

## بررسی روش تولید و ویژگی های فیزیکوشیمیایی، رئولوژی و حسی پنیر خامه ای حاوی پروبیوتیک و پری بیوتیک

### ۱- طاهره روشن ضمیر ۲- نبی شریعتی فر

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی - دانشگاه علوم پزشکی تهران  
۲- استادیار گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

[tahereroshanzmir@yahoo.com](mailto:tahereroshanzmir@yahoo.com)

### چکیده

پنیر خامه ای فرآورده‌ای از شیر است، که از نظر ویژگی های فیزیکی و کیفیت ظاهری مشابه پنیر سفید می باشد. در این تحقیق پنیر خامه ای به عنوان فرآورده‌ی سین بیوتیک حاوی پروبیوتیک و پری بیوتیک می باشد. باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر بیفیدیوم به پنیر خامه ای اضافه شده و قابلیت زنده ماندن آنها در طی مدت ۲۱ روز انبار مانی در ۵ درجه سانتی گراد بررسی گردید. اینولین به عنوان ترکیب پری بیوتیک در سطوح مختلف (۰٪، ۱٪، ۲٪) به پنیر خامه ای افزوده شده، تعداد سلول های قابل زیست لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر بیفیدیوم در مخلوط پنیر خامه ای تهیه شده با غلظت ۰٪ اینولین بین  $10^6 * 2/83$  و  $10^6 * 3/5$  با غلظت ۱٪  $10^6 * 2/3$  و  $10^6 * 3/5$  با غلظت ۲٪  $10^6 * 2/16$  و  $10^6 * 3/83$  در روز اول بوده که بعد از ۲۱ روز انبار مانی تعداد آنها در نمونه اینولین  $10^6 * 2/23$  و  $10^6 * 2/16$  نمونه ۱٪  $10^6 * 2/53$  و  $10^6 * 2/46$  نمونه ۲٪  $10^6 * 2/68$  و  $10^6 * 2/53$  کاهش یافت. به طور کلی نتایج حاصل از پژوهش نشان می دهد که اینولین در سطح ۲٪ اثر معنی داری بر قابلیت زنده ماندن باکترهای پروبیوتیک داشته است. نتایج نشان داد که اینولین در سطح ۱٪ اثر معنی داری بر کاهش PH و افزایش اسیدیته نداشته اما تاثیر سطح ۲٪ آن معنی دار بوده است. اینولین به طور معنی داری ویسکوزیته نمونه ها را افزایش داد.

کلید واژگان: ماست پنیر، محصول سین بیوتیک، اینولین، بقاء بیفیدوباکتر بیفیدیوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

## ۱- مقدمه

محصولی است که در لحظه مصرف  $10^6$ - $10^8$  میکروارگانسیم زنده و فعال پروبیوتیک را داشته باشد [۶].

بنابراین یکی از فاکتورهای اساسی برای استفاده از خواص پروبیوتیک ها زنده مانن آنها در طی دوره ی نگه داری مواد غذایی است. یکی از ترکیباتی که برای رسیدن به این هدف بکار می رود اینولین است زیرا این ترکیب در معده و روده ی کوچک جذب نمی شود و به همان شکل اولیه وارد روده ی بزرگ شده و به مصرف پروبیوتیک ها می رسند [۷].

محصول پنیر خامه ای به دلیل داشتن باکترهای اسیدلاکتیک دارای ارزش غذایی بالایی است و هم چنین در مقایسه با پنیر خامه ای میزان چربی کمتری دارد و بنابراین افرادی که دارای رژیم غذایی هستند می توانند از آن استفاده کنند.

## ۲- مواد و روش ها

تجهیزات و مواد اولیه که در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت عبارتند از:

۱-۲ روش های آزمون

۱-۱-۲ باکترهای آغازگر بکار رفته:

از کشت های آغازگر پروبیوتیک لیوفیلیزه تجارتي -ABY 3 و aby-10 تهیه شده از شرکت کریستین هانسن (محتوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریفیدیوم و باکترهای معمولی ماست) در یک لیتر شیر رقیق شده استفاده شده .

