

## اثر آنزیم لاکتاز بر ویژگی حسی و میزان شکر در فرمولاسیون نوشیدنی آب ماست در شرایط نگهداری

زینب رفتنی امیری<sup>1\*</sup> - محمد اعزازی<sup>2</sup>

تاریخ دریافت: 1396/05/30

تاریخ پذیرش: 1396/10/06

### چکیده

آب ماست اسیدی حاصل از فرآیند تغلیظ ماست چکیده به واسطه دارا بودن املاح و بقایای پروتئینی سودمند می‌تواند در فرمولاسیون نوشیدنی‌های میوه‌ای به کار گرفته شود. به منظور بررسی اثر آنزیم لاکتاز بر کاهش مصرف شکر و بهبود طعم در فرمولاسیون نوشیدنی مورد مطالعه بر پایه کنسانتره میوه‌ای آناناس به میزان 5 درصد، از آنزیم لاکتاز در دو سطح صفر و 0/1 درصد، آب ماست به میزان 30 و 40 درصد، دمای نگهداری در محیط و یخچال و زمان نگهداری در هفته صفر، چهار، هشت، ده و دوازده پس از تولید با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی استفاده شد. بررسی ویژگی طعم و خواص حسی در طول زمان 12 هفته در دو شرایط نگهداری یخچال و محیط نشان داد که افزودن لاکتاز به آب ماست مورد استفاده در فرمولاسیون نوشیدنی قبل از پاستوریزاسیون آب ماست علاوه بر حفظ pH نوشیدنی و بهبود ویژگی‌های حسی نوشیدنی موجب کاهش مصرف شکر مورد استفاده برای طعم‌دار کردن نوشیدنی شده بود. همچنین ضمن مطابقت درجه امتیازات طعم و احساس دهانی نوشیدنی در یخچال تا پایان هفته هشتم نگهداری، هیچ پرگنه کپک و مخمری در دو دمای نگهداری مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: آب ماست، لاکتاز، نوشیدنی، ویژگی حسی

### مقدمه

آنهاس و بعضاً با سیستم اسمز معکوس یا اولترافیلتراسیون اجزای آن را جدا می‌کنند. برحسب روش انعقاد کازئین، پساب حاصل شده به دو نوع غیر اسیدی به‌عنوان محصول جانبی حاصل از انعقاد رنتی کازئین، و آب ماست اسیدی به‌عنوان محصول جانبی حاصل از انعقاد اسیدی کازئین حاصل از فعالیت باکتری‌های لاکتیکی و یا افزودن مستقیم اسید آلی و معدنی تقسیم‌بندی می‌شوند (جلن، 2011). از آنجا که ماست حاوی ترکیبات ارزشمند می‌باشد، قسمتی از این ترکیبات طی فرآیند تغلیظ وارد آب ماست شده و در صورت دور ریختن بدون استفاده باقی مانده (تمیم و رابینسون، 2000، وارقس و هاریداس، 2007 و یمانی، 1993) و موجب آلودگی محیط زیست می‌شود. آب ماست حاوی لاکتوز، اسید لاکتیک، مقدار جزئی پروتئین‌های محلول، ویتامین‌های محلول در آب به‌ویژه ویتامین‌های گروه B و مواد معدنی می‌باشد (تمیم و رابینسون، 2000). پروتئین آب ماست به دلیل مقدار زیاد سیستمین به‌عنوان یک ماده غذایی با کیفیت بالا مورد توجه می‌باشد چرا که حاوی اسید آمینه‌های ضروری است (جانین و همکاران، 2005). آب ماست به دلیل وجود پروتئین‌هایی با هسته سولفیدی باعث کاهش 30% از شدت تهاجم سلول‌های سرطانی در سرطان سینه شده و نقش پیشگیرانه آن نیز در بروز

ماست غلیظ شده، از طریق حذف آب ماست اسیدی از ماست طبیعی با روش سنتی (تغلیظ در کیسه‌های پارچه‌ای) و یا با استفاده از تجهیزات و تکنولوژی‌های مدرن، به روش اولترافیلتراسیون و اسمز معکوس تولید می‌شود (اوزر و همکاران، 1999). همچنین آب پنیر اسیدی که از تولید پنیر کاتیج حاصل می‌شود محصولی است شفاف و سبز رنگ که بسته به نوع فرآیند حاوی مقادیر متفاوتی از ماده خشک است و بسته به تکنولوژی به کار رفته 70-90% ماده خشک آن لاکتوز می‌باشد (هاوارد و نوشیر، 1974).

آب ماست مایع حاوی 5% لاکتوز، 93% آب، 0/53% املاح، حداقل 0/36% چربی و 0/85% پروتئین با قابلیت بیولوژیکی حتی بالاتر از پروتئین‌های تخم‌مرغ و کازئین شیر می‌باشد (اسمیتز، 2008). آب ماست حاوی یک‌سری نمک‌هایی است که جزء ترکیبات اصلی

1 و 2 - به ترتیب دانشیار و دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران.

\*مستول مکاتبات: (Email: zramiri@gmail.com)

DOI: 10.22067/iffstrj.v14i4.66350

*Mortierella Isabellina* به آب ماست غیراسیدی<sup>4</sup> حاوی لاکتوز با مقادیر (4/5 تا 16%)، پروتئین و املاح توانستند تولید روغن تک سلولی نمایند. راندمان تولید روغن تک سلولی با افزایش لاکتوز محیط نسبت مستقیم داشت. امروزه در تحقیقات مختلف از آنزیم‌های لاکتاز از منابع مختلف همچون *Bispora sp. Mey* (هوای و همکاران، 2009) و *Teratosphaeria Acidotherma AIU BGA1* (همکاران، 2015) و *Aspergillus* و *Klyvermyces lactis* (چپیا و همکاران، 2015) و *Oryzae* (فیشر و کلین اشمیت، 2015) در هیدرولیز لاکتوز استفاده شده است.

