فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۴، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۳۷- ۴۸
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۰۳ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۳/۳۱

ثبات اکسایشی چربی در شیر گاو و شیر سویا به‌واسطه تخمیر با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در طی دوره نگهداری در یخچال

سحر ترکی باغبادرانی: کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، torki_Sahar@yahoo.com
محمدرضا احسانی: استاد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، mehsani@ut.ac.ir
مریم میرلوحی *: استادیار علوم و صنایع غذایی، مرکز تحقیقات امنیت غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ایران، m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir
حمید عزت پناه: دانشیار علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir

چکیده

مقدمه: در سال‌های اخیر جایگزینی شیر سویا با شیر گاو به علت ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی در افراد مبتلا به بیماری‌های التهابی در مطالعات کلینیکی مورد توجه خاصی قرار گرفته است. این در حالی است که غیر اشباع بودن چربی شیر سویا در مقایسه با شیر گاو، آن را در برابر اکسیداسیون مستعدتر می‌سازد. از طرفی، اثر مثبت تخمیر در افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی هم در مورد شیر گاو و هم درمورد شیر سویا گزارش شده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی ثبات اکسایشی نمونه‌های شیر و شیر سویای پاستوریزه غیر تخمیری و تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* است.

مواد و روش‌ها: شیر و شیر سویای تجارتی با درصد یکسانی چربی با سویه *لاکتو باسیلوس پلانتاروم* A7 تخمیر شدند. شاخص‌های اکسایش چربی شامل میزان مواد واکنش‌پذیر با تیوباربیتوریک اسید و عدد پراکسید طی ۱۴ روز دوره نگهداری در نمونه‌های تخمیری و غیر تخمیری بررسی شدند.

نتایج: تخمیر نمونه‌های شیر و شیر سویا به شکل قابل توجهی در کاهش شاخص‌های اکسیداسیون چربی مؤثر بود. حداکثر میزان عدد پر اکسید در روز پنجم مطالعه در نمونه‌های غیر تخمیری شیر و شیر سویا مشاهده شد. در این شرایط، عدد پر اکسید در هر دو نمونه به اندازه افزایش پیدا نمود. در مقابل، شاخص ترکیبات حساس به تیوباربیتوریک اسید در تمام دوران نگهداری در شیر سویا بیشتر از شیر اندازه‌گیری شد. احتمالا اکسایش چربی شیر سویا در طی مراحل تهیه آن وحتی پیش از رسیدن به دست مصرف کننده علت این تفاوت است.

بحث و نتیجه‌گیری: اگرچه شواهدی از اثر آنتی‌اکسیدانی شیر سویا در ثبات اکسایشی چربی در این مطالعه مشاهده شد ولی به طور یقین می‌توان گفت که این اثر در برابر اثر تخمیر ناچیر است.

واژه‌های کلیدی: شیر، شیرسویا، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A7، قابلیت آنتی‌اکسیدانی، ثبات اکسایشی

* نویسنده مسؤول مکاتبات

مقدمه

مقایسه ترکیب شیمیایی شیر و شیر سویا نشان می‌دهد که وجود ترکیبات ایزوفلاونوئیدی، چربی‌های غیر اشباع همچنین میزان فسفر پایین و عدم حضور لاکتوز در شیر سویا ممکن است جایگزینی آن به جای شیر در رژیم غذایی روزانه برای برخی از افراد خواص سودمندی را در پی داشته باشد. در بسیاری از مطالعات کلینیکی ترکیبات ایزوفلاونوئیدی به علت اعمال قابلیت آنتی‌اکسیدانی به عنوان عوامل کاهنده التهاب در بیماران فوق مورد توجه قرار گرفته اند (۱- ۳). در یکی از مطالعات اخیر، مصرف شیر سویای فرادما به جای شیر گاو فرادما در بیماران دیابتی به ویژه افراد مبتلا به نفروپاتی نوع دو به کاهش نسبی فرآیندهای التهابی در بیماران منجر شد (۱ و ۲). همچنین، بالاتر بودن قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویا در مقایسه با شیر گاو مورد مطالعه قرار گرفته است (۴). استفاده از خواص آنتی‌اکسیدانی سویا برای پیشگیری از اکسایش چربی مواد غذایی در برخی مطالعات نشان داده که ترکیبات آنتی‌اکسیدان در سویا در محیط خارج سلول و در غذا نیز می‌توانند مؤثر باشند (۵). اما از اثر وجود این ترکیبات یا به طور کلی اثر خواص آنتی‌اکسیدانی سویا در حفظ ثبات چربی آن اطلاعات زیادی موجود نیست.

این موضوع به خصوص از آنجایی اهمیت دارد که چربی شیر سویا در مقایسه با شیر دارای اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتری می‌باشد. به طوری که چربی شیر سویا شامل حدود ۶۰ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع و حدود ۴۰ درصد اسیدهای چرب اشباع است. این در حالی است که چربی شیر شامل حدود ۷۰ درصد اسیدهای چرب اشباع و حدود ۳۰ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع است. فسفولیپیدها نیز به عنوان ترکیبات غشا گلبول چربی شیر، گلبول‌های چربی شیر را احاطه کرده و شامل حدود ۴۰ تا ۶۰ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع هستند که حدود یک سوم آن‌ها چند غیر اشباعی هستند (۶). مطالعات نشان داده‌اند که چربی شیر گاو پاستوریزه شده طی مدت نگهداری در یخچال می‌تواند دچار فساد اکسایش شود (۷). همچنین، در مطالعات دیگری پایداری اکسیداتیو شیر و محصولات لبنی تخمیری تحت تأثیر مقادیر مختلف اسیدهای چرب غیر اشباع، نور مرئی برای تهییج اکسیداسیون، فلزات و مواد بسته‌بندی مختلف در طول دوره نگهداری در یخچال یا در شرایط محیط ارزیابی شده است (۷- ۱۴). در مطالعه دیگری تغییر در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی برای تشخیص شروع اکسیداسیون در شیر پاستوریزه استفاده شده است (۱۱).

