

## تولید ماست بیفیدوس با استفاده از ایزوله ایرانی و بررسی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و حسی آن

\*مرتضی خمیری<sup>۱</sup>، سید علی مرتضوی<sup>۲</sup>، حمید بهادر قدوسی<sup>۲</sup>، علی خامسان<sup>۳</sup> و درخشان احمد<sup>۴</sup>

<sup>۱</sup>استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، <sup>۲</sup>استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فوسی مشهد،

<sup>۳</sup>استادیار مرکز تحقیقات علوم دامی جهاد کشاورزی کرخ، <sup>۴</sup>استاد انستیتو ملی علوم و تحقیقات کانادا

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۶/۱۲/۲۷

### چکیده

بیفیدوباکتریوم‌ها به دلیل خاصیت پروبایوتیک در تولید فرآورده‌های لبنی جایگاه ویژه‌ای دارند. فرآورده‌های لبنی پروبایوتیک در بسیاری از کشورها تولید و مصرف می‌شوند اما تولید آنها در ایران هنوز مرسوم نشده است. در این تحقیق توانایی زنده ماندن ۸ ایزوله بیفیدوباکتریوم بومی ایران در ماست پس از ۱، ۲، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مطالعه و بررسی شد. نتایج نشان داد که ۵ ایزوله از آنها از ماندگاری خوبی در طول نگهداری ماست در یخچال برخوردار بودند و از این نژادهای انتخاب شده همراه با استارتر معمول، برای تولید ماست ساده استفاده شدند. خصوصیات فیزیکیوشیمیایی (pH، اسیدیته و سینرسیس) و حسی فرآورده تولید شده بررسی و آزمایش شد. هیچ اختلاف معنی‌داری بین خصوصیات حسی و فیزیکیوشیمیایی نمونه‌های تولید شده با استارتر کالچر معمول و نمونه‌های حاوی استارتر معمول به‌علاوه ایزوله‌های بیفیدوباکتریوم مشاهده نشد. بنابراین ۵ ایزوله ایرانی بیفیدوباکتریوم را می‌توان در تولید فرآورده‌های لبنی استفاده کرد بدون اینکه هیچ تغییر قابل توجهی در خصوصیات حسی و فیزیکیوشیمیایی ماست ایجاد نماید.

**واژه‌های کلیدی:** بیفیدوباکتریوم، فرآورده‌های لبنی، ایزوله‌های ایرانی، ماست بیفیدوس

### مقدمه

بیفیدوباکتریوم‌ها و برخی از لاکتیک اسید باکتری‌ها (مانند گونه‌هایی از لاکتوباسیلوس‌ها) به‌عنوان باکتری‌های "پروباوتیک" شناخته می‌شوند. پروباوتیک کلمه‌ای یونانی و به معنی "برای زندگی" می‌باشد. در چند دهه گذشته تحقیقات گسترده‌ای برای شناسایی خصوصیات کاربردی این گروه از باکتری‌ها صورت گرفته است و با استفاده از آنها فرآورده‌های غذایی مختلفی تهیه و تولید گردیده است (گومز و همکاران، ۱۹۹۹؛ کلاتزوپلاس،

۱۹۹۷؛ کک و همکاران، ۱۹۹۶؛ اوسولیوان و کولن، ۱۹۹۸ و تمیم و همکاران، ۱۹۹۵). کاربرد این باکتری‌ها در تولید فرآورده‌های لبنی را روشی مؤثر و عملی در افزایش سلامتی عمومی جامعه می‌باشد. نقش پروباوتیک‌ها بر سلامت انسان مورد مطالعه و تحقیق بسیار قرار گرفته است و هر روز ضمن بالا رفتن آگاهی عمومی اطلاعات جدیدی از آنها شناخته و منتشر می‌شود. بخصوص با توجه به پیشرفت تکنولوژی و بروز بیماری‌هایی ناشی از آن، نقش پروباوتیک‌ها در تغذیه پررنگ‌تر می‌گردد. زیرا بیماری‌هایی مانند فشار خون، چربی و کلسترول خون و

ایزوله ایرانی که قبلاً برخی از معیارهای اصلی پروبایوتیکی آنها بررسی شده بود (خمیری و همکاران، ۲۰۰۵)، انجام شد.

## مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۸ ایزوله بیفیدوباکتریوم بومی ایران با شماره کدهای F۰۳۱۳، F۰۶۳۱، F۰۵۱۱، M۲۰۱۱، M۱۵۱۲، M۰۳۲۱، F۱۰۱۱ و F۱۷۱۲ گرفته شده از آزمایشگاه مرکزی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان استفاده گردید (خمیری و همکاران، ۲۰۰۵؛ خمیری و همکاران، ۲۰۰۶).

