نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر - آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۳۷-۴۲۸

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 428-437

مطالعه تأثیر صمغ عربی، پروتئین‌های تغلیظ شده شیر و آب پنیر بر خصوصیات کیفی ماست سین‌بیوتیک حاوی ترانس گلوتامیناز میکروبی

آیدا صالح[۱]، محمود رضازاد باری*[۲]، محمد علیزاده خالد آباد[۳]، نجمه صباحی محمدی[٤]

تاریخ دریافت ۱۳۹۳/۰۳/۱۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۳۰

چکیده:

در این پژوهش، تأثیر مخلوطصمغ عربی، پروتئین آب پنیر تغلیظ شده (WPC) و پروتئین تغلیظ شده شیر (MPC) بر خصوصیات کیفی ماست سین‌بیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی بررسی شد. مقدار این ترکیبات پروتئینی، مقدار آنزیم، زمان افزودن آنزیم به نمونه‌های ماست و زمان نگهداری نمونه‌ها متغیر بود. به‌منظور بررسی قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتر انیمالیس* زیرگونه *لاکتیس*از محیط کشت افتراقی MRS-LP Agar استفاده گردید. میزان اسیدیته، ظرفیت نگهداری آب، آب‌اندازی و همچنین ویسکوزیته نیز اندازه‌گیری شدند. اثرصمغ عربی، پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، پروتئین تغلیظ شده شیر، زمان نگهداری و مقدار آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). سرعت توسعه اسید در نمونه‌هایی که آنزیم بعد از پاستوریزاسیون افزوده شد بیشتر بود. در ابتدای دوره‌ی نگهداری، اثر پروتئین آب پنیر تغلیظ شده بر ظرفیت نگهداری آب بیشتر از سایر فاکتورها بود در حالیکه در پایان دوره‌ی نگهداری پروتئین تغلیظ شده شیر بیشتر از سایر فاکتورها ظرفیت نگهداری آب را افزایش داد. آب‌اندازی به مرورزمان کاهش یافت. بررسی ویسکوزیته نشان داد که پروتئین تغلیظ شده شیر در مقایسه با سایر فاکتورها بیشترین تأثیر را در افزایش ویسکوزیته دارد. نتایج کلی نشان داد که با استفاده از مخلوط صمغ عربی، پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، پروتئین تغلیظ شده شیر و آنزیم ترانس گلوتامیناز، می‌توان کیفیت ماست سین‌بیوتیک و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک حساس *بیفیدوباکتر انیمالیس* زیرگونه‌ی *لاکتیس* را بهبود بخشید.

واژه‌های کلیدی: ماست سین‌بیوتیک، *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*، قابلیت زنده‌مانی، ترانس گلوتامینازمیکروبی

مقدمه

شیر و محصولات لبنی یکی از ۴ گروه عمده‌ی غذاهایی هستند که تعادل را در رژیم غذایی ایجاد می‌کنند. کمیسیون غذایی کدکس در سال ۱۹۹۲ ماست ساده را بعنوان یک فرآورده شیری انعقاد یافته حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر توسط دو باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* معرفی کرد (خالصی، ۱۳۸۹). این محصول دارای ترکیبات با ارزش تغذیه‌ای از جمله ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌باشد. ویتامین‌ها و مواد معدنی موجود در ماست نسبت به شیر زیست دسترسی[5]بیشتری دارند (Patel, 2011). با افزایش سطح آگاهی مصرف‌کنندگان و توجه بیشتر به رژیم غذایی، غذاهای عملگرا و به بیان دیگر غذاهای فراسودمند جایگاه ویژه‌ای یافته‌اند. غذای عملگرا[6] غذاهای شبیه به غذاهای متعارف هستند اما زمانی که جزئی از رژیم غذایی باشند خواص درمانی از خود نشان می‌دهند. فرآورده‌های پروبیوتیک در حال حاضر به‌عنوان شناخته شده‌ترین محصولات غذایی عملگرا بشمار می‌روند. پروبیوتیک یک مکمل میکروبی است که از طریق متعادل‌سازی میکروب‌های بومی روده، اثرات مفیدی بر بدن اعمال می‌کند و امروزه در فرمولاسیون داروها و غذاها، به‌خصوص فراورده‌های تخمیری شیر استفاده می‌شود (Charteris*et al*.,1997). جنس‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر دو نوع معمول پروبیوتیک مورد استفاده در فراورده‌های شیری هستند. از مزایای مهم این باکتری‌ها، کاهش کلسترول سرم، ممانعت از

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیاران، گروه علوم وصنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه.
۴-دانشجوی دکترا، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.
(* - نویسنده مسئول: Email: m.rezazadehbari@urmia.ac.ir)

5Bioavailibility
6Functional

سرطان روده، تقویت سیستم ایمنی بدن، و بهبود متابولیسم پروتئین می‌باشد (Christopher*et al*.,2009).