مقایسه دو فرآورده مورد بررسی در این پژوهش مشخص خواهد کرد که با وجود قابلیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر شیر سویا در مقایسه با شیر گاو (۴)، خاصیت آنتی‌اکسیدانی فوق چگونه بر اکسایش چربی آن‌ها در یخچال تأثیر گذار خواهد بود. در واقع با توجه به اثر مثبت شیر سویا در کاهش استرس اکسیداتیو در افراد مصرف کننده آن نسبت به شیر گاو (۱۵)، مشخص نیست که آیا این اثر در شرایط برون سلولی ودر افزایش عمر نگهداری ماده غذایی از نظر اکسایش چربی تا چه اندازه مؤثر است. بنابراین هدف از انجام این پژوهش مقایسه ثبات اکسایشی نمونه‌های شیر و شیر سویا تحت شرایط نگهداری سرد در یخچال در حضور نور ماوراءبنفش برای تحریک اکسیداسیون است. علاوه بر این دومین مسأله مورد پرسش تفاوت اثر تخمیر یک سویه باکتری لاکتیک بومی بر تغییرات پایداری اکسایشی در شیر و شیر سویای تخمیر شده با باکتری یاد شده است.

مواد و روش‌ها

آماده سازی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*: باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A7 از کلکسیون میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان تهیه شد. این سویه قبلا از فلور روده‌ای یک کودک ۱۹ ماهه ایزوله شده است و شناسایی آن با روش‌های بیوشیمیایی و مولکولار انجام شده است (۱۶ و ۱۷). باکتری مورد پژوهش برای فعال شدن۲ درصد (حجمی/ حجمی) ، دو مرتبه در ۱۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مایع ام ار اس [1] رشد داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. از کشت مایع تازه باکتری برای کشت در محیط شیر و شیر سویا استفاده شد.

تخمیر شیر و شیر سویای پاستوریزه: نمونه‌های شیر و شیر سویای پاستوریزه به میزان ۴۰۰ میلی‌لیتر تحت شرایط استریل در دو تکرار داخل بطری‌های شیشه‌ای ریخته شد. سپس، از کشت مایع تازه دو بار فعال شده باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* A7 با دانسیته نوری ۶/۶ در طول موج ۶۲۰ نانومتر به محیط‌های تخمیر بر پایه شیر گاو و شیر سویای پاستوریزه به میزان ۵ درصد تلقیح شد. ظروف تخمیر در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا تشکیل لخته و رسیدن به اسیدیته ۴/۸ تا ۵/۱ گرمخانه‌گذاری شد.

شرایط یخچال‌گذاری: پس از رسیدن به اسیدیته مورد نظر، هرکدام از نمونه‌های تخمیری و غیر تخمیری شیر و شیر سویا به میزان ۵۰ میلی‌لیتر به لیوان‌های یک‌بار مصرف منتقل شد. به طوری که با احتساب ۲ تکرار از هر کدام از نمونه‌ها، ۸ نمونه برای هر نوبت آزمایش درنظر گرفته شد. به این ترتیب، ۳۲ ظرف حاوی نمونه برای گذراندن دوره نگهداری به انکوباتور یخچال‌دار منتقل شد. برای تامین شرایط انبارداری نمونه‌ها از انکوباتور یخچال‌دار استفاده شد. دو عدد لامپ ماوراء بنفش [2] (فیلیپس [3] آلمان) با طول موج ۲۵۷/۳ نانومتر در سقف انکوباتور یخچال دار تعبیه شد. دمای یخچال در۷ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. نحوه قرار دادن نمونه‌ها در یخچال به گونه‌ای بودکه همه نمونه‌ها تحت شدت یکسانی از نور ماوراء بنفش برخوردار بودند. نمونه‌برداری در روزهای صفر، ۵، ۸، ۱۱ و ۱۴برای انجام آزمایش بررسی اکسایش چربی، در طی دوره ۱۴ روزه نگهداری، انجام شد.

آزمایش بررسی اکسایش چربی طی دوره انبارداری

تعیین هیدروپراکسیدهای چربی: محصولات اولیه اکسیداسیون روش اسپکتروفتومتری مبتنی بر روش استدال [4] و همکاران تعیین شدند (۱۸). به طور مختصر، ۲ میلی لیتر از نمونه به ۲ میلی‌لیتر متانول و ۴ میلی‌لیتر کلروفرم افزوده و به مدت ۳۰ ثانیه مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۵۰۰ جی [5]) شدند. سپس، ۱ میلی‌لیتر از فاز کلروفرم (فاز پائینی) به لوله آزمایش منتقل و با ۱ میلی‌لیتر از محلول آهن $^{2+}$/ تیوسیانات [6] مخلوط شد. تهیه محلول تیوسیانات/ آهن $^{2+}$ شامل چندین مرحله بود. در تهیه محلول شماره ۱، ۵۰ میلی‌لیتر محلول آبی کلرید باریم حاوی ۰/۴ گرم از کلرید باریم. ۲ آبه [7] به ۵۰ میلی‌لیتر محلول آبی سولفات آهن حاوی ۰/۵ گرم سولفات آهن ۷ آبه [8] اضافه و مخلوط شد. محلول به دست آمده ۲ بار صاف شد و محلول کلرید آهن [9] زلال به دست آمد. این مخلوط را می‌توان تا زمان مشاهده رسوب در یخچال نگهداری و استفاده کرد. محلول ۲، با