برای تهیه مایه تلقیح به ماست پاستوریزه بعد از فعال‌سازی بیفیدوباکتریوم‌های فریزدرای شده، تهیه کشت فعال ۴۸ ساعته در لوله‌های بزرگ ۵۰ سی‌سی حاوی محیط کشت مایع MRS<sup>+</sup> (روی و وارد، ۱۹۹۰)، سانتریفوژ کردن ۵۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ دقیقه و سوسپانسیونی از رسوبات میکروبی با استفاده از محلول SPC در ۱۰-۵ میلی‌متر تهیه گردید (آزبل و همکاران، ۱۹۹۱). کار تهیه ماست در آزمایشگاه تحقیق و توسعه کارخانه شیر پاستوریزه پگاه گرگان و به روش مرسوم انجام شد (تمیم و رابینسون، ۱۹۹۹). در ادامه ماست تولید شده در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه شد. پس از خنک کردن ماست و تلقیح ۸ ایزوله از بیفیدوباکتریوم‌های مورد آزمایش، ماست در ظروف استریل درب دار با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تقسیم گردید. در طول نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد به‌طور هفتگی تا مدت ۲۱ روز نمونه‌برداری و تعداد سلول‌های فعال شمارش شد (سان و گریفث، ۲۰۰۰).

برای انجام آزمون‌های فیزیکی شیمیایی ماست مقدار اسیدیته (AOAC، ۲۰۰۰)، pH (AOAC، ۲۰۰۰) و سینرسیس (فلیگنر و همکاران، ۱۹۸۸) تعیین و مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای بررسی آماری، تعیین سطح معنی‌داری، آنالیز واریانس، به‌دست آوردن میانگین‌ها و

سرطان روده از جمله مهم‌ترین موارد مربوط به قرن گذشته بوده است که موجب رویکرد گسترده‌ای به این گروه از باکتری‌ها شده‌اند (راسیک و همکاران، ۱۹۹۲؛ آم، ۱۹۹۴؛ کاتانزارو و گرین، ۱۹۹۶؛ آروناکالام، ۱۹۹۹ و پیرا و گیسن، ۲۰۰۲).

امروزه در سرتاسر دنیا از چندین نژاد پروبایوتیکی با ویژگی‌های شناخته شده در بسیاری از فرآورده‌های پروبایوتیک استفاده می‌شود. از مهم‌ترین باکتری‌های ایزوله شده از انسان و مورد استفاده در صنایع لبنی دنیا گونه‌های مربوط به بیفیدوباکتریوم‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها است (تمیم و همکاران، ۱۹۹۵؛ کانت زوپولوس، ۱۹۹۷). پیشرفت‌هایی که در خصوص روش‌های شناسایی میکروارگانیسم‌ها در طول سال‌های اخیر به‌دست آمد موجب گردید تا تحقیقات گسترده‌ای در مورد ویژگی‌های ژنتیکی و اثرات اختصاصی هر یک از پروبایوتیک‌ها در حالت *In vivo* انجام شده. با این وجود انتخاب نژادهای مناسب برای انجام تخمیر در فرآورده‌های لبنی و تهیه استارتر از جمله پیشنهادات همیشگی محققین بزرگ در زمینه تولید فرآورده‌های لبنی است (پراساد و همکاران، ۱۹۹۸).

برای اینکه عملاً یک ارگانیسم به‌عنوان یک پروبایوتیک پذیرفته شود باید چندین معیار خاص در نظر گرفته شود. مهم‌ترین موارد عبارتند از: بی‌خطر بودن برای میزبان، مقاوم بودن به اسیدیته معده و ترشحات لوزالمعده (صفرا) و دارا بودن پایداری مطلوب در شرایط فرایندهای تکنولوژیک و در طول دوره نگهداری محصول پروبایوتیک. مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که پروبایوتیک‌ها به‌وسیله آن می‌توانند موجب ارتقاء سلامتی مصرف‌کننده شوند شامل تولید اسیدهای آلی، پراکسیدها یا باکتریوسین‌ها، رقابت با پاتوژن‌ها برای تصاحب جایگاه‌های اتصال روی موکوس، رقابت برای جذب سوسترا و تقویت سیستم ایمنی می‌باشد (آم، ۱۹۹۴؛ کاتانزارو و گرین، ۱۹۹۶؛ کانوی، ۱۹۹۶؛ شاینباخ، ۱۹۹۸). این تحقیق برای تعیین خصوصیات تکنولوژیک چند

مقایسه آنها از برنامه SASS استفاده شد (لایلس و هایمن، ۱۹۹۸، SAS، ۲۰۰۱). ارزیابی حسی نمونه‌های ماست به وسیله ۲۰ نفر از متخصصین آموزش دیده انجام شد. ویژگی‌های حسی مورد ارزیابی عبارت بودند از: بافت و عطر و بو. از آنجایی که ارزیابی داوران به صورت کیفی بود لذا با استفاده از آزمون هدونیک ارزیابی‌های کیفی به داده‌های کمی تبدیل شد. برای این منظور فرم‌های تست پانل برای هر نمونه در اختیار داوران قرار گرفت و داوران براساس آزمون حسی ماست در مقیاس پنج نقطه‌ای (بسیار خوب، خوب، متوسط، بد و خیلی بد) پاسخ دادند (لایلس و هایمن، ۱۹۹۸).

