول داشت(P<۰/۰۵). در روز ۲۱ نگه‌داری نیز حداقل آب خارج شده از بافت در تیمار ترکیبی در مقایسه با نمونه شاهد و تیمارهای حاوی۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} و ۰/۰۳ درصد سولفات منگنز به تنهایی رخ داد(P<۰/۰۵) که نشان دهنده تاثیر غلظت سولفات منگنز در خروج مایعات از بافت بود. همان طور که در شکل ۳-(B) نمایش داده شده است اثر نوع تیمار و زمان مورد بررسی روی شیر تخمیر شده تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 معنی‌دار

بود($P<$۰/۰۵). بیشترین میزان آب‌اندازی در روز۱، در تیمار حاوی ۰/۰۰٦درصد سولفات منگنز رخ داد که اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه شاهد داشت($P<$۰/۰۵). از طرف دیگر افزایش میزان سولفات منگنز به ۰/۰۳درصد و همچنین حضور ۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} منجر به کاهش آب خارج شده از بافت در مقایسه با نمونه شاهد شد هر چند که از نظر آماری نتایج حاصل معنی‌دار نبود($P>$۰/۰۵). اما کمترین درصد آب‌اندازی در تیمار ترکیبی حاوی ۰/۰۰٦درصد سولفات منگنز+۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} مشاهده شد که اختلاف آماری معنی‌داری با نمونه شاهد و سایر تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش در روز اول داشت($P<$۰/۰۵). در روز ۲۱نگه‌داری نیز حداقل آب خارج شده از بافت در تیمار ترکیبی در مقایسه با نمونه شاهد و تیمارهای حاوی ۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} و ۰/۰۳ درصد سولفات منگنز به تنهایی رخ داد($P<$۰/۰۵) که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی سولفات منگنز و ویتامینB_{12} در کاهش خروج مایعات از بافت شیر تخمیر شده بود. لازم به ذکر است تیمارهای حاوی ۰/۵پی‌پی‌ام ویتامینB_{12} و ۰/۰۳درصد سولفات منگنز به تنهایی اختلاف آماری معنی‌داری با یکدیگر در سطح مورد بررسی نداشتند($P>$۰/۰۵). همچنین با مقایسه روند تغییرات در دو زمان مورد بررسی، شاهد افزایش میانگین آب‌اندازی نمونه‌های شیر تخمیر شده تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیر گونه *دلبروکی* هستیم($P<$۰/۰۵، شکل۳-A) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*-La۵ ($P<$۰/۰۵، شکل۳-B) در روز۲۱ در مقایسه با روز۱ نگه‌داری هستیم. نتایج بدست آمده از میزان آب‌اندازی نمونه‌های مختلف شیر تخمیر شده تولیدی در این پژوهش، نتایج حاصل از تغییرات اسیدیته و pH که در بخش قبل (۳-۱) به آن‌ها پرداختیم را تایید کردند و همان‌طور که در شکل٤-(A) و (B) نشان داده شده است، مؤید وجود ارتباط معنی‌دار بین میزان اسیدیته و pH شیرهای تخمیری و درصد آب‌اندازی بود. در واقع با کاهش pH نمونه‌ها، شاهد افزایش میزان آب‌اندازی هستیم (R^2=۰/۹۹) در حالی که با افزایش اسیدیته درصد آب‌اندازی نمونه‌ها افزایش یافت (R^2=۰/۸۰). مشکلی که در خصوص فرآورده‌های تخمیری وجود دارد افزایش میزان اسید در طول مدت زمان ذخیره‌سازی محصول است که به اسیدی شدن بیش از حد معروف بوده و ناشی از فعال ماندن آنزیم بتا-گالاکتوزیداز می‌باشد. در این مواقع ممکن است pH به کمتر از ٤/۲ برسد و باعث جدا شدن سرم و عدم تشکیل شبکه ژلی مناسب در حین دوره نگه‌داری شده و از طرف دیگر زنده‌مانی باکتری‌های مولد اسیدلاکتیک به دلیل افزایش یون‌های هیدروژن در مقایسه با یون‌های لاکتات تحت تأثیر قرار می‌گیرد[۲۲].