حل کردن ۳ گرم تیوسیونات آمونیم[۱۰] در ۱۰ میلی‌لیترآب مقطر تهیه شد. برای تهیه محلول شماره ۳، ۵۰ میلی‌لیتر کلروفرم با ۵۰ میلی‌لیتر متانول مخلوط شد. سپس، نمونه آزمایشی حاوی تیوسیانات/ آهن[+۲] با مخلوط کردن ۲۵۰ میکرولیتر از محلول ۱ و ۲۵۰ میکرولیتراز محلول ۲ و رسانیدن به حجم ۲۵ میلی‌لیتر از محلول ۳ به دست آمد. نمونه‌ها برای مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شدند. میزان هیدروپراکسید چربی هر یک از تیمارها بر اساس مقدار جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر به دست آمد و با یکدیگر مقایسه شد. آزمایش تعیین هیدروپراکسیدهای چربی برای هر کدام از نمونه‌های تخمیر شده و غیر تخمیری در روزهای نمونه‌برداری دوره نگهداری ۱۴ روزه در ۳ تکرار انجام شد.

تعیین میزان مواد حساس به تیوباربیتوریک اسید[۱۱]:

تعیین میزان مواد حساس به تیوباربیتوریک اسید بر طبق روش استخراج مطابق با استاندارد AOAC انجام گرفت (۱۹). به این ترتیب که ۵ میلی‌لیتر از عصاره تری‌کلرواستیک اسید[۱۲] نمونه با ۵ میلی‌لیتر از محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۰۱ مولار مخلوط شد. تهیه محلول‌های عصاره تری‌کلرواستیک اسید از نمونه (محلول ۱) و محلول تیوباربیتوریک اسید (محلول ۲) شامل چندین مرحله بود. برای تهیه محلول ۱، ابتدا محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید تهیه شد. به این ترتیب که مقدار ۲۰ گرم از تری کلرواستیک اسید در مقدارکمی اسید فسفریک ۲ مولار به حجم رسانیده شد. سپس، به مقدار ۲۰ گرم از نمونه آزمایشی با ۵۰ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد. سپسش، پس از افزودن ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مخلوط قبلی، کل مخلوط با فیلتر کاغذی (واتمن شماره ۴۱ با قطر ۹ سانتی‌متر) صاف شد. برای تهیه محلول ۲ مقدار ۰/۲۸۸۳ گرم از تیوباربیتوریک اسید در محلول استیک اسید ۹۰ درصد با کمی گرم کردن حل و به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس، مخلوط حاصل از ۵ میلی‌لیتر محلول ۱ و ۵ میلی‌لیتر محلول ۲ به مدت ۱ ساعت در حمام ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد تا ظهور رنگ نگهداری شد. جذب رنگ حاصل با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد.

با توجه به مقدار ثابت[۱۳] K ۵/۴ به روش استخراج برای مالونالدئید، مقدار غلظت ترکیبات واکنش‌پذیر با تیوباربیتوریک اسید برحسب میلی‌گرم در ۱۰۰۰ گرم نمونه بدست آمد.

K=A .L C .A/5 C=A ,. 4

L= طول Cell (cm۱)

K= ۵/۴

A= جذب در ۵۳۲ نانومتر

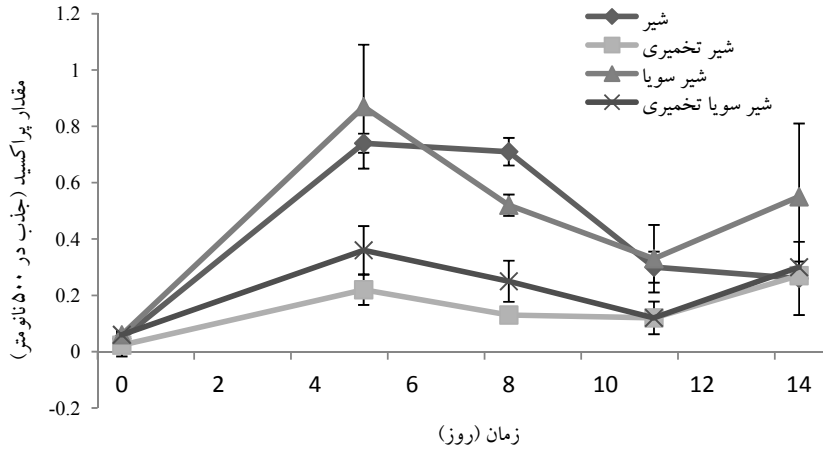
C= غلظت مالون دی الدئید[۱۴] (بر حسب میلی‌گرم در هر ۱۰۰۰ گرم از نمونه)

آزمایش تعین میزان مواد حساس به تیوباربیتوریک اسید برای هر کدام از نمونه‌های تخمیر شده و غیر تخمیری در روزهای نمونه برداری دوره نگهداری ۱۴ روزه در ۳ تکرار انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج به دست آمده تحت آزمون تجزیه واریانس[۱۵] با سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین نتایج با استفاده از آزمون توکی در نرم‌افزار آماری اس پی اس اس[۱۶] (نسخه ۱۶) انجام شد.