محیط کشت MRS آگار، بابل، از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. و پودر شیر پس چرخ، شیر ۳٪ چربی، پنیر تازه از شرکت

آگاهی روز افزون در مورد ارتباط بین رژیم غذایی و سلامت موجب افزایش رویکرد و توجه به غذاهای ویژه با خواص مطلوب شده است.

خصوصیات تغذیه ای و سلامت بخش فرآوردهای غذایی از فاکتورهای بسیار اساسی در پذیرش محصول از سوی مصرف کننده می باشد [۱]. طبق تعاریف مختلف پروبیوتیک را می توان به عنوان میکروارگانسیم زنده غیر بیماریزا تعریف کرد که می تواند برای سلامت بدن به دلیل حفظ و بهبود تعادل میکروبی روده مفید باشد. امروزه اهمیت محصولات پروبیوتیک به خوبی مشخص شده و در نتیجه محصولات بسیاری از این قبیل برای مصرف انسان در دسترس هستند [۲].

باکترهای اسید لاکتیک به ویژه لاکتوباسیلوس ها و بیفیدوباکتریفیدیوم جزئی از اکوسیستم دستگاه گوارش هستند و پروبیوتیک محسوب می شوند [۳]. فرآوردهای لبنی مهم ترین حامل پروبیوتیک ها محسوب می شوند و به عنوان مرسوم ترین محیط بستر ساز جهت رشد و تکثیر پروبیوتیک ها در نظر گرفته می شوند [۴]. در جهت اهمیت باکترهای پروبیوتیک و اثرات سلامتی بخش محصولات وابسته در این پژوهش پنیر خامه ای سین بیوتیک تولید شده. که در آن بقاء پروبیوتیک ها را می توان با کاربرد هیدراتهای کربن پری بیوتیک نظیر اینولین افزایش داد و ماده ی غذایی که حاوی پری بیوتیک باشد رشد بیفیدو باکتر و لاکتوباسیلوس های ساکن روده را تحریک نموده و فعالیت پاتوژن ها را کاهش می دهد [۵].

اما یکی از چالش های مهم در زمینه تولید محصولات پروبیوتیک پایین بودن قابلیت زنده مانن باکترهای پروبیوتیک در محصولات غذایی است و هم چنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی است. در حالی که طبق FAO محصول پروبیوتیک استاندارد

به منظور ارزیابی میکروبی پروبیوتیک ها در محصول و به فاصله هر ۷ روز از محصول نمونه برداری شد. جهت شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریفیدیوم از محیط کشت MRS بایل آگار استفاده شد. پلیت های بیفیدوباکتر در شرایط بی هوازی و لاکتوباسیلوس در شرایط هوازی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد.

۵-۱-۲- اندازه گیری PH و اسیدیته

PH نمونه ها با استفاده از دستگاه PH متر Methrom مدل ۸۲۷ (ساخت کشور سوئیس) اندازه گیری شد. اندازه گیری اسیدیته (بر حسب درجه دورنیک) با استفاده از سود ۰/۱ نرمال و فنل فتالین بعنوان شناساگر انجام شد.

۶-۱-۲- آزمون ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه ها پس از مرحله رساندن توسط دستگاه بروکفیلد (مدل DV2T، ساخت کشور آمریکا)، در دمای ۲۳ درجه سانتی گراد و با اسپیندل شماره ۶ اندازه گیری شد [۹]. برای تعیین ویسکوزیته دادهای بدست آمده را با هم مقایسه نموده و نمودار آنها را رسم نموده. با توجه به مطالعات [۱۰] نمونه ای ماست دارای رفتار غیر نیوتنی هستند.

۷-۱-۲- ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی محصول از ۱۵ داور آموزش دیده استفاده شد. نمونه ها از نظر طعم، بافت دهانی، بافت غیر دهانی (قابلیت قاشق برداری)، ظاهر و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه ای ارزیابی شدند به طوری که به نمونه خیلی خوب ۴، خوب ۳، متوسط ۲، ضعیف ۱ و غیر قابل قبول ۰ تعلق گرفت.

