مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفتم، شماره ۵، ویژه‌نامه زمستان ۱۳۹۱، صفحات ۱۰-۱

بررسی قابلیت زیستی دو گونه بومی *بیفیدوباکتریوم* در دوغ پروبیوتیک

الهه احمدی[۱]، رضا محمدی[۲]، میلاد روحی[۳]، سید امیر محمد مرتضویان[۴]، کیانوش خسروی دارانی[۵]، مهدی شادنوش[۲]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی، باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران
۲- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران
۴- 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
۵- دانشیار گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات نهایی، به عنوان مهم‌ترین شاخص کیفی محصولات پروبیوتیک می‌باشد. این ارگانیسم‌ها اغلب قابلیت زیستی ضعیفی در محصولات تجاری به ویژه فراورده‌های لبنی تخمیری دارند. در این تحقیق، اثر دو گونه بیفیدوباکتریوم *(بیفیدوباکتریوم انیمالیس* زیرگونه *لاکتیس PTCC ۱۶۳۱* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم PTCC ۱۶۴۴*)، با منشا ایرانی و دو pH نهایی تخمیر (۴/۵، ۴/۲) و ترتیب تلقیح (قبل و بعد از فرآیند تخمیر) بر ویژگی‌های بیوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی دوغ پروبیوتیک بررسی شد.

مواد و روش‌ها: سویه‌های بومی *بیفیدوباکتریوم* (*ب. انیمالیس PTCC ۱۶۳۱* و *ب. بیفیدوم PTCC ۱۶۴۴*) از مجموعه میکروبی دانشگاه تهران انتخاب شدند. دوغ پروبیوتیک توسط تلقیح آغازگر سنتی ماست YF-3331 به همراه سویه‌های بومی *بیفیدوباکتریوم*تهیه شد. تغییرات pH، اسیدیته، پتانسیل احیا، مدت زمان گرمخانه گذاری و قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* طی فرآیند تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی (در دمای ۵°C، ۲۱ روز) بررسی شدند. ویژگی‌های حسی دوغ پروبیوتیک در پایان تخمیر ارزیابی شد. تمامی نمونه‌ها در ۳ تکرار تولید شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون ANOVA در نرم افزار Minitab انجام شد.

یافته‌ها: بیشترین زمان تخمیر در تیمارهای با باکتری آغازگر ماست و بیفیدوباکتریوم‌ها تا رسیدن به pH۴/۲ مشاهده شد. بیشترین قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* بلافاصله پس از تخمیر در تیمار B_IY-40-4.5 (که *ب. انیمالیس* به همراه آغازگر ماست تا pH ۴/۵ گرمخانه‌گذاری شدند) مشاهده شد جمعیت باکتری *ب. انیمالیس* PTCC۱۶۳۱ $\log cfu.mL^{-1}$ ۸/۶۹ بود. قابلیت زیستی باکتری *ب. انیمالیس* PTCC۱۶۳۱ در تمامی تیمارها، به طور معنی‌داری از *ب. بیفیدوم* PTCC۱۶۴۴ بیشتر بود. در pH نهایی تخمیر ۴/۵ نسبت به pH ۴/۲، قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌هابه طور معنی‌داری بیشتر بود.

نتیجه گیری: متغیرهای نوع گونه باکتری*بیفیدوباکتریوم* و pH نهایی تخمیر و ترتیب تلقیح، بر قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی به طور معنی‌داری موثر بودند. تعداد دو سویه *بیفیدوباکتریوم* در تمامی تیمارها در پایان تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی بیش از $\log cfu.mL^{-1}$ ۶/۰۰ بود. بنابراین، این سویه‌ها قابلیت زیستی بیشتری نسبت به سویه‌های پروبیوتیک تجاری داشتند.

واژگان کلیدی: بیفیدوباکتریوم انیمالیس، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، پروبیوتیک، دوغ، قابلیت زیستی

مقدمه

طی سه دهه اخیر، مصرف فراورده‌های تخمیری محتوی باکتری‌های پروبیوتیک مورد توجه واقع شده است (۲، ۱). در کشورهای اروپایی مانند فرانسه، آلمان و سوئد، فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک حدود ۲۵٪ از کل فراورده‌های تخمیری را شامل می‌شوند(۳). مصرف محصولات پروبیوتیک در کنترل آلودگی‌های روده‌ای، تنظیم جمعیت میکروفلور روده، بهبود یبوست، پیشگیری و درمان اسهال، کاهش علائم عدم تحمل لاکتوز، کاهش کلسترول خون، پیشگیری از ایجاد

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

سرطان و جلوگیری از اثرات جنبی درمان با آنتی بیوتیک مفید است (۴).

بیفیدوباکتریوم‌ها از مهمترین گونه‌های پروبیوتیک شناخته شده هستند و امروزه تلاش‌های وسیعی در جهت استفاده از آن‌ها در محصولات غذایی در حال انجام است. گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* شامل*ب. بیفیدوم*، *ب. لانگوم*، *ب. انیمالیس (ب. لاکتیس)*، *ب. ادوله سنتیس*، *ب. بروِ*، *ب. اینفنتیس* برای تولید فراورده‌های تخمیری شیری پروبیوتیک استفاده می‌شوند (۶، ۵).

دوغ از نوشیدنی‌های سنتی ویژه ایران است و حاصل تخمیر لاکتیکی شیر است، که ماده خشک آن از طریق رقیق کردن ماست (پس از تخمیر)یا شیر دوغ سازی (پیش از تخمیر) استاندارد شده باشد. در حال حاضر دوغ از مقبولیت و مصرف بالا در ایران برخوردار بوده و میزان مصرف سرانه و تولید صنعتی آن در سال‌های اخیر رشد قابل توجهی داشته است(۷).