### نتایج و بحث

بررسی میزان بقاء ایزوله‌های برتر در ماست در طول دوره نگهداری: نتایج حاصل از بررسی و مقایسه میزان بقاء ۸ ایزوله از بیفیدوباکتریوم‌های بومی ایران نشان داد که اثر ایزوله، زمان و اثرات متقابل در درصد ماندگاری بین نژادهای مختلف در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد (در جدول نشان داده نشده است). اگرچه اختلاف معنی‌داری بین ایزوله‌ها از نظر توان تحمل شرایط حاکم در ماست در طول دوره نگهداری وجود دارد (جدول ۱)

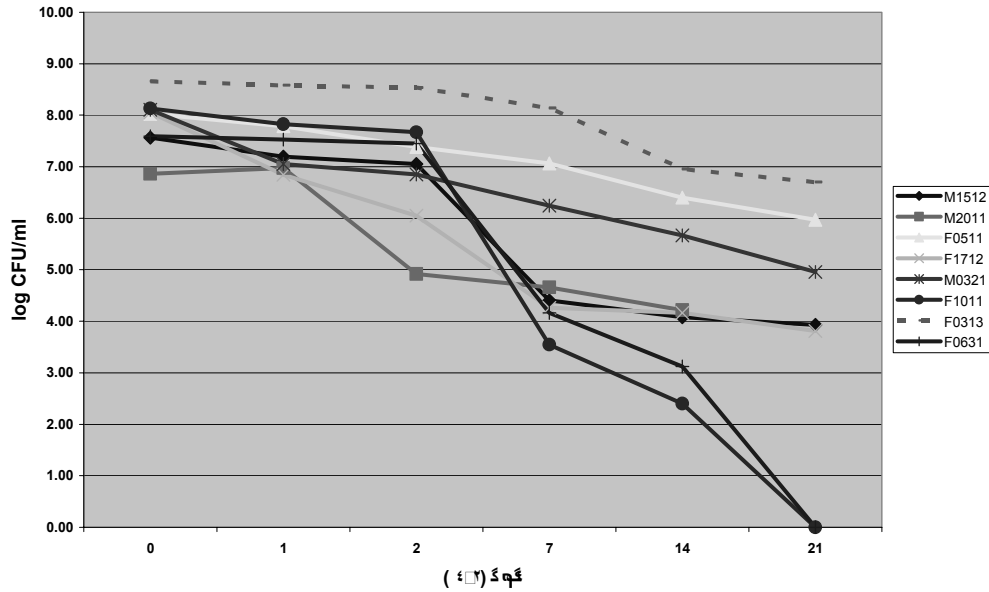
اما نتایج حاکی از این است که ۵ ایزوله دارای توانایی زنده ماندن بسیار خوبی می‌باشند و از آنها می‌توان در تولید فرآورده‌های لبنی استفاده کرد. چرا که اکثر محققین یکی از شروط تکنولوژیک برای پذیرش ایزوله‌ای از بیفیدوباکتریوم‌ها به‌عنوان استارتر را دارا بودن توان ماندگاری حدود ۳۰ درصد مقدار اولیه تلقیح می‌دانند (تمیم و رایبسون، ۱۹۹۹). بنابراین برای ۵ ایزوله F۰۳۱۳، M۰۳۲۱، F۰۵۱۱، F۲۰۱۱، M۱۵۱۲ صادق است (جدول ۱).

برای بررسی و مقایسه روند کاهش تعداد سلول‌ها در خصوص ایزوله‌های مختلف در طول دوره نگهداری در یخچال نمودار logCFU/ml در برابر زمان رسم شده است (شکل ۱). همان‌طور که مشاهده می‌شود ۵ ایزوله F۰۳۱۳، F۰۵۱۱، M۰۳۲۱، F۲۰۱۱، M۱۵۱۲ به ترتیب با سرعت کمتری کاهش می‌یابند و مقادیر نهایی باقی‌مانده نیز از سطح بالاتری برخوردار است. در این نمودار مشاهده می‌شود که تعداد باکتری‌های زنده از ۵ ایزوله مقاومتر مذکور طی ۲۱ روز نگهداری تنها دارای ۲ تا ۳ فاز لگاریتمی کاهش است اما تعداد سلول‌های فعال دو ایزوله F۰۶۳۱، F۱۰۱۱، هفت تا هشت فاز لگاریتمی کاهش یافته است.

