مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۵، ویژه‌نامه زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۵۲۲-۵۱۱

اثرات نسبت شیر گاو به شیرسویا و نوع کشت آغازگر تجاری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ سویای پروبیوتیک

رضا محمدی[۱]، میلاد روحی لنگرودی[۲]، سید امیرمحمد مرتضویان[۳]، مریم سلیمانی[۱]، صمد صبوری[۴]

۱- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
۳- نویسنده‌ی مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: mortazvn@sbmu.ac.ir
۴- مؤسسه تحقیقات برنج کشور، رشت، گیلان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: در سال‌های اخیر، مصرف غذاهای فراسودمند به دلیل افزایش آگاهی مردم و ارزش تغذیه‌ای این محصولات، افزایش یافته است. تولید دوغ سویای پروبیوتیک پتانسیل فراسودمند بودن آن را دوچندان خواهد کرد. هدف از این پژوهش، بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ سویای پروبیوتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، اثر متغیرهای نسبت شیرگاو به شیرسویا (۱۰۰:۰، ۲۵:۷۵، ۵۰:۵۰، ۷۵:۲۵ و ۰:۱۰۰) و نوع کشت آغازگر تجاری (کشت ABY-1 شامل از شرکت هنسن، کشت MY-720 از شرکت DSMیا کشت YO-Mix-210 از شرکت دنیسکو) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبیولوژیک و حسی دوغ سویای پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. شاخص‌های pH، اسیدیته قابل تیتر، پتانسیل احیا، مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک، قابلیت زیستی و خصوصیات حسی طی تخمیر و یا نگهداری یخچالی، جهت تعیین تیمار بهینه اندازه‌گیری شدند.

یافته‌ها: کوتاه‌ترین زمان تخمیر در تیمار با نسبت شیر گاو به شیر سویای ۵۰:۵۰ و کشت آغازگر ABY-1 شرکت هنسن مشاهده شد. بیشترین و کمترین مقدار قابلیت زیستی *ب. بیفیدوم* و *ل. اسیدوفیلوس* در دوره نگهداری یخچالی در تیمارهای با نسبت شیر گاو به شیر سویا ۲۵:۷۵ با کشت آغازگر ABY-1 شرکت هنسن و ۲۵:۷۵ با کشت آغازگر MY-720 شرکت DSM دیده شد. اثر نوع ترکیب کشت آغازگر بر خواص حسی معنی‌دار نبود ($p>0/05$) و صرف نظر از نمونه شاهد (۱۰۰:۰)، نسبت شیر گاو به شیر سویا ۷۵:۲۵ از بیشترین قابلیت پذیرش برخوردار بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مجموع شاخص‌های کیفی (قابلیت زیستی و خواص حسی) نسبت ۵۰:۵۰ در هر سه نوع کشت آغازگر تجاری به عنوان تیمارهای بهینه انتخاب شد.

واژگان کلیدی: کشت آغازگر، قابلیت زیستی، دوغ سویای پروبیوتیک

مقدمه

امروزه، مقبولیت و مصرف فراورده‌های پروبیوتیک در کشورهای جهان به ویژه اروپا، ایالات متحده و ژاپن رواج چشم‌گیر یافته است. 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 بیفیدوباکتریوم‌ها، مهم‌ترین ریززنده پروبیوتیک به شمار می‌آید (۲، ۱). ویژگی‌های سلامت بخشی هم‌چون خواص ضد سرطان‌زایی، ضد جهش‌زایی، ضد عفونتی، تحریک سیستم ایمنی، کاهش دهندگی کلسترول سرم، افزایش ارزش تغذیه‌ای غذا و هم‌چنین درمان انواع اسهال، عفونت‌های دستگاه گوارش و دستگاه ادرای تناسلی به این ریززنده‌ها نسبت داده می‌شود (۳). در میان فراورده‌های غذایی پروبیوتیک، فراورده‌های لبنی پروبیوتیک به ویژه فراورده‌های تخمیری لبنی از پذیرش و مصرف بیشتری برخوردار هستند. امروزه فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک حدود ۲۵٪ از کل فراورده‌های تخمیری را شامل می‌شوند. در کشور ما در میان نوشیدنی‌های بر پایه ماست، دوغ مورد

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

توجه خاص قرارگرفته است. مقبولیت دوغ نه فقط به عنوان فراورده‌ای با ویژگی‌های حسی مطلوب به عنوان نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش سبب شده است که به عنوان نوشیدنی ملی ایران پذیرفته شود (۴). میزان مصرف سرانه و تولید صنعتی دوغ در سال‌های اخیر رشد قابل توجه داشته است. در تمامی فراورده‌های پروبیوتیک، « ارزش زیستی- BV »، یعنی تعداد سلول‌های زنده و فعال پروبیوتیک در گرم یا میلی لیتر فراورده، ارزش اساسی آن‌ها محسوب می‌شود. شاخص BV باید به اندازه کافی بالا باشد تا پس از مصرف تعداد کافی سلول زنده به محیط روده راه یابد. به منظور دستیابی به اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها، کمینه ارزش دارویی $۱۰^{۶}$ml cfu/ در فراورده نهایی پیشنهاد شده است (۲). دوغ به دلیل اسیدیته بالا و pH پایین، محیط مناسبی برای انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن نیست (۵). این موضوع به ویژه در خصوص بیفیدوباکتریوم‌ها از اهمیت ویژه برخوردار است (۲). بنابراین، یکی از مسائل این تحقیق دستیابی به قابلیت زیستی قابل قبول پروبیوتیک‌ها در محصول نهایی می‌باشد. لوبیای سویا به دلیل خواص سلامت بخش تغذیه‌ای (ارزش پروتئینی و املاح) و دارویی (نظیر کاهش سطح کلسترول سرم، کاهش میزان تری گلیسیریدها، خواص ضدسرطانی، بهبود متابولیسم چربی‌ها، پیشگیری از عوارض پوکی استخوان و اختلالات یائسگی) و هم‌چنین ویژگی‌های عملکردی مناسبی که پروتئین‌های آن به ساختار غذا می‌دهند (همانند ژلاتینه شدن، امولسیون سازی، ایجاد کف و آب گیری) سبب می‌شود که تولید دوغ بر پایه شیر سویا با استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، به خاطر افزایش پتانسیل فراویژه بودن آن، از جذابیت تکنولوژیک و صنعتی بالایی برخوردار باشد (۶). مزایای دیگری مانند کاهش قندهای نفخ زای سویا و افزایش مقدار ایزوفلاون‌های آزاد در سویا پس از تخمیر (۵)، هم‌چنین ویژگی‌هایی نظیر سوبسترایی مناسب برای رشد و تکثیر پروبیوتیک‌ها در محصول و هم‌چنین قابلیت پروبیوتیک- حفاظ مناسب از نظر ساختاری در برابر عوامل خطرزای محیط (شرایط اسیدی/ pH پایین فراورده، معده و صفرای روده) نیز به فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک تهیه شده از شیرسویا نسبت داده شده است (۷). بنابراین تولید فراورده‌های تخمیری از جمله دوغ بر پایه شیر سویا با استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، ضمن رفع نقایص مربوط به طعم لوبیایی ناشی از ترکیبات هگزانال و پنتانال و نفخ ناشی از الیگوساکاریدهای غیر قابل هضم، پتانسیل فراویژه بودن آن را به طور چشم‌گیری افزایش می‌دهد و می‌تواند به عنوان یک ماده غذایی سلامت بخش در رژیم غذایی روزانه مردم به کار رود (۸).

هدف این مطالعه، مطالعه اثرات دو فاکتور مهم نسبت شیرگاو به شیر سویا و هم‌چنین نوع کشت آغازگر تجاری در تولید دوغ سویای پروبیوتیک بر زنده مانی ریززنده‌های پروبیوتیک در فراورده نهایی ضمن دستیابی به خواص حسی بهینه است.