جهت کمک به زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌توان از پری‌بیوتیک‌ها و یا ترکیبات محرک رشد استفاده نمود.پری بیوتیک‌هااجزای غذایی غیرقابل هضم هستند که توسط باکتری‌های خاص مصرف شده و می‌توانند جهت افزایش رشد و بقا باکتری‌ها به آنها افزوده شوند. این ترکیبات عمدتا بصورت منبع قندی و یا منبع نیتروژنی هستند (خسروی دارانی و کوشکی، ۱۳۸۷). صمغ عربی صمغ مترشحه از درخت آکاسیا است و عمدتاً از یک پلی‌ساکارید بسیار منشعب متشکل از واحدهای رامنوز- آرابینوز- گالاکتوز، گلوکورونیک اسید و مقداری کمپلکس پلی‌ساکارید- پروتئین که آرابینوگالاکتان با پیوند کووالان محکم به زنجیر پروتئین متصل شده‌است تشکیل می‌شود (Phillips, Williams&2009). بررسی‌های برخی محققین نشان داده‌است که صمغ عربی یک پری‌بیوتیک می‌باشد و به زنده مانی پروبیوتیک‌ها کمک می‌کند (Calame*etal*.,2008, Desmond *et al*.,2002). ترکیب پروبیوتیک و پری‌بیوتیک سین‌بیوتیک نامیده می‌شود که به واسطه بهبود زنده‌مانی و تکثیر باکتری‌های فلور روده و افزایش رشد یا فعال‌سازی متابولیسم باکتری‌ها، اثرات مفیدی در میزبان ایجاد می‌کند. WPC ضمن اینکه یک ترکیب جایگزین چربی است، محرک رشد پروبیوتیک‌ها نیز به‌شمار می‌رود. میزان پروتئین WPC بین ۸۰-۳۴٪ است (Akalin *et al*., 2007). آب پنیر حاوی میزان نسبتاً بالای پروتئین‌های سرمی، لاکتوز، مواد معدنی و ویتامین‌هاست. به دلیل ارزش بیولوژیکی بالای پروتئین‌های سرمی و همچنین نقش آنها در کاهش تری‌گلیسرید و فشار خون، استفاده از این پروتئین‌ها در رژیم غذایی مورد توجه قرار گرفته‌است. WPC باعث افزایش ظرفیت بافری محصول، کاهش سرعت توسعه اسید و در نتیجه افزایش ماندگاری محصول می‌گردد (Gauche*et al*., 2010). پروتئین تغلیظ شده شیر به دلیل داشتن پروتئین بالا سبب افزایش ماده خشک شیر و تولید ماستی با ویژگی‌های کیفی بهتر خواهد شد. هرچه میزان پروتئین پودر بیشتر باشد میزان لاکتوز آن کمتر است(Şanli*et al*., 2011).

اصلاح پروتئین با آنزیم مزایای زیادی دارد که مهم‌ترین آن‌ها عملکرد اختصاصی آنزیم و نیز امنیت غذایی بالاتر می‌باشد. این روش طی ۱۰ سال اخیر در صنایع مختلف از جمله گوشت، شیلات، لبنیات و غلات به‌کار می‌رود. آنزیم ترانس گلوتامینازیک آسیل ترانسفراز است و منجر به تشکیل اتصالات عرضی می‌گردد (Şanli*et al*., 2011). این آنزیم عمدتاً با جابجایی بین گروه گاما کربوکسامید اسیدآمینه گلوتامیک اسید بعنوان دهنده‌ی آسیل و آمین ابتدایی اسید آمینه لیزین بعنوان گیرنده‌ی آسیل باعث تشکیل پیوندهای درونی و بیرونی پروتئین‌ها می‌شود (Gauche*et al*., 2010). توانایی ایجاد اتصال عرضی توسط این آنزیم به ساختار مولکولی پروتئین بستگی دارد (YÜksel&Erdem, 2010). هدف از این پژوهش مطالعه تأثیر افزودن همزمان یک مخلوط حاوی سه جزء پروتئینی یعنی صمغ عربی، WPC وMPC، آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی و همچنین اثر متقابل این اجزا بر خواص کیفی ماست سین‌بیوتیک می‌باشد.

مواد و روش‌ها

شیر ۲/۵٪ چربی از شرکت اروم بنیان (سانا) ارومیه، (۳۴٪) WPC و (۶۰٪) MPC از شرکت کیان مشکات و صمغ عربی از شرکت Scharlau اسپانیا تهیه شد. استارتر نوع YC-350و پروبیوتیک *B.animalis*Subsp.*lactis* از نمایندگی شرکت CHR-HANSEN دانمارک خریداری شد. آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (ActivaMP) از شرکت Ajinomoto فرانسه و MRS-Agar از نمایندگی شرکت Merck تهیه گردید.