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد ماندگاری ایزوله‌های مورد آزمایش در ماست در طول دوره نگهداری در یخچال.

ایزوله	درصد ماندگاری
F۰۳۱۳	۴۹/۲۴۸a*
F۰۶۳۱	۴۳/۱۳۶b
F۰۵۱۱	۳۳/۲۳۷c
M۲۰۱۱	۳۱/۸۰۳c
M۱۵۱۲	۳۰/۲۱۹c
M۰۳۲۱	۱۹/۳۶۳d
F۱۰۱۱	۱۸/۴۰۲d
F۱۷۱۲	۱۷/۸۶۱d

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.



شکل ۱- روند تغییرات تعداد سلولها (log cfu/ml) در طول دوره نگهداری در یخچال.

رسیده است به عنوان ایزوله‌های مقاوم و مطلوبی معرفی نمی‌شوند.

مطالعات مختلف (هول و همکاران، ۱۹۸۴؛ شاه و جیلن، ۱۹۹۰؛ شاه و همکاران، ۱۹۹۵) نشان داده است که لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در ماست ناپایدارند. مطالعات انجام شده توسط آنون، (۱۹۹۲) در خصوص چندین محصول تجاری ماست در استرالیا نشان داد که تعداد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در آنها بسیار پائین است. نتایج حاصل در این پژوهش نیز نشان داد که تعداد دو ایزوله از بیفیدوباکتریومها در عرض سه هفته نگهداری در یخچال به صفر می‌رسد اما تعداد ایزوله‌های دیگر هنوز در حد قابل قبولی (بیشتر از  $10^5$  Cells/g) است که مصرف فرآورده حاوی آن می‌تواند اثرات مفید بر مصرف‌کننده به جا گذارد (رایبسون، ۱۹۸۷).

از آنجایی که نتایج بررسی شده در خصوص مقاومت و درصد ماندگاری ایزوله‌ها بیفیدوباکتریوم مورد آزمایش براساس نتایج حاصل در کل زمان دوره نگهداری است و مقایسه‌های انجام شده زمان خاصی را در بر نمی‌گیرد لذا به این نکته نیز توجه شده و به دلیل اهمیت تعداد باکتری‌ها در آخرین روزهای نگهداری ماست تعداد باکتری‌های (CFU/ml) مورد آزمایش در روزهای چهاردهم و بیست و یکم با هم دیگر مقایسه شده است (شکل ۲).

نتایج جدول‌های ۲ و ۳ نشان می‌دهد که همانند نتایج قبلی ۵ ایزوله اول که دارای بیشترین درصد ماندگاری در طول دوره نگهداری می‌باشند عبارتند از: F۰۳۱۳، M۰۳۲۱، F۰۵۱۱، M۱۵۱۲ و M۲۰۱۱. ضمناً ایزوله‌های F۱۰۱۱ و F۰۶۳۱ به دلیل اینکه تعداد آنها پس از طی دو یا سه هفته از نگهداری به صفر یا خیلی نزدیک به آن

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های درصد ماندگاری سویه‌های مورد آزمایش در ماست پس از ۱۴ روز در یخچال.

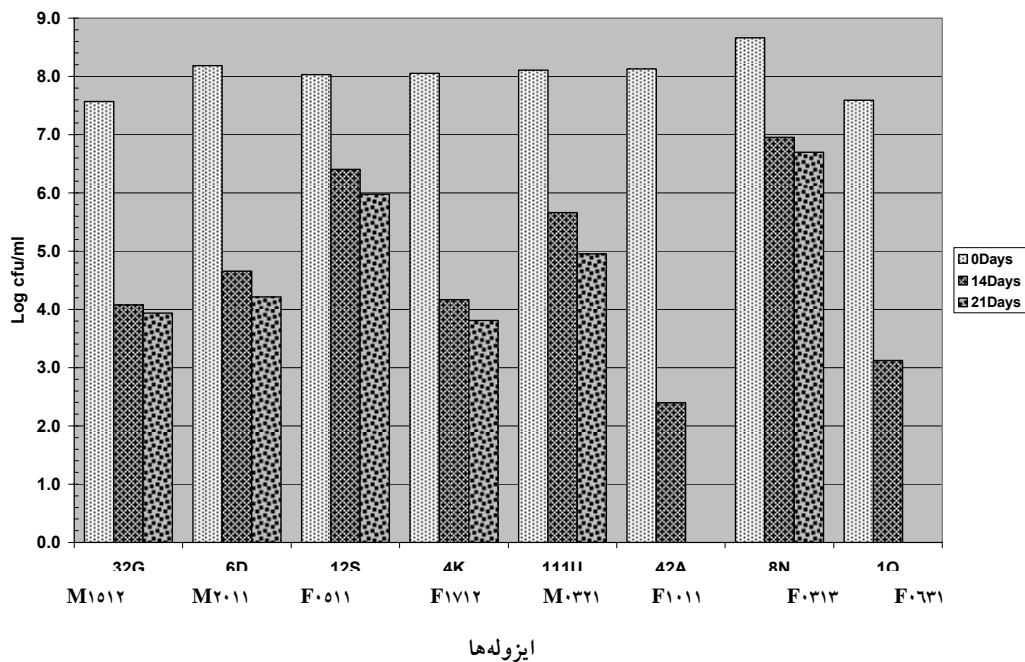
درصد ماندگاری پس از ۱۴ روز	سویه
۲/۲۳۹۰ a *	F۰۵۱۱
۲/۰۱۹۷a	F۰۳۱۳
۰/۳۶۲۷b	M۰۳۲۱
۰/۰۴۴۰c	M۱۵۱۲
۰/۰۳۱۳c	M۲۰۱۱
۰/۰۱۳۱c	F۱۷۱۲
۰/۰۰۳۴c	F۰۶۳۱
۰/۰۰۰۲c	F۱۰۱۱