مواد و روش‌ها

کشت‌های منجمد شده تجاری DVS شامل کشت ABY-1 شامل *ل. اسیدوفیلوس* LA-5، *ب. بیفیدوم* Bb-12 و باکتری‌های سنتی ماست (*لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) از شرکت هنسن دانمارک، کشت MY-720 شامل *ل. اسیدوفیلوس* LA-10، *ب. بیفیدوم* Bb-94 و باکتری‌های سنتی ماست از شرکت DSM آلمان یا کشت YO-Mix-210 شامل *ل. اسیدوفیلوس* NCFM، *ب. بیفیدوم* HN019 و باکتری‌های سنتی ماست از شرکت دنیسکو فرانسه می‌باشد. روش تهیه نمونه‌ها به شرح زیر می‌باشد:

در این پژوهش، ۱۵ تیمار در سه تکرار بررسی شد. ابتدا شیر سویا را با شیر گاو بازسازی شده به نسبت‌های معین (۱۰۰:۰، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵، ۷۵:۲۵ و ۰:۱۰۰) مخلوط و سپس پایدار کننده و نمک (۰/۵ درصد) اضافه کرده و ماده خشک بدون چربی تا ۶٪ رسانیده و سپس هموژن کرده و مورد فرایند حرارتی (۹۰°C به مدت زمان ۱۵ دقیقه) قرار گرفتند. در مرحله بعد، سرد شده و کشت‌های آغازگر حاوی پروبیوتیک (DSM،Danisco وChr-Hansen) اضافه شده و گرمخانه گذاری در ۴۰°C تا رسیدن به pH ۴/۴ انجام گرفت (شاخص‌های آزمایشی حین تخمیر (هر نیم ساعت) و در پایان آن مورد اندازه گیری قرار گرفتند) و سپس اسانس (۰/۰۲ درصد) به نمونه اضافه شد. پس از هموژنیزاسیون، نمونه‌ها را تا دمای نگهداری یخچالی (۵°C) سرد کرده و شاخص‌های آزمایشی در پایان تخمیر و طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (هر هفت روز) اندازه گیری شدند.

آزمون میکروبی: شمارش زنده پروبیوتیک‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA-5و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-12) با استفاده از محیط کشت MRS-bile آگار (MRS آگار و bile به ترتیب ساخت شرکت Merck از کشور آلمان و شرکت Sigma-Aldrich از کشور آمریکا) مطابق با

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

روش مرتضویان و همکاران (۲۰۰۶) انجام شد (۹). پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی هوازی در دمای (۳۷°C) به مدت زمان دست کم ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی و گازپک تیپ A ایجاد شد.

آزمون شیمیایی

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 بر طبق روش مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۱۰ اندازه‌گیری شد (۱۰).

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 تعیین شد (۱۰).

مقادیر اسید استیک و اسید لاکتیک: درصد اسید استیک و اسید لاکتیک نمونه‌ها توسط دستگاه HPLC مدل Cecil, CE4200 ساخت کشور آمریکا اندازه‌گیری شد (۱۰).

ارزیابی حسی: ویژگی‌های حسی شامل طعم، احساس دهانی و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمون توسط ۱۰ نفر ارزیاب آموزش دیده کارخانه مکسوی جهت تعیین تیمار بهینه انجام گرفت. 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، ۵/۵ برای احساس دهانی و ۲ برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد (۱۱).

ارزیابی آماری: برای بررسی آماری نتایج از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد و کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار minitab 14 و آزمون آماری دانکن انجام شد. $p<۰/۰۵$ به معنی وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در نظر گرفته شد. نمودارها به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.

اختصارات اسامی تیمارها بدین شرح می‌باشد: اسم هر تیمار از دو بخش تشکیل شده است که بخش اول آن مربوط به نسبت‌های شیر گاو به شیر سویا و بخش دوم آن مربوط به نوع کشت پروبیوتیک است:

HN: کشت آغازگر حاوی پروبیوتیک‌ها خریداری شده از شرکت هنسن دانمارک

DM: کشت آغازگر حاوی پروبیوتیک‌ها خریداری شده از شرکت DSM آلمان

DO: کشت آغازگر حاوی پروبیوتیک‌ها خریداری شده از شرکت دنیسکو فرانسه

قابل ذکر است که نسبت‌های شیر گاو به شیر سویا از سمت چپ به راست می‌باشد.

یافته‌ها

تأثیر نسبت شیر گاو به شیرسویا و نوع کشت آغازگر تجاری بر تغییرات بیوشیمیایی: جدول ۱ نشان‌گر میانگین سرعت متوسط افت pH، افزایش اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا، مدت زمان گرمخانه گذاری، اسیدیته قابل تیتر نهایی و مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک (درصد) در تیمارهای گوناگون در پایان تخمیر می‌باشد. بر اساس جدول ۱، تیمار HN/۵۰:۵۰ کمترین زمان گرمخانه گذاری (۲۶۰ دقیقه) را داشته و این تیمار دارای کوتاه‌ترین فاز کمون در بین تمامی تیمارهای مورد بررسی است. بیشترین زمان گرمخانه گذاری در بین تمامی تیمارها مربوط به تیمار DM/۰: ۱۰۰ بود که زمان آن ۴۲۰ دقیقه می‌باشد. هم‌چنین طولانی‌ترین زمان دوره کمون را نیز دارد. به طور کلی در تمامی تیمارها با افزایش نسبت شیر سویا تا نسبت ۵۰:۵۰ زمان گرمخانه گذاری کم شده و سپس بعد از این نسبت دوباره زمان گرمخانه گذاری طولانی شده ولی هیچ‌گاه به نسبت ۱۰۰:۰ اولیه نمی‌رسد. بر اساس جدول ۱، تیمار HN/۵۰:۵۰ بیشترین میانگین سرعت افت pH را در بین تمامی تیمارها نشان داد و بیشترین میانگین سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا بدون اختلاف معنی‌دار (۰۵/۰ $p>$) مربوط به تیمارهای HN/۵۰:۵۰ و HN/۷۵:۲۵ و DO/۵۰:۵۰ بود. کمترین میانگین سرعت افت pH و پتانسیل احیا مربوط به تیمارهای DM/۰: ۱۰۰ و HN/۰: ۱۰۰ بود. بیشترین میزان اسیدیته نهایی مربوط به تیمار HN/۰: ۱۰۰ و کمترین آن هم مربوط به تیمار DO/۱۰۰:۰ بود. به طور کلی با افزایش نسبت سویا در سوبسترا از میزان اسیدیته نهایی کاسته می‌شود و میزان شیر سویای اضافه شده تأثیر بیشتری نسبت به نوع استارتر مورد استفاده در ویژگی‌های بیوشیمیایی طی تخمیر داشته است. بالاترین زمان گرمخانه‌گذاری مربوط به تیمار DM/۰: ۱۰۰ (۴۲۰ دقیقه) و کمترین زمان هم مربوط به تیمار HN/ ۵۰:۵۰ (۲۶۰دقیقه) بود. تیمار HN/۰: ۱۰۰ بالاترین میزان اسید لاکتیک (۰/۳۵درصد) را دارا بود. هم‌چنین کمترین میزان اسید لاکتیک هم مربوط به تیمار DO/۱۰۰:۰ (۰/۲۸درصد)

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

می‌باشد. بیشترین میزان اسید استیک مربوط به تیمارهای HN/۰: ۱۰۰ و DO/۰: ۱۰۰ و کمترین هم مربوط به تیمارهای HN/۲۵:۷۵ و DM/۲۵:۷۵ بود.

جدول ۲ میانگین سرعت‌های افت pH، افزایش اسیدیته قابل تیتر، پتانسیل احیا و مقادیر اسید لاکتیک و اسید استیک تیمارها در پایان دوره نگهداری یخچالی را نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۲، طی دوره نگهداری یخچالی در تمامی تیمارها بیشترین میزان افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا طی هفت روز اول نگهداری یخچالی و در نسبت ۰: ۱۰۰ در هر سه نوع کشت آغازگر می‌باشد که تیمار HN/۰: ۱۰۰ بیشترین مقدار و تفاوت معنی‌داری با دیگر تیمارهای کشت آغازگر را دارد. هم‌چنین در پایان دوره نگهداری کمترین میزان pH (۴/۰۸) و بیشترین مقدار اسیدیته قابل تیتر نهایی در بین تمامی تیمارها را دارد و بیشترین میزان pH مربوط به نسبت ۰:۱۰۰ هر سه نوع کشت آغازگر است که اختلاف معنی‌داری بین این سه تیمار وجود ندارد. به طور کلی با افزایش نسبت شیر سویا و کاهش نسبت شیر گاو در هر سه نوع کشت آغازگر مقدار شاخص‌های بیوشیمیایی کاهش می‌یابد و بنابراین نسبت ۰:۱۰۰ در هر سه نوع کشت آغازگر کمترین مقدار را دارد و بین تیمارهای آن‌ها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ($p>$ ۰/۰۵). تیمار HN/۰: ۱۰۰ بیشترین مقدار اسید لاکتیک و اسید استیک را دارد و با تیمارهای DM/۰: ۱۰۰، HN/۷۵:۲۵ و DO/۱۰۰:۰ تفاوت معنی‌داری در مقدار اسید لاکتیک وجود ندارد ($p>$ ۰/۰۵). اما در این تیمار مقادیر اسید استیک تفاوت معنی‌داری با تمامی تیمارها دارد. کمترین مقدار اسید لاکتیک و اسید استیک در نسبت‌های ۰:۱۰۰ در هر سه نوع کشت آغازگر مشاهده شده و تفاوت معنی‌داری بین این مقادیر وجود ندارد ($p>$ ۰/۰۵).