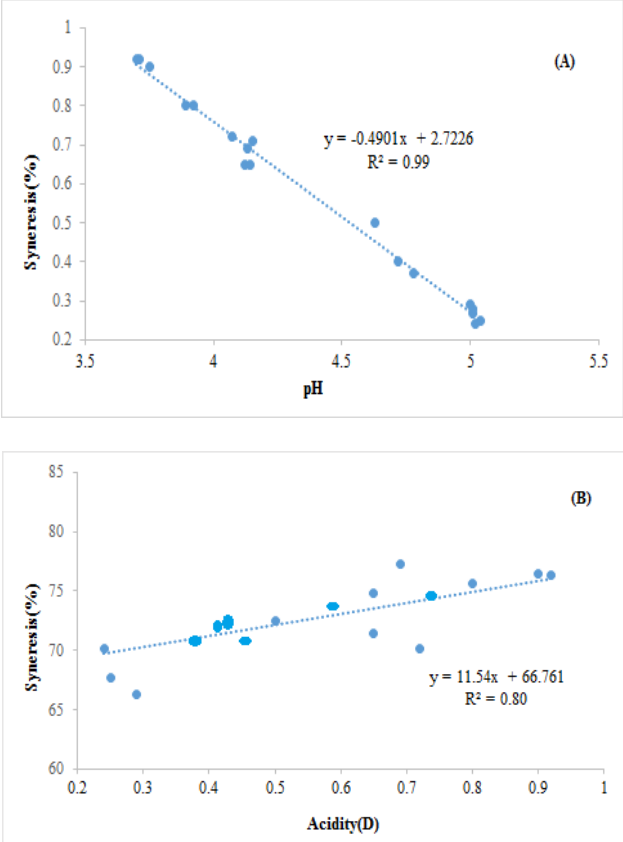

Fig 3 Syneresis amount of fermented milk enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12} in the presence of *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* (A) and *Lactobacillus acidophilus* La-5 (B) during storage
Different letters shows significant differences between the treatments (P<0.05).

نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج آچانتا و همکاران (۲۰۰۷) هم‌خوانی داشت[۲۳]. آن‌ها افزایش سینرسیس ماست قالبی غنی‌شده با آهن، سلنیوم، منگنز و منیزیم را طی دوره نگه‌داری در یخچال و همچنین آب‌اندازی کمتر آن‌ها را در مقایسه با شاهد به ظرفیت نگه‌داری آب بالاتر نسبت دادند[۲۰و۲۳] که ناشی از قابلیت شبکه پروتئینی در بدام انداختن آب ماست می‌باشد [۱۹و۲۲].

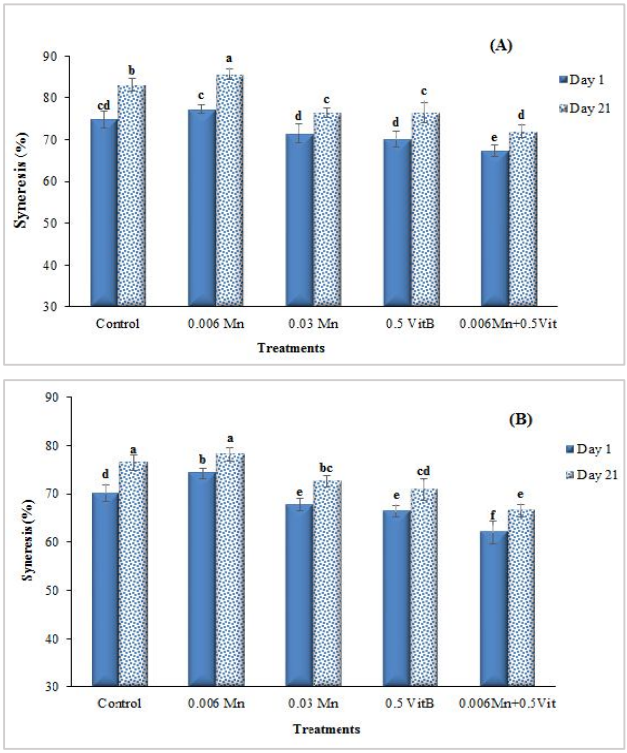

Fig 4 Correlation of syneresis versus pH (A) and acidity (B) of fermented milk enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12}

