



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

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

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

### چکیده

### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۵/۰۴

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۰۴

کلمات کلیدی:

ماست پروبیوتیک،

پاستوریزاسیون،

استریلیزاسیون، پتانسیل اکسیداسیون و

احیاء،

قابلیت زنده مانگی

در این پژوهش، تأثیر فرآیندهای مختلف حرارتی شیر، پاستوریزاسیون (۶۳ °C به مدت ۳۰ دقیقه، ۷۴ به مدت ۱۵ ثانیه، ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه) و استریلیزاسیون (۱۲۰ °C به مدت ۱۵ دقیقه، اتوکلاو، و ۱۴۰ °C به مدت ۴-۲ ثانیه، فرادما)، بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی انتخابی، پذیرش کلی و زنده مانگی باکتری‌های پروبیوتیک ماست قالبی طی ۲۱ روز نگهداری در سرما مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که طی نگهداری، آب‌اندازی کاهش پیدا کرد و اسیدیته و پتانسیل اکسیداسیون و احیاء افزایش یافت ( $p < 0/05$ ). با افزایش شدت فرآیند حرارتی شیر، کاهش در پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و آب‌اندازی ( $p < 0/05$ ) و افزایش در اسیدیته و قابلیت زنده مانگی لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس ( $p < 0/05$ ) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس ( $p > 0/05$ ) مشاهده شد. در نهایت، بهترین نمونه از نظر ارزیابی حسی و زنده مانگی باکتری‌های پروبیوتیک، نمونه ماست حاصل از شیر تیمار شده در ۱۴۰ °C به مدت ۴-۲ ثانیه انتخاب گردید.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.12

\* مسئول مکاتبات:

Vn.fadaei@gmail.com

## ۱- مقدمه

بالا رفتن سطح آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات ماده غذایی بر سلامتی، افزایش تمایل به مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک را در سراسر جهان موجب شده است. استفاده از شیر و فرآورده‌های آن برای تولید محصولات پروبیوتیک از مطلوبیت ویژه‌ای برخوردار است زیرا در کنار ارزش تغذیه‌ای فوق‌العاده، محیط مناسبی جهت رشد این میکروارگانیسم‌ها محسوب می‌شوند. تولید انواع گوناگون ماست پروبیوتیک به کمک باکتری‌های پروبیوتیک مانند باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم‌ها، علاوه بر اثرات سلامت بخشی، در پیشگیری و درمان عوارض سوء برخی از بیماری‌ها مفید است. زنده ماندن باکتری‌های پروبیوتیک در ماست بستگی به عوامل زیادی مانند نژادهای مورد استفاده، برهم‌کنش بین گونه‌ها در داخل فرآورده، هیدروژن پروکسید حاصل از متابولیسم باکتریایی، اسیدیته نهایی فرآورده، در دسترس بودن مواد مغذی، عوامل تحریک کننده و بازدارنده رشد، غلظت قند‌ها، اکسیژن محلول، میزان مایه تلقیح، دما و زمان تخمیر و دمای نگهداری دارد. بیفیدوباکتریوم‌ها به طور طبیعی بی‌هوازی اند و بنابراین غلظت بالای اکسیژن بر روی رشد و بقا آن‌ها تأثیر گذار است. علت رشد ناچیز و آهسته بیفیدوباکتریوم‌ها و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، غلظت پایین اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای کوچک در شیر است. بنابراین، افزودن کازئین یا پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده، عصاره‌ی مخمر، گلوکز و ویتامین می‌تواند رشد آن‌ها را در شیر افزایش دهد [۱].