تأثیر نسبت شیر گاو به شیرسویا و نوع کشت آغازگر تجاری بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها: جدول ۳ قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و ظرفیت رشد (GPI) آن‌ها در تیمارها بلافاصله پس از تخمیر را نشان می‌دهد. نسبت ۵۰:۵۰ در تمامی کشت‌های آغازگر در پایان تخمیر بیشترین قابلیت زیستی برای هر دو گونه پروبیوتیک را داشت و اختلاف معنی‌دار بود ($p<$۰/۰۵). تیمارهای DM/۵۰:۵۰ و HN/۵۰:۵۰ به ترتیب بیشترین قابلیت زیستی برای *ل. اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در پایان تخمیر را داشتند. در تمامی تیمارها نسبت ۰:۱۰۰ کمترین قابلیت زیستی برای *ل. اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* داشت که تیمارهای DO/۰:۱۰۰ و HN/۰:۱۰۰ به ترتیب بیشترین و کمترین قابلیت زیستی را داشتند و اختلاف معنی‌دار بود ($p<$۰/۰۵).

در جدول ۴ قابلیت زیستی گونه‌های پروبیوتیک‌ها در تیمارهای گوناگون طی دوره نگهداری یخچالی بررسی شده است. تیمار HN/۲۵:۷۵ در روزهای هفتم و چهاردهم و در روز بیست و یکم تیمار DM/۲۵:۷۵ بیشترین قابلیت زیستی برای *ل. اسیدوفیلوس* بین تمامی تیمارها دارد (۶/۳۰Log cfu/ml) و این اختلاف معنی‌دار می‌باشد و کمترین قابلیت زیستی آن مربوط به نسبت ۰: ۱۰۰ است که بین انواع کشت‌های آغازگر این نسبت مربوط به تیمار HN/۰:۱۰۰ و HN/۷۵:۲۵ که در روز بیست و یکم رخ می‌دهد که مقدار آن‌ها ۵/۷۷Log cfu/ml است. بیشترین قابلیت زیستی بین زیر گونه‌های *ب. بیفیدوم* در انواع کشت‌های آغازگر روز هفتم و چهاردهم دوره نگهداری یخچالی مربوط به تیمار HN/۵۰:۵۰ می‌باشد و در روز بیست و یکم مربوط به تیمار DO/۲۵:۷۵ که مقدار آن ۶/۰۴Log cfu/ml است. کمترین ماندگاری بین زیر گونه‌های *ب. بیفیدوم* در پایان روز هفتم در تیمار DM/۰:۱۰۰ (۶/۷۰Log cfu/ml)، روز چهاردهم در تیمار DO/۱۰۰:۰ (۵/۹۲Log cfu/ml) و در روز بیست و یکم در تیمارهای DO/۱۰۰:۰ و DO/۰:۱۰۰ (۵/۳۰Log cfu/ml) می‌باشد.

ویژگی‌های حسی تیمارها: جدول ۵ نتایج حاصل از ارزیابی حسی تیمارها در پایان دوره نگهداری یخچالی را نشان می‌دهد. نوع کشت آغازگر تجاری اثری بر قابلیت پذیرش تیمارها در پایان دوره نگهداری یخچالی نداشت. با این حال، نسبت شیر لبنی به شیرسویا بر ویژگی‌های طعم، ظاهر و احساس دهانی تیمارها تأثیر قابل توجهی داشت. به طوری که از لحاظ ظاهر، طعم و احساس دهانی، بیشترین پذیرش مربوط به نسبت ۷۵:۲۵ بود ولی با این وجود، از لحاظ ویژگی ظاهر با نسبت ۵۰:۵۰ تفاوت معنی‌داری نداشت و کمترین پذیرش مربوط به نسبت ۰:۱۰۰ بود. با توجه به این‌که در تمامی این تیمارها به مقدار ۰/۰۲ اسانس نعنا اضافه شده بود نسبت به تیمارهای بدون اسانس، در نسبت‌های مشابه از شیر گاو به شیرسویا اختلاف معنی‌داری در طعم و احساس دهانی مشاهده شد ولی از لحاظ ظاهری در نسبت‌های مشابه، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($p>$۰/۰۵).

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

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

جدول ۱. مدت زمان تخمیر، مقدار اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا در پایان تخمیر و مقدار اسید لاکتیک و اسید استیک تیمارها در پایان تخمیر*

تیمارها	شاخص ها							
نسبت شیر گاو به شیر سویا	سرعت میانگین افتpH (دقیقه)	سرعت میانگین افزایش اسید (درجه دورنیک/ دقیقه)	سرعت میانگین افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/ دقیقه)	زمان گرمخانه‌گذاری (دقیقه)	زمان اوج تخمیر (دقیقه)	اسیدیته نهایی (درجه دورنیک)	درصد اسید لاکتیک	درصد اسید استیک
۱۰۰ :۰/HN	^{e}۰/۰۰۵	^{bc}۰/۱۱	^{e}۰/۳۴	^{c}۳۹۰	^{a}۱۸۰-۲۱۰	^{a}۴۹/۴	^{b}۰/۳۵	^{a}۰/۱۴
۷۵:۲۵/HN	^{b}۰/۰۰۸	^{ab}۰/۱۳	^{b}۰/۴۴	^{g}۲۸۵	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{b}۴۵/۱	^{b}۰/۳۴	^{b}۰/۱۱
۵۰:۵۰/HN	^{a}۰/۰۰۹	^{a}۰/۱۴	^{a}۰/۴۸	^{h}۲۶۰	^{c}۱۲۰-۱۵۰	^{c}۴۳/۲	^{a}۰/۳۸	^{cd}۰/۰۸
۲۵:۷۵/HN	^{c}۰/۰۰۷	^{b}۰/۱۲	^{bc}۰/۴۲	^{f}۳۰۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{d}۴۱/۶	^{b}۰/۳۵	^{e}۰/۰۶
۰:۱۰۰/HN	^{d}۰/۰۰۶	^{bc}۰/۱۱	^{d}۰/۳۸	^{e}۳۳۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{f}۳۸/۵	^{cd}۰/۳۱	^{de}۰/۰۷
۱۰۰ :۰/DM	^{e}۰/۰۰۵	^{d}۰/۰۹	^{g}۰/۲۸	^{a}۴۲۰	^{a}۱۸۰-۲۱۰	^{a}۴۸/۵	^{ab}۰/۳۶	^{ab}۰/۱۲
۷۵:۲۵/DM	^{c}۰/۰۰۷	^{bc}۰/۱۱	^{d}۰/۳۷	^{e}۳۳۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{b}۴۵/۳	^{b}۰/۳۴	^{bc}۰/۱۰
۵۰:۵۰/DM	^{c}۰/۰۰۷	^{ab}۰/۱۳	^{c}۰/۴۱	^{f}۳۰۰	^{c}۱۲۰-۱۵۰	^{cd}۴۲/۵	^{bc}۰/۳۳	^{c}۰/۰۹
۲۵:۷۵/DM	^{d}۰/۰۰۶	^{c}۰/۱۰	^{de}۰/۳۵	^{d}۳۶۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{de}۴۰/۴	^{ab}۰/۳۶	^{e}۰/۰۶
۰:۱۰۰/DM	^{e}۰/۰۰۵	^{d}۰/۰۹	^{f}۰/۳۱	^{b}۴۰۵	^{a}۱۸۰-۲۱۰	^{f}۳۸/۰	^{d}۰/۳۰	^{cd}۰/۰۸
۱۰۰ :۰/DO	^{d}/۰۰۶	^{c}۰/۱۰	^{ef}۰/۳۲	^{c}۳۹۰	^{a}۱۸۰-۲۱۰	^{ab}۴۷/۳	^{b}۰/۳۴	^{a}۰/۱۳
۷۵:۲۵/DO	^{c}/۰۰۷	^{b}۰/۱۲	^{c}۰/۴۱	^{f}۳۰۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{bc}۴۴/۵	^{bc}۰/۳۳	^{b}۰/۱۱
۵۰:۵۰/DO	^{b}/۰۰۸	^{ab}۰/۱۳	^{d}۰/۳۸	^{g}۲۸۵	^{c}۱۲۰-۱۵۰	^{c}۴۳/۵	^{c}۰/۳۳	^{bc}۰/۱۰
۲۵:۷۵/DO	^{c}/۰۰۷	^{c}۰/۱۱	^{e}۰/۳۵	^{e}۳۳۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{de}۴۰/۵	^{c}۰/۳۲	^{d}۰/۰۸
۰:۱۰۰/DO	^{d}/۰۰۶	^{c}۰/۱۰	^{de}۰/۳۶	^{d}۳۶۰	^{b}۱۵۰-۱۸۰	^{f}۳۷/۳	^{e}۰/۲۸	^{c}۰/۰۹