مهمترین شاخص کیفی محصولات پروبیوتیک، قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در آن‌ها، یعنی کمینه تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر ml یا gr از فراورده‌های غذایی در لحظه مصرف 10^6cfu/mlاست. در فراورده‌های تخمیری، دست‌یابی و حفظ تعداد سلول‌های زنده در حد کمینه استاندارد مشکل است و اغلب طی دوره نگهداری افت قابل ملاحظه‌ای در قابلیت زیستی ایجاد می‌شود (۳). عوامل گوناگونی بر قابلیت زیستی کشت‌های آغازگر پروبیوتیک در شیرهای تخمیر شده اثر گذار است.pH پایین و اسیدیته بالای فراورده‌های پروبیوتیک تخمیری از مهمترین عوامل کاهش قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در آن‌ها است. در دوغ، میزان افت پروبیوتیک‌ها به دلیل pH پایین (۴/۵)، بالاست(۸). بنابراین، تلاش‌های بسیاری برای افزایش رشد و حفظ بقای پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی صورت می‌گیرد و این موضوع توجه محققان را در سال‌های اخیر جلب کرده است.در این راستا این پژوهش با هدف بررسی قابلیت زیستی دو سویه بیفیدوباکتریوم با منشاء ایرانی در دوغ طراحی شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب و گسترش سویه‌های بیفیدوباکتریوم: در این پژوهش، سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* (*ب. انیمالیس*PTCC۱۶۳۱ و *ب. بیفیدوم*PTCC۱۶۴۴) از مجموعه میکروبی آزمایشگاه تحقیقات پروبیوتیک دانشگاه تهران به صورت کپسول تک سویه لیوفیلیزه تهیه گردید (۹). سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* پس از خروج از حالت انجماد در محیط کشت MRS مایع کشت داده شدند و تحت شرایط بی هوازی در انکوباتورهای ۳۷°C به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری، سوسپانسیون محیط‌های کشت حاوی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* را با سرعت *g* ۱۱۰۰۰، به مدتmin ۱۵ سانتریفیوژ شده و سپس سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* ته نشین شده با استفاده از محلول فسفات بافر سالین شستشو شدند. در پایان به سویه‌های *بیفیدوباکتریوم*، مخلوط فسفات بافر سالین و گلیسرین افزوده شد و سوسپانسیون باکتری را در ویال‌های استریل، به مقدار ۱mL توسط سمپلر تحت شرایط کاملاً استریل توزیع گردید و در یخچال‌های ۸۰°C- تا لحظه مصرف نگهداری شد.

تعیین تعداد اولیه سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* در هر میلی لیتر از سوسپانسیون مورد تلقیح: ۱میلی‌لیتراز سویه مورد استفاده با استفاده از روش پلیت‌گذاری شمارش شد.از رقت‌های ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ به صورت مضاعف (برای کاهش ضریب خطا) کشت داده شد و در جار شیشه‌ای در شرایط بی هوازی (توسط گازپک) در انکوباتور ۳۷°C به مدتh ۷۲ گرمخانه‌گذاری شد و سپس توسط دستگاه پرگنه تعداد کل باکتری‌های رشد نموده در هر پلیت شمارش شد و پس از تعیین میانگین دو پلیت از هر رقت، تعداد بر حسب cfu/ml گزارش داده شد. پس از چندین بار شمارش آن‌ها، تعداد اولیه *ب. لاکتیس* ۱۰/۵۶log cfu/ml و تعداد اولیه *ب. انیمالیس*۱۰/۵۷log cfu/ml بوده است.

آماده سازی نمونه‌ها: در این پژوهش شیر مورد نیاز برای تهیه دوغ پروبیوتیک، از بازسازی پودر شیر بدون چربی (۶٪ ماده خشک) تهیه شد. سپس این شیر تحت فرآیند گرمایی (۹۰°C به مدت ۱۵ دقیقه) قرار گرفته و تا دمای تلقیح سرد شد. در این پژوهش از کشت آغازگر سنتی ماست YF-333 (شرکت کریستین هانسن، دانمارک) متشکل از دو باکتری *ل. بولگاریکوس* و *ا. ترموفیلوس* استفاده شده است. سویه‌های *بیفیدوباکتریوم*، پس از رفع انجماد در شیر تلقیح شدند. در مرحله اول تلقیح با باکتری‌های آغازگر ماست همراه با هر یک از دو گونه *بیفیدوباکتریوم* (*ب. بیفیدوم*، *ب. انیمالیس*) به طور مجزا، در دمای تلقیح صورت گرفت و در داخل انکوباتور در دمای ۴۰°C تا رسیدن به دو pH ۴/۵ و ۴/۲ گرمخانه‌گذاری شدند. در زمان گرمخانه‌گذاری مقدار pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا اندازه‌گیری شد. سپس تا

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

دمای نگهداری یخچالی در دمای ۵°C سرد شده و به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند.در مرحله دوم باکتری‌های آغازگر ماست به تنهایی به شیر تلقیح شدند و در داخل انکوباتور در دمای ۴۵°C تارسیدن به دو pH۴/۵ و pH۴/۲ گرمخانه‌گذاری شدند. درطی تخمیر مقادیر pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا اندازه‌گیری شدند. شیر تخمیر شده، بلافاصله تا دمای ۱۵°C سرد شده و دو گونه *بیفیدوباکتریوم* (*ب. بیفیدوم، ب. انیمالیس*) در این دما به طور مجزا اضافه شدند وتا دمای نگهداری یخچالی۵°Cسرد شده و به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. در پایان تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی شاخص‌های شیمیایی (pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا) و شاخص میکروبیولوژیک (قابلیت زیستی) در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱و ارزیابی حسی درروز نخست مورد آزمون قرار گرفتند.

آزمون‌های شیمیایی

اندازه‌گیریpH: نمونه‌ها طی تخمیر وپس از پایان آن وطی نگهداری یخچالی با استفاده ازpHمتراندازه‌گیری شد. پیش از اندازه‌گیری pH، pHمتر توسط بافرهای استاندارد (pH ۷ و pH۴)کالیبره شد.

شاخص متوسط سرعت افت pH برای تیمارها طی تخمیر از رابطه زیر محاسبه شد(۱۰):

سرعت متوسط افت pH (واحد pH / دقیقه)=pH اولیه–pH نهایی / زمان (دقیقه)

اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتر: برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۱۰ میلی لیتر از نمونه را به همراه ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در ارلن مایر ریخته شد و با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد. مقدار این شاخص بر حسب درجه دُرنیک محاسبه شد(۱۱).