در اروپا نوشیدنی‌هایی که از اختلاط آب پنیر به کنسانتره‌های پروتئینی تولید می‌شوند از استقبال خوبی برخوردارند و به‌عنوان نوشیدنی‌های سالم و کم چرب و انرژی‌زا مصرف می‌شوند چرا که ساده‌ترین راه استفاده از مواد غذایی موجود در آب ماست همین راه می‌باشد (کالبت و مک‌لین، 2002). نایک و همکاران (2009) از اختلاط آب پنیر و هندوانه، نوشیدنی قابل قبولی تولید کردند. نوشیدنی تولید شده به دلیل وجود رنگ قرمز و مزه مطلوب لیکوپن، از امتیاز پذیرش بالایی برخوردار بود. جانین و همکاران (2005) از اختلاط کنسانتره تمشک و انگور به آب پنیر نوشیدنی تولید کردند. در این تحقیق نمونه‌هایی که دارای مقادیر کمتر از 50% آب ماست بودند از مطلوبیت بیشتری برخوردار شدند.

برای ترغیب مصرف آب ماست و استفاده از خواص سلامت بخش آن از اختلاط کنسانتره آناناس با آب ماست برای بهبود طعم و مزه نوشیدنی استفاده شد. انتخاب طعم آناناس به دلیل مشابهت خواص سلامت بخشی آناناس با آب ماست بود. چرا که نقش آب آناناس و پروتئین‌های آب ماست اسیدی در پیشگیری از رشد سلولهای سرطانی به اثبات رسیده است (ساح و همکاران، 2016 و نوکومی و همکاران، 2007).

به‌منظور بررسی تاثیر آنزیم لاکتاز بر روی کاهش مصرف شکر در فرمولاسیون نوشیدنی حاصل از اختلاط آب ماست اسیدی و مخلوط کنسانتره<sup>5</sup> میوه آناناس در مقایسه با نمونه‌های فاقد آنزیم لاکتاز و نیز بررسی تاثیر میزان اختلاط آب ماست در دو سطح 30 و 40 درصد بر روی ویژگی‌های حسی نوشیدنی در زمان نگهداری 12 هفته‌ای در دمای 4 و 25 درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

آب ماست مورد استفاده از خط تولید ماست یونانی شرکت شیر پاستوریزه پگاه زنجان تهیه شد. برای تولید ماست یونانی، از انعقاد لاکتیکی باکتری‌های موجود در استارترهای شرکت هنسن با کدهای

سرطان سینه در موش و انسان به اثبات رسیده است (نوکومی و همکاران، 2007). به دلیل وجود مقادیر بالای اسید آمینه ضروری و اسید آمینه منشعب (لوسین، ایزولوسین و والین) امروزه تلاش بر این است که از آب ماست استفاده بهینه‌ای داشته باشند (کاتسانو و همکاران، 2006). احتمال مشارکت این اسیدهای آمینه در پاسخ‌های هورمونی به تغذیه و عامل محرک ترشح انسولین وجود دارد (کالبت و مک‌لین، 2002). همچنین آب ماست به دلیل وجود لاکتوز موجب افزایش جذب عناصر فلزی و کاهش کلسترول خون شده و به دلیل جذب بهتر کلسیم و فسفر در افراد مسن از پوکی استخوان پیشگیری می‌کند (رنز، 1989).

بر اساس گزارش فائو در سال 2011 مقدار تولید سالیانه انواع آب ماست حدوداً 177 هزار کیلو تن بوده است (فائو، 2011). با افزایش جمعیت کشورها تولید سالیانه ماست‌های طعم‌دار و انواع ماست‌های چکیده یا غلیظ شده به میزان قابل توجهی افزایش یافته و در نتیجه مقدار زیادی آب ماست تولید می‌شود. کارخانجات بزرگ از سیستم اتوماتیک سانتریفوژ جهت حذف آب ماست از ماست و تولید ماست چکیده بهره می‌گیرند. کارخانجاتی که با ظرفیت بالا در تولید انواع محصولات تغلیظ شده استحصالی از ماست مشارکت دارند بعضاً با تولید روزانه 40 تن آب ماست با BOD<sup>1</sup> و COD<sup>2</sup> بالا، به‌عنوان آلاینده محیط زیست به‌شمار می‌آیند (مایورلا و کاستیلو، 1984). البته در بعضی از کشورهای منطقه بالکان و مدیترانه شرقی آب ماست حاصله را صاف می‌کنند تا از مواد جامد آن استفاده کنند و از میزان آلاینده‌گی محیط زیست کاسته شود (تمیم و رایبسون، 2000).

پسوما و همکاران (2010) از اختلاط محلول وی پروتئین تغلیظ شده تخمیر شده به‌وسیله باکتری‌های لاکتیکی، با کنسانتره میوه هلو و لاکتات کلسیم به‌عنوان جلوگیری‌کننده از کاهش pH محصول نوشیدنی عملگر<sup>3</sup> تولید کردند. استفاده‌های دیگر از آب ماست توسط محققین زیادی مورد تحقیق قرار گرفته است. (فیشر و کلین اشمیت، 2015) با استفاده از آب ماست اسیدی و غیراسیدی و با عملیات آنزیم لاکتاز استحصالی از *اسپرژیلوس اوریزا* و *کلیورومیسس لاکتیس* برای تولید گالاکتوالیگوساکارید استفاده کردند. گالاکتوالیگو ساکارید از جمله ترکیباتی است که به‌عنوان پری‌بیوتیک (گونزالس و همکاران، 2008) در فرمولاسیون شیر کودک برای نزدیکتر شدن ترکیب شیر کودک به شیر مادر به‌کار می‌رود (بوهم و همکاران، 2003). هر چند غلظت لاکتوز و نوع آب ماست (اسیدی یا غیراسیدی) بر فرآیند اثر معنی‌داری داشتند ولی هر دو نوع آنزیم به‌کار رفته، موفقیت‌آمیزآریابی شدند.