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

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

جدول ۲. اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی طی نگهداری یخچالی*

تیمارها	شاخص ها						
نسبت شیر گاو به شیر سویا	سرعت میانگین افت pH (روز)	سرعت میانگین افزایش اسید (درجه دورنیک/روز)	سرعت میانگین افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/ روز)	pH نهایی روز ۲۱	اسیدیته نهایی (درجه دورنیک) روز صفر	اسیدیته نهایی (درجه دورنیک) روز ۲۱	درصد اسید لاکتیک	درصد اسید استیک
۱۰۰ :۰/HN	^{a}۰/۰۱۶	^{a}۰/۳۵	^{a}۰/۵۲	^{j}۴/۰۸	^{a}۴۹/۴	^{a}۵۹/۴	^{a}۰/۴۳	^{a}۰/۱۶
۷۵:۲۵/HN	^{c}۰/۰۱۲	^{bc}۰/۳۰	^{c}۰/۴۳	^{e}۴/۱۸	^{b}۴۵/۱	^{b}۵۴/۲	^{a}۰/۴۲	^{c}۰/۱۲
۵۰:۵۰/HN	^{d}۰/۰۰۹	^{d}۰/۲۶	^{d}۰/۳۸	^{de}۴/۲۱	^{c}۴۳/۲	^{bc}۵۰/۴	^{bc}۰/۴۰	^{de}۰/۱۰
۲۵:۷۵/HN	^{ef}۰/۰۰۶	^{j}۰/۱۶	^{f}۰/۲۹	^{b}۴/۳۰	^{d}۴۱/۶	^{cd}۴۸/۵	^{d}۰/۳۷	^{cd}۰/۱۱
۰:۱۰۰/HN	^{j}۰/۰۰۲	^{h}۰/۱۳	^{h}۰/۲۱	^{a}۴/۳۷	^{f}۳۸/۵	^{e}۴۲/۳	^{ab}۰/۴۱	^{e}۰/۰۹
۱۰۰ :۰/DM	^{bc}۰/۰۱۳	^{cd}۰/۲۸	^{c}۰/۴۳	^{f}۴/۱۴	^{a}۴۸/۵	^{a}۵۷/۲	^{a}۰/۴۳	^{b}۰/۱۴
۷۵:۲۵/DM	^{d}۰/۰۰۹	^{e}۰/۲۳	^{e}۰/۳۵	^{d}۴/۲۲	^{b}۴۵/۳	^{b}۵۳/۳	^{ab}۰/۴۱	^{c}۰/۱۲
۵۰:۵۰/DM	^{e}۰/۰۰۷	^{f}۰/۱۹	^{ef}۰/۳۲	^{bc}۴/۲۸	^{cd}۴۲/۵	^{cd}۴۹/۲	^{c}۰/۳۹	^{de}۰/۱۰
۲۵:۷۵/DM	^{f}۰/۰۰۴	^{hk}۰/۱۳	^{jh}۰/۲۴	^{ab}۴/۳۳	^{de}۴۰/۴	^{e}۴۴/۶	^{e}۰/۳۵	^{e}۰/۰۹
۰:۱۰۰/DM	^{j}۰/۰۰۲	^{k}۰/۰۹	^{h}۰/۱۸	^{a}۴/۳۶	^{f}۳۸/۰	^{f}۴۰/۲	^{f}۰/۳۰	^{de}۰/۱۰
۱۰۰:۰/DO	^{b}۰/۰۱۴	^{b}۰/۳۲	^{b}۰/۴۷	^{j}۴/۱۰	^{ab}۴۷/۳	^{a}۵۶/۴	^{a}۰/۴۲	^{b}۰/۱۴
۷۵:۲۵/DO	^{c}۰/۰۱۱	^{cd}۰/۲۸	^{d}۰/۳۹	^{d}۴/۲۱	^{bc}۴۴/۵	^{bc}۵۲/۷	^{ab}۰/۴۱	^{cd}۰/۱۱
۵۰:۵۰/DO	^{de}۰/۰۰۸	^{e}۰/۲۲	^{de}۰/۳۶	^{c}۴/۲۶	^{c}۴۳/۵	^{cd}۴۹/۳	^{c}۰/۳۹	^{e}۰/۰۹
۲۵:۷۵/DO	^{f}۰/۰۰۵	^{hj}۰/۱۵	^{j}۰/۲۵	^{b}۴/۳۰	^{de}۴۰/۵	^{e}۴۵/۱	^{e}۰/۳۵	^{de}۰/۱۰
۰:۱۰۰/DO	^{j}۰/۰۰۲	^{k}۰/۱۱	^{h}۰/۱۸	^{a}۴/۳۵	^{f}۳۷/۳	^{f}۳۹/۲	^{f}۰/۲۹	^{de}۰/۱۰

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

جدول۳. قابلیت زیستی و ضریب نسبت رشد GPI پروبیوتیک‌ها بلافاصله بعد از تخمیر*

تیمارها	جمعیت اولیه (log cfu/mL)			جمعیت نهایی (log cfu/mL)			ضریب نسبی رشد (GPI)		
نسبت شیر گاو به شیر سویا	A	B	A+B	A	B	A+B	A	B	A+B
۱۰۰:۰/HN	۶/۲۲	۶/۴۴	۶/۶۳	۷/۳۰ dA	۷/۳۷ cA	۷/۳۳ de	۱/۱۷	۱/۱۴	۱/۱۰
۷۵:۲۵/HN	۶/۲۲	۶/۴۴	۶/۶۳	۷/۳۳ deB	۷/۴۵ bA	۷/۳۶d	۱/۱۸	۱/۱۶	۱/۱۱
۵۰:۵۰/HN	۶/۲۲	۶/۴۴	۶/۶۳	۷/۴۴bB	۷/۶۵aA	۷/۵۶a	۱/۲۰	۱/۱۹	۱/۱۴
۲۵:۷۵/HN	۶/۲۲	۶/۴۴	۶/۶۳	۷/۲۵ deB	۷/۴۰ bcA	۷/۳۴de	۱/۱۶	۱/۱۵	۱/۱۱
۰ :۱۰۰/HN	۶/۲۲	۶/۴۴	۶/۶۳	۷/۱۲fB	۷/۴۷bA	۷/۳۳de	۱/۱۴	۱/۱۶	۱/۱۰
۱۰۰ :۰/DM	۶/۲۰	۶/۱۸	۶/۵۰	۷/۴۷ abA	۷/۳۸ bcB	۷/۴۴c	۱/۲۰	۱/۱۹	۱/۱۴
۷۵:۲۵/DM	۶/۲۰	۶/۱۸	۶/۵۰	۷/۴۷ abA	۷/۳۹cB	۷/۴۴c	۱/۲۰	۱/۱۹	۱/۱۴
۵۰:۵۰/DM	۶/۲۰	۶/۱۸	۶/۵۰	۷/۵۳aA	۷/۴۵ bA	۷/۴۹b	۱/۲۱	۱/۲۰	۱/۱۵
۲۵:۷۵/DM	۶/۲۰	۶/۱۸	۶/۵۰	۷/۳۷ cdA	۷/۳۱ dA	۷/۳۴de	۱/۱۹	۱/۱۸	۱/۱۳
۰ :۱۰۰/DM	۶/۲۰	۶/۱۸	۶/۵۰	۷/۱۳ fA	۷/۱۰ fgA	۷/۱۱fg	۱/۱۵	۱/۱۵	۱/۱۰
۱۰۰ :۰/DO	۶/۲۲	۶/۲۰	۶/۵۳	۷/۴۲ bcA	۷/۳۲ cdB	۷/۳۷d	۱/۱۹	۱/۱۸	۱/۱۳
۷۵:۲۵/DO	۶/۲۲	۶/۲۰	۶/۵۳	۷/۳۸cA	۷/۲۳eB	۷/۳۱e	۱/۱۸	۱/۱۶	۱/۱۲
۵۰:۵۰/DO	۶/۲۲	۶/۲۰	۶/۵۳	۷/۴۰cA	۷/۳۲ dA	۷/۳۶d	۱/۱۹	۱/۱۸	۱/۱۳
۲۵:۷۵/DO	۶/۲۲	۶/۲۰	۶/۵۳	۷/۲۴eA	۷/۱۵fB	۷/۲۰f	۱/۱۶	۱/۱۵	۱/۱۰
۰:۱۰۰/DO	۶/۲۲	۶/۲۰	۶/۵۳	۷/۳۰ dA	۷/۱۷ efB	۷/۲۴ef	۱/۱۷	۱/۱۶	۱/۱۱

