مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۵، ویژه‌نامه زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۴۷۰-۴۶۱

بررسی اثرات نوع کشت پروبیوتیک و نسبت شیرگاو به شیرسویا بر ویژگی‌های کیفی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه سویا

زهرا شاه عباس پور[۱]، رضا محمدی[۲]، مریم سلیمانی[۳]، سید امیرمحمد مرتضویان[۴]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه غیرانتفاعی رودکی (تنکابن)، ایران

۲- نویسنده مسئول: کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی:R.mohammadi@sbmu.ac.ir

۳- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر تولید فراورده‌های پروبیوتیک گیاهی، از جمله شیرسویای تخمیری پروبیوتیک به عنوان محصول غذایی فراسودمند مورد توجه قرار گرفته است. هدف از این تحقیق بررسی تاثیر نوع کشت پروبیوتیک و نسبت شیرگاو به شیرسویا بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه سویا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی نسبت‌های مختلف شیرگاو به شیرسویا (مقدار کامل شیرگاو، ۱:۳، ۱:۱، ۳:۱، مقدار کامل شیرسویا) با استفاده از بازسازی پودر شیر بدون چربی و شیرسویا تهیه شدند و دو نوع کشت پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *لاکتوباسیلوس کازئی* L-01) به آن‌ها تلقیح شد. ویژگی‌های بیوشیمیایی (pH، اسیدیته قابل تیتر، پتانسیل احیا، مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک) و میکروبیولوژیک (قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک) و حسی نمونه‌های تولیدی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: با افزایش نسبت شیرسویا، اسیدیته نهایی و مقدار اسیدهای آلی کاهش یافت. تیمار T8 (نسبت مساوی شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*) بیشترین قابلیت زیستی (۸/۶۹ log cfu/ml) را نشان داد ($p<۰/۰۵$). بالاترین خواص حسی، مربوط به تیمارهایی با بیشترین نسبت شیرگاو بود، بعد از آن تیمار T8 از لحاظ پذیرش کلی در رتبه ۴ قرار گرفت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه گیری: کشت‌های پروبیوتیک رشد خوبی در نسبت مساوی شیر گاو به شیرسویا داشتند، بنابراین نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه سویا به عنوان محصول غذایی فراسودمند حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و ترکیبات زیست فعال معرفی شد.

واژگان کلیدی: *لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه سویا

مقدمه

لوبیای سویا دارای خواص سلامت بخش (ارزش پروتئینی واملاح) و دارویی بسیاری (کاهش سطح کلسترول سرم، کاهش میزان تری گلیسیریدها، بهبود متابولیسم چربی‌ها، خواص ضد سرطانی و پیشگیری از پوکی استخوان و اختلالات یائسگی) می‌باشد. از جمله فراورده‌های سویا شامل توفو (Tufo)، شیر سویا، میسو (Miso)، تمپه (Tempeh)، ناتو (Natto)، سس سویا (Soy souce) و ماست سویا (Soy yogurt) می‌باشد (۱،۲). شیرسویا که عصاره آبی استخراج شده از لوبیای کامل سویا است، یک محصول غذایی شناخته شده است که در بسیاری از نواحی جهان محبوبیت آن رو به افزایش است. شیرسویا، برای مصرف کنندگان مبتلا به عدم تحمل لاکتوز و آلرژی به شیرگاو و گیاهخواران فراورده‌ای مناسب به شمار می‌آید (۳). شیر سویا منبع پروتئین‌هایی با کیفیت بالا است، فاقد کلسترول و لاکتوز بوده و دارای

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

مقادیر کمی اسید چرب اشباع است (۴). با این وجود طعم لوبیایی نامطلوب و مقادیر بالای فاکتورهای نفخ زایی (رافینوز و استاکیوز) مصرف شیر سویا را بعنوان فراورده غذایی خام محدود کرده است. به منظور غلبه بر این محدودیت‌ها و بهبود مقبولیت و ارزش تغذیه‌ای شیر سویا، تخمیر فرایندی شناخته شده است. مزایایی هم‌چون کاهش قندهای نفخ زای سویا، افزایش مقدار ایزوفلاون‌های آزاد در سویا پس از تخمیر، وجود سوبسترایی مناسب برای رشد و تکثیر پروبیوتیک‌ها در شیر اولیه و قابلیت پروبیوتیک-حفاظ مناسب از نظر ساختاری در برابر عوامل خطرزای محیط، به شیر سویای تخمیر شده با استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نسبت داده می‌شود (۵). پروبیوتیک‌ها ریز زنده‌های (باکتری و مخمر) زنده‌ای می‌باشند که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن (اساساً روده)، با عمل زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن میکروبی روده، سبب ایجاد خواص سلامت بخش برای میزبان می‌شوند. گونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گونه لاکتوباسیلوس و به همراه بیفیدوباکتریوم، مهم‌ترین ریززنده پروبیوتیک به شمار می‌آید (۶).