همچنین دمیر و همکاران (2013) با استفاده از تزریق قارچ

- 1 Biochemical Oxygen Demand
- 2 Chemical Oxygen Demand
- 3 Functional

5 Sweet Whey  
6 compound

### فرمولاسیون و تهیه نوشیدنی آب ماست میوه‌ای

درصد اجزای فرمولاسیون نوشیدنی در جدول 1، بر اساس نتایج حاصل از پیش تیمارهای تهیه شده اولیه و گزارش محققین در منابع، فرموله شد. ابتدا شکر و مخلوط پایدارکننده به خوبی همگن شده و به مخزن استیل حاوی آب مجهز به همزن با سرعت 25 دور بر دقیقه افزوده شد. سپس آب ماست و مخلوط کنسانتره میوه اضافه شد. به آب ماست در نمونه‌های شماره 3 و 4، مقدار 1000 پی‌پی‌ام آنزیم لاکتاز اضافه شد و به مدت 3 ساعت در دمای 4 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و سپس در دمای 70 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه پاستوریزه شد. محلول تهیه شده در دمای 60 درجه سانتی‌گراد و فشار 150 بار هم‌وزن شده و سپس در دمای 90 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 ثانیه پاستوریزه گردید. بسته بندی نمونه‌ها در دمای 4 درجه سانتی‌گراد در شرایط اسپتیک در پاکت‌های 250 گرمی تتراپک بسته‌بندی شد و تا زمان انجام آزمون در یخچال 4 درجه سانتی‌گراد و آنکوباتور 25 درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

904 و اکسپرس استفاده شد. برای تغلیظ از سپراتور نازلی 16-BDK ساخت کشور آلمان با 6000 دور بر دقیقه مخصوص تغلیظ ماست استفاده شد. شکر شادیانه از شرکت کشت و صنعت دهخدا بود. میزان شکر مورد مصرف در فرمولاسیون نمونه‌ها در جدول 1، بر مبنای امتیازات اولیه‌ای که ارزیاب‌ها برای حصول به شدت شیرینی یکسان در آزمون طعم به نمونه‌های پیش تیمار داده بودند، تعیین شد. لاکتاز مایع از شرکت نووزایم دانمارک با کد تجاری Saphera FMP تهیه شد. مخلوط کنسانتره میوه تجاری با طعم آناناس از شرکت اورانا دانمارک تهیه شد. مخلوط تجاری حاوی کنسانتره آناناس، کنسانتره سیب، اسید سیتریک، طعم‌دهنده طبیعی، اسید آسکوربیک و رنگدانه طبیعی بتاکاروتن بود. ماده خشک مخلوط 59%، pH آن 2/6 و اسیدیته آن بر حسب اسید سیتریک 75 گرم بر کیلوگرم بود. پکتین E440 از شرکت سن روز ژاپن و لاکتات کلسیم از شرکت روبرته سیرجان تهیه شد و به ترتیب در مقادیر 0/2% و 0/1% در تهیه نمونه‌ها استفاده شد. مخلوط خشک پکتین و نمک لاکتات با نام مخلوط پایدارکننده در جدول شماره 1 آمده است.

جدول 1 - فرمولاسیون نمونه‌های نوشیدنی آب ماست میوه‌ای

تیما	% لاکتاز	% آب ماست	% شکر	% آب	% مخلوط میوه	% مخلوط پایدارکننده
1	0	30	8/1	56/6	5	0/3
2	0	40	8/38	46/32	5	0/3
3	0/1	30	5/87	58/73	5	0/3
4	0/1	40	5/96	48/64	5	0/3

محیطی و زمانی منطبق با راهنمای Iso-8589E (2007) به روش لذت‌بخشی صورت گرفت. برای شماره‌گذاری نمونه‌ها از اعداد 3 رقمی تصادفی استفاده شد.

### شمارش کپک و مخمر

از محیط کشت YGC آگار برای شمارش کپک و مخمر همه تیمارها با سه تکرار استفاده شد. مقدار 0/1 میلی‌لیتر از نمونه با رقت 0/1 برداشته شد و توسط میله شیشه‌ای L بر سطح محیط کشت به‌طور یکنواخت پخش شد. سپس پلیت‌های تلقیح شده در آنکوباتور 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 روز نگهداری و پرگنه‌ها شمارش شدند.

### تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش، تاثیر فاکتورهای آب ماست (30 و 40 درصد)، آنزیم لاکتاز (صفر و 0/1 درصد)، دمای نگهداری (دمای محیط و یخچال) و زمان نگهداری (صفر، 4، 8، 10، 12 هفته) بر ویژگی‌های حسی و pH نوشیدنی آب ماست میوه‌ای با آزمایش فاکتوریل در قالب

### آزمون آب ماست

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب ماست (pH، اسیدیته، دانسیته، چربی، پروتئین، لاکتوز، ماده خشک و خاکستر) به روش AOAC (1995) و کپک و مخمر مطابق استاندارد ملی ایران شمارش شد.

### آزمون نوشیدنی آب ماست میوه‌ای

#### اندازه‌گیری pH

pH محلول در دمای 25 درجه سانتی‌گراد با استفاده از pH متر دیجیتال (wtw537) ساخت آلمان اندازه‌گیری شد (AOAC, 1995).

#### ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی نوشیدنی آب ماست میوه‌ای توسط 10 نفر ارزیاب آموزش دیده مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیابی حسی از نظر ویژگی‌های طعم، رنگ، احساس دهانی و پذیرش کلی با روش امتیازدهی 1 تا 10 در فاصله زمانی صبح تا ظهر با ارائه 30 میلی‌لیتر نمونه برای آزمون‌های طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی و 150 میلی‌لیتر در ظرف پلی‌اتیلن شفاف برای آزمون رنگ در شرایط یکسان

آن در صنایع مربوط به فرایند آب پنیر مورد بررسی قرار گرفته است به طوری که با استفاده از پکتین در تولید نوشیدنی حاوی آب پنیر مقاومت حرارتی پروتئین‌های مذکور از دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 10 دقیقه تا به دمای 90 درجه سانتی‌گراد افزایش یافته است (جانین و همکاران، 2005). نه تنها پکتین بلکه از سایر هیدروکلوئیدها نیز برای جلوگیری از ترسیب پروتئین در سایر تحقیقات استفاده شده است. استفاده از پکتین موجب افزایش پایداری حرارتی پروتئین موجود در نوشیدنی‌های حاوی پروتئین‌های سرمی شیر می‌شود (واگنر و فوگدینگ، 2017). پکتین در نسبت مورد استفاده در فرمولاسیون توانسته بود مقاومت حرارتی لازم را در پروتئین‌های آب ماست موجود در فرمولاسیون تامین کند به طوری که هیچ‌گونه رسوب پروتئینی در بسته‌بندی‌ها بلافاصله بعد از تولید و نیز در طول مدت زمان نگهداری تا 12 هفته در دو شرایط دمایی متفاوت یخچال و محیط مشاهده نشد.

اثر میزان آب ماست در دو سطح 30 و 40 درصد در فرمولاسیون نوشیدنی بر روی pH و احساس دهانی در سطح 5 درصد تاثیر نداشته است ولی بر روی شدت طعم و رنگ و میزان پذیرش کلی اثر معنی‌داری داشته است.

به دلیل وجود آرومای نامطلوب، افزایش مقدار آب ماست بر مطلوبیت طعم اثر منفی داشته و موجب کاهش مطلوبیت نوشیدنی شده است. در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها برای پوشاندن طعم نامطلوب آب ماست از کنسانتره میوه‌ها استفاده می‌شود (جوریک و همکاران، 2004). استفاده از کنسانتره آب آناناس موجب افزایش امتیاز طعم نوشیدنی‌های تولید شده از پودر آب پنیر اسیدی در مقایسه با کنسانتره آب‌میوه‌های انگور و لیمو شده بود (کوزیکوسکی، 1968).

طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین معنی‌دار بودن هر یک از فاکتورهای میزان آب ماست، میزان آنزیم، دمای نگهداری و زمان نگهداری روی امتیازات حسی (طعم، رنگ، قوام دهانی، پذیرش کلی) و pH از روش آنالیز رگرسیون در سطح احتمال 5% انجام شده و توانایی مدل با آزمون ضریب همبستگی بررسی شد. تجزیه و تحلیل و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تپ نسخه 17 انجام شد. همچنین بررسی میزان تفاوت امتیازات حسی در طول زمان با روش آنالیز واریانس یک طرفه با سطح معنی‌داری 0/05 انجام شدند.

## نتایج و بحث

جدول 2 ویژگی‌های اندازه‌گیری شده آب ماست را نشان می‌دهد.

جدول 2- ویژگی‌های آب ماست اندازه‌گیری شده

ویژگی‌های آب ماست	
4/9	pH
58	اسیدیته (دورنیک)
1/029	دانسیته (g/ml)
0/1	چربی (g/100ml)
0/9	پروتئین (g/100ml)
4/1	لاکتوز (g/100ml)
6/22	ماده خشک (g/100ml)
0/68	خاکستر (g/100gr)
کپک و مخمر کلنی مشاهده نشد.	

حساسیت حرارتی پروتئین‌های آب پنیر به‌عنوان خصوصیت مهم

جدول 3- ضرایب تاثیر فاکتورهای مستقل درصدهای لاکتاز و آب ماست، دما و زمان نگهداری بر ویژگی‌های حسی و pH نوشیدنی فرموله شده

pH Y1	طعم Y2	رنگ Y3	احساس دهانی Y4	پذیرش کلی Y5	
-0/001350	-0/08200*	-0/01450*	-0/0140	-0/05100*	درصد آب ماست
-0/0850	5/700*	0/250	5/20*	8/000*	درصد لاکتاز
-0/000214	-0/01048*	-0/000714	-0/03190*	-0/01000*	دمای نگهداری
-0/01659*	-0/12037*	-0/01358*	-0/1113*	-0/11589*	زمان نگهداری

\* اختلاف در سطح 5 درصد معنی‌دار است.

کلسیم به‌عنوان یک آنتی‌اسید و تنظیم‌کننده اسید در صنعت غذا به کار گرفته می‌شود (کدکس، 1999). همچنین به‌نظر می‌رسد قوام اصلی محصول و امتیاز مربوط به آن از طریق افزودن تثبیت‌کننده ایجاد شده بود و اثر معنی‌داری ناشی از افزایش و یا کاهش مقدار آب ماست و ترکیبات موجود در آن بر امتیاز احساس دهانی مشاهده نشد.

افزایش میزان اسید نوشیدنی با افزایش مقدار آب ماست و اسید لاکتیک موجود در آن، موجب بروز تاثیرات منفی در pH می‌شود. فعالیت باقی‌مانده لاکتیک‌های لاکتیکی موجب تغییرات pH در محصولات ماست می‌شود (آنتونز و همکاران، 2005)، ولی به‌دلیل وجود نمک لاکتات کلسیم این اثر معنی‌دار نبوده است. نمک لاکتات

ایفا کند  
تاثیر لاکتاز در دوسطح صفر و 1/0% بر روی همه فاکتورها به غیر از pH و رنگ تاثیر معنی داری در سطح احتمال 5% بود. این نتیجه با یافته‌های تحقیق جانین و همکاران (2005) که اثر آنزیم لاکتاز را بر تغییرات pH معنی دار گزارش نکرده بودند، مطابقت داشت.