* میانگین‌هایی که با حروف کوچک و بزرگ متفاوت نشان داده شده اند، به ترتیب نشاندهنده تفاوت‌های معنی‌دار میان میانگین‌ها در ستون‌ها و سطرها هستند ($p<۰/۰۵$).

** A=*ل. اسیدوفیلوس*، B= بیفیدوباکتریوم

جدول۴. قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی*

تیمارها	جمعیت نهایی پروبیوتیک ها d_0 (log cfu/mL)			جمعیت نهایی پروبیوتیک ها d_7 (log cfu/mL)			جمعیت نهایی پروبیوتیک ها d_{14} (log cfu/mL)			جمعیت نهایی پروبیوتیک ها d_{21} (log cfu/mL)		
	A	B	A+B	A	B	A+B	A	B	A+B	A	B	A+B
۱۰۰:۰/HN	۷/۳۰ dA	۷/۳۷ cA	۷/۳۳ de	۶/۸۸bA	۶/۷۳cdA	۶/۸۱c	۶/۲۴eA	۵/۹۷deA	۱/۳۶de	۵/۷۷cA	۵/۳۹deAB	۵/۶۲c
۷۵:۲۵/HN	۷/۳۳ deB	۷/۴۵ bA	۷/۳۶d	۶/۸۰bcA	۶/۷۱dA	۶/۷۶cd	۶/۱۷eA	۶/۰۰deA	۶/۰۹de	۵/۷۷cA	۵/۶۰dA	۵/۶۹c
۵۰:۵۰/HN	۷/۴۴ bB	۷/۶۵ aA	۷/۵۶a	۶/۹۷aA	۷/۰۲aA	۷/۰۰a	۶/۷۴aA	۶/۷۰aA	۶/۷۲ab	۶/۰۷cdA	۵/۶۶cdAB	۵/۹۳b
۲۵:۷۵/HN	۷/۲۵ deB	۷/۴۰ bcA	۷/۳۴de	۶/۹۶aA	۶/۸۳bcAB	۶/۹۲b	۶/۸۸aAB	۶/۶۸aAB	۶/۲۲a	۶/۲۷aA	۶/۰۴aAB	۶/۱۷a
۰ :۱۰۰/HN	۷/۱۲fB	۷/۴۷bA	۷/۳۳de	۶/۸۷bA	۶/۹۰abA	۶/۸۳b	۶/۶۸bcA	۶/۵۷abA	۶/۶۳b	۶/۰۰dA	۵/۸۷bAB	۵/۹۳b
۱۰۰ :۰/DM	۷/۴۷ abA	۷/۳۸ bcB	۷/۴۴c	۶/۸۸bA	۶/۷۱dA	۶/۸۰c	۶/۲۳eA	۶/۰۰deA	۱/۳۵de	۵/۸۷cA	۵/۳۴eAB	۵/۶۸c
۷۵:۲۵/DM	۷/۴۷ abA	۷/۳۹ cB	۷/۴۴c	۶/۹۴abA	۶/۸۴bcA	۶/۸۹b	۶/۳۷dA	۶/۲۰dA	۱/۹۷d	۵/۹۲bcA	۵/۵۳dAB	۵/۷۷c
۵۰:۵۰/DM	۷/۵۳ aA	۷/۴۵ bAB	۷/۴۹b	۶/۹۲abA	۶/۸۷bA	۶/۹۰b	۶/۸۰abA	۶/۶۳aA	۵/۳۴ab	۶/۲۱abA	۵/۷۴cB	۶/۰۴ab
۲۵:۷۵/DM	۷/۳۷ cdA	۷/۳۱ dA	۷/۳۴de	۶/۹۴abA	۶/۸۳bcA	۶/۸۹b	۶/۶۷bcA	۶/۵۵bA	۴/۱۸b	۶/۲۹aA	۵/۹۸aB	۶/۱۶a
۰ :۱۰۰/DM	۷/۱۳ fA	۷/۱۰ fgA	۷/۱۱fg	۶/۷۷cA	۶/۷۰dA	۶/۷۴d	۶/۶۰cA	۶/۲۸dAB	۲/۹۹c	۵/۸۷cA	۵/۶۶cdAB	۵/۷۷bc
۱۰۰ :۰/DO	۷/۴۲ bcA	۷/۳۲ cdB	۷/۳۷d	۶/۸۲bcA	۶/۷۱dA	۶/۷۹c	۶/۱۴eA	۵/۹۲eAB	۶/۰۴e	۵/۹۷bA	۵/۳۰eAB	۵/۷۵c
۷۵:۲۵/DO	۷/۳۸ cA	۷/۲۳eB	۷/۳۱e	۶/۸۸bA	۶/۸۲cA	۶/۸۵b	۶/۴۲dA	۶/۲۶dA	۶/۳۵c	۵/۸۴cA	۵/۵۴dAB	۵/۷۱c
۵۰:۵۰/DO	۷/۴۰ cA	۷/۳۲ dAB	۷/۳۶d	۶/۸۷bA	۶/۷۳cdA	۶/۸۰c	۶/۶۸bcA	۶/۵۴bA	۶/۶۲b	۶/۰۴bA	۵/۷۷bcA	۵/۹۲b
۷۵:۲۵/DO	۷/۲۴ eA	۷/۱۵ fAB	۷/۲۰f	۶/۸۶bA	۶/۷۹cA	۶/۸۲bc	۶/۶۲cA	۶/۵۶bA	۶/۵۹bc	۶/۰۹abA	۵/۸۸bA	۶/۰۰ab
۰ :۱۰۰/DO	۷/۳۰ dA	۷/۱۷ efB	۷/۲۴ef	۶/۷۷cA	۶/۷۰dA	۶/۷۳d	۶/۵۴cD	۶/۳۵cA	۲/۸۷c	۵/۸۱cdA	۵/۶۲dAB	۵/۷۲c

* میانگین‌هایی که با حروف کوچک و بزرگ متفاوت نشان داده شده اند، به ترتیب نشاندهنده تفاوت‌های معنی‌دار میان میانگین‌ها در ستون‌ها و سطرها هستند ($p<۰/۰۵$).