فرآیند حرارتی شیر، یک مرحله‌ی حساس از مراحل تولید محصولات شیری است و از طریق کاهش بار میکروبی، افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت میکروبی شیر را موجب می‌شود. فرآیند حرارتی از طریق تغییر در عملکرد پروتئین‌های شیر باعث بهبود ویژگی‌های حسی و بافتی فرآورده‌های شیری می‌گردد؛ و بسته به شرایط آن می‌تواند منجر به تغییراتی در ساختار پروتئین شیر شود. اثر فرآیند حرارتی بر شیر به عنوان ابزاری برای اصلاح خصوصیات عملکردی پروتئین‌های آن مورد بررسی قرار گرفته است [۲]. حرارت دهی شیر در تولید ماست ضروری است و شرایط درجه حرارت-زمان ممکن است برای بهبود خواص فیزیکی ماست تغییر یابد. هدف اصلی از فرآیند حرارتی شیر در

تولید ماست، نابودی میکروارگانیسم‌هایی است که ممکن است بیماری‌زا بوده و یا اثر منفی بر کیفیت ماست تولیدی داشته باشند. حرارت دادن، سطح اکسیژن را در شیر کاهش می‌دهد؛ همچنین، ترکیباتی نظیر اسید فرمیک تولید می‌کند که می‌تواند فرایند تخمیر را سرعت بخشد. تیمار حرارتی شیر یک عامل بحرانی برای تشکیل بافت در نظر گرفته می‌شود. حرارت دادن، دنا توره شدن پروتئین‌های آب پنیر را موجب می‌شود و گروه‌های جانبی فعال پروتئین‌های کروی آب پنیر (به ویژه گروه‌های گوگردی) به علت باز شدن، قابل دسترس می‌شوند و اکسیداسیون اتصالات دی سولفیدی و اجتماع بین پروتئین‌های آب پنیر و میسل‌های کازئین صورت می‌گیرد. علاوه بر این، پروتئین‌های آب پنیر دنا توره شده ممکن است از طریق واکنش‌های آب گریز با کاپا-کازئین، به میسل‌های کازئینی متصل شوند؛ بنا بر این، پروتئین‌های آب پنیر از طریق پیوند‌های دی سولفیدی و میانکنش‌های آب گریز با کاپا-کازئین به میسل‌های کازئین متصل می‌شوند. به طور کلی، افزایش دنا توره شدن پروتئین‌های آب پنیر و عمدتاً بتا-لاکتوگلوبولین، کاهش زمان ژله‌ای شدن و افزایش pH در ژله‌ای شدن را در پی دارد. تمامی واکنش‌های احتمالی، نقش قابل توجه پروتئین‌های آب پنیر دنا توره شده را در خواص ژل‌های ماست توجیه می‌کنند [۳، ۴].

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

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

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

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

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

### ۲-۲- روش تهیه نمونه‌های ماست

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

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

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

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

T1: 63 °C به مدت 30 دقیقه، T2: 74 °C به مدت 15 ثانیه،  
T3: 95 °C به مدت 5 دقیقه، T4: 120 °C به مدت 15 دقیقه،  
T5: 140 °C به مدت 4-2 ثانیه.

سپس، نمونه‌ها تا دمای تخمیر (42 °C) سرد شدند و کشت آغازگر مخلوط ABY1 (10<sup>7</sup> Cfu/ml) تلقیح شد؛ گرمخانه گذاری تا رسیدن به pH 4/5±0/02 انجام پذیرفت. پس از رسیدن به pH مذکور، نمونه‌ها از گرمخانه خارج و سرد شدند. سپس، شاخص‌های فیزیکوشیمیایی و پذیرش کلی و زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در روزهای 0، 7، 14 و 21 پس از تولید طی نگهداری در دمای 4 °C اندازه‌گیری گردید.

### ۳-۲-۳-۲-۳-۲ آزمون‌ها

#### ۱-۳-۲-۱-۳-۲ فیزیکوشیمیایی

سنجش اسیدیته قابل تیترا مطابق با استاندارد ملی ایران شماره 2852 (1374) [16]، انجام پذیرفت. پتانسیل اکسیداسیون و احیاء در دمای اتاق با استفاده از pH متر (مدل Mettler Toledo مجهز به الکتروود MA235، ساخت کشور سوئیس) اندازه‌گیری شد [16]. میزان آب اندازی نمونه‌های ماست تولید شده توسط دستگاه سانتیفریژ یخچال دار (مدل Sigma، ساخت کشور آلمان) ارزیابی گردید [17].