اسیدیته قابلتیتر (درجه دُرنیک) =حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر) × ۹

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌ها طی تخمیر از رابطه زیر به دست آمد(۱۱):

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر (درجه درنیک/ دقیقه)= اسیدیته قابل تیتر اولیه - اسیدیته قابل تیتر نهایی / زمان (دقیقه)

پتانسیل احیا: پتانسیل احیا در نمونه‌ها با استفاده از pH متر مجهز به الکترود پلاتین اندازه‌گیری پتانسیل احیا به میلی‌ولت اندازه‌گیری شد. سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا در نمونه‌ها طی تخمیر از رابطه زیر محاسبه شد (۱۱):

سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا (میلی ولت/ دقیقه)= پتانسیل احیا اولیه- پتانسیل احیا نهایی/ زمان (دقیقه)

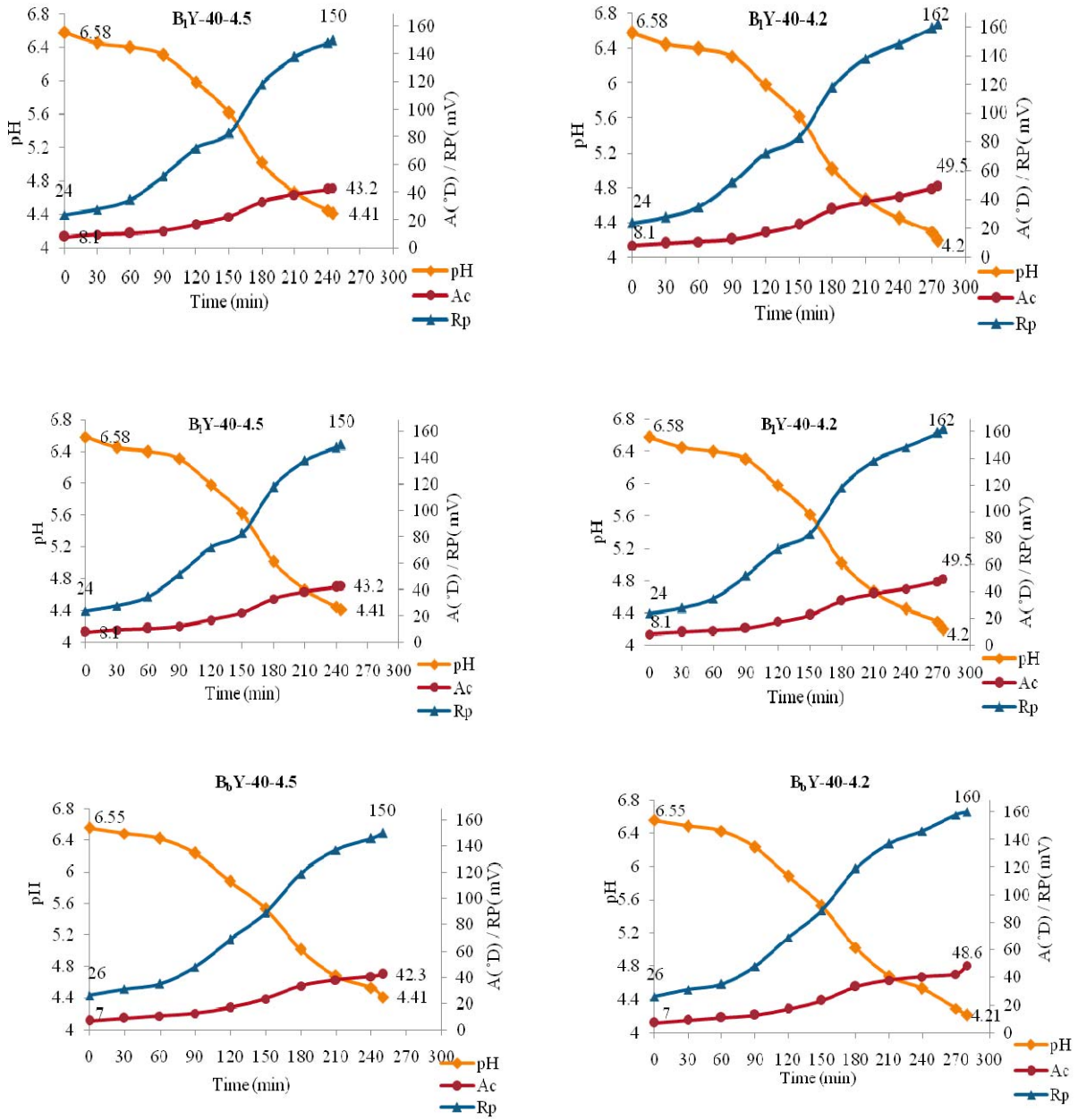
آزمون‌های میکروبی

تعیین قابلیت زیستی *بیفیدوباکتریوم‌ها*: قابلیت زیستی *بیفیدوباکتریوم‌ها*پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ تعیین شد. بدین منظور از روش پلیت گذاری استفاده شد. سلول‌های زنده باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم* با استفاده از محیط کشت MRS ـ صفرا آگار، به‌صورت انتخابی شمارش شدند. پلیت‌ها در ۳۷°C به مدت زمان ۷۲hدر شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری، شرایط بی‌هوازی با استفاده از سامانه گاز-پک ایجاد شد (۱۲).

ارزیابی حسی: در ارزیابی حسی دوغ با استفاده از روش امتیازبندی ویژگی‌های حسی دوغ مورد ارزیابی قرار گرفته است. بر اساس استاندارد ملی ایران ویژگی‌های حسی دوغ شامل طعم، بافت، احساس دهانی (لطافت، یکنواختی یا همگن بودن، گرانروی دهانی و دهان پوشی) و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) بررسی شدند (استاندارد ملی ایران شماره ۴۹۴۰). امتیازدهی به شیوه مقیاس ۵ نقطه‌ای شامل غیرقابل مصرف=۰، غیر قابل قبول= ۱، قابل قبول= ۲، مطلوب= ۳، عالی= ۴ بوده است. ضرایب ۶ برای طعم، ۵/۵ برای احساس دهانی، ۲برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد (۱۳).