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های درصد ماندگاری ایزوله‌های مورد آزمایش در ماست پس از ۲۱ روز در یخچال.

درصد ماندگاری	ایزوله
۱/۱۱۷۷a*	F۰۳۱۳
۱/۰۵۰۰a	F۰۵۱۱
۰/۰۷۰۷b	M۰۳۲۱
۰/۰۲۹۷b	M۱۵۱۲
۰/۰۱۰۵b	M۲۰۱۱
۰/۰۰۵۷b	F۱۷۱۲
۰/۰۰۰۱b	F۱۰۱۱
۰/۰۰۰۱b	F۰۶۳۱

\*حروف مشابه نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.



شکل ۲- مقایسه تعداد باکتری‌های زنده ایزوله‌های مورد آزمایش پس از ۱۴ و ۲۱ روز نگهداری ماست در یخچال.

تولید ماست با حضور بیفیدوباکتریوم‌ها و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آن: pH و اسیدیته نهایی ماست می‌تواند بر رشد و توانایی ماندگاری گونه‌های مختلف بیفیدوباکتریوم به‌طور قابل توجهی اثر گذاشته و آن را کاهش دهد (شاه و جیلن، ۱۹۹۰؛ شاه و همکاران، ۱۹۹۵). بررسی خواص فیزیکوشیمیایی ماست تولید شده با استفاده از استارترهای معمول به‌علاوه ایزوله‌های مورد آزمایش، نشان داد که براساس جداول ANOVA تغییرات pH و اسیدیته در طول دوره نگهداری ماست، اختلاف بین ایزوله‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است. در خصوص تغییرات مربوط به سینرسیس در طول زمان نگهداری نیز اختلاف معنی‌داری بین ایزوله‌ها مشاهده نشد. در بررسی مقایسه میانگین‌های pH، اسیدیته و سینرسیس نیز اختلاف معنی‌داری بین نمونه شاهد با دیگر نمونه‌های تولید شده مشاهده نشد. بنابراین نتیجه گرفته می‌شود که افزودن ایزوله‌های حاصل از این تحقیق همراه با استارترهای معمول ماست موجب ایجاد تغییر چندانی در pH و اسیدیته آن نمی‌شود و لذا می‌توان از آنها بدون بروز هیچ اثر نامطلوبی بر روی طعم ماست و احیاناً شمارش بیفیدوباکتریوم‌ها استفاده نمود (جدول ۴).

ارزیابی خواص حسی ماست‌های حاوی بیفیدوباکتریوم: نتایج مربوط به آنالیز واریانس ارزیابی بافت ماست‌های حاوی ۱۰ درصد از کشت تازه از ایزوله‌های بیفیدوباکتریوم‌های شناسایی شده در این تحقیق نشان داده است که اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های ماست تهیه شده وجود دارد. اما نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد، بین نمونه شاهد که تنها به‌وسیله استارترهای معمول ماست تهیه شده و ۵ نمونه از ماست حاوی ایزوله‌های F۰۳۱۳، F۰۳۲۱، M۰۳۲۱، F۰۵۱۱، M۱۵۱۲ و F۱۷۱۲ اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۵) و بدین صورت است که همه این نمونه‌های ماست دارای مقبولیت مشابه‌ای با نمونه شاهد می‌باشند. مقایسه میانگین‌ها نیز تأیید کرد بین اکثریت نمونه‌های ماست با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری وجود ندارد به‌جز در یک مورد که دارای بالاترین میانگین عطر است و از این جهت با نمونه شاهد دارای اختلاف معنی‌داری است. این نمونه نیز به نوع خود جالب توجه است و استفاده از ایزوله‌های بیفیدوباکتریوم ایرانی تأثیر نامطلوبی بر خصوصیات ارگانولپتیک آن به جا نخواهد گذاشت.