#### ۲-۳-۲-۲-۳-۲ قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها

زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و بیفیدوباکتریوم لاکتیس Bb12 با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار انجام پذیرفت [12].

#### ۳-۳-۲-۳-۲ حسی

ارزیابی حسی (رنگ، بافت، طعم، بو و پذیرش کلی) توسط 6 نفر ارزیاب آموزش دیده و بر اساس روش هدونیک پنج نقطه‌ای انجام پذیرفت [18]. لازم به ذکر است از آن‌جا که شاخص نهایی ارزیابی، پذیرش کلی است، لذا در این پژوهش فقط نتایج پذیرش کلی گزارش شده است.

#### ۲-۴-۲-۴-۲ روش آماری

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

استفاده از نرم‌افزار SAS 9.2 اجرا گردید. آزمایش دارای دو فاکتور شامل: فاکتور روش‌های مختلف سالم سازی (شامل پنج روش) و فاکتور زمان (در 4 سطح روزهای 0، 7، 14 و 21) بود. برای هر تیمار، 3 تکرار در نظر گرفته شد. در صورت معنی دار شدن تفاوت بین تیمارها، جهت مقایسه میانگین، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح 0/05 مورد استفاده قرار گرفت.

### ۳- نتایج و بحث

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

اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی نگهداری در سرما (جدول 1) به طور معنی داری افزایش یافت (p<0/05). به طور کلی، در ماست با تخمیر لاکتوز به اسید لاکتیک توسط فعالیت باکتری‌های آغازگر، اسیدیته افزایش می‌یابد که در بسیاری از پژوهش‌ها نیز به آن اشاره شده است [19-23]. همچنین، لاکتوباسیلوس با تخمیر لاکتوز، اسید لاکتیک تولید می‌کند و اسید استیک، در نتیجه‌ی فعالیت بیفیدوباکتریوم لاکتیس تولید می‌شود [24]. نتایج حاضر با نتایج سایر پژوهشگران مبنی بر افزایش اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک و ساده طی نگهداری مطابقت دارد [24-29].

میزان رخداد واکنش مایلارد به شدت تیمار حرارتی بستگی دارد. افزایش اسیدیته در فرایند‌های پاستوریزاسیون شدید و استریلیزاسیون را می‌توان به تجزیه فرآورده آمادری در واکنش مایلارد نسبت داد زیرا موجب تشکیل اسیدهایی نظیر فرمیک و استیک می‌شود که این اسیدها می‌توانند موجب افزایش جزئی اسیدیته در فرآورده‌های شیری شوند [7]. بیشترین مقدار اسیدیته طی نگهداری در سرما مربوط به T5 در روز 14 بود و کمترین مقدار اسیدیته را T2 در روز 14 به خود اختصاص داد. بالاتر بودن اسیدیته T5 را می‌توان به دمای اعمال شده و احتمالاً اثر تقویت‌کنندگی افزایش ماده جامد بر رشد میکروارگانیسم‌ها نسبت داد. همچنین، با اعمال حرارت شدیدتر، بهبود کیفیت تغذیه‌ای شیر به دلیل آزاد سازی پپتیدهای کوچک و اسیدهای آمینه آزاد حاصل می‌شود [12]. کاهش اسیدیته نمونه T5 در روز 21 نسبت به روز 14 را می‌توان به کاهش منابع قندی نسبت داد؛ به طوری که میکروارگانیسم‌ها، پروتئین‌های موجود در محیط را

مانی بهتر پروبیوتیک ها گردید؛ لذا، می توان نتیجه گرفت با افزایش شدت فرایند حرارتی و تغلیظ شیر، خاصیت بافبری افزایش و اسیدیته کاهش می یابد.