روش تولید نمونه‌های ماست

ترکیب پروتئینی MPC, WPC و صمغ عربی طبق طرح آزمایشات (جدول ۱)، در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به شیر هر تیمار افزوده گردید و تا اختلاط کامل همزده شد. بر مبنای این طرح آماری به تعدادی از نمونه‌ها، آنزیم در مقادیر ۵۰، ۳۰ و ۱۰ واحد/ لیتر شیر افزوده شد و ۱ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. در ادامه، نمونه‌ها در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم پاستوریزه شده و سریعاً تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شدند. استارتر و پروبیوتیک طبق دستورالعمل شرکت سازنده تلقیح شد و شیر هر تیمار به ظروف استریل ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. گرمخانه‌گذاری به مدت ۳/۵ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. طبق طرح آماری آنزیم ترانس گلوتامیناز باید بعد از پاستوریزاسیون به برخی از نمونه‌ها افزوده می‌شد. نمونه‌هایی که قبل از پاستوریزاسیون به آن‌ها آنزیم اضافه نشد در شرایط ذکر شده در بالا پاستوریزه و تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک شدند. سپس استارتر و پروبیوتیک طبق دستورالعمل شرکت سازنده به همراه آنزیم ترانس گلوتامیناز مطابق با طرح آزمایشات به نمونه‌ها افزوده گردید. گرمخانه‌گذاری نیز مطابق شرایط مذکور انجام شد. کلیه‌ی نمونه‌های ماست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و در روزهای ۱، ۱۱ و ۲۱ مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جدول ۱- طرح آزمایشات

Run	Block	A	B	C	D	E	F
		%	%	%	واحد/ لیتر شیر[1]	روز	
۱	بلوک ۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	قبل پاستور
۲	بلوک ۱	۱/۵	۰	۰	۵۰	۱	قبل پاستور
۳	بلوک ۱	۰	۱/۵	۰	۱۰	۱	بعد پاستور
۴	بلوک ۱	۰	۱/۵	۰	۵۰	۲۱	بعد پاستور
۵	بلوک ۱	۰	۰	۱/۵	۵۰	۲۱	بعد پاستور
۶	بلوک ۱	۱/۵	۰	۰	۱۰	۲۱	بعد پاستور
۷	بلوک ۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	قبل پاستور
۸	بلوک ۱	۰	۰	۱/۵	۱۰	۱	قبل پاستور
۹	بلوک ۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	بعد پاستور
۱۰	بلوک ۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	بعد پاستور
۱۱	بلوک ۲	۰	۰	۱/۵	۵۰	۲۱	قبل پاستور
۱۲	بلوک ۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	قبل پاستور
۱۳	بلوک ۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	قبل پاستور
۱۴	بلوک ۲	۱/۵	۰	۰	۵۰	۲۱	قبل پاستور
۱۵	بلوک ۲	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	بعد پاستور
۱۶	بلوک ۲	۰/۷۵	۰	۰/۷۵	۱۰	۱	بعد پاستور
۱۷	بلوک ۳	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۳۰	۱۱	بعد پاستور
۱۸	بلوک ۳	۰/۷۵	۰	۰/۷۵	۱۰	۲۱	قبل پاستور
۱۹	بلوک ۳	۰	۰	۱/۵	۵۰	۱	بعد پاستور
۲۰	بلوک ۳	۱/۵	۰	۰	۵۰	۱	بعد پاستور
۲۱	بلوک ۳	۱/۵	۰	۰	۱۰	۱	قبل پاستور
۲۲	بلوک ۳	۰	۱/۵	۰	۵۰	۱	قبل پاستور
۲۳	بلوک ۳	۰	۰	۱/۵	۱۰	۲۱	بعد پاستور
۲۴	بلوک ۳	۰	۱/۵	۰	۱۰	۲۱	قبل پاستور

A: پروتئین آب پنیر تخلیط شده، B: پروتئین تخلیط شده شیر، C: صمغ عربی، D: مقدار آنزیم، E: زمان نگهداری، F: زمان افزودن آنزیم

شمارش پروبیوتیک

بمنظور شمارش پروبیوتیک BB-12 از محیط کشت MRS-LP Agar[1] استفاده شد. محیط کشت بااستفاده از ۰/۲٪ لیتیم کلراید و ۰/۳٪ سدیم پروپیونات افتراقی گردید که توسط فیلتر سر سرنگی به MRS-Agar استریل افزوده شد (Van de Casteele *et al*., 2000Vinderola*et al*., 2006). برای کشت میکروبی نمونه‌ها، ۱ میلی‌لیتر از نمونه به پپتون واتر استریل ۰/۱٪ افزوده و تا رقت ۸ بصورت سریالی رقیق شدند. در ادامه ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های موردنظر به پلیت‌ها منتقل شده و بصورت پورپلیت کشت داده شد (Akin&GülerAkin&Ramchandran, 2009, 2007).

اسیدیته

مطابق روش تیتراسیون با استفاده از سدیم هیدروکسید (۰/۱N) و معرف فنل فتالئین اندازه‌گیری و تعیین شد (استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲).

اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب

حدود ۵ گرم نمونه (Y) به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۴۵۰۰rpm سانتریفوژ شده و سرم جداشده وزن گردید (W) (Ramchandran, Sahan *et al*., 2008&2009). ظرفیت نگهداری آب از رابطه زیر بدست آمد(Sodini *etal*., 2004):

$$WHC = (Y-W) / Y *10 \qquad (۱)$$

اندازه‌گیری مقدار آب اندازی[2]

حدود ۴۰-۳۰ گرم نمونه با دور g ۲۲۲ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Model UNIVERSAL 320 R; Hettich, Tuttlingen, Germany) شد (kennedy, Keogh&1998) و مقدار این پارامتر بصورت درصد نسبت وزنی سرم جدا شده محاسبه گردید (Matomoto*et al*., 2010).

اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (LVDV-II

۱- محیط کشت MRS-Agar حاوی ۰/۲٪ لیتیم کلراید و ۰/۳٪ سدیم پروپیونات

2 Syneresis

+ Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Middleboro, USA)، اسپیندل شماره ۶۴ و سرعت برشی ۳۰rpm اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها قبل از اندازه‌گیری ویسکوزیته ۶۰ ثانیه به آرامی بهم زده شدند و اندازه‌گیری‌ها در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد (Tamime&Robinson, 1998, Katsiariet al. 2002).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

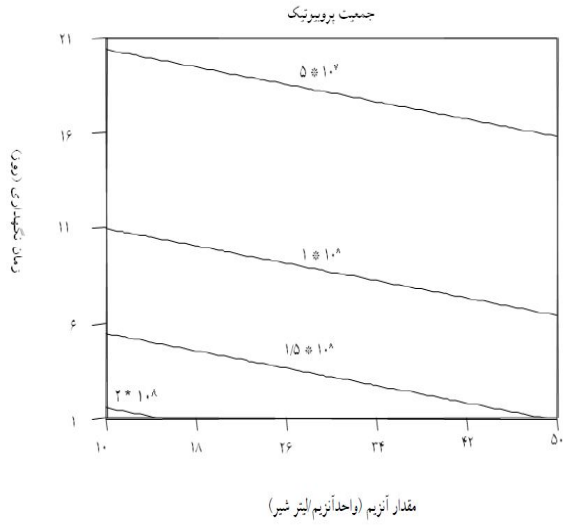
در این مطالعه از طرح ترکیبی D-optimal استفاده گردید که در آن فاکتورهای فرآوری (مقدار آنزیم، زمان افزودن آنزیم و زمان نگهداری) بصورت همزمان با فاکتورهای فرمولاسیون (مخلوط صمغ عربی، MPC، WPC) مورد مطالعه قرار گرفت. بمنظور ارزیابی داده‌ها و بدست آوردن مدل‌های پیشگویی‌کننده سطح اطمینان α =۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای آنالیز داده‌ها و رسم نمودارها از نرم‌افزار SAS نسخه ۹ استفاده شد.

نتایج و بحث

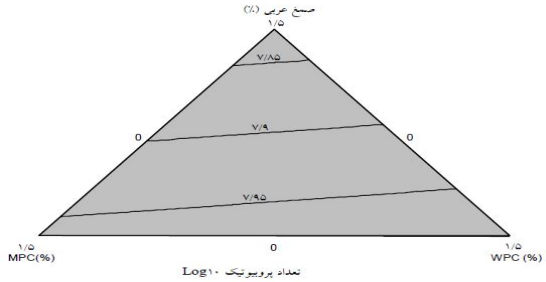
قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک

تأثیر افزودن صمغ عربی، WPC، MPC، مقدار آنزیم و زمان افزودن آنزیم بر قابلیت زنده‌مانی BB-12، طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بررسی شد. زمان نگهداری و مقدار آنزیم ترانس گلوتامیناز بطور معنی‌داری بر زنده‌مانی پروبیوتیک موثر بود($P< 0.05$). همانگونه که در شکل ۱ قابل مشاهده است جمعیت پروبیوتیک‌ها به مرور زمان در نمونه‌ها کاهش یافت که احتمالاً به دلیل رابطه‌ی آنتاگونیستیک بین باکتری‌های سنتی ماست و پروبیوتیک‌ها، افزایش اسیدیته و هیدروژن پراکسید می‌باشد (Akin&Rezazad *et al*., 2009,Göler, 2007 ,Akin).اگرچه جمعیت پروبیوتیک به مرور زمان کاهش یافت اما این تعداد تا آخرین روز نگهداری نمونه‌ها، همچنان از حد ذکر شده در استاندارد (10^{6}-10^{7}cfu/g) بالاتر بود. شکل ۲ نشان می‌دهد که صمغ عربی بر افزایش قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک مؤثر بوده‌است اما اثر WPC وMPC بیشتر از آن بود. با توجه به شکل ۳ زمانی که تنها از MPC استفاده شود، با حداقل مقدار آنزیم (۱۰واحد/ لیتر شیر) می‌توان به بالاترین مقدار زنده‌مانی دست یافت. زمانی که از مخلوط MPC و صمغ عربی استفاده شد هر چه میزان MPC افزایش یافت، قابلیت زنده‌مانی بیشتر شد. همچنین می‌توان چنین نتیجه گرفت که در نسبت ثابتی از این دو جزء با مقادیر کم آنزیم ، قابلیت زنده‌مانی بالا بود. بطور کلی زمانی که نسبت MPC به WPC بالاتربود، با تغییر آنزیم در محدوده‌ی ۱۷-۱۰واحد آنزیم/ لیتر شیر، قابلیت زنده‌مانی مطلوب‌تری مشاهده‌شد. همچنین مشاهده‌شد که هر چه نسبت WPCبه MPC افزایش یافت مقدار آنزیم بیشتری برای رسیدن به زنده‌مانی مطلوب لازم خواهد بود. Doherty و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی تأثیر پروتئین‌های آب پنیر بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، اثر WPC را بر افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک و استارتر تأیید نموده‌اند (Doherty *et. al*., 2011). بر اساس تحقیقاتNadal و همکاران (۲۰۱۰) افزودن پروتئین‌های آب پنیر می‌تواند ظرفیت بافری را بهبود بخشیده و از تأثیر محیط اسیدی بر زنده‌مانی باکتری‌ها بکاهند.