۳-۳- رنگ سنجی نمونه‌های شیر تخمیر شده غنی شده در طول دوره نگه‌داری

شاخص‌های رنگی شیر تخمیر شده غنی شده با سولفات منگنز و ویتامینB_{12} که در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*۵-La تولید شدند در جدول‌های۱و۲ به ترتیب درج شده‌اند. با توجه به جدول۱ اثر نوع تیمار و زمان روی شاخص‌های رنگی شیر تخمیر شده تولید شده در حضور هر دو باکتری معنی‌دار ارزیابی شد($P<$۰/۰۵). همه نمونه‌های مورد بررسی در روز۱ دوره نگه‌داری، دارای شدت روشنایی(L*) بالاتری در مقایسه با روز۲۱ بودند($P<$۰/۰۵). در مقاطع یکسان دوره نگهداری نیز، بجز تیمار حاوی ۰/۰۳درصد سولفات منگنز، سایر تیمارهای مورد بررسی، از نظر میزان روشنایی نمونه‌های تولیدی اختلاف آماری قابل توجهی با یکدیگر نداشتند($P>$۰/۰۵). شاخص a* نیز در همه نمونه‌های مورد بررسی در مقایسه با نمونه شاهد پایین‌تر بود($P<$۰/۰۵). همچنین با بررسی روند تغییرات این شاخص، افزایش a* در همه نمونه‌های مورد بررسی در روز۲۱ در مقایسه با روز۱ نگه‌داری تایید شد($P<$۰/۰۵). لازم به ذکر است که اختلاف میانگین میزان شاخص a* بین دو تیمار ترکیبی و تیمار حاوی ویتامینB_{12} به تنهایی از نظر آماری معنی‌دار نبود($P>$۰/۰۵، جدول۱). بالاترین میزان شاخص b* در دو تیمار ترکیبی و تیمار حاوی ویتامینB_{12} به تنهایی مشاهده شد که اختلاف آن‌ها معنی‌دار نبود($P>$۰/۰۵). تیمارهای حاوی سطوح مختلف سولفات منگنز(۰/۰۰۶ و ۰/۰۳درصد) نیز از نظر شاخص b* اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشتند($P>$۰/۰۵). روند تغییرات شاخص b* در طی دوره نگه‌داری نیز نزولی ارزیابی شد($P<$۰/۰۵). در پژوهش حاضر منفی بودن پارامتر a* و مثبت بودن پارامتر b* نشان می‌دهد که کلیه نمونه‌های شیر تخمیر شده دارای رنگ سبز-زرد بودند ولی شدت آن با یکدیگر متفاوت بود. تغییرات رنگی در شیر می‌تواند به میزان پراکندگی و توزیع میسل‌های کازئین و گلبول‌های چربی در شیر مرتبط باشد. در واقع با کاهش pH و افزایش اسیدیته نمونه‌های مورد بررسی در طول دوره نگهداری و به دنبال آن هیدرولیز کازئین‌ها بعنوان عامل اصلی رنگ شیر، انعکاس نور کاهش می‌یابد که منجر به کاهش شاخص‌های رنگی L* و b* در نمونه‌ها می‌شود. از طرف دیگر حضور رنگدانه‌ها مانند ریبوفلاوین (B_2) تولید شده توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک و همچنین نوع، غلظت و رنگ ذاتی ترکیبات افزوده شده به شیر جهت غنی‌سازی آن از جمله ویتامینB_{12}، می‌تواند روی فاکتورهای رنگ سنجی موثر باشد[۲۴و۲۵]. پژوهش‌های مشابه انجام شده در این زمینه نیز صحت نتایج تحقیق حاضر را تایید کردند به طوری که سانتیلان-یورکوئیزا و همکاران (۲۰۱۷) اعلام کردند که افزودن آهن به نمونه‌ها سبب کاهش روشنایی و زردی رنگ و افزایش قرمزی در شیر تخمیر شده طی دوره انبارمانی گردید که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت نشان داد[۱۴]. همچنین شدت تیره‌گی ایجاد شده در نمونه‌ها با غلظت بکار رفته این عناصر رابطه مستقیم داشت[۱۸]. آریانا (۲۰۰۳) بیان کرد که به دلیل رنگ زرد ذاتی اسید فولیک، افزودن این ویتامین به ماست قالبی سبب کاهش شاخص L* و افزایش شاخص b* نسبت به نمونه شاهد گردید[۱۹]. کاهش معنی‌دار روشنایی شیرهای تخمیری غنی شده با نمک‌های منیزیم در مقایسه با نمونه شاهد از جمله گزارش‌های دیگر در این زمینه بود[۲۶].

Table 1 Color parameters of fermented milk with *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12}

Treatment	Storage time (Day)	a*	b*	L*
Control	1	-4.39±0.05^{d}	12.46±0.27^{c}	98.39±0.49^{a}
	21	-3.09±0.06^{a}	8.86±0.49^{e}	93.39±1.25^{b}
0.006% Mn	1	-4.67±0.09^{e}	12.29±0.34^{c}	98.72±0.62^{a}
	21	-3.37±0.08^{c}	8.26±0.51^{e}	94.21±0.99^{b}
0.03% Mn	1	-4.56±0.05^{e}	12.69±0.25^{bc}	93.54±0.73^{b}
	21	-3.17±0.09^{ab}	8.57±0.31^{e}	89.71±1.12^{c}
0.5 ppm Vit B_{12}	1	-4.65±0.07^{e}	13.24±0.31^{ab}	97.96±0.69^{a}
	21	-3.27±0.05^{bc}	10.09±0.39^{d}	92.15±0.87^{b}
0.006% Mn+0.5ppm Vit B_{12}	1	-4.61±0.08^{e}	13.41±0.17^{a}	98.02±0.52^{a}
	21	-3.35± 0.06^{c}	9.97±0.47^{d}	92.91±0.69^{b}

Different letters shows significant differences between the treatments in rows (P<0.05).

Table 2 Color parameters of fermented milk with *Lactobacillus acidophilus* La-5 enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12}

Treatment	Storage time (Day)	a*	b*	L*
Control	1	-4.12±0.06^{d}	13.07±0.55^{bc}	97.57±0.37^{a}
	21	-2.94±0.05^{a}	9.79±0.27^{e}	94.31±0.42^{bc}
0.006% Mn	1	-4.42±0.04^{e}	13.38±0.64^{abc}	98.21±0.97^{a}
	21	-3.11±0.08^{bc}	10.25±0.41^{e}	94.95±0.61^{bc}
0.03% Mn	1	-4.39±0.08^{e}	12.79±0.32^{c}	93.91±0.62^{c}
	21	-3.02±0.09^{ab}	9.42±0.62^{e}	90.23±0.41^{d}
0.5 ppm Vit B_{12}	1	-4.47±0.09^{e}	13.92±0.41^{ab}	98.01±0.72^{a}
	21	-3.16±0.06^{bc}	11.21±0.54^{d}	95.31±0.65^{b}
0.006% Mn+0.5ppm Vit B_{12}	1	-4.43±0.09^{e}	14.06±0.27^{a}	98.34±0.81^{a}
	21	-3.21±0.07^{c}	11.67±0.32^{d}	94.51±0.52^{bc}

Different letters shows significant differences between the treatments in rows (P<0.05).