خواص سلامت بخشی مانند، تسکین عدم تحمل لاکتوز، ضد عفونتی، ضد سرطان‌زا، تقویت سیستم ایمنی، کاهش سطح کلسترول سرم و افزایش قابلیت هضم پروتئین، به این میکروارگانیسم‌ها نسبت داده می‌شود (۷). امروزه، مقبولیت و مصرف فراورده‌های پروبیوتیک در کشورهای جهان به ویژه اروپا، ایالات متحده و ژاپن رواج چشم‌گیر یافته است. با وجود پیشرفت‌های فراوان که در زمینه پروبیوتیک‌ها و فراورده‌های پروبیوتیک صورت گرفته است، هنوز استاندارد ثابت و قطعی برای این فراورده‌ها وجود ندارد. در مجموع، شمارش کمینه 10^6 CFU/ml به طور عمومی به وسیله اکثر منابع و مراجع پذیرفته شده است. در تمامی فراورده‌های پروبیوتیک،"ارزش زیستی"، یعنی تعداد سلول‌های زنده و فعال پروبیوتیک در گرم یا میلی لیتر فراورده، ارزش اساسی آن محسوب می‌شود. ارزش زیستی باید به اندازه کافی بالا باشد تا پس از مصرف، تعداد کافی سلول‌های زنده به محیط روده راه یابند (۶). با توجه به بالا بودن عوامل مغذی محرک (شامل الیگوساکاریدها، اسیدهای آمینه و پپتیدها) و ترکیبات پری‌بیوتیک در سویا و افزایش ظرفیت بافری در نتیجه افزودن شیر گاو به شیر سویا، انتظار می‌رود که بقای پروبیوتیک‌ها در این فراورده افزایش یابد.

از آن‌جایی که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص بررسی اثر نسبت‌های مختلف شیرگاو به شیرسویا و دو گونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* در تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه شیرسویا صورت نگرفته است، هدف از این تحقیق تولید فراورده‌ای با قابلیت زیستی بالا و خواص حسی مطلوب بر پایه متغیرهای انتخاب شده در پژوهش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

کشت‌های منجمد شده تجاری DVS شامل باکتری‌های آغازگر ماست (*لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) که با نام تجاری Yc280 شناخته شده است و گونه‌های منفرد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *لاکتوباسیلوس کازئی* L-01 توسط شرکت کریستین هنسن از کشور دانمارک فراهم شد. روش تهیه نمونه‌ها به شرح زیر می‌باشد:

در این پژوهش ۱۰ تیمار مورد بررسی قرار گرفت، که هر تیمار در سه تکرار انجام شد. اثر مشترک پنج نسبت شیرگاو به شیر سویا (نسبت کامل شیرگاو، ۱:۳، ۱:۱، ۳:۱، نسبت کامل شیرسویا) و دو نوع کشت آغازگر (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *لاکتوباسیلوس کازئی* L-01) بررسی شدند، بدین ترتیب که نسبت‌های مختلف شیرگاو به شیرسویا با استفاده از پودر شیر بدون چربی، آب مقطر و شیرسویا تهیه شدند. پس از فرایند گرمایی($85^{\circ}C$ به مدت ۳۰ دقیقه)، نمونه‌ها تا رسیدن به دمای تلقیح ($41^{\circ}C$) سرد شدند. در مرحله تلقیح، باکتری‌های آغازگر ماست و در هر نوبت یکی از دو گونه باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *لاکتویاسیلوس کازئی* L-01، با نسبت تلقیح ۱ :۵ به نفع باکتری پروبیوتیک به شیر اضافه شدند. تخمیر در دمای $40^{\circ}C$ تا رسیدن به pH ۴/۶±۰/۰۲ انجام گرفت. شاخص‌های روند افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا هر ۳۰ دقیقه یکبار طی مرحله گرمخانه‌گذاری و در پایان تخمیر اندازه‌گیری شد. در پایان تخمیر، نمونه‌ها تا دمای $5^{\circ}C$ سرد شدند و شاخص‌های قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آزمون‌های میکروبی، شیمیایی و حسی

شمارش اختصاصی پروبیوتیک‌ها: باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار (MRS آگار و bile

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

به ترتیب ساخت شرکت Merck از کشور آلمان و شرکت Sigma-Aldrich از کشور آمریکا) انجام گرفت. پلیت‌ها در شرایط هوازی در دمای ۳۷°C به مدت زمان دست کم ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. ضریب رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک (GPI) از رابطه زیر محاسبه شد (۸):

$$GPI = \frac{\text{جمعیت سلولی نهایی (CFU/ml)}}{\text{جمعیت سلولی اولیه (CFU/ml)}}$$

pH و پتانسیل احیا: در دمای اتاق با استفاده از pH متر HANNA مجهز به الکترود MA235 ساخت کشور ایتالیا اندازه‌گیری شد. سرعت متوسط افت pH و افزایش پتانسیل احیا طی تخمیر مطابق با روش مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۱۰ اندازه‌گیری شد (۹).

اسیدیته قابل تیتر: ۱۰ میلی لیتر نمونه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط و با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد. مقدار این شاخص برحسب درجه دورنیک مطابق با روش مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۱۰ تعیین شد (۹).

مقادیر اسید استیک و اسید لاکتیک: درصد اسید استیک و اسید لاکتیک نمونه‌ها با استفاده از دستگاه HPLC مدل Cecil, CE4200 ساخت کشور آمریکا بر طبق روش مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۱۰ اندازه‌گیری شد (۹).

روش ارزیابی حسی: ویژگی‌های حسی شامل طعم، احساس دهانی (یکنواختی یا همگن بودن) و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) مورد ارزیابی قرار گرفتند. تیمارها با استفاده از آزمون امتیازدهی، توسط ۷ ارزیاب باتجربه کارخانه سویاسان، در روز تولید جهت تعیین تیمار بهینه مورد ارزیابی قرار گرفتند. امتیازدهی به شیوه مقیاس ۵ نقطه‌ای شامل: غیر قابل مصرف= ۰، غیرقابل قبول= ۱، قابل قبول= ۲، مطلوب=۳ و عالی=۴ انجام شد. ضرایب ۶ برای طعم، ۳/۵ برای احساس دهانی و ۲ برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد (۱۰).

تجزیه و تحلیل آماری: این پژوهش براساس طرح فاکتوریل کامل (طرح کاملاً تصادفی) طراحی شد و کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد. نتایج آزمایشات شیمیایی، میکروبی و حسی از طریق آزمون Two-way ANOVA و با استفاده از نرم افزار Minitab بررسی شد و ($p<۰/۰۵$) به معنی وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در نظر گرفته شد. نمودارها با استفاده از نرم افزار EXCEL رسم شدند.