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

**Table 1** Titratable acidity ( $^{\circ}$ Dornic) changes of probiotic set-type yogurt samples affected by different thermal processes of yogurt-making milk during cold storage\*

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

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

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

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

بیشتر اکسیژن ملکولی از شیر و آزاد سازی اسید های آمینه گوگرد دار نسبت داد که کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء و بالطبع، افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی را موجب شد [۱۲]. باز شدن ساختار پروتئین بتا-لاکتوگلوبولین، گروه های سولفیدریل را قابل دسترس می کند. گروه های سولفیدریل می توانند به دلیل انرژی اتصالی نسبتاً پایین پیوند S-H، به عنوان دهنده های اتم هیدروژن عمل کنند و انواع اکسیژن فعال را از بین ببرند. رادیکال های سولفیدریل ایجاد شده، دی سولفید های غیرفعال را در واکنش های زنجیره ای پایانی بوجود می آورند [۴]. اثر دیگر حرارت دادن این است که آنتی اکسیدان ها در دمای بالاتر از  $100^{\circ}$ C در واکنش مایلارد تشکیل می شوند. فعالیت آنتی اکسیدانی واکنش مایلارد به مرحله حد واسط، و به ویژه، نهایی این واکنش نسبت داده می شود. احتمال می رود فرآورده های حاصل از واکنش مایلارد در مراحل اولیه استریلیزاسیون این اثر را موجب شوند. در واقع، این اثر آنتی اکسیدانی مرتبط با فرآورده های حدواسط ردوکتون است که ممکن است زنجیره رادیکالی را از طریق اهدای اتم هیدروژن بشکنند. سایر فرآورده های واکنش مایلارد نظیر ملانوئیدین ها نیز جاذب های قوی انواع اکسیژن واکنش پذیر، پراکسی و ۱، ۱-دی فنیل-۲-پیکریل-هیدرازیل محسوب

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

#### دوره نگهداری

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

با افزایش شدت فرآیند حرارتی، کاهش بیشتر پتانسیل اکسیداسیون و احیاء مشاهده گردید. بیشترین مقدار پتانسیل اکسیداسیون و احیاء مربوط به T۱ ( $136/43$  میلی ولت) و کمترین مقدار مربوط به T۵ ( $120/7$  میلی ولت) در روز صفر بود؛ علت آن را می توان به اعمال فرآیند حرارتی بیشتر و خروج

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

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

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

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

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

T= Temperature (°C), t= time.

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

اندازی با گذشت زمان خواهد شد [۴۱]. البته با افزایش بیشتر اسیدیته طی انتهای نگهداری به دلیل انقباض شبکه کازئینی [۴۲]، آب اندازی افزایش یافت.

در مورد اثر فرآیند سالم سازی شیر بر آب اندازی تیمارها باید گفت که همگام با افزایش شدت فرآیند حرارتی، از میزان آب اندازی کاسته شد ( $p < 0.05$ )؛ البته در مورد T<sub>۱</sub> و T<sub>۲</sub> این اثر زیاد محسوس نبود و میزان آب اندازی تقریباً مشابه هم بود. بیشترین و کمترین درصد آب اندازی طی ۲۱ روز نگهداری به ترتیب متعلق به T<sub>۲</sub> (۶۱/۹۱) و T<sub>۵</sub> (۳۱/۰۸) است. یکی از دلایل کاهش آب اندازی در T<sub>۵</sub> را می توان به افزایش ماده خشک شیر با افزایش دما نسبت داد. ایزدی و همکاران [۴۰] و تمیم و رابینسون [۲۵] نیز گزارش کردند که افزایش ماده خشک موجب کاهش آب اندازی ماست می گردد؛ علت آن، پایدار کردن شبکه ژل و افزایش ظرفیت اتصال آب است که اثر مطلوبی بر استحکام ژل ماست و کاهش آب اندازی دارد [۴۰]. در مورد T<sub>۴</sub>، احتمالاً واکنش میلارد باعث افزایش میزان آب اندازی نسبت به T<sub>۳</sub> گردید. در واکنش میلارد مرحله وجود دارد که طی این مراحل، مولکول آب ایجاد می گردد [۷]. احتمال می رود همین امر، افزایش آب اندازی در T<sub>۴</sub> نسبت به T<sub>۳</sub> را موجب گردد. بنابراین، در محدوده کمینه و بیشینه حرارت دهی، شرایط حرارتی بهینه وجود دارد. بهینه فرآیند حرارتی بر اساس نوع ماست ممکن است متفاوت باشد. فرآیند حرارتی ناقص به علت کاهش نسبت