** A=*ل. اسیدوفیلوس*، B= بیفیدوباکتریوم

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

جدول ۵. ارزیابی حسی تیمارهای مختلف در پایان دوره نگهداری یخچالی*

تیمار ها	شاخص ها			
نسبت شیر گاو به شیر سویا	طعم	ظاهر	احساس دهانی	امتیاز نهایی
۱۰۰ :۰/HN/M	^{a}۲۳/۸	^{a}۸/۹	^{a}۱۳/۵	^{a}۴۶/۲
۷۵:۲۵/HN/M	^{b}۲۰/۸	^{bc}۷/۸	^{b}۱۱/۴	^{b}۴۰
۵۰:۵۰/HN/M	^{d}۱۸/۶	^{b}۷/۶	^{c}۱۰	^{c}۳۶/۲
۲۵:۷۵/HN/M	^{e}۱۷/۸	^{c}۶/۶	^{cd}۹/۴	^{d}۳۳/۸
۰:۱۰۰/HN/M	^{f}۱۶	^{d}۵/۷	^{d}۸/۵	^{e}۳۰/۵
۱۰۰ :۰/HN	۱۹/۸^{c}	۸/۸^{a}	۱۱/۳^{b}	۳۹/۹^{b}
۷۵:۲۵/HN	۱۷/۲^{e}	۷/۹^{b}	۹/۸^{c}	۳۴/۹^{d}
۵۰:۵۰/HN	۱۵/۲^{f}	۷/۵^{bc}	۸/۶^{d}	۳۱/۳^{e}
۲۵:۷۵/HN	۱۴/۷^{g}	۶/۴^{c}	۸/۳^{d}	۲۹/۴^{e}
۰:۱۰۰/HN	۱۳/۴^{j}	۵/۴^{d}	۷/۷^{e}	۲۶/۵^{f}

* میانگین‌هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنی‌دار با یکدیگر متفاوتند ($p<۰/۰۵$).
M= تیمارهایی که به آن اسانس نعنا اضافه شده است

بحث

در تمامی انواع کشت آغازگر نسبت ۱۰۰:۰ طولانی‌ترین فاز کمون و زمان تخمیر را دارد که به دلیل فعالیت پروتئین کافتی ضعیف باکتری‌ها و عدم وجود ترکیبات مغذی رشد پروبیوتیک به صورت قابل استفاده در شیر و از سوی دیگر بالا بودن ظرفیت بافری شیر گاو به شیر سویا است. بالا بودن ظرفیت بافری به معنای آن است که یون‌های هیدروژن تولید شده به وسیله باکتری‌ها (عمدتاً) جذب پروتئین‌های باردار شیر شده و از حالت آزاد و قابل سنجش با pH متر خارج می‌شود، حال آن که مولکول‌های اسیدهای آلی تولید شده، افزایش اسیدیته قابل تیتر را در پی دارند و بر مبنای اصل لوشاتلیه در شیمی کلاسیک چنین وضعیتی حتی باید بر سرعت اسید سازی بیفزاید؛ علت آن است که اتم‌های پروتون آزاد شده از اسیدهای آلی جذب مولکول‌های پروتئین شیر شده و سامانه زیستی برای حفظ و ثبات خود باید مولکول‌های بیشتری از اسیدهای آلی را تولید کند (افزایش مولکول‌های یونیزه شده اسیدهای آلی بایستی اثر میکروب کشی کمتری بر سلول‌های باکتریایی داشته باشند زیرا بر خلاف مولکول‌های یونیزه نشده وارد سلول باکتری نمی‌شوند). هم‌چنین با کاهش نسبت شیر گاو و افزایش نسبت شیر سویا تا نسبت ۵۰:۵۰ به طور کلی زمان تخمیر کوتاه شده به طوری که نسبت ۵۰:۵۰ در انواع کشت آغازگر پروبیوتیک، کوتاه‌ترین زمان تخمیر را دارد. علت طولانی بودن فاز لگاریتمی رشد و کوتاه بودن فازهای کمون و ثابت در این تیمار، بالا بودن مواد کمکی رشد در شیرسویا و کربوهیدرات‌های شیر خصوصاً لاکتوز می‌باشد که باعث تحریک رشد باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک‌ها و در نتیجه افزایش جمعیت سلولی آن‌ها می‌شود، که به نظر می‌رسد این نسبت بیشترین اثر سینرژیستی بین نسبت‌های شیر گاو و شیر سویا در مورد ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبی در دوغ سویا باشد. در نسبت‌های ۲۵:۷۵ و ۰:۱۰۰ انواع کشت آغازگر، که نسبت شیر سویا افزایش می‌یابد، دوباره زمان تخمیر افزایش یافته به طوری که بعد از نسبت ۱۰۰:۰ بیشترین زمان تخمیر تا رسیدن به pH نهایی را دارد. علت آن است که با کم شدن نسبت شیر گاو و کمبود کربوهیدرات‌های قابل تخمیر به ویژه لاکتوز، مواد مغذی رشد باکتری‌ها کاهش می‌یابد، در نتیجه باکتری‌های آغازگر قادر به رشد و افزایش جمعیت سلولی نمی‌باشند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میانگین سرعت افت pH، میانگین سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در این تیمارها، تابع نسبت شیرگاو به شیرسویا است. در تمام تیمارها، با افزایش نسبت شیرسویا، اسیدیته نهایی و مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک کاهش می‌یابد. علت آن کاهش لاکتوز شیر و عدم توانایی *ل. بولگاریکوس* به عنوان عامل اصلی تولید اسید در تخمیر ساکارز موجود در شیرسویا می‌باشد. Murti و همکاران (۱۹۹۳) طی تحقیقات خود دریافتند که *ل. بولگاریکوس* در شیرسویا، به دلیل عدم توانایی در تخمیر ساکارز و سایر کربوهیدرات‌های سویا به کندی رشد کرده و اسید کمی تولید می‌کند (۱۳). در تحقیقی دیگر که توسط Donkorو همکاران (۲۰۰۶) بر 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 (۱۴). Liu (۱۹۹۷) گزارش کرد که شیرسویا به دلیل تولید غلظت‌های پایین اسیدهای آلی، محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های اسید لاکتیک به شمار می‌آید (۱۵). با بررسی جدول ۱ مشاهده شد که در تمام تیمارها مقدار اسید لاکتیک بیشتر از اسید استیک است. Donkor (۲۰۰۷) گزارش کرد که اسید استیک به دلیل ایجاد طعم سرکه ای، فراورده نهایی نامطلوبی به شمار می‌آید (۵). بنابراین تولید بالای اسید لاکتیک نسبت به اسید استیک توسط *ل.*

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

اسیدوفیلوس، *ل. کازئی* و بیفیدوباکتریوم‌ها در شیر سویای تخمیری مطلوب می‌باشد.

نوع کشت‌های پروبیوتیک به طور معنی‌دار بر مقدار شاخص‌های میانگین سرعت افت pH، میانگین سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا، مدت زمان گرمخانه گذاری، اسیدیته قابل تیتر نهایی و مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک مؤثر می‌باشد. به طوری که در میان سه نوع کشت آغازگر (HN، DO و DM) کشت آغازگر HN در نسبت‌های برابر شیر گاو به سویا بیشترین سرعت افت pH، میانگین سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا، اسیدیته قابل تیتر نهایی، مقادیر اسیدهای لاکتیک و استیک و کمترین زمان گرمخانه گذاری را دارد. علت آن فعالیت بیشتر باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک در این نوع کشت آغازگر می‌باشد.

در پایان ۲۱ روز دوره نگهداری، تیمارهای حاوی کشت آغازگر HN، بیشترین میزان اسیدیته نهایی و کم ترین pH در نسبت‌های برابر شیر گاو به شیر سویا دارند که به علت فعالیت پس- اسید سازی بیشتر *ل. بولگاریکوس* این نوع کشت آغازگر طی دوران نگهداری یخچالی است. ویژگی این باکتری این است که رشد آن بر خلاف باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در pH کمتر از ۴/۵ متوقف نمی‌شود و حتی تا pH ۳/۸ رشد و فعالیت می‌نماید و هم‌چنین این باکتری سرعت اسید سازی بالایی دارد. در هر سه نوع کشت آغازگر نسبت ۰:۱۰۰ کمترین تغییرات در ویژگی‌های بیوشیمیایی طی دوره نگهداری یخچالی دارد که در این میان تیمارهای HN/۰:۱۰۰ و DO/۰:۱۰۰ به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را نشان می‌دهند. دلیل آن این است که در شیر سویا مهم‌ترین کربوهیدرات‌های آن توسط *ل. بولگاریکوس* تجزیه نمی‌شود و کمترین تغییرات بیوشیمیایی طی نگهداری یخچالی رخ می‌دهد.