به نظر می‌رسد میزان کم پروتئین‌های موجود در آب ماست اسیدی حاصل از سپراتور دلیل این امر باشد. غالباً پروتئین موجود در آب پنیر کمتر از 1% می‌باشد (بوکلر و همکاران، 2005). به همین دلیل احتمالاً مقدار آب ماست در دو سطح 30 و 40 درصد نتوانسته است در مقابل مقدار پایدارکننده نقش معنی داری در تغییرات بافت یا احساس دهانی

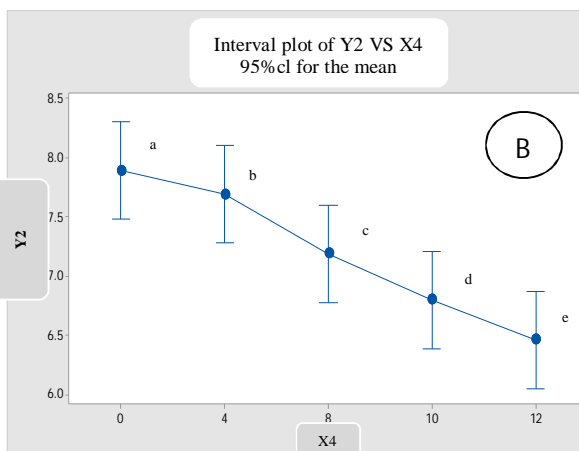
جدول 4- جدول آنالیز واریانس تاثیر لاکتاز و آب ماست بر مصرف شکر

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	میانگین مربعات	عدد F	عدد P
لاکتاز	1	5/40563	5/40563	598/96	0/026*
آب ماست	1	0/03423	0/03423	3/79	0/302
خطا	1	0/00903	0/00903		
کل	3	5/44888	5/44888		

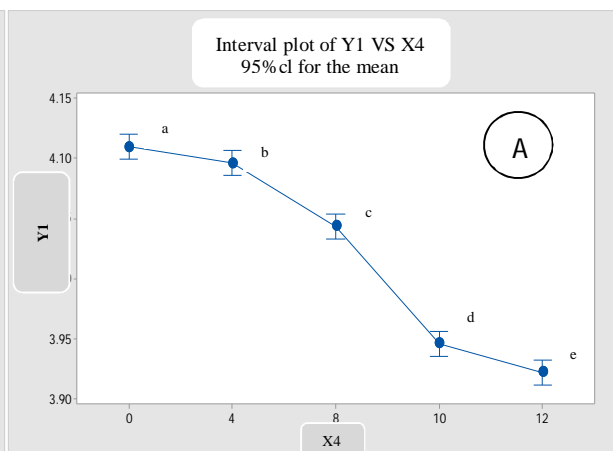
\* اختلاف در سطح 5 درصد معنی دار است.

کاربردهای صنعتی صنایع لبنی از لاکتاز برای تجزیه لاکتوز و تولید منوساکاریدهای گلوکز و گالاکتوز استفاده شده است (گیکاس و همکاران، 1985 و هانگ و لی، 2002). میزان منوساکارید بیشتر در اثر تجزیه لاکتاز باعث افزایش احساس دهانی محصول در حین مصرف توسط ارزیابان شده بود و همه موارد باعث افزایش معنی دار در مطلوبیت نهایی نمونه‌های دارای لاکتاز در مقایسه با نمونه های فاقد لاکتاز شده بود. اثر دمای نگهداری در دو سطح 4 و 25 درجه سانتی گراد بر روی ویژگی‌های طعم و احساس دهانی نمونه‌ها و پذیرش کلی معنی دار بوده است.

همچنین اثر آنزیم لاکتاز بر روی طعم، در جهت بهبود طعم و افزایش امتیاز ارزشیابی طعم معنی دار بود. مطابق نتایج جدول شماره 4 در اثر هیدرولیز آنزیمی لاکتاز و تبدیل لاکتوز به قندهای ساده‌تر میزان طعم شیرینی افزایش یافته بود و از میزان شکر مورد نیاز برای حصول شیرینی یکسان با نمونه‌های فاقد لاکتاز کاهش معنی داری پیدا کرده بود. این یافته‌ها با نتایج تحقیق جانین که دلالت بر عدم تاثیر هیدرولیز لاکتوز بر قابلیت پذیرش نوشیدنی داشت مغایرت دارند (جانین و همکاران، 2005). شاید استفاده از فروکتوز به جای شکر، با قدرت شیرین‌کنندگی و طعم‌دهندگی بیشتر و استفاده از درصد‌های بالای تراویده آب پنیر در تحقیق مذکور دلیل این تفاوت باشد. در



The pooled standard deviation is used to calculate the intervals



The pooled standard deviation is used to calculate the intervals

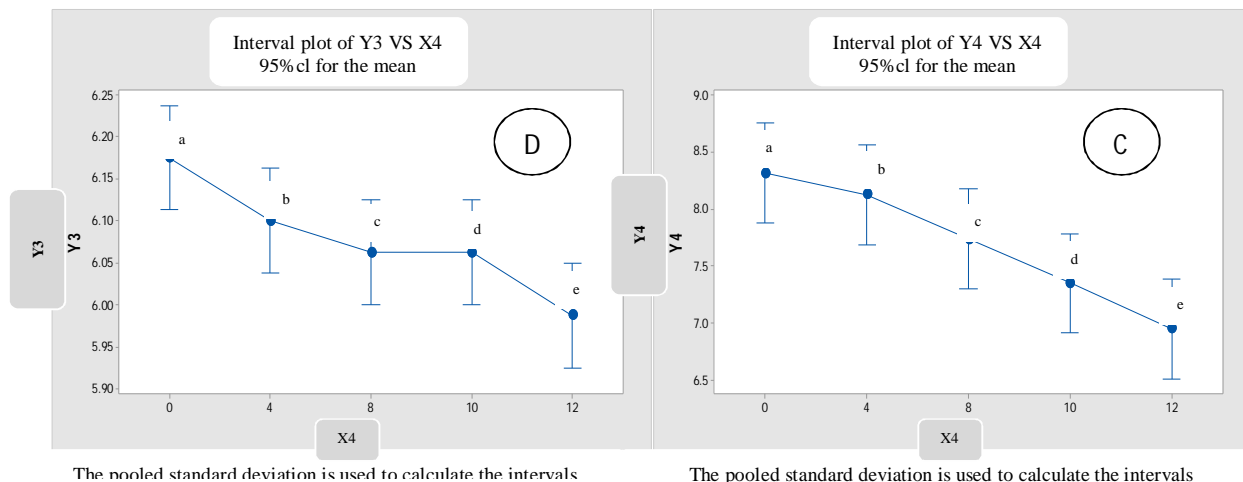
شکل 1- اثر مدت زمان نگهداری بر روی pH (A) و امتیاز طعم و مزه (B)