جدول ۱. اختصارات اسامی تیمارها در نمودارها و جداول

T1	مقدار کامل شیرگاو، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
T2	نسبت ۳ :۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
T3	نسبت ۱:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
T4	نسبت ۳ :۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
T5	مقدار کامل شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
T6	مقدار کامل شیرگاو، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*
T7	نسبت ۱:۳ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*
T8	نسبت ۱:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*
T9	نسبت ۳:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*
T10	مقدار کامل شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

یافته‌ها

تغییرات بیوشیمیایی: نمودارهای ۱-الف الی ۱-د، تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا تیمارها را طی تخمیر نشان می‌دهند. همان گونه که در نمودارهای ۱-الف الی ۱-د مشاهده شده است، ۳ فاز مشخص در نمودارهای مربوط به افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا وجود دارد که به نام فاز کمون، فاز لگاریتمی (با شیب زیاد) و فاز ثابت رشد (با شیب به میزان قابل ملاحظه‌ای کمتر در مقایسه با فاز قبلی) است. این نواحی در تمامی نمودارهای مربوط به تیمارها مشخص شده‌اند. نتایج تغییرات بیوشیمیایی نشان می‌دهد که افزودن شیرسویا به شیرگاو تا نسبت ۱:۱، در کاهش زمان گرم‌خانه‌گذاری موثر می‌باشد. در حالیکه طولانی‌ترین زمان گرمخانه‌گذاری (۳۶۰ دقیقه) در مقدار کامل شیرسویای کشت شده با باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* (T10) مشاهده می‌شود.

میانگین سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسل احیا، مدت زمان گرمخانه گذاری، نقطه اوج تخمیر، اسیدیته نهایی و مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک در پایان تخمیر در جدول ۲ ارائه شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، نسبت‌های مختلف شیرگاو به شیرسویا تاثیر قابل توجهی بر شاخص‌های فوق دارند. نسبت‌های ۱:۱ و ۳:۱ شیرگاو به شیرسویا بیشترین اثر را بر افزایش میانگین سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسل احیا نشان می‌دهند.

تاثیر نسبت شیرگاو به شیرسویا و نوع کشت پروبیوتیک بر قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک: قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک و ضریب رشد آن‌ها (GPI) در تیمارها در پایان تخمیر در جدول ۳ مشاهده می‌شود. نوع کشت پروبیوتیک و نسبت شیرگاو به شیرسویا تأثیر معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها دارند. با توجه به نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که تیمار T8 با جمعیت نهایی ۸/۶۹ log cfu/ml و تیمارهای T1 و T5 با جمعیت نهایی ۸/۱۷ log cfu/ml به ترتیب دارای بیشترین ($p<۰/۰۵$) و کمترین ($p<۰/۰۵$) قابلیت زیستی می‌باشند.

تأثیر نسبت شیرگاو به شیرسویا و نوع کشت پروبیوتیک بر ویژگی‌های حسی: ارزیابی حسی تیمارها در پایان تخمیر در جدول ۴ ارائه شده است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نشان می‌دهد، افزایش نسبت شیرسویا با شاخص‌های طعم، احساس دهانی و ظاهر رابطه عکس دارد. نوع کشت پروبیوتیک فاقد تأثیر منظم و معنی‌دار بر پذیرش طعم، احساس دهانی و ظاهر می‌باشد.

جدول۲. سرعت میانگین کاهش pH، افزایش اسیدیته و افزایش پتانسیل احیا، زمان اوج تخمیر، زمان تخمیر، اسیدیته قابل تیتر نهایی و درصد اسیدهای لاکتیک و استیک در تیمارها در پایان تخمیر*

نسبت شیر گاو به شیر سویا	سرعت افت pH (دقیقه)	سرعت افزایش اسیدیته(درجه دورنیک/دقیقه)	سرعت افزایش پتانسیل احیا(میلی ولت/ دقیقه)	زمان اوج تخمیر	زمان گرمخانه گذاری(دقیقه)	اسیدیته نهایی (درجه دورنیک)	درصداسید لاکتیک	درصداسید استیک
T1**	۰/۰۰۷^{c}	۰/۱۲^{e}	۰/۴۲^{c}	۱۲۰-۱۵۰	۲۷۰^{b}	۴۸/۵^{ab}	۰/۳۵^{a}	۰/۱۳^{a}
T2	۰/۰۰۹^{a}	۰/۱۸^{b}	۰/۵۶^{a}	۹۰-۱۲۰	۲۱۰^{d}	۴۸/۲^{ab}	۰/۳۳^{ab}	۰/۱۲^{a}
T3	۰/۰۰۹^{a}	۰/۱۵^{d}	۰/۵۸^{a}	۹۰-۱۲۰	۲۱۰^{d}	۴۱/۶^{bc}	۰/۳۲^{ab}	۰/۰۹^{b}
T4	۰/۰۰۸^{b}	۰/۱۲^{e}	۰/۵۰^{b}	۹۰-۱۲۰	۲۴۰^{c}	۳۹/۷^{c}	۰/۳۱^{b}	۰/۰۷^{bc}
T5	۰/۰۰۷^{c}	۰/۱۱^{f}	۰/۴۶^{bc}	۱۲۰-۱۵۰	۲۴۰^{c}	۳۸/۲^{c}	۰/۳۰^{b}	۰/۰۸^{b}
T6	۰/۰۰۸^{b}	۰/۱۷^{c}	۰/۴۷^{bc}	۱۲۰-۱۵۰	۲۴۰^{c}	۵۲/۳^{a}	۰/۳۷^{a}	۰/۱۵^{a}
T7	۰/۰۰۹^{a}	۰/۱۹^{a}	۰/۵۶^{a}	۹۰-۱۲۰	۲۱۰^{d}	۴۹/۳^{a}	۰/۳۵^{a}	۰/۱۳^{a}
T8	۰/۰۰۹^{a}	۰/۱۷^{c}	۰/۵۷^{a}	۱۲۰-۱۵۰	۲۱۰^{d}	۴۶/۳^{b}	۰/۳۳^{ab}	۰/۱۱^{ab}
T9	۰/۰۰۷^{c}	۰/۱۱^{f}	۰/۴۳^{c}	۹۰-۱۲۰	۲۷۰^{b}	۴۱/۱^{c}	۰/۲۹^{b}	۰/۰۹^{b}
T10	۰/۰۰۵^{d}	۰/۰۸^{g}	۰/۲۹^{d}	۱۲۰-۱۵۰	۳۶۰^{a}	۴۱/۵^{bc}	۰/۳۲^{ab}	۰/۰۷^{bc}

*میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر تفاوت دارند ($p<۰/۰۵$).

**اختصارات اسامی تیمارها مطابق جدول ۱ می‌باشند

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

جدول ۳. قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و ضریب رشد GPI آن‌ها در تیمارها در پایان تخمیر*

تیمار	جمعیت اولیه (log cfu/ml)		جمعیت نهایی (log cfu/ml)		ضریب رشد	
نسبت شیرگاو به شیرسویا	A**	C	A	C	A	C
مقدار کامل شیرگاو	۸/۴۷	۸/۴۷	^{dB}۸/۱۷	^{dA}۸/۲۲	۰/۹۶	۰/۹۷
۱:۳	۸/۴۷	۸/۴۷	^{bB}۸/۳۴	^{bA}۸/۵۴	۰/۹۸	۱/۰۰۸
۱:۱	۸/۴۷	۸/۴۷	^{aB}۸/۵۶	^{aA}۸/۶۹	۱/۰۱	۱/۰۲
۳:۱	۸/۴۷	۸/۴۷	^{bB}۸/۳۰	^{cA}۸/۴۹	۰/۹۷	۱/۰۰۲
مقدار کامل شیرسویا	۸/۴۷	۸/۴۷	^{dB}۸/۱۷	^{aA}۸/۶۵	۰/۹۶	۱/۰۲

میانگین‌هایی که با حروف کوچک در یک ستون و حروف بزرگ انگلیسی در یک ردیف نشان داده شده اند به طور معنی‌دار (۰۵/ >p) با یکدیگر متفاوتند.

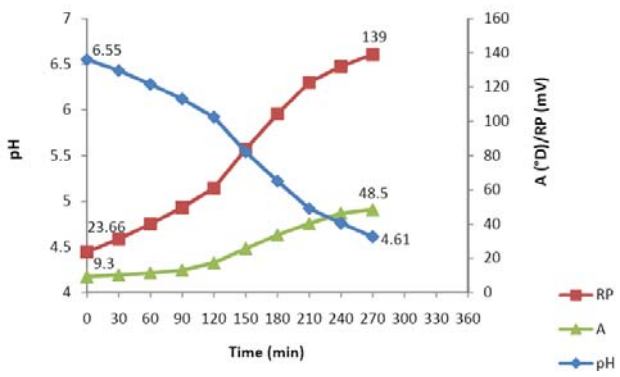
** (A= لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5، C= لاکتوباسیلوس کازئی L-01)

جدول۴. ارزیابی حسی تیمارها در پایان تخمیر*

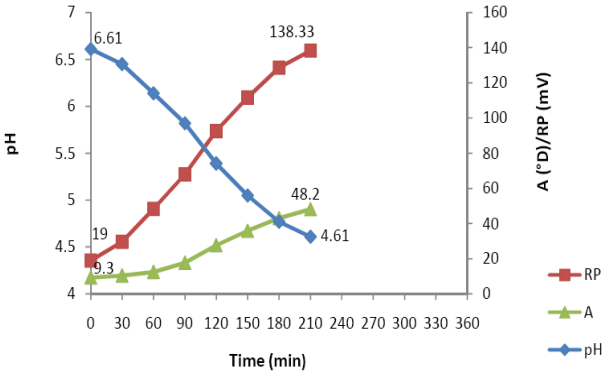
تیمار ها	شاخص ها			
نسبت شیر گاو به شیر سویا	طعم	ظاهر	احساس دهانی	امتیاز نهایی
T1**	^{a}۲۱/۱	^{a}۶/۸۵	۱۲^{a}	۴۰^{a}
T2	^{b}۱۸/۸	^{a}۶/۸۵	۱۰/۲^{b}	۳۵/۸^{bc}
T3	۱۸^{bc}	۶/۵۷^{b}	۹/۴۲^{c}	۳۴ ^{cd}
T4	۱۷/۱^{c}	۵/۱۴^{d}	۹/۸۵^{b}	۳۲/۱^{e}
T5	۱۲/۸^{f}	۴/۵۷^{e}	۷/۷۱^{d}	۲۵/۱^{f}
T6	۱۹^{b}	۶/۸۵^{a}	۱۱/۶۷^{a}	۳۷/۵^{b}
T7	۱۸/۸^{b}	۶/۵۷^{b}	۱۰/۲^{b}	۳۴/۳^{c}
T8	۱۸^{bc}	۶/۵۷^{b}	۱۰^{b}	۳۴/۵^{c}
T9	۱۶/۷^{d}	۶/۲۸^{c}	۹/۴۲^{c}	۳۲/۴^{e}
T10	۱۵/۴^{de}	۵/۴۲^{d}	۹^{c}	۲۹/۸^{e}

*میانگین‌هایی که در هر ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر تفاوت دارند (۰۵/ >p).