جدول ۴- مقایسه میانگین‌های خصوصیات فیزیکوشیمیایی ماست‌های بیفیدوس تولید شده در حضور ایزوله‌های ایرانی.

ایزوله	pH	اسیدیته	سینرسیس
F۱۷۱۲	۴/۳۹۷۵۰a	۹۰/۱۶۷ab	۳/۰۵۰a
F۰۶۳۱	۴/۲۶۴۱۷b	۹۷/۳۳۳ab	۳/۲۴۰a
M۲۰۱۱	۴/۲۵۱۶۷b	۱۰۲/۰۰۰ab	۳/۸۳۰a
F۰۵۱۱	۴/۲۳۴۱۷b	۱۰۱/۰۸۳ab	۴/۵۳۰a*
F۱۰۱۱	۴/۲۳۰۰۰b	۱۰۱/۲۵۰ab	۲/۵۹۰a
M۰۳۲۱	۴/۲۰۴۱۷b	۱۰۵/۹۱۷a	۲/۷۳۰a
F۰۳۱۳	۴/۱۹۶۶۷b	۱۰۶/۱۶۷a	۳/۴۳۵a
M۱۵۱۲	۴/۱۸۴۱۷b	۱۰۴/۸۳۳a	۲/۸۴۳a
کنترل	۴/۲۱۰۰۰b	۱۰۱/۰۸۵ab	۳/۴۴۰a

\*حروف مشابه در هر ستون نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

جدول ۵- مقایسه میانگین مربوط به ارزیابی بافت و عطر در ماست‌های تهیه شده در حضور ایزوله‌های ایرانی.

ایزوله	نمره بافت	نمره عطر
F۰۳۱۳	۴/۲۰a	۳/۷۵۰۰ab
M۰۳۲۱	۴/۰۰a	۴/۲۰۰۰a
F۰۵۱۱	۳/۸۰ab	۳/۹۰۰۰ab
M۱۵۱۲	۳/۷۵ab	۳/۶۰۰۰b
F۱۷۱۲	۳/۷۰ab	۳/۶۵۰۰b
F۱۰۱۱	۳/۳۵bc	۳/۶۵۰۰b
F۰۶۳۱	۳/۰۵c	۳/۷۰۰۰b
M۲۰۱۱	۲/۸۰c	۳/۵۵۰۰b
کنترل	۳/۷۹ab	۳/۷۰۰۰b

\*حروف مشابه در هر ستون نشان می‌دهد بین میانگین آن نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد وجود ندارد.

است (موتای و همکاران، ۱۹۸۰؛ شاه، ۲۰۰۰) پژوهش حاضر یکی از این نوع پژوهش‌ها می‌باشد. نتایج حاصل نشان داد با در نظر گرفتن همه این شرایط اگر چه ۶ ایزوله انتخاب شده F۰۳۱۳، M۰۳۲۱، F۰۵۱۱، M۱۵۱۲، M۱۷۱۲ و M۲۰۱۱ دارای ویژگی‌ها و توانایی‌های مطلوبی برای استفاده در صنعت می‌باشند. اما از آنجایی که سه ایزوله از این ۶ ایزوله در اکثر موارد از آزمون‌های مربوط به مطالعه خواص تکنولوژیک (جدول‌های ۲ تا ۴ و شکل‌های ۱ و ۲) دارای برتری‌هایی نسبت به سایر ایزوله‌ها بوده‌اند، می‌توان به نتیجه قابل توجه زیر اشاره نمود:

”ایزوله‌های F۰۳۱۳، F۰۵۱۱ و M۰۳۲۱ از جمله ایزوله‌هایی هستند که دارای خواص تکنولوژیک منحصر بفردی بوده و می‌توان به‌عنوان ایزوله‌هایی امیدبخش با پتانسیل فوق‌العاده در خصوص استفاده در صنایع لبنی و همچنین به‌عنوان استارتر از آنها نام برد و برای کارهای بعدی تا مرحله ثبت آنها در دنیا سرمایه‌گذاری کرد“.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از همه کسانی که در اجرای این پژوهش ما را یاری کردند بخصوص اساتید ارجمند آقای دکتر سلطانی، خانم دکتر شهیدی تشکر و قدردانی می‌شود.