ارزیابی آماری: تمامی نمونه‌ها در ۳ تکرار تولید شده و مورد آزمون قرار گرفته است. تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به تیمارها (یافتن اختلاف معنی‌دار میانگین تیمار ها) با استفاده از آزمون ANOVA در نرم افزار Minitab انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم افزارExcel رسم شدند.

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



شکل ۱. تغییرات pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا طی تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی

یافته‌ها

شاخص‌های بیوشیمیایی: تغییرات pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا طی تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی به ترتیب در شکل ۱ نشان داده شده است. جدول ۱ میانگین سرعت افت pH، میانگین سرعت افزایش اسیدیته قابل تیتر، میانگین سرعت افزایش پتانسیل احیا، زمان تخمیر و اسیدیته نهایی در تیمارهای مختلف طی تخمیر و در پایان آن را نشان داده است. بر طبق شکل ۱، ۳ فاز مشخص در نمودارهای مربوط به افت pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا مشاهده شده است که به نام فاز کمون، فاز لگاریتمی و فاز ساکن است. این نواحی با توجه به نقاط گردش موجود روی نمودارها مشخص شده‌اند. بر طبق جدول ۱کمترین سرعت افت pH و سرعت افزایش اسیدیته، در تیمارهایی که باکتری *بیفیدوباکتریوم* به همراه باکتری آغازگر ماست تا ۴/۲ pH گرمخانه‌گذاری شدند، مشاهده شده است. در تیمارهایی که باکتری‌های آغازگر ماست به تنهایی گرمخانه‌گذاری شده‌اند، نقطه اوج کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در دقایق ۱۵۰-۱۲۰ از آغاز زمان گرمخانه گذاری است. اما در تیمارهایی که باکتری‌های سنتی ماست به همراه

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

باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم* هم-کشت شده‌اند، نقطه اوج کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در دقایق ۱۸۰-۱۵۰ است. طولانی‌ترین زمان فرآیند تخمیر در تیمارهایی مشاهده شده، که دوغ دارایpH نهایی ۴/۲ است، در حالی که کوتاه‌ترین دوره تخمیر در تیمارهایی دیده شده که pH نهایی دوغ ۴/۵ بوده است. نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌ها در روند تغییرات pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا طی دوره نگهداری یخچالی موثر نبوده است. بر این اساس در مقایسه روند تغییرات pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در تیمارهای B_l-۴/۵-۴۵-Y و B_b-۴/۵-۴۵-Y در طی دوره نگهداری یخچالی، که دوغ به عنوان حامل باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم*بوده و نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌های افزوده شده متفاوت است، میزان تغییرات pH ، اسیدیته و پتانسیل احیا تقریبا یکسان است.

قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی: جدول ۲، قابلیت زیستی سویه‌های بیفیدوباکتریوم در تیمارهای مختلف بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی نشان می‌دهد. با توجه به جدول ۲ میزان قابلیت زیستی سویه‌های بیفیدوباکتریوم در چهار تیمار (که دوغ به عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک بوده) در روز نخست $\log cfuml^{-1}$ ۷/۶۳-۷/۶۱ بود و تفاوت معنی‌داری نداشت. جمعیت بیفیدوباکتریوم‌ها پس از تخمیر، در تیمارهایی که باکتری‌های بیفیدوباکتریوم همراه با باکتری‌های ماست گرمخانه‌گذاری شده‌اند، حدود یک لگاریتم افزایش داشت. بیشترین قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها در پایان تخمیر، در تیمار B_lY-۴۰-۴/۵ مشاهده شده که در آن باکتری ب. *لاکتیس* همراه با باکتری‌های آغازگر ماست تا رسیدن به pH نهایی ۴/۵گرمخانه‌گذاری شده و میزان آن ۸/۶۹ log cfu/ml بود. قابلیت زیستی سویه‌های بیفیدوباکتریوم *(ب. لاکتیس، ب. بیفیدوم)* در تمامی تیمارها طی دوره نگهداری یخچالی بین ۸/۷۸ log cfu/ml-۶/۰۰ متغیر بود، بنابراین در تمامی پایه‌ها طی تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها در حد بهینه برای ایجاد حداقل اثرات سلامت بخش بود.

نتایج ارزیابی حسی: جدول ۳ نتایج ارزیابی حسی در روز نخست را نشان می‌دهد. ویژگی‌های دوغ از نظر طعم، بافت، احساس دهانی (لطافت، یکنواختی یا همگن بودن، گرانروی دهانی و دهان پوشی) و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) بررسی شده‌اند. بیشترین قابلیت پذیرش طعم و ظاهر و احساس دهانی در تیمارهایی که *بیفیدوباکتریوم‌ها* همراه با باکتری‌های آغازگر ماست گرمخانه‌گذاری شده‌اند، دیده شد.تیمار B_lY- ۴۰-۴/۵ دارای بیشترین قابلیت پذیرش طعم، ظاهر، بافت و احساس دهانی در روز نخست است.