**اختصارات اسامی تیمارها مطابق جدول ۱ می‌باشند.

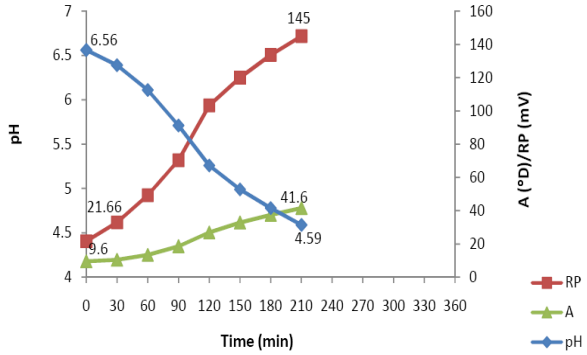


نمودار ۱- الف- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا نمودار در تیمار T1 طی تخمیر

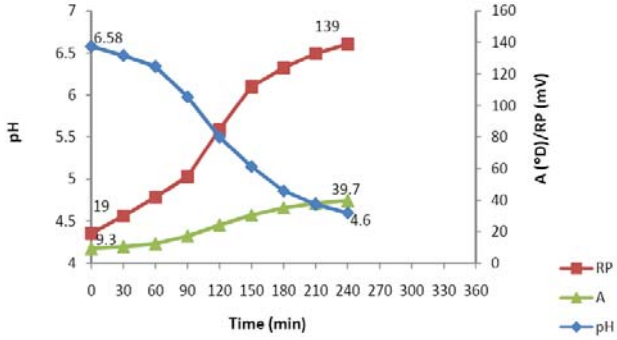


نمودار- ب- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T2 طی تخمیر

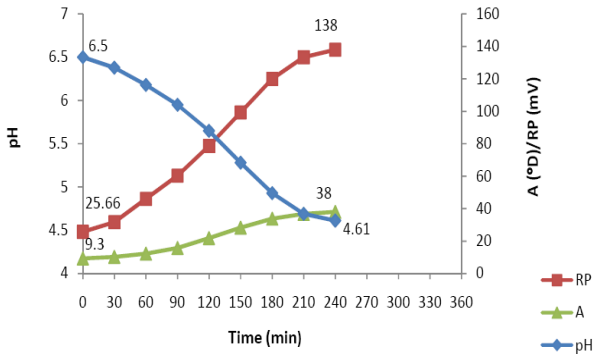
[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]



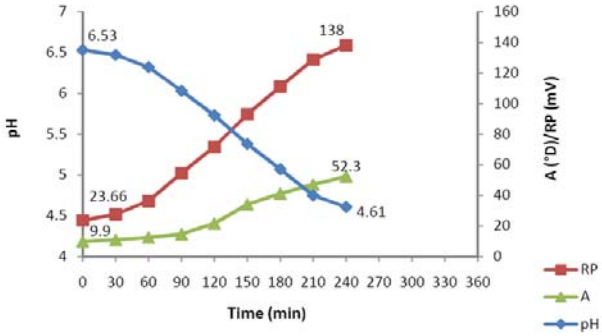
نمودار ۱-پ- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T3 طی تخمیر



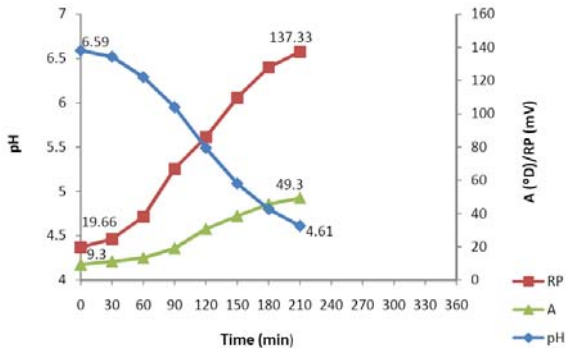
نمودار ۱-ت- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T4 طی تخمیر



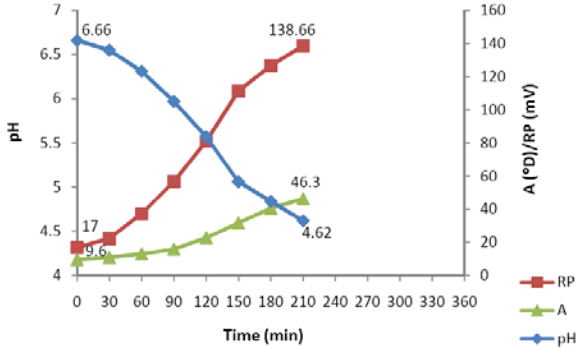
نمودار ۱-ث- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T5 طی تخمیر



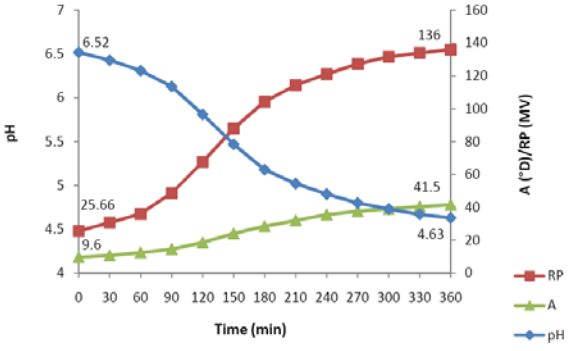
نمودار ۱- ج- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T6 طی تخمیر



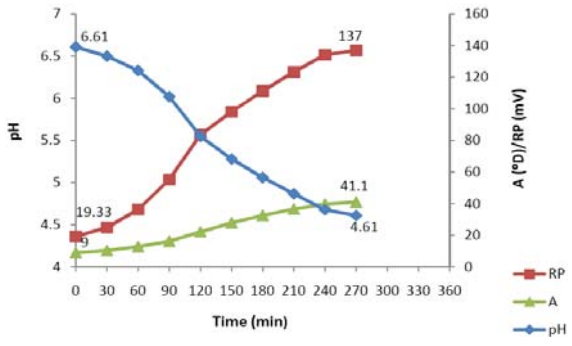
نمودار ۱-چ- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T7 طی تخمیر