دما و زمان نگهداری و همچنین فرصت برای بروز تغییرات طعمی و یا آنزیمی پکتیناز و سایر هیدرولازهای ناشی از فعالیت باکتری‌ها، عوامل

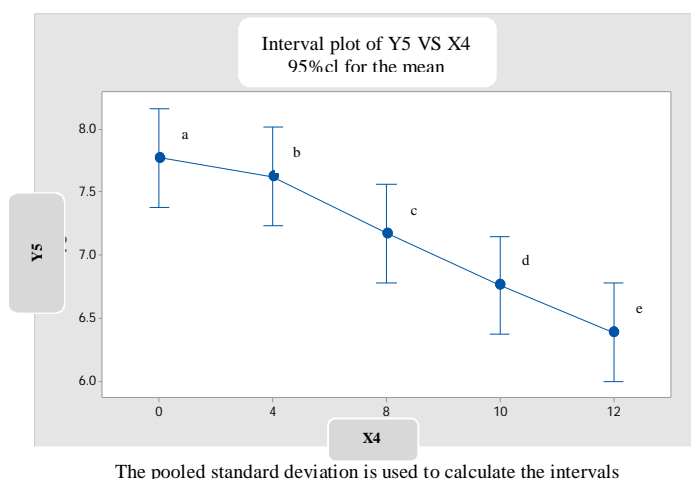
همچنین اثر زمان نگهداری بر روی همه ویژگی‌های نوشیدنی اثر معنی داری داشته است. به دلیل تسریع تغییرات شیمیایی با افزایش

دمای محیط کسب کرده‌اند (کریشنیا و همکاران، 1989). در طول مدت اندازه‌گیری در زمان‌های صفر، 4، 8، 10 و 12 هفته کاهش در pH مشاهده می‌شود.

طعم و احساس دهانی کاهش معنی‌داری داشته‌اند. تحقیقات سایر دانشمندان نیز نشان داده که نمونه‌های نوشیدنی نگهداری شده در یخچال امتیازات بیشتری در مقایسه با نمونه‌های نگهداری شده در



شکل 2- اثر مدت زمان نگهداری بر روی امتیاز رنگ (C) و احساس دهانی (D)



شکل 3- اثر مدت زمان نگهداری بر روی امتیاز پذیرش کلی در طول زمان نگهداری

نوشیدنی‌های وی گزارش شده است (بایاری و همکاران، 2001 و جانین و همکاران، 2005). در نوشیدنی‌هایی که حاوی آب ماست کمتری بودند امتیاز رنگ و طعم بالاتر بوده است. نتایج آنالیز واریانس نیز نشان می‌دهد که تاثیر درصد آب ماست بر مطلوبیت رنگ و طعم معنی‌دار است. متوسط امتیازهای رنگ و طعم در تحقیقات جانین و همکاران، (2005) نیز به‌طور مشابه با افزایش مقدار آب پنیر کاهش پیدا کرد.

کاهش پذیرش کلی نوشیدنی‌ها در طول زمان نگهداری با توجه

با توجه به وجود آنزیم‌های باکتریایی مقاوم به حرارت در آب ماست اسیدی تجزیه اجزای پروتئینی و پکتینی موجود در نوشیدنی محتمل است، که این امر می‌تواند دلیلی برای کاهش امتیاز احساس مطلوب دهانی در ارزیابی ویژگی‌های حسی باشد. این کاهش در تحقیق سایر دانشمندان نیز گزارش شده است. محبی و نجفی (1383) گزارش کردند که کاهش قابلیت نگهداری آب توسط مواد پروتئینی و پکتینی در طول زمان باعث کاهش احساس قوام نوشیدنی می‌شود. ارتباط متقابل شدت رنگ و احساس طعم مطلوب در

کم شدن مصرف شکر مورد نیاز برای حصول به شیرینی یکسان در مقایسه با نمونه های فاقد آنزیم شد. نوشیدنی فرموله شده بر پایه آب ماست در این پژوهش، علاوه بر دارا بودن ارزش غذایی بالای آب ماست، از طعم و پذیرش حسی مطلوبی به واسطه دارا بودن مواد طعم دار از کنسانتره آناناس و شکر برخوردار بود. نوشیدنی فرموله شده در دو شرایط دمایی هیچگونه کپک مخمری نداشته ولی به منظور حفظ بهتر طعم و شاخصه های حسی مطلوب نوشیدنی فرموله شده تا هفته هشتم در یخچال قابلیت نگهداری داشت. با توجه به آلاینده های بالای آب ماست در صورت رها شدن در محیط زیست و نیز بالا بودن میزان املاح و پروتئین های عملگرایی موجود در آن، نوشیدنی تولید شده از آب ماست اسیدی حاصل از فرآیند تولید ماست یونانی، می تواند گزینه مناسبی برای استفاده گروه های مختلف سنی باشد (جلسیک و همکاران، 2008).

### تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری برای تامین هزینه پروژه تحقیقاتی و همچنین شرکت شیر پاستوریزه پگاه زنجان به جهت امکان اجرای طرح در آن تشکر و قدردانی می نمایند.

به تغییرات گفته شده موجب نارضایتی ارزیابها و کاهش شدید امتیاز ارزیابی در هفته دهم شد.