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

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

عین حال، اعمال فرآیند حرارتی، کاهش هوای محلول در شیر را در پی دارد که به ایجاد بافتی مطلوب تر می انجامد. همچنین، حرارت دهی شیر با غیر فعال کردن برخی از عوامل ضد رشد و ضد فعالیت باکتری های آغازگر، احتمال اسید سازی ناقص، که مانع تشکیل و تکامل بافت ماست می شود، را کاهش می دهد. از طرف دیگر، حرارت دهی موجب افزایش فسفات کلسیم کلونیدی می شود. این پدیده بر پایداری و ثبات میسل های کازئین می افزاید و احتمال خرد شدن آن ها را در اثر افزایش اسیدیته کاهش می دهد [۴۳]. ناکافی بودن دما و زمان حرارت دهی در T۲ باعث تشکیل ژل ضعیف و آب اندازی بیشتر نسبت به سایر تیمارها شد.

آلفا - لاکتالبومین و بتا - لاکتوگلوبولین در سطح میسل های کازئین و به تبع آن، کاهش آبدوستی شبکه ژل، آب اندازی را تشدید می کند. فرآیند حرارتی بسیار شدید نیز به آب اندازی می انجامد [۴۳]. میزان آب اندازی در T۵ از همه تیمارها کمتر بود. افزایش شدت فرآیند حرارتی، دنا توره شدن گسترده ی پروتئین های آب پنیر و عمدتاً بتا-لاکتوگلوبولین را سبب می شود که به نوبه خود با افزایش ویسکوزیته و سفتی و بالطبع کاهش آب اندازی طی ژله ای شدن اسیدی در ارتباط هستند. حرارت دهی موجب افزایش حجمیت و ظرفیت نگهداری آب در پروتئین های آب پنیر و کاهش حلالیت آن ها می شود. مقادیر آب گیری برای پروتئین آب پنیر دنا توره نشده و دنا توره شده به ترتیب ۰/۳۲ و ۲/۳۴ گرم آب در هر گرم پروتئین گزارش شده است [۳، ۴]. در

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

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

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

T= Temperature (°C), t= time.

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

مقایسه با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به شرایط نامطلوب محیطی بیشتر است [۴۴، ۴۵]. اثر بازدارندگی و کشندگی pH های پایین بر بیفیدوباکتریوم ها بیشتر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس است؛ رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در  $pH < 4$  و بیفیدوباکتریوم ها در  $pH < 5$  تا حد زیادی کاهش یافته یا متوقف می شود. از این رو، بیفیدوباکتریوم ها در pH طبیعی ماست (۴/۶-۴/۲) رشد و تکثیر مطلوبی ندارند و جمعیت آن ها طی نگهداری در سرما کاهش می یابد [۴۶]. اثر کشندگی pH های پایین را به پدیده گرسنگی اسیدی نسبت می دهند؛ در این پدیده، به دلیل کاهش انرژی سلول، پمپ شدن یون هیدروژن از درون به بیرون سلول متوقف می شود و این یون از بیرون به درون آن نشت می کند و وقتی pH سیتوپلاسم به کمتر از آستانه مجاز می رسد، سلول می میرد [۴۷]. بسیاری از پژوهشگران زنده ماننی پائین باکتری های جنس بیفیدوباکتریوم را گزارش کردند

### ۳-۴- تغییرات قابلیت زنده ماننی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس طی دوره نگهداری

طی نگهداری بیست و یک روزه در یخچال، زنده ماننی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (جدول ۴) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (جدول ۴) تا روز چهاردهم افزایش و سپس، کاهش یافت ( $p < 0/05$ ). با مقایسه قابلیت زنده ماننی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، توانایی سازگاری بیشتری با محیط داشته است؛ و در توجیه آن می توان گفت که بیفیدوباکتریوم ها نسبت به تغییرات pH از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس حساس تر هستند [۱۲]. به طور کلی، حساسیت بیفیدوباکتریوم لاکتیس در