نمودار ۱-ح- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T8 طی تخمیر



نمودار ۱-خ- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T9 طی تخمیر



نمودار ۱-د- روند تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T10 طی تخمیر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

بحث

بررسی تغییرات بیوشیمیایی نشان داد، طولانی‌ترین فاز کمون مربوط به تیمار T1(مقدار کامل شیرگاو، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) می‌باشد (p<۰/۰۵). علت آن، فعالیت پروتئین کافتی ضعیف باکتری‌ها و عدم وجود ترکیبات مغذی رشد به صورت قابل استفاده در شیر و از سوی دیگر بالا بودن ظرفیت بافری شیر است (۶). تیمارهای T2(نسبت ۱:۳ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*)، T3 (نسبت ۱:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*)، T7 (نسبت ۱:۳ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*)، T8 (نسبت ۱:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*) دارای کمترین زمان گرمخانه‌گذاری می‌باشند (p<۰/۰۵). کوتاه‌ترین فاز کمون نیز مربوط به این چهار تیمار می‌باشد (p<۰/۰۵). علت کوتاه بودن فازهای کمون و ثابت در این تیمارها، بالا بودن مواد کمکی رشد در شیرسویا و کربوهیدرات‌های شیر خصوصاً لاکتوز می‌باشد، که موجب تحریک رشد پروبیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش جمعیت سلولی آن‌ها می‌شود (۵). بیشترین زمان گرمخانه‌گذاری در تیمار T10 (مقدار کامل شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*) مشاهده می‌شود (p<۰/۰۵). طولانی‌ترین فاز لگاریتمی رشد نیز ، مربوط به این تیمار می‌باشد (p<۰/۰۵). طولانی شدن فاز لگاریتمی رشد نشان دهنده، افزایش منوساکاریدهای سویا (گلوکز و فروکتوز) و سایر مواد مغذی در دسترس شیرسویا و فعالیت پروتئولیتیک بالای *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌باشد (۵).

بررسی میانگین سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسل احیا، مدت زمان گرمخانه‌گذاری، نقطه اوج تخمیر، اسیدیته نهایی و مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک در پایان تخمیر نشان می‌دهد (جدول ۲)، تیمارهای T2، T3، T7 و T8 دارای بیشترین میانگین سرعت افت pH می‌باشند، که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با سایر تیمارها دارند (p<۰/۰۵). علت این موضوع افزایش مواد مغذی رشد و الیگوساکاریدهای شیرسویا و حضور لاکتوز موجود در شیرگاو می‌باشد، که موجب افزایش اثر سینرژیستی بین آن‌ها می‌شود. بیشترین میانگین سرعت افزایش اسیدیته در تیمار T7 (نسبت ۳:۱ شیرگاو به شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*) مشاهده می‌شود (p<۰/۰۵). هم‌چنین، بیشترین سرعت افزایش پتانسیل احیا طی دوره تخمیر مربوط به تیمار T3 می‌باشد (p<۰/۰۵)، علت آن افزایش مواد مغذی در دسترس موجود در شیرسویا است، زیرا پتانسیل احیای محیط فرآورده به ترکیبات موجود در آن بستگی دارد (۶). در مقابل کمترین میانگین سرعت افت pH ، سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمار T10 مشاهده می‌شود (p<۰/۰۵)، نشان می‌دهد با افزایش میزان شیرسویا و حذف لاکتوز از سرعت افت pH و افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا کاسته می‌شود. هم‌چنین بیشترین اسیدیته قابل تیتر نهایی در تیمار T6 (مقدار کامل شیرگاو ، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی*) مشاهده می‌شود (p<۰/۰۵)، در مقابل تیمار T5 (مقدار کامل شیرسویا، تیمار هم کشت شده باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*) دارای کمترین اسیدیته قابل تیتر می‌باشد (p<۰/۰۵). در تمام تیمارها، با افزایش نسبت شیرسویا، اسیدیته نهایی و مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک کاهش یافت (p<۰/۰۵). علت آن کاهش لاکتوز شیر و عدم توانایی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* به عنوان عامل اصلی تولید اسید در تخمیر ساکاروز موجود در شیرسویا می‌باشد. Liu و Lin در سال ۲۰۰۰ طی تحقیقات خود دریافتند که *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در شیرسویا، به دلیل عدم توانایی در آن در تخمیر ساکاروز و سایر کربوهیدرات‌های سویا به کندی رشد کرده و اسید کمی تولید می‌کند (۵). هم‌چنین درتمام تیمارها مقدار اسید لاکتیک بیشتر از اسید استیک است. علت آن توانایی بالای باکتری‌های لاکتوباسیلوس در تولید اسیدلاکتیک و حساسیت بیشتر آن‌ها به اسید استیک می‌باشد (۱۲). در تحقیقی که توسط Donkor و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی شیر سویای تخمیری و شیرگاو تخمیری صورت گرفت مشخص شد که تولید پایین اسیدهای آلی در شیرسویا در مقایسه با شیرگاو محیط بهتری را جهت رشد سلولی باکتری‌های پروبیوتیک فراهم می‌نماید (۱۱). هم‌چنین، اسیدیته قابل تیتر نهایی و مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک در تیمارهایی با گونه *لاکتوباسیلوس کازئی* بالاتر از تیمارهایی با گونه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می‌باشد.Donkor در سال ۲۰۰۷ طی تحقیقات خود گزارش کرد، تولید اسید لاکتیک در شیر سویا توسط *لاکتوباسیلوس کازئی* در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به طور قابل توجهی بالاتر می‌باشد (۱۲). به علاوه *لاکتوباسیلوس کازئی* Lc279 به طور معنی‌دار اسید استیک بیشتری نسبت به سایر باکتری‌های پروبیوتیک تولید می‌کند. در تحقیقات صورت گرفته توسط Vinderola and Reinheimer در سال ۲۰۰۳ مشخص شد که *لاکتوباسیلوس کازئی* با وجود تولید مقادیر بیشتری اسید در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* قابلیت زیستی بالاتری دارد (۱۳). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که گونه *لاکتوباسیلوس کازئی* در شرایط اسیدی مقاومت خوبی از خود نشان می‌دهد. هم‌چنین میزان اسیدیته بر پتانسیل احیای فرآورده اثر می‌گذارد، بدین صورت که افزایش اسیدیته موجب افزایش شاخص یادشده می‌شود. پتانسیل احیای بالا، قابلیت بقای باکتری‌های پروبیوتیک به ویژه بیفیدوباکتریوم‌ها را کاهش می‌دهد (۶). می‌توان چنین نتیجه گرفت که پایین بودن قابلیت زیستی در نسبت‌های بالای شیرگاو، به دلیل بالا بودن اسیدیته قابل تیتر نهایی در آن‌ها می‌باشد. در تیمارهایی با مقدار کامل شیرگاو (T1,T6)، *لاکتوباسیلوس کازئی* تأثیر بیشتری بر سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا دارد و مدت زمان گرمخانه‌گذاری نیز در تیمار T6 کمتر است. این موضوع نشان می‌دهد که سرعت رشد و اسیدسازی در محیط شیرگاو توسط *لاکتوباسیلوس کازئی* بالاتر است (۱۳). با افزودن شیر سویا در نسبت‌های ۳ :۱ شیرگاو به شیرسویا و مقدار کامل شیرسویا، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تأثیر بیشتری بر سرعت افت pH، افزایش اسیدیته و کاهش زمان گرمخانه‌گذاری دارد. این موضوع نشان دهنده آن است که قابلیت پروبیوتیک-حفاظی بالای پروتئین‌های سویا بر باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* مؤثرتر است و مانع از افت سریع pH و افزایش اسیدیته در این تیمارها می‌شود (۱۴).

بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک نشان می‌دهد، نوع کشت پروبیوتیک به طور کاملاً معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها مؤثر است. در همه تیمارها قابلیت زیستی *لاکتوباسیلوس کازئی* بالاتر از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌باشد ($p<۰/۰۵$). رشد سلولی بالای *لاکتوباسیلوس کازئی* با فعالیت پروتئولیتیک و آلفا گالاکتوزیدازی این باکتری مرتبط است، به طوری که فعالیت پروتئولیتیک بالا منجر به هیدرولیز پروتئین‌ها و تولید مقادیر قابل توجهی اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدها می‌شود. باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* L26 فعالیت پروتئولیتیک بیشتری در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* L10 دارد (۱۱).

بررسی اثر نسبت‌ها بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها نشان می‌دهد که در نسبت‌های کامل شیرگاو که فاقد شیرسویا می‌باشند، به دلیل فعالیت اسیدسازی بالای *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و عدم وجود مواد کمکی رشد شیرسویا قابلیت زیستی کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). در تحقیقی مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۰۷ اعلام کردند که باکتری‌های ماست، خصوصاً *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* می‌تواند از طریق اسیدسازی شدید و تولید پراکسید هیدروژن و احتمالاً باکتریوسین، پروبیوتیک‌ها را متوقف سازد (۸). در تیمارهایی با نسبت ۱:۳و ۱:۱ (شیرگاو به شیرسویا) با افزودن شیرسویا، به دلیل افزایش مواد مغذی محرک شامل اسیدهای آمینه، پپتیدها و الیگوساکاریدها و تشدید اثر سینرژیستی بین پروتئین‌های شیرگاو و شیرسویا ، قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک فزونی یافت ($p<۰/۰۵$). در تیمار T10 علی رغم حذف کامل شیرگاو، قابلیت زیستی افزایش یافت. با توجه به طولانی بودن فاز لگاریتمی رشد و پایین بودن سرعت افت pH و افزایش اسیدیته و افزایش زمان گرمخانه‌گذاری در این تیمار نتیجه گرفته می‌شود که نسبت کامل شیرسویا محیط کاملاً مساعدی برای رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* به شمار می‌آید و احتمالاً اثر پروبیوتیک- حفاظی پروتئین‌های سویا موجب افزایش جمعیت سلولی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* شده است (۱۴).

در ارتباط با خصوصیات حسی تیمارها، بیشترین میزان پذیرش از لحاظ طعم و احساس دهانی (یکنواختی یا همگن بودن) در تیمار T1 مشاهده شد ($p<۰/۰۵$)، در مقابل تیمار T5 دارای کمترین میزان پذیرش طعم و احساس دهانی می‌باشد که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری دارد ($p<۰/۰۵$). از لحاظ ظاهر (رنگ و دوفاز شدن)، تیمارهای T1، T2 و T6 بیشترین پذیرش را دارند ($p<۰/۰۵$). در مقابل تیمار T5 کمترین پذیرش را در ظاهر نشان می‌دهد و دارای اختلاف معنی دار با سایر تیمارهای می‌باشد ($p<۰/۰۵$). با توجه به نتایج به دست آمده از جدول ۴ مشاهده می‌شود، با افزایش نسبت شیرسویا، پذیرش طعم، احساس دهانی و ظاهر به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد ($p<۰/۰۵$). علت این موضوع کمبود پیش سازهای مؤثر جهت تولید آرومای

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

مطلوب در شیرسویا می‌باشد. تولید عطر و طعم در فرآورده‌های شیری تخمیری با متابولیزه کردن پیش سازهای مختلف که عمدتاً کربوهیدرات‌ها (لاکتوز)، اسیدهای آمینه (ترئونین) و اسیدهای نوکلئیک می‌باشند، ترکیبات مؤثر در تولید آرومای فرآورده را فراهم می‌کنند (۱۵). به علاوه، نوع کشت پروبیوتیک تأثیر منظمی بر پذیرش طعم، احساس دهانی و ظاهر ندارد. اما در نسبت‌های بالای شیرگاو، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از لحاظ ویژگی‌های طعم و احساس دهانی پذیرش بیشتری نشان داد ($p<0/05$). علت این موضوع آن است که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شیر تخمیری قادر به تولید استالدئید و دی استیل می‌باشد.