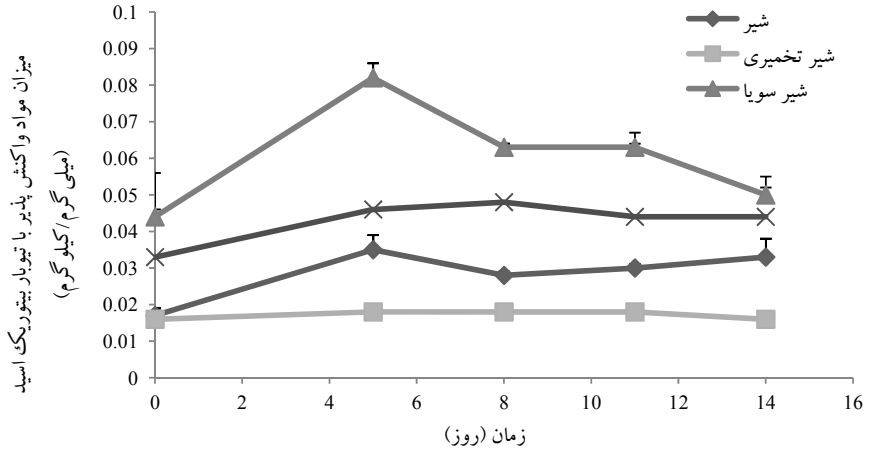
نتایج

شکل ۱ روند تغییرات پراکسید را در نمونه‌های تخمیری و غیر تخمیری شیر و شیر سویا نشان می‌دهد. در روز پنجم نگهداری، با وجود افزایش ارزش پراکسید در همه نمونه‌ها، تفاوت در خور توجهی بین نمونه‌های تخمیر شده و غیر تخمیری از هر دو محصول مشاهد شد. این اختلاف همچنان تا روز ۱۱ از دوره نگهداری در مورد نمونه شیر و تا روز۱۴ در مورد نمونه سویا پایدار ماند. مقایسه بین شیر و شیر سویای غیر تخمیری نشان داد که شدت گسترش اکسایش در هر دو ماده شبیه بوده و هر دو با روند نزدیک به هم تحت تاثیر شرایط اکساینده محیط قرار گرفتند. با این حال در روز ۸ دوره نگهداری ارزش پر اکسید در نمونه شیر سویا با شدت بیشتری نسبت به شیر کاهش یافت. این شرایط در مورد فرآورده‌های تخمیر شده شیر و شیر سویا نیز تا حدود زیادی صادق بود. به نظر می‌رسد که در این مطالعه تخمیر نقش مهمتری در حفاظت از چربی‌ها از شرایط اکساینده نسبت به ترکیبات آنتی‌اکسیدان طبیعی در موجود در شیر سویا درحفظ چربی آن ایفاکرده است.



شکل ۱- نمودار میزان هیدروپراکسید چربی براساس مقدار جذب در ۵۰۰ نانومتر در نمونه شیر و شیر سویای تخمیر شده و غیر تخمیری

شکل ۲ روند تغییرات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید را در نمونه‌های مختلف شیر،شیر سویای تخمیری و غیر تخمیری در طی ۱۴ روز دوره نگهداری نشان می‌دهد. مقایسه چهار نمونه مورد بررسی نشان می‌دهد که در طول دوره نگهداری این شاخص کاملا متفاوت است. شیر سویای غیر تخمیری و شیر تخمیر شده به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار از شاخص میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید را در کل دوره نگهداری نشان دادند. اما اثر تخمیر در حفظ ثبات اکسایشی در این نمودار نیز به خوبی مشخص است، بطوری‌که تغییرات میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در نمونه تخمیری شیر سویا و شیر در طی دوره انبارداری بسیار محدود بوده ولی در انواع غیر تخمیری در روز ۵ نگهداری با افزایش و پس از آن با کاهش همراه بوده است. پس از ۸ روز نگهداری مقدار مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در نمونه غیر تخمیری شیر افزایش یافت. افزایش شاخص پر اکسید نیز در هر سه نمونه شیرسویا، شیر سویای تخمیری و شیر تخمر شده در انتهای دوره نگهداری در شکل قابل توجه بود.



شکل ۲- نمودار میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید (TBARS) بر حسب میلی‌گرم در کیلوگرم نمونه‌های شیر و شیر سویای تخمیرشده و غیر تخمیری