جدول۱. میانگین سرعت افت pH، افزایش اسیدیته قابل تیتر، پتانسیل احیا، زمان اوج تخمیر، مدت زمان گرمخانه‌گذاری و اسیدیته نهایی طی تخمیر*

تیمارها**	شاخص ها					
	سرعت متوسط افت pH	سرعت متوسط افزایش اسیدیته	سرعت متوسط افزایشپتانسیل احیا	زمان اوج تخمیر	زمان گرمخانه گذاری	اسیدیتهنهایی
B_l -۴/۵-۴۵-Y	^{b}۰/۰۰۸۷	^{c}۰/۱۳	^{a}۰/۵۴	۱۲۰-۱۵۰	^{cd}۲۴۰	^{b}۴۱/۴
B_b-۴/۵-۴۵-Y	^{b}۰/۰۰۸۷	^{c}۰/۱۳	^{a}۰/۵۴	۱۲۰-۱۵۰	^{cd}۲۴۰	^{b}۴۱/۴
B_l-۴/۲-۴۵-Y	^{d}۰/۰۰۸۵	^{a}۰/۱۵	^{b}۰/۵۰	۱۲۰-۱۵۰	^{ab}۲۷۰	^{a}۴۸/۶
B_b-۴/۲-۴۵-Y	^{d}۰/۰۰۸۵	^{a}۰/۱۵	^{b}۰/۵۰	۱۲۰-۱۵۰	^{ab}۲۷۰	^{a}۴۸/۶
۴/۵-۴۰-B_lY	^{a}۰/۰۰۸۸	^{b}۰/۱۴	^{b}۰/۵۱	۱۵۰-۱۸۰	^{c}۲۴۵	^{b}۴۳/۲
۴/۲-۴۰-B_lY	^{c}۰/۰۰۸۶	^{a}۰/۱۵	^{b}۰/۵۰	۱۵۰-۱۸۰	^{a}۲۷۵	^{a}۴۹/۵
۴/۵-۴۰-B_bY	^{d}۰/۰۰۸۵	^{b}۰/۱۴	^{b}۰/۴۹	۱۵۰-۱۸۰	^{c}۲۵۰	^{b}۴۲/۳
۴/۲-۴۰-B_bY	^{e}۰/۰۰۸۳	^{b}۰/۱۴	^{bc}۰/۴۷	۱۵۰-۱۸۰	^{a}۲۸۰	^{a}۴۸/۶

*حروف کوچک نشانگر اختلاف معنادار ($p< ۰/۰۵$) میانگین‌ها در ستون‌ها هستند.

**=Yکشت‌های آغازگر سنتی ماست *(ا. ترموفیلوس و ل. بولگاریکوس)*، ۴۰/۴۵ = دمای انکوباسیون، ۴/۲ و ۴/۴= pHنهایی تخمیر، H= فرآیند گرمایی، B_l=ب. *انیمالیس*، B_b= ب. *بیفیدوم*

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

جدول ۲. قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* و میزان شاخص ضریب نسبت رشد در تیمارهای مختلف بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی*

تیمارها**	زمان نگهداری یخچالی (روز)			
	روز ۰	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
B_l -۴/۵-۴۵-Y	۷/۶۱^{eA}	۷/۳۲^{eBC}	۷/۱۱^{fgD}	۷/۳۹^{eB}
B_b-۴/۵-۴۵-Y	۷/۶۳^{eA}	۷/۱۷^{fB}	۶/۶۹^{hiD}	۷/۰۷^{gBC}
B_l-۴/۲-۴۵-Y	۷/۶۲^{eA}	۶/۸۴^{fgBC}	۶/۶۰^{iC}	۷/۰۰^{gB}
B_b-۴/۲-۴۵-Y	۷/۶۳^{eA}	۶/۰۰^{jC}	۶/۰۰^{jc}	۶/۶۰^{hB}
۴/۵-۴۰-B_lY	۸/۶۹^{aB}	۸/۷۸^{aA}	۸/۷۶ ^{aA}	۸/۶۷^{aC}
۴/۲-۴۰-B_lY	۸/۳۰^{cAB}	۸/۴۰^{cA}	۸/۳۰^{cAB}	۷/۸۴^{cC}
۴/۵-۴۰-B_bY	۸/۵۱^{bB}	۸/۵۸^{bA}	۸/۵۴^{bA}	۸/۴۰^{bC}
۴/۲-۴۰-B_bY	۸/۲۰^{dB}	۸/۲۸^{dA}	۸/۲۵^{dA}	۷/۶۰^{dC}

*حروف کوچک و بزرگ به ترتیب نشانگر اختلاف معنادار ($p< ۰/۰۵$) میانگین‌ها در ستون‌ها و ردیف‌ها هستند.

**=Yکشت‌های آغازگر سنتی ماست (*ا. ترموفیلوس و ل. بولگاریکوس*)، ۴۰/۴۵ = دمای انکوباسیون، ۴/۲ و ۴/۵= pH نهایی تخمیر، H= فرآیند گرمایی، B_l= ب. *انیمالیس*، B_b= ب. *بیفیدوم*

جدول ۳. نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ پروبیوتیک در روز نخست*

تیمارها**	شاخص‌ها			
	طعم	بافت و احساس دهانی	ظاهر	امتیاز کل
B_l -۴/۵-۴۵-Y	۱۴/۶^{bc}	۸/۵^{bc}	۵/۱^{c}	۲۸/۳^{ef}
B_b-۴/۵-۴۵-Y	۱۶/۰^{b}	۹/۳^{b}	۵/۵^{c}	۳۰/۸^{e}
B_l-۴/۲-۴۵-Y	۱۳/۳^{c}	۸/۹^{bc}	۵/۵^{c}	۲۷/۸^{f}
B_b-۴/۲-۴۵-Y	۱۶/۰^{b}	۱۰/۸^{b}	۶/۴^{b}	۳۳/۳^{d}
۴/۵-۴۰-B_lY	۱۸/۶^{ab}	۱۲/۴^{a}	۷/۳^{a}	۳۸/۴^{b}
۴/۲-۴۰-B_lY	۲۱/۳^{a}	۱۲/۴^{a}	۷/۱^{a}	۴۰/۸^{a}
۴/۵-۴۰-B_bY	۱۸/۶^{ab}	۱۰/۸^{b}	۷/۱^{a}	۳۶/۶^{c}
۴/۲-۴۰-B_bY	۲۰/۰^{a}	۱۳/۲^{a}	۷/۷^{a}	۴۰/۹^{a}

*حروف کوچک نشانگر اختلاف معنادار ($p< ۰/۰۵$) میانگین‌ها در ستون‌ها هستند.