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

بیشترین میزان مرگ و میر و کمترین رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در هفته اول نگهداری مشاهده شد؛ این امر نه تنها به واسطه حساسیت این باکتری نسبت به pH های پائین بلکه به دلیل کاهش روابط همیاری باکتری‌های آغازگر ماست جهت تأمین نیازهای انرژی و رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس می‌باشد. میزان مرگ و میر در هفته‌های دوم و سوم نگهداری به تدریج کاهش یافت؛ این پدیده به علت سازگار شدن تدریجی این باکتری به شرایط و فاکتورهای محیطی می‌باشد [۶۰]. بنا به دلایل ذکر شده، تعداد باکتری‌های بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه‌های T<sub>۲</sub>، T<sub>۳</sub>، T<sub>۴</sub> و T<sub>۵</sub> تا روز چهاردهم نگهداری در سرما افزایش، و از روز چهاردهم تا روز بیست و یکم کاهش یافت؛ در حالی که در T<sub>۱</sub> تا روز بیست و یکم روند افزایشی مشاهده شد؛ بیفیدوباکتریوم لاکتیس در T<sub>۱</sub> با یک شیب ملایم و با سرعت کم در حال افزایش بود و تا روز چهاردهم، قابلیت زنده ماندن این باکتری از تمام تیمارها کمتر بود و حتی در محدوده قابل قبول هم قرار نداشت و بر خلاف سایر تیمارها که از روز چهاردهم به بعد، کاهش در میزان بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده شد، قابلیت زنده ماندن با یک شیب ملایم در این تیمار افزایش یافت؛ که احتمالاً به دلیل رشد اندک این باکتری تا روز چهاردهم، مواد مغذی و فاکتورهای مورد نیاز برای ادامه رشد این باکتری تا روز بیست و یکم در دسترس بوده است. بیشترین زنده ماندن این باکتری به ترتیب مربوط به نمونه‌های T<sub>۴</sub> و T<sub>۵</sub> در روز چهاردهم، و کمترین آن مربوط به T<sub>۲</sub> در روز صفر بود که شرایط فرآیند سالم سازی شیر مورد استفاده در تولید ماست پروبیوتیک می‌تواند دلیل این امر باشد. کاهش این باکتری در روز بیست و یکم نگهداری، می‌تواند به علت کاهش فاکتورهای ضروری رشد نظیر ویتامین‌ها و قند باشد [۱۲]. پپتیدها و اسیدهای آمینه از فاکتورهای ضروری رشد برای باکتری‌های اسید لاکتیک محسوب می‌شوند [۶۱، ۶۲].

قابلیت زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های T<sub>۱</sub>، T<sub>۲</sub>، T<sub>۳</sub> تا روز چهاردهم نگهداری در ۴ °C در محدوده قابل قبولی قرار داشت؛ در نمونه‌های T<sub>۴</sub> و T<sub>۵</sub> طی نگهداری در محدوده ذکر شده و قابل قبول قرار داشت؛ دلیل آن هم فراهم بودن مواد مغذی تا آخرین روز نگهداری بود که فرآیند حرارتی

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

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

بیشترین میزان زنده ماندن در روز چهاردهم در T<sub>۳</sub> و کمترین میزان زنده ماندن در روز بیست و یکم در T<sub>۲</sub> مشاهده شد؛ اما در T<sub>۵</sub>، تا آخرین روز نگهداری میزان زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محدوده‌ای بالاتر از همه تیمارها قرار داشت و کاهش زنده ماندن باکتری مذکور با شیب بسیار ملایمی مشاهده شد. تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های T<sub>۲</sub>، T<sub>۳</sub>، T<sub>۴</sub> و T<sub>۵</sub> تا روز چهاردهم طی نگهداری در سرما افزایش و از روز چهاردهم نگهداری تا روز بیست و یکم، T<sub>۲</sub> با یک شیب منفی ملایم و T<sub>۳</sub>، T<sub>۴</sub> و T<sub>۵</sub> با شیب تند تری کاهش یافتند؛ در حالی که در T<sub>۱</sub>، زنده ماندن تا روز هفتم افزایش و پس از آن، در روز چهاردهم و بیست و یکم کاهش یافت. نتایج نشان می‌دهد که در مدت زمان دو هفته، باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس توانسته با محیط (محصول) سازش نماید و رشد هم