۳-٤- ارزیابی ویژگی‌های بافتی نمونه‌های شیر تخمیر شده غنی شده در طول دوره نگه‌داری

تشکیل ژل، یکی از خواص بافتی مهم شیر تخمیر شده است. این ساختار در نتیجه تجمع کازئین از طریق کاهش pH و ایجاد باند دی‌سولفیدی بین کاپا-کازئین و پروتئین‌های دناتوره شده شیر تخمیر شده تشکیل می‌شود[۲۷]. علاوه بر شرایط محیطی نظیر اسیدیته و pH، سایر پارامترها مانند ترکیبات بر پایه شیر، تیمار حرارتی بکار رفته، فرآیند تخمیر، شرایط انبارسازی و کشت آغازگر نیز نقش مهمی در تشکیل ساختار ژل دارند[۲۸]. در پژوهش حاضر، ویژگی‌های بافتی شامل چسبندگی و سفتی شیر تخمیر شده است غنی شده با سولفات منگنز و ویتامین B_{12} که در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی*(A) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-۵(B) تولید شدند در شکل ۵ نمایش داده شده است. با توجه به شکل ۵-(A) اثر نوع تیمار و زمان مورد بررسی روی چسبندگی و سفتی بافت شیر تخمیر شده تولید شده توسط *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* معنی‌دار ارزیابی شد(P<۰/۰۵). در روز۱ نگه‌داری، بافت شیر تخمیر شده تولیدی در تیمار ترکیبی و تیمار حاوی۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} در مقایسه با نمونه شاهد چسبندگی بیشتری داشت(P<۰/۰۵) که از نظر آماری میانگین میزان چسبندگی در این دو تیمار معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). نتایج مشابه موارد اشاره شده در روز۲۱ نگه‌داری نیز بدست آمد، به طوری که بیشترین میزان چسبندگی در مقایسه با نمونه شاهد و همه تیمارهای مورد بررسی فقط در تیمار ترکیبی مشاهده شد(P<۰/۰۵). بررسی سفتی شیر تخمیر شده تولیدی در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* (شکل ۵-A) در دو زمان۱و۲۱ روز نشان داد که همه تیمارهای مورد بررسی بجز تیمار حاوی ۰/۰۰٦درصد سولفات منگنز، بافت سفت‌تری در مقایسه با

نمونه شاهد داشتند که در تیمار ترکیبی سفتی شیر تخمیر شده محسوس‌تر نیز بود($P<$۰/۰۵). نتایج بدست آمده با نتایج گزارش شده توسط سانتیلان-یورکوئیزا و همکاران (۲۰۱۷) و سزاجنار و همکاران (۲۰۱۸) مطابقت داشت[۱۴و۲۰]. آن‌ها اثبات کردند که افزایش میزان سفتی بافت نمونه‌های ماست غنی شده با آهن، کلسیم، زینک و منیزیم به واکنش بین این عناصر با ماتریکس پروتئین‌های ماست برمی‌گردد که سبب قوی‌تر شدن ساختار ژلی ماست شده است[۱۴و۲۰]. چسبندگی و سفتی شیر تخمیر شده غنی شده با ویتامینB_{12} و سولفات منگنز در حضور *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-۵ به ترتیب در شکل ۵-(B) نشان داد که در دو زمان ۱و ۲۱روز، همه تیمارهای مورد بررسی بجز تیمار حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز بافت چسبنده‌تر و سفت‌تری در مقایسه با نمونه شاهد داشتند که در تیمار ترکیبی، انسجام و بهبود ویژگی‌های بافتی شیر تخمیر شده مونه تولیدی چشم‌گیر بود($P<$۰/۰۵). از طرف دیگر، بین ویژگی‌های بافتی تیمار حاوی ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز و نمونه شاهد نیز اختلاف قابل توجه آماری در سطح مورد آزمون مشاهده نشد($P>$۰/۰۵، روز۲۱ نگه‌داری). لازم به ذکر است، ماحصل نتایج بافت‌سنجی در دو زمان مورد بررسی، حاکی از کاهش میزان چسبندگی و سفتی بافت نمونه تولیدی غنی شده با ویتامین و سولفات منگنز با افزایش طول دوره نگه‌داری بود($P<$۰/۰۵). آچانتا و همکاران (۲۰۰۷)، اوکاک و کوز (۲۰۱۰) و زنامیروسکا و همکاران (۲۰۱۹) نیز نتایج مشابه با نتایج بدست آمده در این پژوهش ارائه کردند[۲۳و۲۹و۱۸]. آچانتا و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند که یون‌های منگنز و کروم می‌توانند سبب تغییر میکروساختارهای ژل ماست شده و ماتریکس ژلی بازتری که دارای ویسکوزیته کمتر و بافت نرم‌تر باشد را تشکیل دهند[۲۳]. اوکاک و کوز (۲۰۱۰) نشان دادند که با افزایش سطح مس در فرمولاسیون ماست سفتی بافت افزایش یافت که به دلیل کاهش تجمع پروتئین‌ها و کاهش میزان سرم بدام افتاده در فضاهای خالی بود[۲۹]. همچنین فرم پیدولات منیزیم منجر به افزایش سفتی بافت محصول در مقایسه با فرم‌های سیترات و لاکتات گردید[۱۸].