۸-۱-۲- طرح آماری

### ۳- نتایج و بحث

۱-۳- PH و اسیدیته

با مشاهده جدول ۱ مشخص می شود که بیشترین PH مربوط به نمونه کنترل و اینولین ۱٪ می باشد و افزودن اینولین به پنیر

پگاه همدان خریداری گردید و ترکیب پری بیوتیک اینولین از شرکت پگاه تهران تهیه گردید.

۲-۱-۲ تولید پنیر خامه ای مطابق روش [۸] صورت گرفت. جهت تولید ماست از شیر ۳٪ چربی استفاده گردید. و از شیر پس چرخ جهت تنظیم ماده جامد استفاده گردیده. ابتدا شیر استاندارد شده را در دمای ۹۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه حرارت دهی شده و سپس تا دمای ۴۲ درجه سانتی گراد سرد گردیده و میزان تلقیح استارتر که بر اساس شرکت سازنده آماده گردیده و به داخل حجم شیر مورد نیاز تلقیح شده (استارتر حاوی باکترهای پروبیوتیک همراه با باکتری سنتی ماست) و پروبیوتیک به میزانی تلقیح می شود که تعداد باکترهای محصول به  $10^8$  برسد. بعد از تلقیح استارتر اینولین در سطوح (۰٪، ۱٪، ۲٪) تهیه کرده و به نمونه افزوده. و نمونه را به داخل انکوباتور ۴۲ درجه انتقال داده تا  $ph=4.5$  برسد و بعد چند ساعت نمونه را به سردخانه ۵ درجه سانتی گراد انتقال میدهم.

پنیر تازه را کاملاً له کرده و با ماست تهیه شده با خصوصیات فوق الذکر با نسبت های مختلف مخلوط نموده و وارد دستگاه هموژن کرده که نمونه کاملاً بافتی یکنواخت پیدا کند و در انتها نمونه را در ظروف بسته بندی ریخته و در سردخانه ۵ درجه سانتی گراد قرار داده و شمارش باکترهای پروبیوتیک را در روز اول و انتهای دوره های انبار مانی انجام می دهیم.

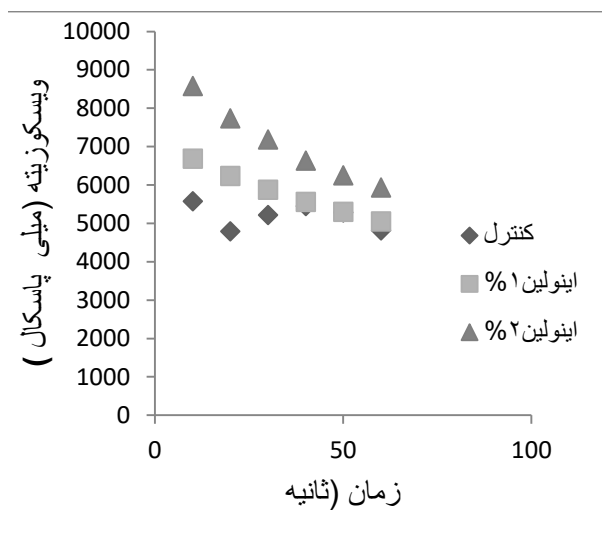
به طوری که مقدار ۱۰ گرم از نمونه را در ۹۰ سی سی رینگر حل نموده و یک میلی لیتر از آن را در پلیت ریخته و محیط کشت MRS آگار را بر روی آن ریخته. برای شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از محیط کشت MRS آگار در شرایط هوازی استفاده می شود. و برای شمارش بیفیدوباکتر از محیط کشت MRS بایل آگار در شرایط بیهوازی استفاده می شود.

۳-۱-۲ بررسی تیمارهای انجام شده

در این تحقیق از اینولین در سه سطح (۰٪، ۱٪، ۲٪) استفاده شده و در نهایت محصول در زمان نگهداری ۲۱، ۱۴، ۷، ۱، ۰ مورد ارزیابی قرار گرفت.