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه روند اکسایش چربی با اندازه گیری دو شاخص پر اکسید و مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید بر نمونه‌های شیر و شیر سویای پاستوریزه و فرآورده تخمیر شده آن‌ها توسط سویه *لاکتوباسیلوس* مطالعه شد. تخمیر به طور قابل توجهی سبب کاهش عدد پراکسید و شاخص مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در نمونه‌های شیر و شیر سویای تخمیر شده در مقایسه با نمونه‌های غیر تخمیری آن‌ها شد. بطوری‌که در روز ۵ نگهداری، بیشینه مقدار پراکسید، ارزش پر اکسید اندازه‌گیری شده در نمونه‌های شیر وشیر سویای تخمیر شده ۷۰ و ۵۸ درصد از انواع غیر تخمیری آن‌ها کمتر بود. همین روند در بررسی دیگر شاخص اکسایشی میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید به شکل واضح تری مشاهده شد. تخمیر در شیر سویای تخمیری به میزان ۵۰ درصد و در شیر تخمیر شده به مقدار ۴۰ درصد سبب کاهش شاخص مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید شد. نتیجه فوق در توافق با نتایج ون اردت[۱۷] و همکاران بود. در مطالعه فوق غنی کردن شیر از آنتی‌اکسیدانها به کاهش ۶۰ درصدی در مقدار مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید منجرشد (۶). این اثر با نتیجه پیشین ما در مورد افزایش قابل توجه قابلیت آنتی‌اکسیدانی در هر دو نمونه تخمیر شده مطابقت کامل داشت (۴). به اثر تخمیر در افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی درمطالعات زیادی اشاره شده است (۲۰ و ۲۱). اما اثر این فرآیند درحفظ ثبات اکسایشی ماده چرب در طی دوره نگهداری کمتر مورد توجه قرار گرفته است. در این مورد بیان شده است تجزیه سلولی باکتری‌های آغازگر و آزادسازی متابولیت‌های داخل سلولی آن‌ها می‌تواند در افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی مؤثر باشد (۲۲).

نکته شایان توجه در این مطالعه عدم تفاوت معنادار در گسترش شاخص پر اکسید در شیر و شیر سویا بود؛ این موضوع ازاین نظر قابل بررسی است که در مطالعه قبلی مشخص شده بود که بین میزان قابلیت آنتی‌اکسیدانی شیر سویا با شیر تفاوت در خور ملاحظه‌ای وجود دارد. با این حال تجزیه هیدروپراکسیدها به طور قابل توجهی در نمونه شیر سویا

نسبت به نمونه شیر سریع‌تر انجام شد. این مسأله نشان می‌دهد که حساسیت ترکیب اسیدهای چرب در شیر سویا نسبت به اکسایش در مقایسه با شیر باعث شده است تا اثر ترکیبات آنتی‌اکسیدان در شیر سویا محدود شود. شایان ذکر است که با وجود اشباع‌تر بودن اسیدهای چرب در شیر، نشان داده شده است که تغییرات جزئی در ساختار چربی‌ها به طور مستقیم در شدت اکسایش چربی شیر در طی دوره نگهداری مؤثر است. اسمت [۱۸] و همکاران با مقایسه اکسیداسیون در انواع شیر با ترکیب اسیدهای چرب مختلف، نشان دادند شیر با ترکیب اسید چرب غیر اشباع‌تر نسبت به اکسیداسیون حساسیت بیشتری دارد (۱۲). نتایج پژوهش دیگر از همین پژوهشگران گویای افزایش معنادار مقدار پراکسید طی دوره نگهداری شیر در در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد در حضور نور مرئی و اکسیژن است (۱۱). همین موضوع علت انتخاب شرایط استفاده از نور ماورا بنفش در دوره نگهداری در سرما در مطالعه حاضر بود. در سایر مطالعات مشابه، استفاده از نور فلوئورسنت رایج بوده است (۶، ۷ و ۲۳). نور فلوئورسنت و مرئی واجد قدرت اکسایندگی کمتری نسبت به تشعشعات فرابنفش است. مقایسه شرایط مطالعه حاضر با مطالعاتی که از چنین شرایطی در دوره نگهداری استفاده کرده‌اند، نشان می‌دهد که در پژوهش حاضر شاخص‌های اکسایشی در مدت زمان کوتاه‌تری قابل تشخیص بوده‌اند.

بر اساس نمودار ۱، روند تغییرات مقدار پراکسید در طی ۱۱ روز دوره نگهداری با الگوی معمول تغییرات پراکسید در چربی‌ها مطابقت دارد. افزایش اولیه مقدار پراکسید به عنوان محصولات اولیه اکسیداسیون و کاهش ثانویه آن به علت تشکیل محصولات ثانویه اکسیداسیون در نمودار فوق قابل تشخیص بود. به نقش فلزات یا نور، ماوراء بنفش و مرئی، در تجزیه هیدروپراکسیدها و تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون مکررا اشاره شده است (۲۴). نمونه‌های شیر گاو و شیر سویای مورد بررسی در این مطالعه به ترتیب حاوی ۰/۱ میلی‌گرم و ۱/۲ میلی‌گرم آهن در ۱۰۰ گرم بودند (۲ و ۲۵). همچنین، احتمالا مواجهه با نور فرابنفش در طول دوره نگهداری در تشدید این روند مؤثر بوده است. اثر آهن و اسیدهای چرب غیر اشباع در اکسایش محصولات لبنی تخمیری غنی شده با آن‌ها پیشتر گزارش شده است (۲۶). مشاهده تغییرات شاخص مقدار مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در طی ۱۱ روز دوره نگهداری در مورد همه نمونه‌ها با آنچه از تغییرات پر اکسید در این مدت مشاهده شد در هماهنگی کامل نبود. عدم هماهنگی بین میزان تجزیه پر اکسید و تشکیل ترکیبات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در مطالعه سرا[۱۹] و همکاران به اثر بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع در اواخر دوره نگهداری در محیط حاوی میکروارگانیسم‌ها نسبت داده شده است (۲۷). همان‌طور که در مطالعه حاضر مشاهده شد، با وجود افزایش پر اکسید در دوره زمانی خاص، به طور هم زمان ترکیبات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید تشکیل و گسترش می‌یابند. همچنین، تشکیل توام هیدروپراکسید چربی و ترکیبات کربونیلی واکنش‌پذیر با تیوباربیتوریک اسید در مطالعه ما در تطابق با مطالعه هایموس [۲۰] و همکاران است (۸). در مطالعه یاد شده نشان داده شد که سرعت تجزیه هیدروپراکسیدهای ناشی از فرآیند فتواکسیداسیون، از سرعت تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسون مثل هگزانال کمتر است، این موضوع از این نظر دارای اهمیت است که در پژوهش حاضر طی ۵ روز ابتدای دوره نگهداری تشکیل