شرایط محیطی را که در فرآورده‌های لبنی مانند ماست حاکم است از جمله pH پائین و شرایط هوازای تولید و بسته‌بندی می‌تواند موجب کاهش تعداد بیفیدوباکتریوم‌ها تا زیر مقدار مورد نیاز جهت بروز اثرات درمانی آنها در بدن شوند (شاه، ۲۰۰۰؛ ویندرولا و همکاران، ۲۰۰۰). یکی از نگرانی‌های اصلی در خصوص توانایی بیفیدوباکتریوم‌ها، ماندگاری شان در حامل‌های غذایی تا زمان مصرف است (بویل استون و همکاران، ۲۰۰۳) یکی دیگر از محدودیت‌های اصلی تکنولوژیک مصرف بیفیدوباکتریوم‌ها در ماست pH فرآورده است. زیرا اکثر نژادهای بیفیدوباکتریوم به pH زیر ۴/۶ حساس می‌باشند. برای مثال کار آزمایشگاهی انجام شده توسط مادلر (۱۹۹۴) نشان داد که جمعیت بیفیدوباکتریوم در ماستی با pH ۳/۹ تا ۴ در عرض یک هفته از ۱۰۹ CFU به صفر می‌رسد. از آنجایی که گونه‌های مختلف بیفیدوباکتریوم از نظر نیازهای غذایی، خصوصیات رشد و فعالیت متابولیکی از همدیگر متفاوت می‌باشند بنابراین نه همه گونه‌های بیفیدوباکتریوم دارای ماندگاری یکسان هستند و نه همه آنها از نظر شرکت در بروز خصوصیات حسی فرآورده‌های لبنی مشابه هم عمل می‌کنند (گومز و مالاکات، ۱۹۹۹؛ کاربو و همکاران، ۲۰۰۱). بنابراین برای انتخاب سویه‌های برتر بیفیدوباکتریوم با منشأ انسانی برای رسیدن به نتایج قابل قبول از نظر ماندگاری، تحقیقات مختلفی انجام شده

## منابع

1. Alm, L. 1994. Lactic acid bacteria as probiotic for Prevention and cure of gastrointestinal diseases in man and animals. *Ecotech* 94, Paper 49.
2. Anon. 1992. Yoghurt and probiotics. *Choice*, 11, 32-5.
3. AOAC. 2000. Official methods of Analysis, Association of official analytical Chemists, Washington DC, USA10.
4. Arunachalam, K.D. 1999. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. *Nutrition Research*; 19: 1559-97.
5. Ausubel, F.M. et al., eds. 1991. Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & sons, Inc, New York, USA19.
6. Boylston, T.D., Vinderolab, C.G., Ghoddusi, H.B., and Reinheimer, G.A. 2003, Incorporation of bifidobacteria into cheeses: challenges and rewards, *International Dairy Journal*
7. Catanzaro, J.A., and Green, L. 1996. Microbial Ecology and probiotics in human Medicine (part II), *Alternative medicine Review*. 2: 8-22.
8. Conway, P. 1996. Selection criteria for Probiotic Microorganisms. *Asia pacific Journal of clinical Nutrition*. 5: 10-15.
9. Corbo, M.R., Albenzio, M., De Angelis, M., Sevi, A., and Gobbetti, M. 2001. Microbiological and biochemical properties of Canestrato Pugliese hard cheese supplemented with bifidobacteria. *Journal of Dairy Science*, 84, 551–561.
10. Fligner, K., Lindamiid, J.B., and Hansen, PMT. 1988. Fortification of low- fat plain yogurt with calcium gluconate. *Cultured Dairy Products Journal*. Feb. 88: 5-9.
11. Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological, and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 10, 139–157.
12. Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10:139-157.
13. Hull, R.R., Roberts, A.V., and Mayes, J.J. 1984. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt. *Aust. J. Dairy Technol.*, 39, 164-6.
14. Kalantzopoulos, G. 1997. Fermented Products with Probiotic Qualities. *Anaerobe*, 3:185-190.
15. Khomeiri, M., Ghoddusi, H.B., Mortazavi, S.A., Khamessan, A., Ahmad, D., and Shahidi, F. 2005. Isolation, identification and distribution of Bifidobacterium spp. in some Iranian subjects, *J. of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 12(3): 33-44.
16. Khomeiri, M., Mortazavi, S.A., Ghoddusi, HB., Khamessan, A., Ahmad, D., and Shahidi, F. 2005. Identification of Bifidobacterium strains isolated from fecal samples of some Iranian subjects using 16S rRNA gene sequence analysis and gene specific primers, *J. of Kermann University of Medical Sciences*, 12(1): 21-31
17. Khomeiri, M., Mortazavi, S.A., Ghoddusi, H.B., Maghsoodlo, Y., and Soltani, A. 2007. Resistance of Bifidobacterium sp. Isolated from Iranian Subjects to Simulated Gastric Juice and Bile Salt, *J. of Kermann University of Medical Sciences*, 13(3): 184-191.
18. Kok, R.G., De Waal, A., Schut, F., Welling, G.W., Weenk, G., and Hellingwerf, K.J. 1996. Specific detection and analysis of a probiotic Bifidobacterium strain in infant feces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62: 3668-3672.
19. Lawless, H.T., and Hymann, H. 1998. Sensory evaluation of Food: principles and practices, 1<sup>st</sup> ed., Chapman and Hall, New york, NY.
20. Modler, H.W. 1994. Bifidogenic factors, sources, metabolism and application. *International Dairy Journal*, 4, 383–407.
21. Mutai, M., Mada, H., and Shimada, K. 1980. Method for producing food and drinks containing bifidobacteria. US patent #4187321.
22. O'Sullivan, D.J., and Kullen, M.J. 1998. Tracking of probiotic bifidobacteria in the intestine. *Int. Dairy Journal*, 8: 513-525.
23. Pereira D.I., Gibson, G.R. 2002. Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Appl Environ Microbiol.*; 68(9): 4689-93.