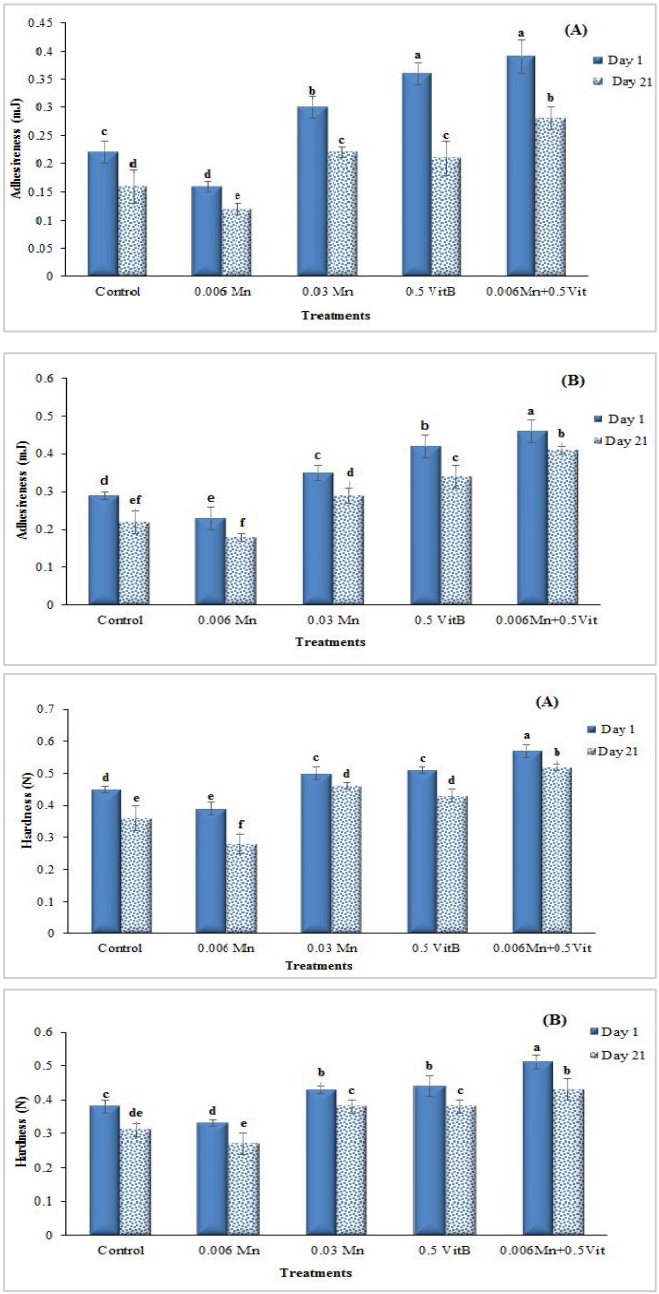

Fig 5 Textural attributes of fermented milk enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12} in the presence of *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* (A) and *Lactobacillus acidophilus* La-5 (B) during storage
Different letters shows significant differences between the treatments (P<0.05).

۳-۵- ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های شیر تخمیر شده غنی شده در طول دوره نگه‌داری

خواص حسی محصولات لبنی غنی شده، تحت تأثیر نوع مواد معدنی و میزان ترکیبات افزوده شده به محصول است[۱۸]. ویژگی‌های حسی شیر تخمیر شده غنی شده با سولفات منگنز و ویتامینB_{12} که در حضور *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*

زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 تولید شدند در جدول‌های ۳ و٤ به ترتیب درج شده‌اند. با توجه به نتایج، همه نمونه‌های مورد بررسی بجز تیمار حاوی ۰/۰۰٦درصد سولفات منگنز، دارای مزه ترشی بیشتری در مقایسه با نمونه شاهد بودند($P<$۰/۰۵، روز۱ دوره نگه‌داری) اما مزه تیمار دارای ۰/۰۰٦درصد سولفات منگنز مشابه نمونه شاهد ارزیابی شد($P>$۰/۰۵، روز۲۱ دوره نگه‌داری). همچنین مزه تیمارهای ترکیبی، دارای ۰/۵ پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} و دارای ۰/۰۳ درصد سولفات منگنز نیز از نظر آماری تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نداشتند($P>$۰/۰۵). از طرف دیگر، با افزایش طول دوره نگه‌داری، ترشی شیر تخمیر شده غنی شده با ویتامین و منگنز افزایش یافت($P<$۰/۰۵). اما نکته قابل توجه در این پژوهش این بود که نمونه‌های غنی شده در حضور باکتری‌های مورد بررسی نسبت به نمونه شاهد بدبویی و بدطعمی نداشتند. همچنین زمان نگه‌داری نیز تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های ذکر شده نمونه‌ها نداشت($P>$۰/۰۵). آچانتا و همکاران (۲۰۰۷) و سانتیلان-یورکوئیزا و همکاران (۲۰۱۷) نیز اظهار داشتند که تلفیق آهن، منیزیم، منگنز و سلنیوم [۲۳] و همچنین کلسیم و زینک [١٤] در فرمولاسیون ماست قالبی، ویژگی‌های حسی نمونه‌های تولیدی را نسبت به شاهد تغییری نداد و زمان نگه‌داری نیز تأثیر معنی‌داری بر ظاهر و عطروطعم ماست‌های تولیدی نداشت[۲۳]. غنی‌سازی ماست با لاکتات منیزیم سبب افزایش امتیاز مزه ترش و نمکی نمونه‌های تولیدی نسبت به شاهد گردید ولی تأثیری بر تلخی و بدطعمی نداشت[۲۰].

Table 3 Sensory characteristics of fermented milk with *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrooki* enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12}

Treatment	Storage time (Day)	Sour taste	Off-odor	Off-flavor
Control	1	4.31 ± 0.39^{e}	1.17 ± 0.29^{a}	1.50 ± 0.59^{a}
	21	6.21 ± 0.30^{d}	1.25 ± 0.32^{a}	1.65 ± 0.39^{a}
0.006% Mn	1	3.02 ± 0.49^{f}	1.30 ± 0.32^{a}	1.69 ± 0.43^{a}
	21	5.74 ± 0.38^{d}	1.52 ± 0.25^{a}	1.83 ± 0.21^{a}
0.03% Mn	1	6.31 ± 0.51^{cd}	1.21 ± 0.47^{a}	1.77 ± 0.37^{a}
	21	8.81 ± 0.55^{a}	1.39 ± 0.39^{a}	1.91 ± 0.23^{a}
0.5 ppm Vit B_{12}	1	7.22 ± 0.62^{bc}	1.09 ± 0.31^{a}	1.45 ± 0.31^{a}
	21	9.01 ± 0.44^{a}	1.20 ± 0.31^{a}	1.65 ± 0.22^{a}
0.006% Mn+0.5ppm Vit B_{12}	1	7.96 ± 0.23^{b}	1.34 ± 0.26^{a}	1.32 ± 0.57^{a}
	21	9.25 ± 0.29^{a}	1.39 ± 0.25^{a}	1.50 ± 0.38^{a}

Different letters shows significant differences between the treatments in rows (P<0.05).

Table 4 Sensory characteristics of fermented milk with *Lactobacillus acidophilus* La-5 enriched with manganese sulfate and vitamin B_{12}

Treatment	Storage time (Day)	Sour taste	Off-odor	Off-flavor
Control	1	2.47 ± 0.26^{e}	1.24 ± 0.31^{b}	1.68 ± 0.36^{a}
	21	4.08 ± 0.26^{d}	1.61 ± 0.42^{ab}	1.79 ± 0.29^{a}
0.006% Mn	1	1.54 ± 0.32^{f}	1.41 ± 0.46^{ab}	1.82 ± 0.38^{a}
	21	3.85 ± 0.31^{d}	1.72 ± 0.39^{ab}	1.99 ± 0.31^{a}
0.03% Mn	1	4.52 ± 0.38^{cd}	1.62 ± 0.69^{ab}	1.74 ± 0.41^{a}
	21	6.97 ± 0.53^{b}	1.98 ± 0.42^{a}	2.03 ± 0.54^{a}
0.5 ppm Vit B_{12}	1	5.03 ± 0.47^{c}	1.79 ± 0.48^{ab}	1.96 ± 0.40^{a}
	21	7.31 ± 0.48^{ab}	1.89 ± 0.25^{a}	1.92 ± 0.63^{a}
0.006% Mn+0.5ppm Vit B_{12}	1	4.83 ± 0.35^{c}	1.69 ± 0.58^{ab}	2.01 ± 0.49^{a}
	21	8.32 ± 0.66^{a}	1.92 ± 0.29^{a}	2.40 ± 0.62^{a}

Different letters shows significant differences between the treatments in rows (P<0.05).