توام هیدروپراکسید چربی و ترکیبات کربونیلی واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید مشاهده شد.

افزایش شاخص مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید به ویژه در مورد نمونه‌های غیر تخمیری در اوایل دوره نگهداری قابل مشاهده بود. ولی نوسان در میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در طی این دوره با تغییرات آن در الگوی معمول اکسایش چربی‌ها متفاوت بود.

محدوده تغییرات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید درشیر تخمیر شده در مطالعه حاضر، همسو با نتایج مطالعه سرا و همکاران است (۲۷).

یکی از نکات در خور توجه در مطالعه حاضر، بالاتر بودن شاخص مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در سویا نسبت به شیر حتی از روز اول نگهداری است. این موضوع نشان دهنده تشکیل و تجمع ترکیبات کربونیلی در شیر سویا پیش از وارد شدن به مطالعه بود. شاید اعمال شرایط فرآیند حرارتی شدیدتر و گسترده‌تری نمونه‌های شیر سویا نسبت به شیر به تشکیل این مواد منجر شده باشد. در مطالعه‌ایی نشان داده شد که فرآیند حرارتی در تشکیل ترکیبات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید در شیر مؤثر است (۲۸). علت دیگر این افزایش را می‌توان به فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز نسبت داد. با شکسته شدن دانه‌های سویا در طی مرحله خرد شدن، آنزیم لیپوکسی‌ژناز و ماده چرب آزاد می‌شود. با اثر آنزیم ترکیبات کربونیلی حساس به مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید تشکیل می‌شوند (۴، ۵، ۲۵ و ۲۹). به نظر می‌رسد که فرآیند تخمیر در گسترش این ترکیبات اثر کاملا کنترل کننده داشته است بطوری‌که حتی از روز اول نگهداری میزان این شاخص در شیر سویای تخمیر شده به طور در خور توجی کمتر از شیر سویا بوده است.

نوسانات شاخص‌های اکسایش در نمونه‌های مورد مطالعه در این پژوهش که روند تغییرات آن‌ها را از الگوی طبیعی اکسیداسیون در چربی‌ها متفاوت می‌ساخت، یکی از نکات قابل بررسی در ادامه بحث است.

در بسیاری از مطالعات اخیر، علت چنین تغییراتی ساختار پیچیده ماکرومولکول‌های آلی مانند پروتئین‌ها در غذا شناخته شده است که قادر به واکنش با ترکیبات مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید هستند. در این ارتباط مشخص شد که تشکیل کمپلکس کربونیل–پروتئین می‌تواند به عنوان محصولات ثانویه اکسیداسیون در گسترش یک سیستم اکسیدانی، جدا از نقش چربی عمل کنند. تمایل به واکنش پروتئین‌های غذایی با ترکیبات کربونیلی در مطالعات دیگری نیز اشاره شده است (۶ و ۲۸). در مطالعه دیگری فسفولیپیدها را به عنوان آغازگر تشکیل رادیکال‌های آزاد در ماهیچه بوقلمون بیان کردند (۳۰).

عوامل مختلفی در شیر و شیر سویا وجود دارند که در ثبات اکسایشی ماده چرب آن‌ها به شکل مثبت یا منفی تأثیرگذار هستند آنچه که در این مطالعه مشاهده شد، برآیند کلی آثار این ترکیبات است. پی گیری تغییرات شاخص‌های اکسایشی ضمن اندازه‌گیری قابلیت آنتی‌اکسیدانی و تغییر غلظت عوامل فوق می‌تواند در مطالعات آینده پاسخگوی بسیاری از ابهامات موجود باشد.

نتایج به دست آمده نشان داد که تخمیر نمونه‌های شیر و شیر سویا به شدت سبب کاهش مقادیر پر اکسید و میزان مواد واکنش پذیر با تیوباربیتوریک اسید می‌شود.

مقایسه روند اکسایش در شیر و شیر سویای غیر تخمیری نشان داد که با وجود غیر اشباعیت چربی شیر سویا، روند شدت اکسایش در هر دو نمونه یکسان است. این موضوع می‌تواند به علت اثر کنترل کنندگی قابلیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر در شیر سویا باشد. با این حال بالاتر بودن شاخص ترکیبات حساس به تیوباربیتوریک اسید در شیر سویا حتی از روز اول مطالعه نشان دهنده این است که اکسایش در چربی شیر سویا پیش از رسیدن به دست مصرف کننده آغاز شده و طی دوران نگهداری توسعه پیدا می‌کند. اگرچه شواهدی از اثر آنتی‌اکسیدانی شیر سویا در حفظ چربی حساس در این مطالعه دیده شد ولی به طور یقین می‌توان گفت که این اثر در برابر اثر تخمیر ناچیز است.