#### 1. Post acidification



بیفیدوباکتریوم ها را به طور معناداری افزایش می دهد [۱۲]. از طرف دیگر، گزارش شده است در برخی شیرهایی که تحت فرایند حرارتی شدید قرار گرفته اند، مقدار لاکتولوز بالاست. لاکتولوز به عنوان پری بیوتیک رشد بیفیدوباکتریوم ها را تحریک می کند و به عنوان یک شاخص احتمالی تاریخچه حرارتی/ فراوری فرآورده های شیری بسیار مورد توجه قرار گرفته است. غلظت لاکتولوز در شیر فرادما در محدوده ۲-۲۵ mg/dl گزارش شده است در حالی که غلظت آن در شیر های استریلیزه ممکن است بیش از ۷۵ mg/dl باشد. میزان لاکتولوز در شیر های فرادما حرارت دیده به روش غیرمستقیم بیشتر از روش مستقیم است [۸]. همچنین، گزارش شده است که فرآورده های واکنش مایلارد که در بدن جذب نمی شوند می توانند توسط میکروب های روده متابولیزه شوند و به عنوان پری بیوتیک عمل کنند [۷]؛ بنابراین، این فرآورده ها نیز می توانند دلیل زنده مانده بیشتر باکتری های پروبیوتیک با افزایش شدت تیمار حرارتی باشند. مرتضویان و همکاران [۱۲] گزارش کردند که تفاوت معناداری میان زنده مانده باکتری های پروبیوتیک در نمونه های ماست در صورت سالم سازی شیر پایه در دو شرایط ۸۵ °C به مدت ۳۰ دقیقه و ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه وجود نداشت ولی تفاوت معنی داری میان زنده مانده در صورت سالم سازی در ۹۵ °C به مدت ۱۵ دقیقه با دو شرایط ذکر شده در بالا مشاهده گردید [۱۲]. تمیم [۱] نیز رشد بهتر بیفیدوباکتریوم ها را با کاهش پتانسیل اکسیداسیون و احیاء گزارش کردند.

شدیدتر این امکان را فراهم کرد. قابلیت زنده مانده بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه های T۳، T۴، T۵ فقط در روز چهاردهم و در T۱ فقط در روز بیست و یکم در محدوده قابل قبول قرار داشت؛ و در T۲ فقط در روز چهاردهم در محدوده ای نزدیک به محدوده قابل قبول مشاهده گردید.

در مورد اثر فرآیند سالم سازی شیر بر زنده مانده باکتری های پروبیوتیک باید گفت همگام با افزایش شدت فرآیند حرارتی، و به دنبال آن، فراهم آمدن شرایط بهینه رشد (به دلیل حذف اختصاصی تر میکروارگانیسم های رقیب در شیر پایه، بهبود کیفیت تغذیه ای شیر باز طریق آزاد سازی پپتید های کوچک و اسید های آمینه آزاد به عنوان ترکیبات مغذی مورد مصرف پروبیوتیک ها به ویژه از پروتئین های آب پنیر، خروج بیشتر اکسیژن میان بافتی و آزاد سازی بیشتر گروه های سولفیدریل)، قابلیت بقا این باکتری ها افزایش یافت ( $p < 0.05$ )؛ البته بین T۱ و T۲ تفاوت زیادی در میزان زنده مانده مشاهده نشد [۲۵]. زنده مانده بیفیدوباکتریوم لاکتیس در T۳ و T۵ تقریباً مشابه هم بود. با افزایش شدت فرآیند حرارتی زمینه برای رشد بهتر و بیفیدوباکتریوم لاکتیس فراهم شد. در مورد بیفیدوباکتریوم ها حرارت دادن صحیح مهم تر است زیرا حذف مؤثر تر اکسیژن محلول که اثر منفی بر زنده مانده بیفیدوباکتریوم ها دارد را موجب می شود؛ و همچنین، کاهش پتانسیل ردوکس را به دلیل حذف اکسیژن ملکولی و آزاد سازی اسید های آمینه گوگرد دار در پی دارد. کاهش اکسیژن محلول و پتانسیل ردوکس رشد

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

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

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

T = Temperature (°C), t = time.