۴-۱-۲- آزمون میکروبی

خاصیت جاذب الرطوبه بودن اینولین و توانایی باند کردن آب نسبت داد [۱۱]. وقتی اینولین با آب یا هر مایع دیگری مخلوط می شود کریستال های میکرونی ذرات اینولین، شبکه ژلی سه بعدی را تشکیل می دهند که سبب می شود مقادیر زیادی آب در این شبکه بی حرکت باقی بماند و حالت فیزیکی محلول را تثبیت کند [۶].



شکل ۱ رابطه زمان و ویسکوزیته

همانطور که از نمودار مشخص است بالاترین ویسکوزیته مربوط به نمونه با اینولین ۲٪ است همچنین در نمونه ها با پیشرفت زمان ویسکوزیته کاهش یافته است.

خامه ای PH را کاهش داده است. اینولین در سطح ۱٪ تاثیر معنی داری بر کاهش PH نداشته اما مقدار ۲٪ آن به طور معنی داری PH را کاهش داده است. در این تحقیق گزارش کردند که با افزایش اینولین در بستنی، اسیدیته به طور معنی داری افزایش یافته است. افزودن اینولین در نمونه و به دنبال آن تشکیل حالت ژلی سبب تاخیر در غیر فعال شدن استارترها هنگام نگهداری در یخچال و بنابراین افزایش اسیدیته و کاهش PH می شود. اگرچه در استاندارد بین المللی PH خاصی برای محصول وجود ندارد اما با بررسی انجام شده و تولید محصول در کشورهای دیگر PH نمونه در محدوده ی بین ۴/۵-۵ گزارش شده است [۸].

جدول ۱ اثر اینولین بر PH و اسیدیته

نمونه	PH	اسیدیته
کنترل	4/84	121/6
اینولین ۱٪	4/84	123/4
اینولین ۲٪	4/7	130/6

۳-۲- ویسکوزیته

تاثیر اینولین بر ویسکوزیته مخلوط پس از مرحله تولید در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می دهد که با افزودن اینولین ویسکوزیته نمونه ها نسبت به نمونه کنترل افزایش یافته اما بین سطوح مختلف اینولین برای افزایش ویسکوزیته خیلی تاثیری ندارد. افزایش ویسکوزیته در اثر افزودن اینولین را می توان به

جدول ۲ روند تغییرات ویسکوزیته با زمان

نمونه	(S)10	(S)20	(S)30	(S)40	(S)50	(S)60
کنترل	5575	4787	5212	5450	5287	4812
اینولین ۱٪	6687	6237	5875	5562	5300	5050
اینولین ۲٪	8575	7737	7187	6637	6250	5937

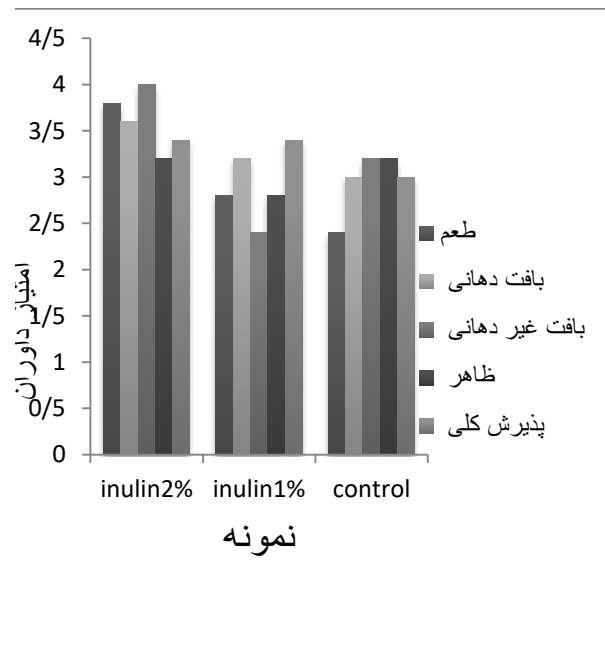
پرسش با افزایش مقدار اینولین بهبود یافته اند. استفیلو و همکاران [۱۲] با بررسی تاثیر برخی از فیبرهای رژیمی بر خواص حسی پنیر بیان کردند نمونه های حاوی اینولین بیشترین امتیاز مربوط به طعم را کسب کرده است. اینولین به عنوان بهبود دهنده