تشکر و قدردانی

نگارندگان پژوهش حاضر مراتب تشکر و قدردانی خود را از همکاری صمیمانه سرکار خانم دکتر آزادبخت، ریاست مرکز تحقیقات امنیت غذایی اعلام می‌کنند.

References

(1) Azadbakht L., kimiagar M., Mehrabi Y., Esmaillzadeh A., Hu FB., Willett WC. Dietary soya intake alters plasma antioxidant status and lipid peroxidation in postmenopausal women with the metabolic syndrome. *British Journal of Nutrition* 2007a; 98: 807- 132007a; 98: 807- 13.

(2) Miraghajani M., Esmaillzadeh A., MortazaviNajafabadi M., Mirlohi M., Azadbakht L. [Soy milk consumption, inflammatory, coagulation and oxidative stress among type 2 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes Care* 2012; 35 (10): 1981- 5.

(3) Mateos A., Redondo Cuenca A., Villanueva Suarez MJ., Zapata Revilla MA. Soybean, a promising health source. *Nutrición Hospitalaria* 2008; 23 (4): 305-12.

(4) Torki Baghbadorani S., Ehsani M., Mirlohi M., EzzatPanah H. Comparative study on the effect of fermentation on the anti-oxidative properties of thermal processed milk and soy milk. *Journal of Health System Research* 2013; 9(2): 159-169

(5) Pena Ramos E.A., Xiong Y.L. Whey and soy protein hydrolysates inhibit lipid oxidation in cooked pork patties. *Meat Science* 2003; 64 (3): 259- 63.

(6) Van Aardt M., Duncan S.E., Marcy J.E., Long T.E., O'Keefe SF., Nielsen Sims S.R. Effect of Antioxidant (α-Tocopherol and Ascorbic Acid) fortification on Light-Induced Flavor of Milk. *Journal of Dairy Science* 2005b; 88 (3): 872- 80.

(7) Vassila E., Badeka A., Kondyli E., Savvaidis I., Kontominas MG. Chemical and microbiological changes in fluid milk as affected by packaging conditions. *International Dairy Journal* 2002; 12 (9): 715- 22.

(8) Havemose M.S., Weisbjerg M.R, Bredie WLP, Poulsen H.D, Nielsen J.H. Oxidative stability of milk influenced by fatty acids, antioxidants, and copper derived from feed. *Journal of Dairy Science* 2006; 89 (6):1970-80.

(9) Kristensen D., Hedegaard R.V., Nielsen J.H., Skibsted L.H. Oxidative stability of buttermilk as influenced by the fatty acid composition of cows' milk manipulated by diet. *Journal of Dairy Research* 2004; 71 (1): 46- 50.

(10) Hedegaard R.V., Kristensen D., Nielsen JH., Frost MB., Ostdal H., Hermansen J E., et al. Comparison of descriptive sensory analysis and chemical analysis for oxidative changes in milk. *Journal of Dairy Science* 2006; 89 (2): 495- 504.

(11) Smet K., Raes K., De Block J., Herman L., Dewettinck K., Coudijzer K. A change in antioxidative capacity as a measure of onset to oxidation in pasteurized milk. *International Dairy Journal* 2008; 18 (5): 520- 30.

(12) Smet K., De Block J., De Campeneere S., De Brabander D., Herman L., Raes K., et al. Oxidative stability of UHT milk as influenced by fatty acid composition and packaging. *International Dairy Journal* 2009; 19 (6-7): 372- 79.

(13) Mestdagh F., De Meulenaer B., De Clippeleer J., Devlieghere F., Huyghebaert A. Protective influence of several packaging materials on light oxidation of milk. *Journal of Dairy Science* 2005; 88 (2): 499- 510.

(14) Eileen M.S. Safety and Quality of Irradiated Food. In: Enrique Ortega-Rivas. Processing effects on safety and quality of Foods. Boca Raton London New York: CRC Press; 2009. p 341-378.

(15) Bricarello L., Kasinski N., Bertolami M., Faludi A., Pinto L., Relvas W., et al. Comparison between the Effects of Soy Milk and Non-Fat Cow Milk on Lipid Profile and Lipid Peroxidation in Patients With Primary Hypercholesterolemia. *Nutrition* 2004; 20 (2) :200- 4.

(16) Mirlohi M., Soleimanian Zad S., Dokhani Sh., SheikhZeinodin M. Microbial and physiochemical changes in yoghurts containing different *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains in association with *Lactobacillus plantarum* as an adjunct culture. *International Journal of Dairy Technology* 2014; 67 (2): 246- 4.

(17) Mirlohi M., Soleimaanian Zad S., Sheikh Zeinodin M. Identification of Lactobacilli from fecal flora of some Iranian infants. *International Journal of Pediatrics* 2008; 18 (4): 357- 63.

(18) Ostdal H., Andersen H.J., Nielsen J.H. Antioxidative activity of urate in bovine milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2000; 48 (11): 5588- 92.

(19) Strange E.D., Benedict R.C., Smith J.L., Swift C.E. Evaluation of rapid test for monitoring alternation in meat quality during storage. *Journal of Food Protect* 1997; 40 (12): 843- 47.

(20) Wang Y.C., Yu R.C., Chou C.C. Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Journal of Food Microbiology* 2006; 23 (2): 128- 35.