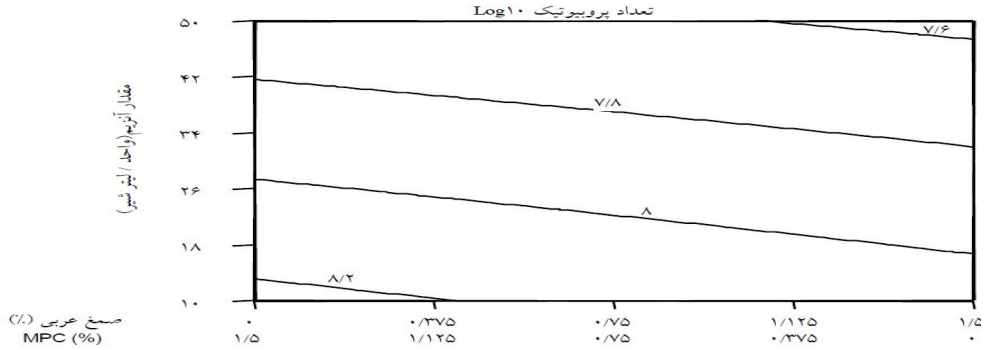
WPC منبع خوبی برای تأمین پپتیدها و آمینواسیدهای لازم برای رشد پروبیوتیک‌ها است. این ترکیب غنی از اسیدهای آمینه گوگرددار است که طی حرارت‌دهی آزاد شده و پتانسیل اکسیداسیون احیا را کاهش می‌دهند و در نتیجه عامل محرک رشد پروبیوتیک محسوب می‌گردد. Akalin و همکاران (۲۰۰۷) با پژوهشی که در زمینه تأثیر فروکتوالیگوساکاریدها و آب پنیر تغلیظ شده بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتر انیمالیس* داشتند، گزارش کردند که WPC نسبت به اینولین نقش موثرتری در افزایش زنده‌مانی بیفیدیوباکترها داشته‌است. همچنین طبق نتایج این پژوهش، تصور می‌شود که MPC نیز به دلیل داشتن میزان بالای پروتئین باعث تولید پپتیدها و آمینواسیدهای بیشتری در محیط شده و همین امر منجر به افزایش رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها شده است. در نسبت ثابتی از مخلوط پروتئینی با افزایش میزان آنزیم در قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها بهبودی حاصل نشد. این پدیده ممکن است به‌علت افزایش بیش از اندازه اتصالات عرضی ایجاد شده توسط آنزیم باشد. یافته‌های Bonisch و همکاران (۲۰۰۷) در مطابقت کامل با نتایج این پژوهش می‌باشد. این درحالی است که Benkovic و همکاران (۲۰۰۸) بیان کردند که آنزیم اثر منفی بر رشد باکتری‌های استارتر و تولید ریزمغذی‌های لازم برای رشد پروبیوتیک‌ها ندارد.



شکل ۱- اثر زمان نگهداری و مقدار آنزیم بر زنده‌مانی پروبیوتیک



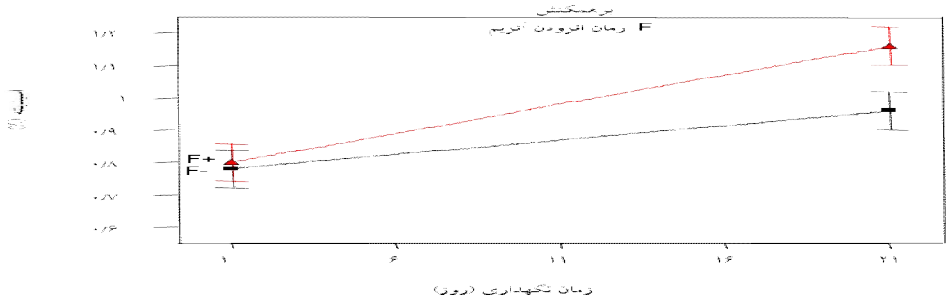
شکل ۲- اثر ترکیبات پروتئینی بر جمعیت پروبیوتیک