٤- نتیجه‌گیری

شیر تخمیر شده پروبیوتیک معمول‌ترین و مهم‌ترین ماده غذایی پروبیوتیکی محسوب می‌شود. تحقیقات اخیر نشان داده که زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طی نگه‌داری کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های حفظ زنده‌مانی این باکتری‌ها، غنی کردن محیط رشد آن‌ها با مکمل‌هایی نظیر عناصر معدنی و ویتامین‌ها می‌باشد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد، افزودن ۰/۰۰۶درصد سولفات منگنز و ۰/۵پی‌پی‌ام ویتامین B_{12} منجر به بهبود ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی شیر تخمیر شده تولیدی شد. همچنین افزودن مکمل‌های مورد بررسی در این پژوهش به شیر می‌تواند سبب افزایش سرعت رشد و زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* زیرگونه *دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*-La۵ در شیر تخمیر شده پروبیوتیک و به دنبال آن کاهش طول دوره گرمخانه‌گذاری شود.

٥- منابع

[1] Szajnar, K., Znamirowska, A., and Kuźniar, P. 2020. Sensory and textural properties of fermented milk with viability of *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12 and increased calcium concentration. *International Journal of Food Properties*. 23(1):582-598.

[2] Fatemi, H. 2000. *Food Chemistry*. Enteshar Corporation Eds. 480pp. [In Persian].

[3] Shafiei, Y. 2017. Evaluation of physicochemical and sensory changes of probiotic yogurt free and encapsulated *Lactobacillus plantarum* PTCC-1058 during storage, *Journal of Innovative Food Technologies*. 1:101-114[In Persian].

[4] Hayek, S. A., and Ibrahim, S. A. 2013. Current limitations and challenges with lactic acid bacteria: a review. *Food and Nutrition Sciences*. 4(11):73-87. doi: 10.4236/fns.2013.411A010.

[5] LeBlanc, J. G., Chain, F., Martín, R., Bermúdez-Humarán, L. G., Courau, S., and Langella, P. 2017. Beneficial effects on host energy metabolism of short-chain fatty acids and vitamins produced by commensal and probiotic bacteria. *Microbial cell factories*. 16(1):79.doi: 10.1186/s12934-017-0691-z.

[6] Pawlos, M., Znamirowska, A., Szajnar, K., Kalicka, D. 2016. The Influence of the dose of calcium bisglycinate on physicochemical properties, sensory analysis and texture profile of kefirs during 21 days of cold storage. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 15(1):37-45. doi: 10.17306/J.AFS.2016.1.4.

[7] Sun, W., Wang, Y., Zhang, W., Ying, H., Wang, P. 2018. Novel surfactant peptide for removal of biofilms. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 172:180–186. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.08.029.

[8] Yao, C., Chou, J., Wang, T., Zhao, H., and Zhang, B. 2018. Pantothenic acid, vitamin C and biotin play important roles in the growth of *Lactobacillus helveticus*. *Frontiers in microbiology*. 9:1194.

[9] Demirhan, E., Gürses, B., Yalçin, B. E., Apar, D. K., and Özbek, B. 2013. Influence of vitamin (B_1, B_6, B_9, B_{12}, C) and ions (Cu^{2+}, Mn^{2+}, PO_4^{3-}) on kefir grain biomass growth. *Food Science and Biotechnology*. 22(4):1007-1013.

[10] Kaprasob, R., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., and Somboonpanyakul, P. 2018. B vitamins and prebiotic fructooligosaccharides of cashew apple fermented with probiotic strains *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc mesenteroides* and *Bifidobacterium longum*. *Process biochemistry*. 70:9-19.

[11] Izadi, M., Eskandari, M. H., Niakousari, M., Shekarforoush, Sh., Haifpour, M. A., Izadi, Z. 2014. Investigating the effect of ingredients supplementation on survival rate of bacteria in probiotic yogurt powder. *Journal of food science and technology*. 42(11):107-116 [In Persian].

[12] Forgani, S., Peighambardoust, S.H., Olad Ghaffari, A. 2017. Investigating organoleptic and physicochemical properties of functional set yogurt incorporating oat milk. *Iran Journal of Biosystem Engineering*. 48(3):279-288[In Persian].

[13] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2006. Milk and milk products-Determination of titrable acidity and value pH-Test method. ISIRI no. 2852. 1st Revision, Karaj: ISIRI [In Persian].

[14] Santillan-Urquiza, E., Mendez-Rojas, M. A., Valez-Ruiz, J. F. 2017. Fortification of yogurt with nano and micro sized calcium, iron and zinc, effect on the physicochemical

gelatin on functional properties of non-fat yogurt, *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 8(2):221-229[In Persian].

[23] Achanta, K. Aryana, K.-J. Boeneke, C.-A. 2007. Fat free plain set yogurts fortified with various minerals. *LWT-Food Science and Technology*. 40:429–442.doi: 10.1016/j.lwt.2006.01.001.

[24] Nouri, M., Ezzatpanah, H., Abbasi, S., Behmadi, H. 2013. Investigating the stability of chemical and physical characteristics of non-fat set yoghurt containing textured milk during the storage time. *Journal of Food Science and Technology*, 40(1):57-66 [In Persian].