(21) Rekha C.R., Vijayalakshmi G. Biomolecules and Nutritional Quality of Soymilk Fermented with Probiotic Yeast and Bacteria. *Applied Biochemisty and Biotechnology* 2008; 151 (2-3): 452- 63.

(22) Lin M.Y., Chang F.J. Antioxidative effect of intestinal bacteria *bifidobacteriumlongum ATCC 15708* and *Lactobacillus acidophilus ATCC* 4356. *Digestive Disease and Science* 2000; 45 (8): 1617- 22.

(23) Mestdagh F., De Meulenaer B., De Clippeleer J., Devlieghere F., Huyghebaert A. Protective influence of several packaging materials on light oxidation of milk. *Journal Dairy Science* 2005; 88 (2): 499- 510.

(24) Eileen MS. Safety and Quality of Irradiated Food. In: Enrique Ortega-Rivas. Processing effects on safety and quality of foods. Boca Raton London New York: CRC Press; 2009: 341-378.

(25) Imran N., Shurt Left W., Aoyagi A. Translated by Effat Jafary. *Hand book of Soy Products*. Tehran: Avaie ghalam; 1385. 102.

(26) Xu S., Boylston TD., Glatz B. Effect of inoculation level of *Lactobacillus rhamnosus* and yogurt cultures and conjugated linoleic acid content and quality attributes of fermented milk products. *Journal of Food Chemical Toxicology* 2006; 71 (4): 275- 280.

(27) Serra M., Trujillo A.J., Pereda J., Guamis B., Ferragut V. Quantification of lipolysis and lipid oxidation during cold storage of yogurts produced from milktreated by ultra-

high pressure homogenization. *Journal of Food Engineering* 2008; 89(1):99-104.

(28) Parisod V., Visani P., Populaire S., Tabet J.C., Guy P.A. Modifications of milk constituents during processing: A preliminary benchmarking study. *International Dairy Journal* 2006; 16 (7):728- 39.

(29) Khatiri Y., Bahador N., Pordeli H.A study on isolated endophytic bacteria from Glycine sp. and their role on control of some plant pathogenic fungi. *Biological Journal of Microorganisems* 2013; 2 (5): 51- 60.

(30) Gatellior P., Mercier Y., Rock E., Renerre M. Influence of dietary fat and vitamin E supplementation on free radical production and on lipid and protein oxidation in turkey muscle extracts. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 2000; 48 (5): 1427- 33.

---

[1]- deMan-Rogosa-Sharpe (MRS)
[2]- Ultra Violet (UV)
[3]- Philips
[4]- Ostdal
[5]- 1500 g
[6]- Fe^{2+}/thiocyanate
[7]- $Bacl_2$. 2H20
[8]- $FeSO_4$. 7H2O
[9]- $Fecl_2$
[10]- NH_4SCN
[11]- ThioBarbitoric Acid Reactive Species (TBARS)
[12]- TCA
[13]Coefficent Factor
[14]- Malone Dialdehyde (MDA)
[15]- ANOVA
[16]- SPSS
[17]- Van Aardt
[18]- Smet
[19]- Serra
[20]- Havemose

Oxidative stability of milk and soy milk fatty compound induced by *Lactobacillus plantarum* fermentation during refrigerated period

Sahar Torki Baghbadorani
M.Sc. of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, torki_sahar@yahoo.com
Mohammad Reza Ehsani
Professor of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, mehsani@ut.ac.ir
Maryam Mirlohi *
Assistant Professor of Food Science and Technology, Food Security Research Center, School of Nutrition and Food Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Iran, m_mirlohi@hlth.mui.ac.ir
Hamid EzzatPanah
Associate Professor of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran, hamidezzatpanah@srbiau.ac.ir

Abstract

Introduction: In recent years, substitution of soy milk with cow milk in the individuals' diet suffering from inflammatory diseases have been considered in clinical studies. However, soy milk is more prone to oxidation compared to cow milk due to its unsaturated fatty acid. Oxidative stability of soy milk fat and its comparison with cow milk fat has been barely discussed in the literature. Present study aimed at comparing the oxidative stability of commercial pasteurized milk and soy milk samples and their fermented counterparts by *L. plantarum* A7 during 14 days refrigerated period.

Materials and methods: Commercial pasteurized milk and soy milk with the same concentration of fatty compound were subjected to fermentation using a native lactobacillus strain, *Lactobacillus plantarum* A7. Peroxide number and thiobarbitoric acid in the four trials including milk, soymilk, fermented milk and fermented soy milk were investigated during 14 days of cold storage in the controlled condition.

Results: The results showed that milk and soy milk fermentation by *Lactobacillus plantarum* significantly reduced the amounts of both oxidative indices. In non fermented products, peroxide value was found to increase by a similar trend, reaching to the pick after five days of refrigeration. No significant difference was observed between such an increase between milk and soy milk. Instead, TBA value was measured at higher level in soy milk samples all through the study period.

Discussion and conclusion: Despite the higher non saturated fatty acid, soy milk appeared to be as sensitive as milk regarding oxidative damage, However, comparing the great impact of fermentation on retarding oxidation, the difference between no fermented products can be regarded as negligible.

Key words: Milk, Soy milk, *Lactobacillus plantarum A7,* Antioxidative properties, Oxidative stabilit

* Corresponding author
Received: April 23, 2013 / **Accepted:** June 21, 2014