به طور کلی، رشد پروبیوتیک‌ها در محصول لبنی تخمیری به فاکتورهای متعددی از جمله: نوع گونه استفاده شده، روابط زیستی بین گونه‌های موجود، ترکیبات شیمیایی محیط تخمیر (مثل منبع کربوهیدرات و...)، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، سهولت و قابلیت دسترسی به مواد مغذی، محرک‌های رشد و مهارکننده‌ها، غلظت قندها (فشار اسمزی)، اکسیژن محلول (مخصوصاً برای بیفیدوباکتریوم ها)، سطح تلقیح، دمای گرمخانه گذاری، مدت زمان تخمیر و دمای نگهداری بستگی دارد (۱۶). طبق جدول ۲ بیشترین قابلیت زیستی برای هر دو گونه پروبیوتیک در بین هر سه نوع کشت آغازگر در پایان تخمیر، در نسبت ۵۰:۵۰ مشاهده شده و همان طور که قبلاً ذکر شد علت این موضوع، حضور ترکیبات محرک رشد موجود در شیرسویا و هم‌چنین کربوهیدرات‌های قابل تخمیر شیر به ویژه لاکتوز می‌باشد که موجب تحریک رشد باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک می‌شود. در بین سه نوع کشت آغازگر به دلیل فعالیت پروتئولیتیک بیشتر *ل. بولگاریکوس* در کشت آغازگر HN بیشترین قابلیت زیستی در هر دو گونه پروبیوتیک در نسبت ۵۰:۵۰ فراهم می‌سازد. بعد از نسبت ۵۰:۵۰ به ترتیب نسبت‌های شیر گاو به سویا ۰:۱۰۰، ۲۵:۷۵، ۷۵:۲۵ و ۱۰۰:۰ بیشترین قابلیت زیستی در مجموع هردو گونه پروبیوتیک را دارند. در واقع، با افزایش نسبت شیر سویا به دلیل کاهش لاکتوز شیر گاو و افزایش کربوهیدرات‌های غیر قابل تخمیر در شیر سویا، قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها کاهش می‌یابد.

جدول ۴ قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را در تیمارهای مختلف طی ۲۱ روز دوره نگهداری یخچالی در دمای $5^{\circ}C$ نشان می‌دهد. به طور کلی رشد پروبیوتیک‌ها طی نگهداری یخچالی در این پژوهش به فاکتورهای متعددی از جمله: نوع گونه استفاده شده، روابط زیستی بین گونه‌های موجود، ترکیبات شیمیایی محیط تخمیر (نسبت شیر گاو به شیرسویا)، اسیدیته نهایی، مقدار اسانس نعنا، مقدار نمک اضافه شده، اکسیژن محلول (مخصوصا برای بیفیدوباکتریوم ها) و دمای نگهداری بستگی دارد. در هفت روز اول نگهداری یخچالی بیشترین افت قابلیت زیستی در بین تمامی تیمارها مشاهده می‌شود که به دلیل باقیمانده مواد مغذی (لاکتوز، رافینوز، استاکیوز و...) و رشد باکتری‌ها به خصوص *ل. بولگاریکوس* که خاصیت پس- اسید سازی بیشتری دارد، مقدار اسیدهای آلی تفکیک نشده (اسید لاکتیک و اسید استیک) افزایش می‌یابد که تجمع این اسیدهای آلی و افت زیاد pH باعث پدیده گرسنگی اسیدی می‌شود که در اثر این پدیده، به دلیل کاهش انرژی سلول، پمپ یون هیدروژن از درون به بیرون متوقف می‌شود. به دلیل آن که pH داخلی باکتری خنثی و عمده فعالیت‌های سلول (آنزیم‌ها، DNA و...) در این pH انجام می‌گیرد بنابراین، تجمع یون هیدروژن و صرف انرژی بیشتر برای خارج شدن این یون‌ها باعث مرگ سلول می‌شود. با این تفاسیر، در تمامی تیمارها نسبت ۵۰:۵۰ بیشترین میزان افت در قابلیت زیستی و هم‌چنین بیشترین قابلیت زیستی در پایان روز هفتم را برای *ل.*

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

اسیدوفیلوس دارد. این به دلیل آن است که نسبت ۵۰:۵۰ طی تخمیر تا رسیدن به pH ۴/۴، به دلیل اثر سینرژیستی شیر سویا و شیر گاو بیشترین رشد سلولی را داشته است. کمترین افت و کمترین میزان قابلیت زیستی برای *ل. اسیدوفیلوس* در هر سه نوع کشت آغازگر مربوط به نسبت ۰:۱۰۰ است، زیرا این نسبت در پایان تخمیر کمترین رشد سلولی را داشته و دلیل افت کم را می‌توان به رشد بسیار کم *ل. بولگاریکوس* و در نتیجه اسیدیته نهایی کم نسبت داد. قابلیت زیستی *ل. اسیدوفیلوس* در پایان بیست ویک روز دوره نگهداری در هر سه نوع کشت آغازگر با توجه به جدول ۴ در نسبت ۲۵:۷۵ مشاهده می‌شود که تیمارهای ۲۵:۷۵/HN و ۲۵:۷۵/DM هر دو بیشترین قابلیت زیستی را داشتند (بین دو تیمار تفاوت معنی‌دار نبود).

در مورد قابلیت زیستی *ب. بیفیدوم* در هر سه نوع کشت آغازگر به طور کلی نسبت‌های بالای شیر سویا (۰:۱۰۰ و ۲۵:۷۵) به علت سرعت افت pH کم و کاهش اسیدیته، بالا می‌باشد و علت این موضوع آن است که پروتئین‌های سویا به دلیل قابلیت پروبیوتیک- حفاظتی بالا مانع از کاهش قابلیت زیستی بیشتر می‌شود و هم‌چنین باکتری *ل. بولگاریکوس* به دلیل کاهش کربوهیدرات قابل تخمیر مانند لاکتوز و عدم توانایی تخمیر ساکارز در شیر سویا نمی‌توانند به خوبی رشد کنند. افزایش بیشتر اسید استیک در پایان تخمیر در نسبت‌های ذکر شده گواه بر قابلیت زیستی بیشتر است. این نتایج با یافته‌های Donkor و همکاران در سال ۲۰۰۷ هم‌خوانی داشت (۵). در پایان دوره نگهداری (روز بیست و یکم) تیمار ۲۵:۷۵/HN بیشترین قابلیت زیستی را برای *ب. بیفیدوم* Bb-12 را دارد که یک لگاریتم بیشتر از استاندارد دوغ ساده پروبیوتیک است. دو دلیل می‌تواند باعث این افزایش قابلیت زیستی در این تیمار باشد. اول، میزان اسیدیته نهایی کم در این تیمار. دوم، نسبت ۲۵:۷۵ به اندازه کافی دارای یک محیط مغذی و قابلیت پروبیوتیک- حفاظتی پروتئین‌های سویا می‌باشد. کمترین قابلیت زیستی *ب. بیفیدوم*ها مربوط به نسبت‌های ۰:۱۰۰ است که به دلیل pH نهایی پایین و اسیدیته بالا در این نسبت است که در این میان، تیمار ۱۰۰:۰/HN کمترین قابلیت زیستی *ب. بیفیدوم*ها را دارد. علت آن به دلیل فعالیت پس- اسید سازی بیشتر باکتری *ل. بولگاریکوس* در این نوع کشت آغازگر است.

قابلیت زیستی بین دو گونه پروبیوتیک در پایان دوره نگهداری یخچالی به گونه‌ای است که در تمامی تیمارها گونه *ل. اسیدوفیلوس* در هر سه نوع کشت آغازگر بیشتر از گونه *ب. بیفیدوم*ها است. علت آن مقاومت بالای گونه‌ای و نژادی *ل. اسیدوفیلوس* است و هم‌چنین پراکسید هیدروژن تولید شده توسط باکتری *ل. دلبرواکی‌یی* زیرگونه *بولگاریکوس* عامل اصلی افت شگرف باکتری *ب. بیفیدوم* به‌ویژه طی نگهداری یخچالی در کشت‌های مخلوط است. این نتایج با Medina و Jordano (۱۹۹۴) سازگار است. آنها گزارش کردند میزان افت بیفیدوباکتریوم‌ها در کشت‌های مخلوط پروبیوتیک بیشتر از *ل. اسیدوفیلوس* است (۱۷)، حال آن که مرتضویان و همکاران در سال ۲۰۰۶ به نتیجه‌ای متناقض در ماست ABY دست یافتند (۹). این تناقض بر تفاوت در ویژگی‌های گونه‌ای و نژادی پروبیوتیک‌ها و باکتری‌های سنتی ماست دلالت دارد.

نکته قابل توجه که می‌تواند جدا از متغیرهای پژوهش، باعث افزایش قابلیت زیستی در این پژوهش شده باشد و در مجموع، تعداد پروبیوتیک‌ها حدود یک لگاریتم از حد استاندارد بیشتر باشد، اضافه کردن ۰/۵ درصد نمک و ۰/۰۲ درصد اسانس نعنا به تمامی تیمارها می‌باشد.