شکل ۳- اثر ترکیب صمغ عربی، MPC و مقدار ترانس گلوتامیناز بر زنده‌مانی پروبیوتیک

اسیدیته

آنالیز داده‌ها نشان داد که اثر زمان نگهداری و زمان افزودن آنزیم بر اسیدیته نمونه‌های ماست معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). اثر متقابل زمان افزودن آنزیم و زمان نگهداری در شکل ۴ نشان داده شده است. در روزهای ابتدایی نگهداری، زمان افزودن آنزیم تأثیر معنی‌داری بر اسیدیته نداشت اما با گذشت زمان اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت. Akin و Güler Akin (۲۰۰۷) به نتایج مشابهی دست یافتند. طی نگهداری به دلیل ادامه فعالیت لاکتوباسیلوس‌ها در دمای یخچال و تولید مقدار اندک اسیدلاکتیک، pH همچنان کاهش می‌یابد (Kailasapathy, 2006). نتایج تحقیقات Marafon و همکاران (۲۰۱۱) بر ماست‌های پروبیوتیک غنی شده با پروتئین‌های شیر نشان داد که این اجزا بر اسیدیته و قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های استارتر بسیار مؤثر است. Seelee و همکاران (۲۰۰۹) با مقایسه اسیدیته ماست‌های پروبیوتیک کم چرب حاوی WPC و نمونه‌های شاهد گزارش کردند که تا روز ۲۱ نگهداری، نمونه‌های حاوی WPC اسیدیته بالاتری از نمونه‌های شاهد داشتند. سرعت توسعه اسید در نمونه‌های ماستی که آنزیم ترانس گلوتامیناز بعد از پاستوریزاسیون افزوده شده‌بود نسبت به نمونه‌هایی که آنزیم قبل از پاستوریزاسیون اضافه‌شد، افزایش بیشتری نشان داد. این رخداد ممکن است به دلیل اتصال عرضی ایجادشده توسط آنزیم باشد. Yuksel (۲۰۱۰) پژوهشی که در زمینه‌ی تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز بر ویژگی‌های ماست قالبی انجام داد نتایج مشابهی را گزارش نمود.

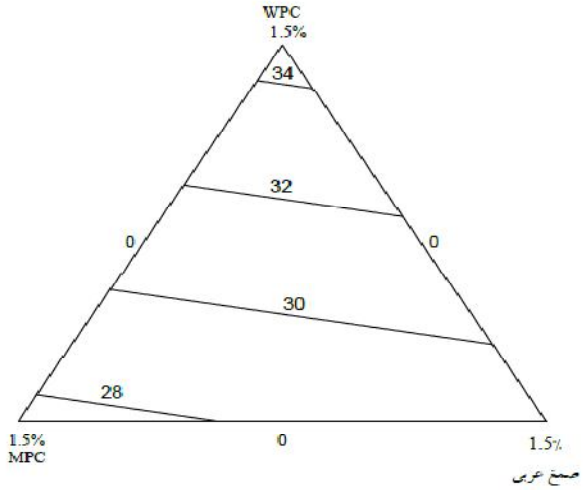


F^+:بعد از پاستوریزاسیون F^-: قبل از پاستوریزاسیون

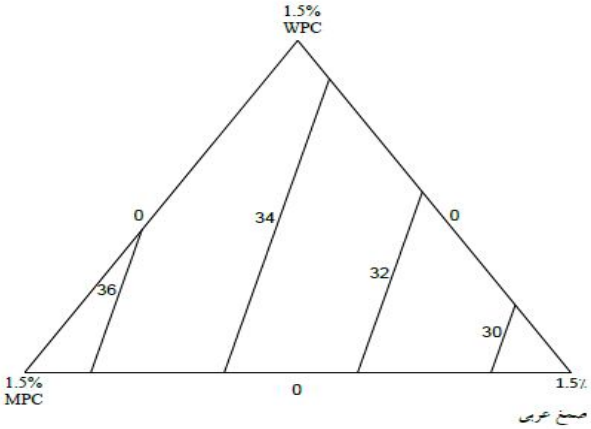
شکل ٤- اثر متقابل زمان افزودن آنزیم و زمان نگهداری بر اسیدیته

ظرفیت نگهداری آب[1]

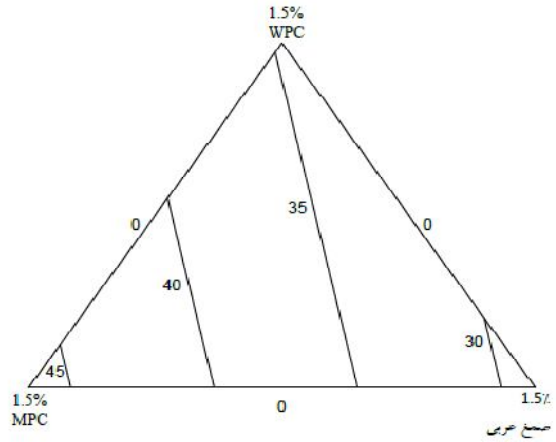
عوامل متعددی بـر ظرفیـت نگهـداری آب مؤثرنـد کـه از جملـه مهم‌ترین آنها اسیدیته، مقدار پروتئین، دمای نگهداری و میزان چربـی می‌باشد. افزایش میزان پروتئین باعث افزایش پیوندهای آبی می‌گردد. اثرزمـان نگهـداری و مخلـوط ۳ جزئـی بـر WHC معنـی‌دار بـود ($P<۰/۰۵$). همانگونه که در شکل های ۵، ۶ و ۷ مشاهده می‌شود، در روزهای اولیه نگهداری، WPC بالاترین تأثیر را بر این پارامتر داشـت در حالیکه در روزهای انتهایی نگهداری MPC مؤثرترین فاکتور بـود. این مسئله احتمالاً به دلیـل بـرهمکنش پـروتئین آب پنیـر و کـازئین می‌باشد که در نهایت منجر به افزایش ظرفیت نگهداری آب در شبکه می‌گردد. کازئین شـیر قـادر بـه اتصـال ۲/۸۲ گـرم آب در هـر گـرم پروتئین است. همچنین در مورد پروتئین‌های آب پنیر دناتوره شـده و غیر دناتوره این مقدار به ترتیـب ۲/۳۴ و ۰/۳۲گـرم آب در هـر گـرم پروتئین می‌باشد (Ünal *et al.*, 2003). بنابراین می‌توان چنین نتیجه گرفت که اصلاح پروتئین‌های شیر (بـه‌خصـوص کـازئین و آب پنیـر دنـاتوره شـده) منجـر بـه افـزایش ظرفیـت نگهـداری آب خواهـد شد.همچنینبا افزایش زمان نگهـداری، ظرفیـت نگهـداری آب بهبـود یافت. در محلول‌های پروتئینی به علت ژل ایجاد شده توسط آنـزیم و ایجـاد شـبکه‌ی پایـدارتر ظرفیـت نگهـداری آب افـزایش مـی‌یابـد (Patel, 2011&Lorenzen *et al*., 2002).