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

### ۳-۵- تغییرات پذیرش کلی طی دوره نگهداری

هر چند ارزش اساسی فرآورده های پروبیوتیک را قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک تعیین می کند، اما خواص حسی نیز جایگاه بسیار مهمی دارند زیرا میزان میل و رغبت مصرف کننده را تعیین می کنند. طعم و بافت ماست بسیار حائز اهمیت است. اسیدیته ماست نقش مهمی در طعم ماست دارد و بر روی سالی و ویژگی های ماست نیز اثر گذار است [۳]. مطلوب ترین نمونه ماست از نظر پذیرش کلی به T۵ تعلق داشت (جدول ۵)؛ که عمده ترین دلیل، بافت غلیظ تر این نمونه بود. تجربیات به عمل آمده آشکار ساخته اند که سرعت اسید سازی طی نگهداری در یخچال در شیر پایه ای که تحت فرآیند حرارتی شدیدتر قرار می گیرد به مراتب بیشتر از شیری است که به روش معمولی پاستوریزه شده است. همچنین، طعم ماست حاصل از فرآیند حرارتی با شدت بالا به مراتب دلپذیرتر از ماست حاصل از فرآیند حرارتی با شدت کم است [۴۳]. پایین ترین امتیاز پذیرش کلی مربوط به T۱ و T۲ بود که به دلیل اعمال دمایی پایین تر و به دنبال آن ماده خشک کمتر، به دلیل عدم حذف اختصاصی تر میکروارگانیسم های رقیب در شیر پایه، تولید متابولیت های بیشتر

میکروبی و آب اندازی بیشتر در قیاس با سایر نمونه های ماست پروبیوتیک می باشد. با افزایش شدت فرآیند حرارتی (به استثناء T۴)، امتیاز ارزیابی حسی در نمونه های ماست پروبیوتیک افزایش یافت ( $p < 0.05$ ) و بهبود پذیرش کلی حاصل شد؛ به طوری که کمترین امتیاز پذیرش کلی به T۴ تعلق داشت. حرارت دهی شدید ممکن است به سبب انجام واکنش های مایلارد باعث ظاهر شدن طعم های نامطلوب همچون طعم کارامل شود و به سبب آزاد شدن ترکیبات گوگردی، طعم پخته پدید آید [۴۳].

با گذشت زمان طی نگهداری در یخچال، مقبولیت نمونه ها کاهش یافت ( $p < 0.05$ ). پایین آمدن مقبولیت نمونه ها از روز ۱۴ ام به بعد به موازات افزایش اسیدیته در نمونه ها می تواند نشانگر تأثیر نامطلوب ترشی محصول بر خواص حسی باشد؛ هم چنین می توان به کاهش استالیدی نسبت داد [۳۶]. برخی از پژوهشگران نیز کاهش پذیرش حسی ماست را با افزایش زمان نگهداری گزارش کرده اند [۳۶، ۳۸، ۶۳]. به طور کلی، علت تغییر طعم ماست طی نگهداری، فعالیت و تولید متابولیت توسط میکروارگانیسم ها است.

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

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

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

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

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

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

### ۵- سپاسگزاری

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

### ۴- نتیجه گیری

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

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

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

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

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



## Scientific Research

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

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

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

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

## Article History:

Received 25 July 2020  
Accepted 24 November 2020

## Keywords:

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

DOI: 10.52547/fsct.18.03.12

\*Corresponding Author E-Mail:  
Vn.fadaei@gmail.com.

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