**=Yکشت‌های آغازگر سنتی ماست (*ا. ترموفیلوس و ل. بولگاریکوس*)، ۴۰/۴۵ = دمای انکوباسیون، ۴/۲ و ۴/۵= p نهایی تخمیر،= فرآیندگرمایی، B_l= ب. *انیمالیس*،B_b= ب. *بیفیدوم*

بحث

شاخص‌های بیوشیمیایی: در کلیه تیمارها کمترین سرعت افت pH و همچنین کمترین سرعت افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در مرحله ابتدایی تخمیر دیده شد که به جهت قرارگیری در فاز کمون یا در ابتدای فاز لگاریتمی رشد باکتری‌ها بود. این مشاهدات با سایر تحقیقات که توسط حیدری و همکاران در سال ۲۰۱۱ و شفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطابق است (۱۵، ۱۴). در تیمارهایی هم-کشت شده که pH نهایی پایین‌تری دارند، سرعت افت pH وسرعت افزایش اسیدیته کمتر است. طولانی‌ترین زمان فرآیند تخمیر در تیمارهایی مشاهده شده که دوغ دارای pH نهایی کمتر است. کربکندی و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند باکتری‌های پروبیوتیک در مقایسه با باکتری آغازگر ماست، توانایی کمتری در اسیدسازی طی تخمیر دارند (۶). بنابراین هم-کشت کردن باکتری‌های پروبیوتیک به همراه باکتری آغازگر ماست منجر به کاهش سرعت اسیدسازی در طی تخمیر شده است. در این تیمارها (به جهت بقای باکتری‌های پروبیوتیک) دمای گرمخانه‌گذاری۴۰°C است که منجر به کاهش سرعت اسیدسازی در مقایسه با دمای ۴۵°C (دمای اپتیمم رشد باکتری‌های آغازگر ماست) می‌شود. به علاوه pH نهایی ۴/۲ سبب کاهش سرعت اسیدسازی در مقایسه با pH۴/۵ می‌شود. در تأیید این پدیده گزارش شده است که طی تخمیر دوغ با کشت ترکیبی باکتری‌های آغازگر سنتی

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

ماست و پروبیوتیک‌ها (*ل. اسیدوفیلوس* و *ب. لاکتیس*)، هنگامی که pH از ۴/۵ به ۴/۲ کاهش می‌یابد، باکتری‌ها از فاز لگاریتمی به فاز سکون انتقال یافته و به طور معنی‌داری منجر به کاهش سرعت اسیدسازی و افزایش زمان تخمیر می‌شود (۱۶).

قابلیت زیستی سویه‌های *بیفیدوباکتریوم* بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی: میزان قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها در روز نخست، در چهار تیمار (که دوغ به عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک بود) تفاوت معنی‌داری نداشته است، زیرا باکتری‌های بیفیدوباکتریوم به مقدار مشخص در پایان تخمیر قبل از بسته بندی به دوغ افزوده شدند. اما در تیمارهای هم- کشت شده در پایان تخمیر، باکتری‌های بیفیدوباکتریوم به میزان ۱ سیکل لگاریتمی افزون بر میزان تلقیح شده، رشد نموده‌اند. این پدیده می‌تواند به جهت حضور و شرکت بیفیدوباکتریوم‌ها در فرآیند تخمیر باشد که امکان سازگاری این باکتری‌ها با محیط فراورده و تغییرات pH، اسیدیته و پتانسیل احیا را در حین تخمیر فراهم نموده است. در ضمن بکارگیری دمای گرمخانه‌گذاری ۴۰ °C (به جهت بقای *بیفیدوباکتریوم‌ها*)در این تیمارها، امکان رشد و فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست که دمای بهینه رشدشان ۴۵ °C است، را کاهش داده است. در تأیید این نتایج Klaver و همکاران در سال ۱۹۹۳بیان کردند که هم- کشت کردن باکتری‌های آغازگر ماست با باکتری‌های پروبیوتیک به منظور ایجاد ترکیبات مورد نیاز رشد پروبیوتیک‌ها صورت گرفته و میان آن‌ها نوعی رابطه همیاری زیستی برقرار می‌شود (۴). در بررسی اثر نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌ها بر قابلیت زیستی آن‌ها بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی مشاهده شد که *ب. انیمالیس* نسبت به *ب. بیفیدوم* قابلیت زیستی بالاتری داشته است. این امر نشان دهنده تأثیر نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌ها بر میزان فعالیت و رشد آن‌ها طی تخمیر و گرمخانه‌گذاری است. در تأیید نتایج بالا، تمیم در سال ۲۰۰۵ بیان نمود که *ب. انیمالیس* در مقایسه با سایر گونه‌های بیفیدوباکتریوم قابلیت زیستی بالاتری دارد. بقا باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات تخمیری به نوع سویه آن‌ها وابسته است (۱۷). از مهمترین عواملی که باعث کاهش قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها می‌شود، حضور اکسیژن مولکولی و آسیب اکسیداتیو مانند گونه‌های اکسیژن فعال مانند H_2O_2 یا یون پراکسید است. بیفیدوباکتریوم‌ها فاقد آنزیم کاتالاز و یون سوپراکسید دیسموتاز هستند و از طریق فعال شدن آنزیم‌های NADH اکسیداز و پراکسدازها تا حد خاصی باعث کاهش آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود که در بین گونه‌های بیفیدوباکتریوم، *ب. انیمالیس* دارای بیشترین مقاومت به آسیب‌های اکسیداتیو دارند. تحقیقات اخیر نشان داد پاسخ به استرس‌های اکسیداتیو در *ب. انیمالیس* از طریق فعال شدن NADH اکسیداز (مصرف H_2O_2)، کوپروپورفرینوژن ۳ - اکسیداز (حذف اکسیژن مولکولی) و F_1F_0ATP ase انجام می‌شود (۱۸). مشاهده شد که هر چه pH نهایی تخمیرپایین‌تر باشد، میزان بقا و فعالیت سویه‌های بیفیدوباکتریوم کاهش یافته است. به نظر می‌رسد این پدیده به جهت اثر کشندگی اسیدهای آلی در pH های پایین بوده و منجر به کاهش بقا سویه‌های بیفیدوباکتریوم شده است. با توجه به نتایج قابلیت زیستی، در تیمارهایی که باکتری‌های بیفیدوباکتریوم به همراه باکتری‌های آغازگر ماست گرمخانه‌گذاری شدند، طی دوره نگهداری یخچالی بر میزان قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها تا روز هفتم افزوده شده و سپس به تدریج کاهش یافت. این افزایش جمعیت طی دوره نگهداری یخچالی به جهت اثر هم یاری زیستی بین باکتری‌های آغازگر ماست و بیفیدوباکتریوم‌ها و مقاوم شدن آن‌ها نسبت به شرایط محیط فراورده می‌باشد. Saxelin و همکاران در سال ۱۹۹۹کاهشی در تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در کشت ترکیبی باکتری‌های پروبیوتیک و باکتری سنتی ماست مشاهده نکردند، که این اهمیت انتخاب کشت پشتیبان مطلوب در بقای خوب باکتری‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری یخچالی محصول است (۱۹). در این پژوهش قابلیت زیستی دو سویه‌های بیفیدوباکتریوم با منشا ایرانی در تمامی تیمارها بلافاصله پس از تخمیر و طی دوره نگهداری یخچالی بیش از $6/00 \log \text{cfuml}^{-1}$ است، که از میزان حداقل استاندارد ملی دوغ پروبیوتیک بیشتر بوده است و در مقایسه با سویه‌های تجاری، تحت شرایط اسیدی دوغ و طی دوره نگهداری یخچالی بقا بیشتری داشته است. در مقایسه Mortazavian و همکاران در سال ۲۰۰۸ قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک (*ل. اسیدوفیلوس* و *ب. لاکتیس*) را در دوغ پروبیوتیک طی دوره نگهداری یخچالی بررسی نمودند. آن‌ها یافتند که قابلیت زیستی *ب. لاکتیس*در حدود ۲ لگاریتم یا بیشتر در طی بیست و یک روز نگهداری یخچالی کاهش یافت (۲۰). همچنین Christopher و همکاران در سال ۲۰۰۹ بیان نمودند که قابلیت زیستی *ب. بیفیدوم* از ابتدای زمان نگهداری تا روز بیست و یکم حدود ۲ لگاریتم کاهش می‌یابد.