شکل ۵- کانتورپلات اثر صمغ عربی، WPC و MPC بر ظرفیت نگهداری آب در روز ۱ ام نگهداری



شکل ٦- کانتورپلات اثر صمغ عربی، WPC و MPC بر ظرفیت نگهداری آب در روز ۱۱ ام نگهداری



شکل ۷- کانتورپلات اثر صمغ عربی، WPC و MPC بر ظرفیت نگهداری آب در روز ۲۱ام نگهداری

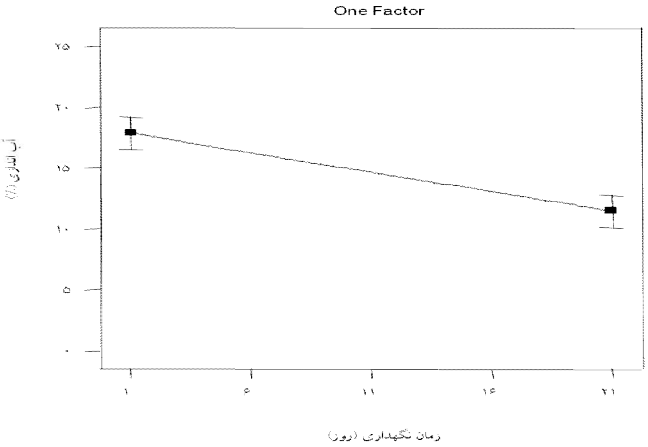
آب‌اندازی

آب‌اندازی در ژل[2]، جدا شدن فاز آبی از فاز پیوسته می‌باشد و یکی از فاکتورهای مهـم در تعیـین کیفیـت ماسـت بشـمار مـی‌رود. زمـان نگهداری بر مقدار این پارامتر مؤثر بود ($P<۰/۰۵$). بـا افـزایش زمـان نگهداری آب‌اندازی بطور قابل توجهی کاهش یافت (شـکل ۸). علـت این امر می‌تواند مربوط به ارتباط اسیدیته و آب‌اندازی باشد. Latorre و همکاران (۲۰۰۳) طبق تحقیقات خود بر رئولوژی ماست‌های قـالبی تهیه شده با انواع پروبیوتیـک و اسـتارتر و همچنـین Saad&Souza (۲۰۰۹) بیان کردند که با افزایش غلظت یون‌های هیدروژن، نیروهای دافعه کاهش یافته و در میسل‌هـای کـازئینی تجمـع رخ مـی‌دهـد. از طرفی احتمـالاً بـا فعالیـت آنـزیم و ایجـاد اتصـالات عرضـی شـبکه پروتئینی مسـتحکم‌تـر شـده و میـزان سـینرزیس کـاهش مـی‌یابـد.

1Water holding capacity (WHC)

2 Wheyoff

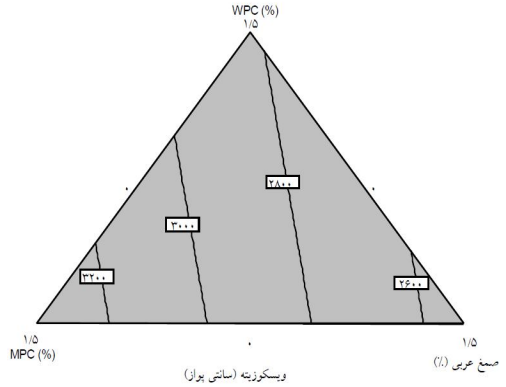
Domagala و همکاران (۲۰۱۳) با مطالعه ماست قالبی تهیه شده با مقادیر مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز نتایج مشابهی را گزارش نمودند. همچنین Matumoto و همکاران (۲۰۱۱) با پژوهشی که در زمینه‌ی ماست حاوی پروتئین‌های آب پنیر داشتند به این نتیجه رسیدند که ترکیبات پروتئین آب‌پنیر بر کاهش سینرزیس و ایجاد یک ساختار همگن بسیار اثرگذار می‌باشد.