[25] Nozière, P. Graulet, B. Lucas, A. Martin, B. Grolier, P. Doreau, M. 2006. Carotenoids for ruminants: from forages to dairy products. *Animal Feed Science Technology*. 131(3–4):418–450.

[26] Szajnar K., Znamirowska, A., Kalicka, D. 2019. Effects of various magnesium salts for the production of milk fermented by *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* Bb-12. *International Journal of Food Properties*. 22(1):1087–1099.

[27] Damina M.R., Alcântarab, M.R., Nunesb, A.P., 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. *LWT-Food Science and Technology* .42(10):1744-1750.

[28] Akalin, A.S., Unal, G., Dinkci, N., Hayaloglu, A.A. 2012. Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*. 95(7):3617-362. doi:10.3168/jds.2011-5297.

[29] Ocak, E. and Köse, Ş. 2010. The effects of fortifying milk with Cu, Fe and Zn minerals on the production and texture of yoghurt. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 8(2):122 -125.

and rheological properties. *LWT-Food Science and Technol*ogy. 80:462–469.

[15] Baryłko-Pikielna, N. Matuszewska, I. Sensoryczne Badania Żywności. Podstawy–Metody–Zastosowania. 2014. Sensory Food Testing. Fundamentals–Methods–Applications. *Wyd. Naukowe Pttż. Krakow*. 66:150–157.

[16] Burgain, J., Scher, J., Lebeer, S., Vanderleyden. J., Cailliez-Grimal, C., Corgneau, M., Francius, G., Gaiani, C. 2014. Significance of bacterial surface molecules interactions with milk proteins to enhance microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Hydrocolloids*. 41:60-70.

[17] Groot, M.N., Klaassens, E., De Vos, W.M., Delcour, J., Hols, P. and Kleerebezem, M. 2005 Genome□based in silico detection of putative manganese transport systems in Lactobacillus plantarum and their genetic analysis. Microbiology. 151:1229–1238.

[18] Znamirowska, A., Szajnar, K., Pawlos m. 2019. Organic magnesium salts fortification in fermented goat's milk. International Journal of Food Properties. 22(01):1615–1625. doi:10.1080/10942912.2019.1666871.

[19] Aryana, K.J. 2003. Folic acid fortified fat free plain set yoghurt. International Journal of Dairy Technology. 56(4):219–222.doi: 10.1046/j.1471-0307.2003.00105.x.

[20] Szajnar K., Znamirowska, A., Kalicka, D., Piotr Kuźniar, P., Najgebauer-Lejko, D. 2018. Quality of yogurt fortified with magnesium lactat. Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. 17(3):247–255.

[21] Dianti, EP., Anjani, G., Afifah, DN., N Rustanti, N., Panunggal B. 2018. Nutrition quality and microbiology of goat milk keffFortified with vitamin B_{12} and vitamin D_3 during storage. *3rd International Conference on Tropical and Coastal Region Eco Development.*doi:10.1088/1755-1315/116/1/012032.

[22] Ebdali, S., Motamedzadegan, A. 2013. Effect of partial replacement of solids with

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of manganese sulfate and vitamin B_{12} influence on physicochemical, sensory and textural attributes of fermented milk with *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrueckii* and *Lactobacillus acidophilus* La-5

Ranjbar Hasan Barogh, M. [1], Bolandi, M.[2*], Mohammadi Nafchi, A.[2]

1. PhD Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Associate Professor of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 16 July 2020
Accepted 04 November 2020

Keywords:

Fermentation time,
Lactic acid bacteria,
Manganese sulfate,
Probiotic,
Vitamin B12.

DOI: 10.52547/fsct.18.02.10

*Corresponding Author E-Mail:
bolandi75@gmail.com

ABSTRACT

Dairy products fortified with minerals and vitamins play an important role in the development of functional foods. Among lactic acid bacteria, yogurt starters have a special role in the industry, and their health-promoting function has been confirmed. The long duration of fermentation time by lactic acid bacteria in dairy products, takes time and energy and leads to increased production costs. Therefore, the identification of appropriate conditions and factors affecting the growth of different strains are the basic necessities of production. Hence, in this research, the effect of adding manganese sulfate (0, 0.006 and 0.03%) and vitamin B_{12} (0 and 0.5 ppm) alone as well as their combination on the physicochemical, textural, and sensory properties of fermented milk produced in the presence of *Lactobacillus bulgaricus* subsp. *Delbrueckii* and *Lactobacillus acidophilus* La-5 were investigated. The results showed a decrease in pH and an increase in acidity during the storage period. The L* and b* index decreased and the values of a* increased during the storage period (P<0.05). Also, textural characteristics and syneresis rate in samples containing 0.006% manganese sulfate and 0.5 ppm of vitamin B_{12} alone and their combination treatment, containing 0.006% manganese sulfate+0.5 ppm vitamin B_{12} were significantly improved (P<0.05). As the storage time proceeded, the sour taste of samples enriched with vitamin B_{12} and manganese increased (P<0.05). While the off-odor and off-taste were not felt in these samples. Also, storage time had no significant effect on these sensory characteristics (P>0.05).