### شمارش کپک و مخمر

در خصوص شمارش کپک و مخمر در نوشیدنی فرموله شده بلافاصله بعد از تولید، هیچ گونه کلنی مشاهده نشد. همچنین به دلیل رعایت شرایط بهداشتی و نیز بسته بندی تحت شرایط استریل تا پایان هفته نهم نگهداری در هر دو دمای نگهداری محیط و یخچال در نمونه های تلقیح شده در محیط کشت هیچ پرگنه کپک و مخمر مشاهده نشد. نتایج مشابهی علی زاده گودرزی و همکاران (1394) در نوشیدنی با فرمول بهینه در طی 28 روز نگهداری در 4 درجه سانتی گراد گزارش نموده اند. با توجه به نتایجی که بیانگر مطلوبیت شاخص میکروبی نوشیدنی است، احتمالاً، عامل محدود کننده تاریخ ماندگاری و قابلیت مصرف نوشیدنی، ناشی از فعالیت شیمیایی و آنزیمی می باشد.

### نتیجه گیری

با توجه به نتایج این پژوهش، افزودن لاکتاز در سطح 0/1% علاوه بر تاثیر مثبت و معنی دار بر طعم و ویژگی های حسی، موجب

### منابع

- Antunes, A.C., Cazetto, T.F., Bolini, H.L.A. 2005. Viability of probiotic micro-organisms during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentrate. *International Journal of Dairy Technology* 58, 169-173.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (16th Ed.). Arlington, VA: Association of Official Analytical Chemists: 1-45.
- Bayarri S, Calvo C, Costell E, Duran L. 2001. Influence of color on perception of sweetness and fruit flavor of fruit drinks. *Food Science Technology*, 7, 399-404
- Beucler, J., Drake, M., and Foegeding, E.A. 2005. Design of a beverage from Whey permeate. *Journal of Food Science*, 70, 277-285.
- Boehm, G., Fanaro, S., Jelinek, J., Stahl, B., & Marini, A. 2003. Prebiotic concept for infant nutrition. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics, Supplement*, 91, 64-67.
- Calbet, J.A.L., MacLean, D.A., 2002. Plasma Glucagon and Insulin Responses Depend on the Rate of Appearance of Amino Acids after Ingestion of Different protein Solutions in Humans. *The Journal of Nutrition* 132, 2174-2182.
- Chiba, S., Yamada, M., and Isobe, k., 2015. Novel acidophilic b-galactosidase with high activity at extremely acidic pH region from *Teratosphaeria acidotherma* AIU BGA-1. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 120 (3), 263-267.
- Codex Standard 192.1995, (Rev 2-1999). General Standard for food additives.
- Demir, M., Turhan, I., Kucukcetin, A., AlpKent, Z., 2013. Oil production by *Mortierella isabellina* from whey treated with lactase. *Bioresource Technology* 128 (2013), 365-369.
- Djuric, M., Milanovic, S., Midorag, M., Panic, M., 2004. Development of whey-based beverages. *European Food Research and Technology*, 219(4), 321-328.
- FAO. 2011. OECD/Food and Agriculture Organisation of the United Nations: OECD Publishing. In OECD FAO agricultural outlook. *Chapt*, 91, 59-173.
- Fischer, Ch., Kleinschmidt, T., 2015. Synthesis of galactooligosaccharides using sweet and acid whey as a substrate. *International Dairy Journal*, 48 15-22.
- Gekas, V., Lopez-Leiva, M., 1985. Hydrolysis of lactose: a literature review. *Process Biochem*, 20, 2-12.

- Gonzalez, R., Klaassens, E. S., Mahnen, E., De Vos, W. M., and Vaughan, E. E. 2008. Differential transcriptional response of *Bifidobacterium longum* to human milk formula milk, and galactooligosaccharide. *Applied and Environmental Microbiology*, 74, 4686-4694.
- Hui, W., Huiying, L., Yingguo, B., Yaru, W., Peilong, Y., Pengjun, S., Wei, Z., Yunliu, F., and Bin Y., 2009. An Acidophilic  $\beta$ -Galactosidase from *Bispora* sp. MEY-1 with High Lactose Hydrolytic Activity under Simulated Gastric Conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 5535-5541.
- Hung, M.N., Lee, B.H., 2002. Purification and characterisation of a recombinant galactosidase with transgalactosylation activity from *Bifidobacterium infantis* HL 96. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 58, 439-445.
- Howard H Weetall, Noshir B. 1974. The Preparation of Immobilized Lactase and Its Use in the Enzymatic Hydrolysis of Acid Whey. *Biothechnology and Bioengineering*, 151, 295-313.
- ISO 8589 (E), Sensory analysis - General guidance for the design of test rooms, 2007, *Second edition*, 12-15.
- Jelicic, I., Bozanic, R., Tratnik, L., 2008. Whey-based beverages- a new generation of dairy products. *Mljekarstvo: journal for dairy production and processing improvement*, 58(3), 257-274.
- Janine, B., Maryanne, D., and Allen, F.E. 2005. Design of a Beverage from Whey Permeate, *Journal of Food Science*, 70 (4), 277-285.
- Jelen, P. 2011. Utilization and Products. Whey Processing. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 4(2), 731-738.
- Katsanos, C.S., Kobayashi, H., Sheffield-Moore, M., Aarsland, A., Wolfe, R.R., 2006. A high proportion of Leucine is required for Optimal Stimulation of the Rate of muscle Protein Synthesis by Essential Amino Acids in the Elderly. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 291, E381-E387.
- Kosikowski, F.V., 1968. Nutritional beverages from acid whey powder. *Journal of dairy science*, 51, 8, 1299-1301.
- Krishnaiah, N., Reddy, C.R., Sastery, P.M., and Ramarao, M. 1989. Studies on the keeping quality of whey beverage. *Asian, Journal of Dairy research*, 8(1), 8-14.
- Maiorella, B.L., and Ccastillo, F.J. 1984. Ethanol, Biomass and Enzyme production for whey waste abatement. *Process biochemistry*, 157-161.
- Naik, Y.K., Khare, A., Choudhary, P.L., Goel, B.K., and Shrivastava. 2009. Studies on Physico-chemical and Sensory Characteristics of Whey Based Watermelon Beverage, *Asian Journal of Research Chemistry*, 2(1), 57-59.
- Nukumi, N., Iwamori, T., Kano, K., Naito, k., Tojo, H., 2007 Reduction of tumorigenesis and invasion of human breast cancer cells by whey acidic protein (WAP). *cancer letters*, 252(1), 65-74.
- Ozer B.H, Stenning.R.A, Grandison A.S and Robinson, R.K. 1999. Rheology and Microstructure of Labneh (*Concentrated Yogurt*). *Journal of Dairy Science*, 82, 682-689.
- Pescuma, M., Hébert E.M., Mozzi, F., de Valdez, G.F., 2010. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, 141, 73-81.
- Renner, E., 1989. Nutritional Aspects, In: *Whey and Lactose processing*, J.G. zadow, 449-471.
- Sah, B.N., Vasiljevic, T., Mskechnie, S., Donkor, O.N., 2016. Antibacterial and antiproliferative peptides in synbiotic yogurt-Release and stability during refrigerated storage. *Journal of Dairy Science*, 99(6), 4233-4242.
- Smithers, G.W., 2008. Whey and whey proteins from 'gutter to gold'. *International Dairy Journal* 18, 695-704.
- Tamime, A.Y., and Robinson, R.K. 2000. *Yoghurt Science and Technology*, Woodhead Publishing Limited.
- Varghese, J., and Haridas, M. 2007. Prospects of Jackfruit Blend Yoghurt Whey. *Word Journal of Dairy and Food Science*, 2(1), 35-37.
- Wagoner, Ty.B. E. Allen, Foegeding. 2017. Whey protein-pectin soluble complexes for beverage applications. *Food Hydrocolloids*, 63,130-138.
- Yamani, M.I. 1993. Yoghurt whey Medium for Food-Borne Yeasts, *Wiley International Science*, 28(1), 111-116.