24. Prasad, J., Gill, H., Smart, J., and Gopal, P.K. 1998. Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int Dairy Journal*; 8(12): 993-1002.
25. Rasic, J.L., Vujcic, I.F., Skrinjar, M., and Vulic, M. 1992. Assimilation of cholesterol by some cultures of lactic acid bacteria and bifidobacteria. *J Biotechnology Letters*; 14: 39-44.
26. Robinson, R.K. 1987. Survival of *Lactobucillus acidophilus* in fermented products. *Suid Afrikaanse Tydskrif Vir Suiwelkunde*, 19: 25-7.
27. Roy, D., and Ward, P. 1990. Evaluation of rapid methods for differentiation of *Bifidobacterium* species. *Journal of Applied Bacteriology*, 69:739-749.
28. SAS. 2001. SAS user's guide: Statistics. Statistical Analysis System Institute Inc., Cary, NC.
29. Scheinbach, S. 1998. Probiotics: functionality and commercial status, *Biotechnology Advances*, 16: 581-608.
30. Shah, N.P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
31. Shah, N.P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
32. Shah, N.P., and Jelen, P. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. *J. Food Sci.*, 55, 506-9.
33. Shah, N.P., Lankaputhra, W.E.V., Britzb, M.L., and Kyle, W.S.A. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bfidum* in Commercial Yoghurt During Refrigerated Storage, *Int. Dairy Journal*, 5: 515-521
34. Sun, W., and Giffiths, MW. 2000. Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated juice following immobilization in gellan – xanthan beads. *International Journal of Food Microbiology*, 61: 17-25.
35. Tamime, A.Y., and Robinson, R.K. 1999. *Yogurt science and technology*, Chapman Hall, London, UK.
36. Tamime, A.Y., Marshall, V.M.E., and Robinson, R.K. 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Rev. Journal of Dairy Research*, 62:151-187.
37. Vinderola, C.G., Bailo, N., and Reinheimer, J.A. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33, 97-102.

## **Production of bifidus yoghurt with using Iranian isolates and study of its physicochemical and sensory characteristics**

**\*M. Khomeiri<sup>1</sup>, H. Bahador Ghodduzi<sup>2</sup>, S.A. Mortazavi<sup>2</sup>, A. Khamessan<sup>3</sup>  
and A. Darakhshan<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Assistant Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran, <sup>2</sup>Prof. Dept. of Food Sciences and Technology, Ferdowsi University, Mashhad, Iran, <sup>3</sup>Assistant Prof. Animal Sciences Research Institute, Iran, <sup>4</sup>Prof. Institute National Research Scientific, Canada

---

---

### **Abstract**

Due to probiotic properties of Bifidobacteria, they have been considered in dairy industry. Probiotic dairy products are produced and used in some countries, but their production has not been started in Iran yet. In this research 8 Iranian isolates of *Bifidobacterium* were studied for their ability to survive in yoghurt after 1, 2, 7, 14 and 21 days storage at 4°C. Five isolates demonstrated good survival and were used for further studies in bifidus yoghurt. The selected strains from the previous stage, along with a standard yoghurt starter culture, were used to produce plain yoghurt. Physicochemical (*i.e.* pH, acidity and syneresis) and sensory properties of the products were examined. No significant differences ( $P>0.05$ ) were noticed for physicochemical and sensory characteristics of the samples produced with standard yoghurt culture and standard yoghurt culture plus *bifidobacterium* isolates. However, using of the five Iranian bifidobacteria isolates could be used in dairy products without any considerable changes in physicochemical and sensory characteristics of yoghurts.

**Keywords:** Bifidobacteria; Iranian isolates; Dairy products; Bifidus yoghurt