۳-۳- ارزیابی حسی

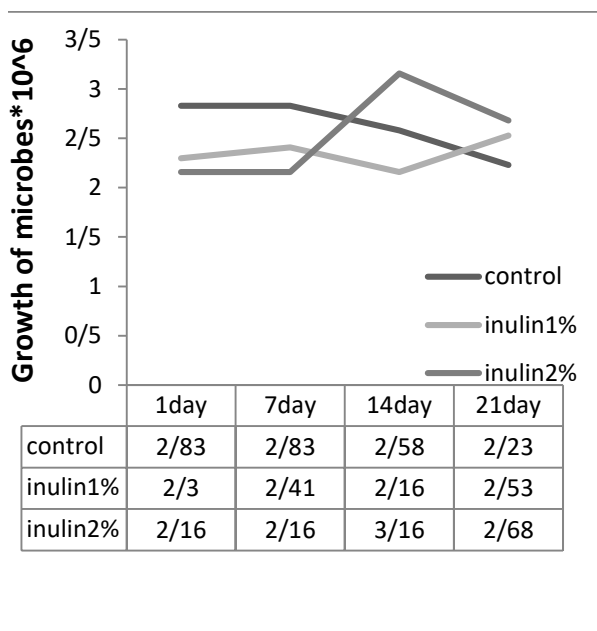
نتایج ارزیابی حسی نمونه های حاوی اینولین در شکل ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان داده که تمام خصوصیات حسی مورد

بافت عمل می کند زیرا با تشکیل کریستال های ریز ساختار ژلی را تشکیل می دهد که مسئول بوجود آوردن حالت خامه ای در بافت محصول میشود[۶].

حاوی ۱ و ۲ درصد اینولین پس از ۲۱ روز نگه داری به ترتیب به  $1.06 \times 10^6$  و  $2.53 \times 10^6$  رسیده است. تعداد بیفیدوباکتری بیفیدوم در نمونه بدون اینولین (کنترل) طی این دوره ۲۱ روزه از  $3.10^6$  به  $2.16 \times 10^6$  رسیده در نمونه حاوی ۱٪ اینولین تعداد بیفیدوباکتر- بیفیديوم پس از ۲۱ روز  $2.46 \times 10^6$  بوده که نسبت به نمونه کنترل ( $2.16 \times 10^6$ ) حاوی تعداد بیشتری از سلول های پروبیوتیک در انتهای دوره نگه داری بود. به طور کل باید گفت که اینولین در سطح ۲٪ میزان افت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را نسبت به نمونه کنترل کاهش داده اما در مورد بیفیدوباکتر بیفیديوم سطح ۱ و ۲ درصد اینولین هر دو به یک میزان بر کاهش افت سلولی اثر داشته است.



شکل ۴ روند رشد باکتری پروبیوتیک (LA)



شکل ۵ روند رشد باکتری پروبیوتیک (Bb)

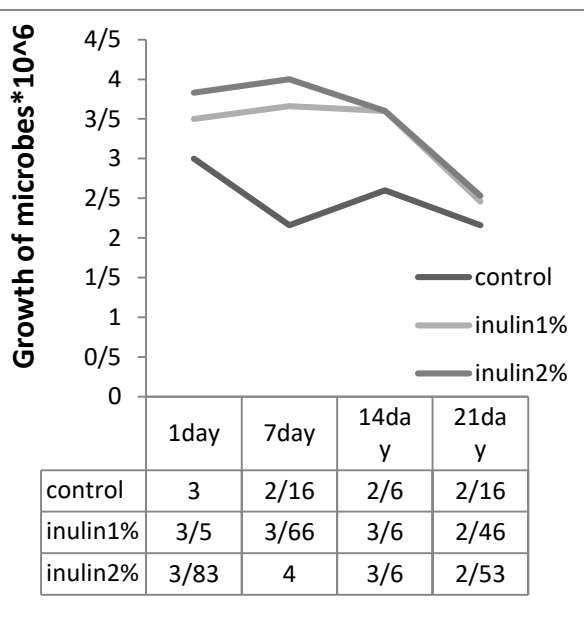
شکل ۲ ارزیابی حسی نمونه های حاوی اینولین