اسانس نعنا در غلظت افزوده شده باعث تحریک رشد پروبیوتیک‌ها به خصوص بیفیدوباکتریوم‌ها می‌شود. این مسئله ناشی از میزان منگنز موجود در آن هاست. اغلب باکتری‌های هوازی دارای مقادیر میلی مولی از آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) هستند که موجب از بین رفتن رادیکال آنیون سوپراکسید سمی حاصل از احیاء تک الکترون اکسیژن مولکولی می‌شود. پروبیوتیک‌ها دارای SOD نیستند اما یک مکانیسم حفاظتی دیگر بر اساس تجمع غلظت مولی یون منگنز (Mn^{+2}) ایجاد نموده اند.

$$H^{+} + O^{-2} + Mn^{+2} \longrightarrow H_2O_2 + Mn^{+3}$$

Mn^{+2} در مرحله احیاء مجدداً تولید می‌شود. افزایش میزان منگنز محیط موجب تحریک رشد پروبیوتیک‌ها می‌شود.

افزودن نمک احتمالاً سبب کاهش قابل ملاحظه فعالیت باکتری‌های سنتی ماست در مقایسه با پروبیوتیک‌ها شده و کاهش اسیدسازی این باکتری‌ها با افزایش اسیدسازی پروبیوتیک‌ها جبران می‌شود. کاهش رشد فعالیت باکتری‌های سنتی ماست امکان موفق‌تر بودن پروبیوتیک‌ها در رقابت با این باکتری‌ها را فراهم می‌آورد. این نتایج با آن‌چه مرتضویان در رساله دکتری سال ۱۳۸۶ به دست آورده بود (۱۸)، هم‌خوانی داشت که در این مطالعه بیشتر بودن مقدار اسید استیک تولیدی در نمونه‌های دارای نمک

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

در مقایسه با بدون نمک، گواه بر فعالیت بیشتر بیفیدوباکتریوم هاست.

ظهور بد طعمی لوبیایی در فراورده‌های با پایه سویا (ناشی از ترکیباتی هم‌چون هگزانال و پنتانال که در اثر شکست اسیدهای چرب غیراشباع پدید می‌آید) باعث پذیرش کم بین مصرف کننده می‌شود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که نوع کشت آغازگر تجاری اثر معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی محصول نداشتند. بنابراین فقط اثر نسبت‌های شیر گاو به شیر سویا در دوحالت با یا بدون اسانس نعنا با یکدیگر مقایسه شدند. با توجه به جدول ۵، بهترین تیمار صرف نظر از نمونه شاهد (۱۰۰:۰) تیمارهای ۷۵:۲۵/HN/M و ۵۰:۵۰/HN/M هستند که بیشترین امتیاز را کسب کردند. این نتایج نشان می‌دهد که اسانس نعنا علاوه بر اینکه قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را بالا می‌برد، باعث پذیرش کلی بیشتر محصول از لحاظ ویژگی‌های حسی می‌شود.

پژوهش حاضر نشان داد که متغیرهای نوع کشت پروبیوتیک و نسبت‌های مختلف شیر گاو به شیرسویا، اثرات قابل توجهی بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها طی تخمیر و نگهداری یخچالی داشتند و بهترین تیمار از لحاظ قابلیت زیستی و هم‌چنین خواص حسی، دوغ‌های تولید شده با نسبت‌های شیر گاو به شیر سویا ۵۰:۵۰ و تلقیح شده با هرکدام از سه نوع کشت آغازگر تجاری پیشنهاد می‌شود.

References

1. Wang HA, Murphy P. Mass balance study of isoflavones during soybean processing. J Agri Food Chem 1996; 44: 2377-83.
2. Mortazavian AM, Sohrabvandi S, editors. Probiotics and food probiotic products; based on dairy Probiotic products. Tehran: Eta Publication 2006. p. 54-155 [In Persian].
3. Champagne CP, Gurdner H. Effect of storage in fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. Food Res Int 2008; 41: 539-543.
4. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Probiotic doogh – Specifications and test methods. ISIRI no 11324. 1st edision, Karaj: ISIRI; 2009 [in Persian].
5. Donkor ON, Henrikson A, Shah NP. α-galactosidase and proteolitic activities of selected probiotic and dairy cultured in fermented soymilk. Food Chem 2007; 104: 10-20.
6. Coward LB. Genistein, daidzein, and their diets. J Agri Food Chem 1993; 41: 1961-1967.
7. Lee SY, Morr CV, Seo A. Comparison of milk-based and soymilk-based yogurt. J Food Sci 1990; 55: 532-36
8. Shah NP. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. J of Dairy Sci 2000; 83: 849-907.
9. Mortazavian AM, Ehsani M R, Mousavi S M, Reinheimer J, Emamdjomeh A, Sohrabvandi S, Rezaei K. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro-organisms in freshly made yogurt. Int J Dairy Tech 2006; 59: 8-11.
10. Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H. Effect of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of Doogh (Iranian fermented milk drink). Ital J Food Sci 2010; 22: 99-103.
11. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Milk and milk products; Types of flavoured yoghurt. ISIRI no 4046. 1st edition, Karaj: ISIRI; 1997 [In Persian].
12. Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H, Mortezaei GR. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of Doogh (Iranian fermented milk drink). Ital J Food Sci 2009; 22: 97-104.
13. Murti TW, Lamberet G, Bouillanne C, Desmazeaud MJ, Landon M. Croissance des lactobacilles dans l'extrait de soja. Effets sur la viscosite´, lescompose´s volatils et la prote´olyse. Sciences Des Aliments 1993; 13: 491–500.
14. Donkor O, Henrikson A, Shah NP. Probiotic strain as starter cultuer Improve Anjiotansin-converting Enzyme Inhibitory activity in soy yoghurt. Food Microbiol Saf 2006; 45-53.
15. Liu K, editor. Soybeans: Chemistry, Technology and Utilization. 2nd ed. New York: Chapman & Hall 1997. P. 25-113.
16. Hattingh AL, Viljoen BC. Yoghurt as a probiotic carrier food (Review). Int Dairy J 2001; 11: 11-17.
17. Medina LM, Jordano R. Survival of constitutive microflora in commercially fermented milk containing bifidobacteria during refrigerated storage. J Food Protect 1994; 56: 731-733.
18. Mortazavian AM. Effects of fundamental compositional factors and microencapsulation of probiotics on qualitative parameters of probiotic Doogh [dissertation]. Tehran: University of Tehran. Faculty of Agricultural Engineering and Technology; 2007 [in Persian].

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

Effects of cow's milk to soy milk proportion and the type of commercial culture composition on biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic soy-Doogh

Mohammadi R[1], Rouhi M[2], Mortazavian AM[3], Soleimani M[1], Sabouri S[4]*

1. *Students' Research Committee, Dept. ofFood Science and Technology,National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty ofNutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences,Tehran,Iran.*
2. *PhD Student, Dept. of Food Science, Engineering and Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Iran.*
3. **Corresponding author: 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. Email: mortazvn@sbmu.ac.ir*
4. *Rice Research Institute of Iran, Rasht, Guilan, Iran*

Abstract

Background and Objectives: Recently, the demand for consumption of functional foods is growing rapidly due to the increased awareness of the consumers from the impact of these foods on health. Production of soy based probiotic Doogh will improve the functional potential of products. The aim of this study was to assess qualitative aspects of soy based probiotic Doogh.

Materials and Methods: In this research, the effects of cow's milk to soy milk proportion (100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100) as well as the type of commercial culture composition (ABY-1, MY-720, YO-Mix-210) on biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic soy-Doogh was investigated. pH, Titrable acidity and redox potential, lactic and acetic percentage as well as viability of probiotics and sensory properties of final product during fermentation and/or refrigerated storage were assessed.

Results: results showed that the shortest fermentation time was observed in treatment with cow's milk to soy milk proportion of 50:50 and culture composition of ABY-1. The highest and lowest viable count of *B. bifidum* and *L. acidophilus* during 21 days of refrigerated storage were observed for the treatments with cow's milk to soy milk proportion of 25:75/ ABY-1 and 25:75/ MY-720, respectively. The influence of type of starter culture composition on sensory properties of final products was not significant, while the cow's milk to soy milk proportion 75:25 resulted in the most satisfactory sensory properties.

Conclusion: Considering the results, the cow's milk to soy-milk proportion of 50:50 with any of the types of culture composition was selected as the best treatments from viability and sensory points of view.

Keywords: Starter culture, Viability, Probiotic soy-Doogh

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