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

در حالی که در این پژوهش طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی، قابلیت زیستی باکتری‌های بیفیدوباکتریوم تقریبا کمتر یا حدود یک لگاریتم کاهش یافت (۲۱).

ارزیابی حسی: در تیمارهای هم-کشت شده که باکتری‌های بیفیدوباکتریوم به همراه باکتری‌های آغازگر ماست گرمخانه‌گذاری شده اند، بیشترین قابلیت پذیرش طعم، ظاهر و احساس دهانی، دیده شد.در این تیمارها دوغ پس از فرآیند تخمیر تحت هیچ فرآیند فیزیکی قرار نگرفت که منجر به افزایش قوام و گرانروی دوغ و احساس دهانی بهتر و لطافت بیشتر بافت در دهان شده است.در تأیید این نتایج، Korbekandi و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که مناسب‌ترین و مرسوم‌ترین شیوه بهبود خواص حسی فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک، هم-کشت کردن باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک‌ها است (۶). در این پژوهش با مقایسه تیمارهایی که نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌ها در آن‌ها متفاوت است، اختلاف معنی‌داری میان قابلیت پذیرش طعم، ظاهر، بافت و احساس دهانی در این تیمارها مشاهده نشده است. که این پدیده می‌تواند به دلیل قدرت اسیدسازی مشابه این دو گونه باشد. مغایر با نتایج این پژوهش رابینسون و تمیم در سال ۱۹۹۰ بیان کردند که باکتری *ب. بیفیدوم* نسبت به سایر گونه‌های بیفیدوباکتریوم طعم دلپذیرتری در ماست ایجاد می‌کنند. با توجه به نتایج ارزیابی حسی، در میان سه متغیر نوع گونه بیفیدوباکتریوم‌ها، pH نهایی تخمیر و ترتیب تلقیح، متغیر ترتیب تلقیح بیشترین تأثیر را در کیفیت حسی و قابلیت پذیرش دوغ پروبیوتیک داشته است (۲۲). بنابراین، استفاده از این دو سویه برای کاربردهای صنعتی در تولید فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک به عنوان کشت آغازگر به همراه باکتری‌های سنتی ماست رضایت بخش به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه‌ی دانشجویی استخراج شده‌است. از دانشکده تغذیه و صنایع غذایی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و دانشکده داروسازی دانشگاه تهران به دلیل فراهم آوردن امکان این پژوهش قدردانی می‌شود.

References

1. Granato D, Branco GF, Cruz AG, Faria JA, Shah NP. Probiotic dairy products as functional foods. Com rev food Sci food saf 2010; 9:455-70.
2. Oliveira RPS, Perego P, Converti A, Oliveira MN. The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented milk. Int J Dairy Technol 2009; 62:195-203.
3. Mortazavian AM, Mousavi SM, Sohrabvandi S, Reinheimer JA. Combined effects of temperature-related variables on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. Aus J Dairy Technol 2006; 61:248-252.
4. Klaver FA, Kingma MF, Weerkamp AH. Growth and survival of bifidobacteria in milk. Neth Milk Dairy J 1993;47:151-64.
5. Tamime AY, Saarela M, Sondergaard AK, Mistry VV, Shah NP. Production and maintenance of viability probiotics micro-organism in dairy products. In: Tamime AY, editor, Probiotic Dairy ProductsLondon: Blackwell Publishing; 2005:39-97.
6. Korbekandi H, Mortazavian AM, Iravani S. Technology and stability of probiotic in fermented milks. In:Shah N, editor, probiotic and prebiotic foods: Technology, Stability and Benefits to the human health,New York: Nova Science Publishing LTD; 2011:131-169.
7. Institute of Standards and Industrial Research of Iran, ISIRI no 2453. Karaj: ISIRI; 2008 [in Persian].
8. Shah NP. Functional foods from probiotics and prebiotics. Food Technol 2001;55:46-53.
9. Jamalifar HB, Bigdeli J, Nowroozi HS, Zolfaghari M, Fazeli MR. Selection for autochthonous bifidobacterial isolated adapted to simulated gastrointestinal fluid. J Food Protec 2010;18:57-63.
10. Vinderola CG, and Reinheimer JA. Culture media for the enumeration of Bifidobacteriumbifidum and Lactobacillus acidophilus in the presence of yoghurt bacteria. Int Dairy J 1999; 9:497-505.
11. Mortazavian AM, Khosrokhavar R, Rastgar H. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characterisitics of freshly made probiotic Doogh. Ital J Food Sci 2009; 22:98-104.
12. Mortazavian AM, Ehsani MR, Reinheimer J, SohrabvandiS. MRS-bile agar: Its suitability for enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. Milchwissenschaft 2007; 62:270-272.