#### ۳-۴ ماندگاری پروبیوتیک ها

نتایج حاصل نشان می دهد که در نمونه های حاوی ۱ و ۲٪ اینولین تا روز ۷ سرعت کاهش باکتریها کم بوده و همچنان رشد باکتریها مشاهده کرده و بعد از روز ۷ تعداد باکتریها کاهش یافته ولی در نمونه کنترل از همان ابتدا کاهش باکتری مشاهده شد.

همانطور که در نمونه ها مشخص است سرعت کاهش تعداد باکتریهای پروبیوتیک در نمونه های دارای اینولین نسبت به نمونه کنترل کمتر بوده است. پس از پایان دوره ی نگه داری نمونه های حاوی اینولین در حفظ و زنده مانی پروبیوتیک ها موفق تر عمل کرده اند و با افزایش مقدار اینولین زنده مانی باکتریها افزایش یافته است. این تفاوت در مورد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به بیفیدوباکتر بیفیديوم قابل ملاحظه تر بوده است. در نمونه کنترل تعداد لاکتوباسیلوسها از میزان اولیه  $1.06 \times 10^6$  به  $2.83 \times 10^6$  رسیده در حالی که در نمونه

مانی پروبیوتیک ها در نمونه های حاوی اینولین را می توان به خاصیت ژل دهندگی و نفوذ کمتر اکسیژن طی مرحله رساندن نسبت داد که باعث می شود آسیب کمتری به پروبیوتیک ها برسد. علاوه بر این اینولین می تواند مانند یک پایدار کننده عمل کند و با بهبود بافت محصول و ممانعت از رشد کریستال های یخ در طی دوره ی نگه داری، سبب جلوگیری از آسیب به دیواره سلولی پروبیوتیک ها و بنابراین مانع از افت قابل توجه می شود.



نتایج مطالعه آکالین و اریزیر [۱۳] نیز در تایید نتایج بدست آمده در این تحقیق، نشان داد اینولین در زنده مانن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به بیفیدوباکتر بهتر عمل کرده است. به طور کلی باید گفت در مقایسه با نمونه کنترل، ماندگاری باکتریهای پروبیوتیک در نمونه های حاوی اینولین بهتر بوده است. بهبود زنده

جدول ۳ روند تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر بیفیدیوم در نمونه های حاوی اینولین

نمونه	باکتری	روز ۱	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
کنترل	LA	۲/۸۳*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۸۳*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۵۸*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۲۳*۱۰ <sup>۶</sup>
	Bb	۳*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>
اینولین ۱%	LA	۲/۳*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۴۱*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۵۳*۱۰ <sup>۶</sup>
	Bb	۳/۵*۱۰ <sup>۶</sup>	۳/۶۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۳/۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۴۶*۱۰ <sup>۶</sup>
اینولین ۲%	LA	۲/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۳/۱۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۶۸*۱۰ <sup>۶</sup>
	Bb	۳/۸۳*۱۰ <sup>۶</sup>	۴*۱۰ <sup>۶</sup>	۳/۶*۱۰ <sup>۶</sup>	۲/۵۳*۱۰ <sup>۶</sup>

با توجه به نتایج به دست آمده در این تحقیق، می توان گفت که پنیر خامه ای به عنوان یک حامل، برای انتقال میکروارگانیسم های پروبیوتیکی به بدن انسان در نظر گرفته شد. از آنجائیکه در

#### ۴- نتیجه گیری

sciencead curing university of Tabriz  
publisher.tabriz.Iran

[6].Roberfroid,M.(2005).Inulin-Typefructans  
Functional Food Ingredients.CRC press.367p.