Ostile و همکاران در سال ۲۰۰۳ گزارش کردند که باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 در شیر تخمیری مقادیر زیادی استالدئید تولید می‌کند (۱۶).

نتایج این مطالعه نشان داد که باکتری‌های پروبیوتیک به کار رفته در این پژوهش، رشد مطلوبی در نسبت‌های مختلف شیرگاو به شیر سویا داشتند. بیشترین قابلیت زیستی در باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و نسبت مساوی شیرگاو به شیرسویا مشاهده شد. هم‌چنین استفاده از شیرگاو علاوه بر غنی سازی محیط، در مطلوبیت طعم شیرسویا تأثیر به سزایی داشت.

References

1. Coward LB. Genistein, daidzein and their diets. J Agri Food chem 1993; 41: 1961-1967.
2. Wang HA, Murphy P. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. J Agri Food Chem 1996; 44: 2377-2383.
3. Garro MD. Temperature effect on the biological activity of Bifidobacterium longum CRL849 and Lactobacillus fermentum CRL251 in pure and mixed cultures grown in soymilk. Food Micro 2004; 21: 511-518.
4. Scalabrini P R. Characterization of Bifidobacterium strains for use in soymilk fermentation. Int J Food Microbiol 1998; 39: 213-219.
5. Liu JR, Lin CW. Production of kefir from soymilk with or without added glucose, lactose, or sucrose. J Food Sci 2000; 65: 716-719.
6. *Mortazavian AM, Sohrabvandi S. Probiotics and food probiotic products; based on dairy. Probiotic products; Eta Publication: Tehran, Iran 2006. p. 54-155. [In Persian].*
7. Kun S, Rezessy-szabo JM, Nguyen S. Change of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected bifidobacterium strains. Pro Biochem 2008; 43: 816-821.
8. Mortazavian AM, Ehsani MR, Mousavi SM, Sohrabvandi S, Reinheimer J. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganism in yogurt. Int J Dairy Technol 2007; 17: 123-127.
9. Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H. Effect of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of Doogh (Iranian fermented milk drink). Italian J Food Sci 2010; 22: 99-103.
10. *Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Method of sensory evaluation of fermented milk products. ISIRI no 4940. First revision, Karaj: ISIRI; 1997. [In Persian].*
11. Donkor ON, Henrikson A, shah NP. Probiotic strain as starter cultuer Improve Anjiotansin-converting Enzyme Inhibitory activity in soy yoghurt. Food microbiol safety 2006; 14: 45-53.
12. Donkor ON. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yogurt during cold storage. Int Dairy J 2007; 17: 657-665.
13. Vinderola CA, Reinheimer JA. Lactic acid starter probiotic bacteria a comparative " in vitro" study of probiotic characteristic antibiological barrier iresistance. Food Res Int 2003; 36: 895-904.
14. Shimakawa YM. Evaluation of Bifidobacterium breve strain Yakult- fermented soymilk as a probiotic food. Int J Food Microbiol 2003; 81: 131-136.
15. Seydim ZB, Seydim AC, Greene AK, Bodine A B. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. J Food Comp Anal 2000; 13: 35-43.
16. Ostlie HM, Helland MH, Narvhus JA. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk. Int J Food Microbiol 2003; 87: 17– 27.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]

Effects of type of probiotic culture and cow's milk to soy milk proportion on qualitative aspects of soy-based probiotic fermented drink

Shahabbaspour Z[1], Mohammadi R[2], Soleimani M[3], Mortazavian M[4]

1. *Dept. of of Food Science and Technology, Rudaki Institute, Tonekabon, Iran.*
2. **Corresponding author: Students Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: R.mohammadi@sbmu.ac.ir*
3. *Students Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
4. *Associate Prof. Dept. of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.*

Abstract

Background and Objectives: Nowadays, production of vegetable probiotic products, such as probiotic fermented soymilk has considered as a functional food. The aim of this study was to investigate the effect of type of probiotic culture and cow's milk to soymilk proportion on biochemical and microbiological aspects of soy based probiotic fermented drink.

Materials and Methods: In this study, the different proportions of cow's milk to soymilk (complete amount of cow's milk, 3:1, 1:1, 1:3, complete amount of soymilk) were prepared using reconstituted skim milk powder and soymilk, and two type of probiotic culture (*Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Lactobacillus casei* L-01) were inoculated. The biochemical (pH, titratable acidity, redox potential, amounts of lactic acid and acetic acid) and microbiological (viability of probiotics) and sensory characteristics of produced samples were investigated.

Results: The amounts of lactic and acetic acids decreased by increase of proportion of soymilk. The treatment of T8 (equal proportion of cow's milk: soymilk, *L. casei* co-cultured with yogurt starter cultures) showed the highest viability)8.69 log cfu/ml.)The highest sensory characteristics were related to the treatments which had the highest proportion of cow's milk and then the treatment of T8 was set in fourth grade in total acceptability.

Conclusion: Probiotic cultures had good growth in equal proportion of cow's milk to soymilk, therefore, soy-based probiotic drink was introduced as a functional product containing probiotics and bioactive compounds.

Keywords: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, Soy-based probiotic drink

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-07-21]