## Investigation of the effect of lactase on flavor and sugar quantity of formulated whey based beverage during storage

Z. Raftani Amiri<sup>\*1</sup>, M. Ezazi<sup>2\*</sup>

Received: 2017.08.21

Accepted: 2017.12.27

**Introduction:** Nowadays, use of by products in formulation of functional foods in order to improve their nutritional value and also avoid environmental pollution in food industry is increasing. Whey, a by product of dairy industry is one of such compounds. The acid whey resulted from concentration of yoghurt, as a by-product, can be applied in whey based fruit beverages due to its minerals and beneficial residual proteins. It represents about 85–95% of the milk volume and contains nutrients, such as lactose as a most content, soluble proteins, lipids, minerals, vitamins, and organic acids. Acid whey has a pH of approximately 4.5 due to the conversion of lactose into lactic acid by lactic acid bacteria during the process of yoghurt production. Lactose is the main ingredient of whey, which comprises 90 percent of whey dry matter. According to FAO, the worldwide production of cheese was estimated to be 19,000 kilo tones (kt) in 2010, thus resulting in approximately 177,000 kt whey as a by product. The annual growth arises to production of approximately 211,000 kt whey in 2020. Therefore, the research for new lucrative whey utilization beside whey protein recovery is an ongoing challenge for the dairy industry. More than 70% of the world's population suffer from lactose intolerance, which limits consumption of lactose containing dairy products. Lactose intolerant individuals, who consume milk or other dairy products like as acid whey, even at small quantities, facing gastroenterological complications related to the uptake of calcium and certain other nutrients. Thus it is important to reduce the lactose content of mild and dairy by products before using them in new foods formulation. In this study production of low lactose whey by enzyme was investigated. Beta-D-Galactosidases, EC (3.2.1.23), is a hydrolase enzyme that converts lactose into glucose and galactose and increases the sweet taste in products. It is commonly known as lactase, which is one of the most important enzymes in food, dairy and fermentation industries. Mixing of the low lactose whey with fruit compound or concentrates and sweetener agents make delicious and functional new beverage.

**Materials and methods:** The acid whey resulted from concentration of Greek yoghurt, as a by-product, was applied in whey based fruit beverages. The lactase enzyme (Sapherra FMP) was prepared from Novozyme Company. Pineapple compound prepared by Orana Company from Denmark. The quantity of sugar (Shadianeh) in each sample has been investigated based on the equivalent sweetness recognition by panelists in lactase treated samples in comparison with non treated samples. Premixed sugar and stabilizer in precise amount for each treatment was added to water and agitated in stainless steel agitating mix. After that whey and pineapple compound, and then 1000 ppm enzyme were added to samples and kept at 4 degree Celsius for 3 hours and finally pasteurized. All samples homogenized by 150 bar in 60 degree Celsius. Packaging of samples was done in 250 gram tetra pack container at aseptic condition. The effect of lactase enzyme on sugar quantity and taste improvement of acid whey based beverage produced by 5 percent of pineapple compound, has been investigated by lactase enzyme (0 and 0.1 percent), acid whey (30 and 40 percent), storage temperature (ambient and refrigerator) and time storage (0, 4, 8, 10 and 12 weeks after production) on a factorial experiment in a completely randomized design.

**Results and discussion:** The results of sensory evaluation in 12 weeks at two different storing temperatures (refrigerator and ambient), showed that addition of lactase enzyme before pasteurization of whey based pineapple flavored compound could kept not only the pH on constant, and reduced the sugar quantity to achieve constant sweetness in all samples, but also improved the sensory specification of beverage, significantly ( $p < 0.05$ ). The maintaining of desirable taste and mouthfeel of the stored beverage in refrigerator until the end of the eighth week with no growth of mold and yeast were also observed at two storage temperatures.

**Keywords:** acid whey, beverage, lactase, sensory evaluation

1 and 2. Associate Professor and PhD. Student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

(\*Corresponding Author Email: zramiri@gmail.com)