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

13. Iran National Standard for Sensory evaluation. [Internet document]. http://www.isiri. org/User Std/ StdSearch.aspx. 2008: No.4940.

14. Heydari S, Mortazavian AM, Mohammadifar MA, EzzatpanahH, Sohrabvandi S, Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic or fiber compounds. Ital J Food Sci 2011; 23:153-63.

15. Shafiee G, Mortazavian, AM, Mohammadifar MA, Koushki MR, Mohammadi AR, Mohammadi R. Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological characteristics of probiotic fermented milk. Afri J Microbiol Res 2010; 4: 1265-74.

16. Mortazavian AM, Korbekandi H, Rastgar H. Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh. Ital J Food Sci 2010; 22: 98-104.

17. Donkor ON, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah NP. Effect of acidification on the activity of probiotics in yogurt during cold storage. Int Dairy J 2006;16: 1181-89.

18. Ruiz L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P, Ribbera A, de los Reyes-Gavil CG, Ventura M, et al. Molecular clues to understand the aerotolerant phenotype of Bifidobacterium animalis subsp. lactis. Applied Environ Microbiol 2012; 78: 644-50.

19. Saxelin M, Grenov B, Svensson U, Fonde R, Reniero R, Mattila-Sandholme T. The technology of probiotics. Trends Food SciTechnol 1999;10: 387-92.

20. Mortazavian AM, Ehsani MR, Mousavi SM, Azizi A, Razavi SH,. MousaviSM, et al.Viability of calcium-alginate- microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. Aust J Dairy Technol 2008; 63: 24-9.

21. Christopher MD, Padmanabha V, Venkateswarlu K. Viability during storage of two Bifidobacteriumbifidum strains in set and stirred flavoured yoghurts containing whey protein concentrate. Natur Pro Radiance 2008; 8: 25-31.

22. Dave RZ, Shah NP. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. Int Dairy J 1997; 7:31-41.

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

Viability of two Iranian isolated species of bifidobacteria in Doogh

Ahmadi E[1], Mohammadi R[2], Rouhi M[3], Mortazavian AM[4], Khosravi-Darani K[5], Shandnush M[2]*

1. *M.Sc. in Food Science and technology, Young Researchers and Elites club, Science and Research Branch,Islamic Azad University, Tehran, Iran.*
2. *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.*
3. *PhD Student, Dept. of Food Science, Engineering and Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Iran.*
4. **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*
5. *Associate Prof. (in Research), Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and FoodTechnology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of MedicalSciences, Tehran, Iran.*

Abstract

Backgrounds and Objective: Viability of *probiotic*microorganisms in the final product is the most important qualitative parameter. These organisms show poor viability incommercial products especially in fermented dairy products.The aim of this study was to assess the interactive effects of two Iranian native strains of *Bifidobacterium* (*Bifidobacteriumanimlis* spp. *lactis*PTCC 1631 and *Bifidobacteriumbifidum* PTCC 1644), sequential inoculation (inoculation of *probiotics* before or after fermentation) and final pH of fermentation (pH4.5or 4.2) on biochemical, microbiological, and sensory characteristics of Doogh.

Materials and methods: The *Bifidobacterium* strains used in the study included *Bifidobacteriumanimlis* spp. *lactis*PTCC1631 (Persian Type Culture Collection-Iran) and *Bifidobacteriumbifidum* PTCC 1644obtained from microbial culture stock of 'Department of Drug and Food Control' (Tehran University Culture Collection Center, Tehran, Iran).Doogh was prepared with yogurt starter culture (YF-3331)and*Bifidobacterium* strains.pH, titrable acidity, redox potential, fermentation time, and viability of probiotic organisms were analyzed during fermentation and over the refrigerated storage period (21 days at 5°C).Also, the sensory attributes of treatments were determined at the end of fermentation.Experiments were performed in triplicate and the comparison of the means was done using ANOVA test in significance level of 0.05 (p<0.05) from Minitab software.

Results: The longest fermentation time was observed in treatmentsthat *bifidobacteria* was cultured with yogurt starter bacteria and incubated at 40°C until final pH4.2. The greatest survival of *Bifidobacterium* strains was determined in B_lY-40-4.5 treatment (when*B.animlis* spp.*Lactis*PTCC 1631 strain was co-cultured with traditional yogurt starter bacteria at incubation temperature of 40°C and final pH4.5)in which *B. animalis* spp. *lactis* PTCC 1631 survived 8.69 log cfumL^{-1}. The viability of *B. animalis* spp. *lactis* PTCC 1631 was significantly more than *B. bifidum* PTCC 1644. Alsofinal pH 4.5 rather than to pH 4.2 led toincrease the viability of *bifidobacteria* strainsin similar *probiotic* organisms.

Conclusion: The variables including the type of *bifidobacterium* species, final pH, and sequence of probiotic inoculation significantly affected viability of*bifidobacterium* species at the end of fermentation and during refrigerated storage.In general, the count of two species of Iranian native *bifidobacteria* in all treatments at the end of fermentation and throughout the storage time was more than 6.00 log cfu mL^{-1} per milliliter of Doogh. Therefore, the survival of this strain considerably was higher than the commercial *probiotic* starter cultures.

Keywords:*Bifidobacteriumanimalis, Bifidobacteriumbifidum, Probiotic, Doogh, Viability*

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