[7].Gonzalez-Tomas,I,Bayrri,S and  
costell,E.(2009).Inulin-enriched dairy  
desserts:physic.co chemical and sensory  
aspects.Journal of dairy science.92(9):4118-  
4199

[8].Jon.RGuutknecht eat al.yogurt-cheese  
products,and methods of making the  
same.US20050233049AL.

[9].Akin,M.B.Akin,M.S,and  
kirmaci,Z.2007.Effects of inulin and sugerleves  
on the viability of yogurt and the physical and  
sensory characteristics in probiotic ice-cream.  
Food chemistry. 104:93-990.

[۱۰].رضایی ر،خمیری م،اعلمی م،کاشانی نژاد م.بررسی اثر  
اینولین بر خواص فیزیکیوشیمیایی،رئولوژی،حسی و زنده مانی  
پروبیوتیک ها در ماست منجمد.فصلنامه علوم و صنایع غذایی  
زمستان ۱۳۹۲،دوره ۱۰،شماره ۴۱.

[11].EL-  
Nagar,G.,Clowes,G.,Tudorica,C.M.,Kuri,V.,and  
Brennan,C.S.200.Rheological quality and  
stability of yoe ice-cream with added inulin.  
International Journal of dairy Technology  
.55:89-93.

[12].Staffolo,M.D.,Bertola,N.,Martion,M.,and  
Bevilacqua.y.A.2004,influence of dietary Fiber  
addition on sensory and rheological properties  
of yogurt.international dairy Journal.14:263-  
268.

[13].Akalin,A.S.and Erisir, D .,2008.Efect of  
inulin and oligofructose on the rheological

تولید پنیر خامه ای از باکتریهای سنتی ماست استفاده شده که  
دارای اثرات سلامتی بخش هستند و نیز استفاده از ترکیبات  
پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ترکیب پری بیوتیکی  
اینولین، در ساخت محصول،می توان گفت که یک محصول سین  
بیوتیک تولید شده است که دارای خواص درمانی و سلامت بخش  
برای مصرف کننده می باشد.همین طور در این تحقیق مشخص  
شده که استفاده از اینولین علاوه بر این که باعث بهبود  
خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و حسی محصول می شود،سبب  
کاهش میزان افت تعداد پروبیوتیک ها تا پایان دوره نگهداری  
نسبت به نمونه کنترل می شود. با توجه به نتایج حاصل از این  
تحقیق،نمونه حاوی ۲٪ اینولین هم به لحاظ حفظ زنده مانی  
پروبیوتیک ها و هم از نظر مصرف کنندگان بهترین نمونه ارزیابی  
شد.

## منابع

[1].Mortazavian,A.M.,Sohrabvandi,S.1385.A  
Reviewon probiotics food products dairy  
products .Tehran,Atapress,483p.inpersian.

[2].Kailasa pathy,K.(2006).Survival of free and  
encapsulated probiotic bacteria and their  
effect on the sensory properties of yogurt.  
Wissehschhaft and technologic.food science  
and technology.39(10):1221-1227.

[3].upadhyan,Moudgav.probiotics:A Review.j  
com 2012:19(2):76-84

[۴].محمدی فاطمه و همکاران.۱۳۹۲.میزان بقاء باکتری های  
لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در ماست  
های پروبیوتیک.مجله علمی پزشکی جندی شاپور،دوره  
۱۳،شماره ۳، ۱۳۹۳

[5].Homay,uni,A(2008).Healthy characteristics  
of functional  
foods,probiotic,prebiotic,symbiotic.Medical

characteristics and probiotic culture survival in  
low fat probiotic ice cream ,journal of food  
science.73:184-188



پنجمین همایش ملی توسعه علوم فناوریهای نوین در گیاهان دارویی، شیمی و زیست شناسی ایران  
**5th** National Conference on Modern Research in Medicinal plants, chemistry and biology of Iran  
.....  
[www.dpconf.ir](http://www.dpconf.ir)