شکل ۸- تغییرات سینرزیس به مرور زمان

ویسکوزیته

ویسکوزیته ظاهری شاخص پایداری پروتئین می‌باشد. مقدار پایدارکننده مورد نیاز برای رسیدن به یک کیفیت مطلوب، رابطه‌ی عکس با غلظت ماده خشک دارد (Katsiari *et al*., 2002). تأثیر ترکیب صمغ عربی، WPC و MPC بر ویسکوزیته در شکل ۹ نشان داده شده است.ویسکوزیته نمونه‌های غنی شده با WPC، MPC و صمغ عربی به دلیل تفاوت در میزان پروتئین و همچنین منشأ پروتئین افزوده شده متفاوت می باشد.طبق شکل ۹ با افزایش نسبت MPC در مخلوط ۳ جزئی ویسکوزیته افزایش بیشتری داشت.ویسکوزیته نمونه‌های دارای MPC، بالاتر از سایر نمونه‌ها بود.



شکل ۹- تأثیر مخلوط ۳ جزئی بر ویسکوزیته

این امر احتمالاً به دلیل بالا بودن میزان پروتئین MPC بوده - است که نهایتاً منجر به ایجاد شبکه ژلی مستحکم‌تر و در واقع ویسکوزیته بیشتر شد. در بررسی مشابه که Marafon و همکاران (۲۰۱۱) بر ویژگی‌های رئولوژیکی ماست پروبیوتیک غنی شده با MPC انجام شد به وضوح قابل مشاهده‌است که ماست‌های تهیه شده با MPC ویسکوزیته‌ی بیشتری دارند. همچنین Sodini و همکاران (۲۰۰۴) با مطالعه‌ای بر تاثیر اجزا افزوده شده به شیر بر بافت ماست به نتایج مشابهی دست یافتند.

نتیجه‌گیری

بطور کلی نتایج نشان داد که با استفاده از مخلوط ۳ جزئی MPC، WPCو صمغ عربی به همراه حداقل مقدار آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌توان قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک BB-12 را به میزان قابل توجهی بهبود بخشید. همچنین استفاده از این ترکیب به مرور زمان منجر به کاهش آب‌اندازی و افزایش ظرفیت نگهداری آبمی‌گردد.

در این تحقیق برای اولین بار تأثیر همزمان سطوح مختلف آنزیم و همچنین زمان‌های مختلف افزودن آنزیم بر ویژگی‌های کیفی ماست سین‌بیوتیک بررسی شد و فرمولاسیون مناسبی جهت کاهش استفاده از پودرهای مذکور و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بدست آمد

منابع:

استاندارد ماست- آزمون اندازه‌گیری اسیدیته‌ی کل قابل عیارسنجی به شماره‌ی ۲۸۵۲. (۱۳۷۴). کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی.
استاندارد ملی ماست: ویژگی‌ها و روش‌های آزمون به شماره‌ی ۶۹۵. (۱۳۷۱). کرج: موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی.

خالصی، ه: ۱۳۸۹، «بررسی ویژگی‌های صمغ زدو و تأثیر افزودن ترکیبی صمغ زدو، صمغ تراگاکانت و صمغ عربی در تولید ماست کم چرب»، پایان نامه کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.

خسروی دارانی، ک؛ کوشکی، م. ر: ۱۳۸۷، پروبیوتیک‌ها در شیر و فرآورده‌های آن. انتشارات مرز دانش، تهران، ۱۸۶-۷۷.

Akalin, A.S., Gönç, S., ÜNAL, G., Fenderya, S, 2007, Effects of Fructooligosacharide and WheyProtein Concentrate on the Viability of Starter Culture in Reduced-Fat Probiotic Yogurt during Storage,*Journal of Food Science*, 72(7), 222-227.

Benkovic, m., Kos, B., Tonkovic, K., Lebos, A., Śuśkovic, J and Gregurek, L.j,2008,. Lactis LAFTI B94, Inulina transglutaminazenasvojstvacvrstogjogurta. *Mljekarstvo*, 58, 95-115.

Bönisch, M., Huss, M., Lauber, S.,Kulozik, U, 2007, Yoghurt gel formation by means of enzymatic protein cross-linking during microbial fermentation,*Food Hydrocolloid*, 21, 585-595.

Calame, W., Weseler, A.R., Viebke, C.h., Flynn, C., and Siemensma, A.D, 2008, Gum arabic establishes prebiotic functionality in healthy human volunteers in a dose-dependent manner,*British Journal of Nutrition*, 100, 1269–1275.

Charteris, W.P., Kelly, P. M., Morelli, L., Collins, K, 1997,Selective detection, enumeration and identification of potentially probiotic Lactobacillus and Bifidobacteriumspieces in mixed bacterial populations,*International Journal of Food Microbiology*, 35, 1-27.

Christopher, M.D., Padmanabhareddy, V., Venkateswarlu, K, 2009, Viability during storage of two bifidobacteriumbifidum strains in set and stirred flavored yoghurts containing whey protein concentrate, *Natural Product Radiance*, 8(1), 25-31.

Dave, R.I., Shah, N.P, 1998, Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt, *Journal of Dairy Science*, 81, 2804-2816.

Desmond, C., Ross, R.P., O'Callaghan, E., Fitzgerald, G and Stanton, S, 2002, Improved survival of Lactobacillus paracasei NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia, *Journal of Applied Microbiology*,93, 1003–1011.

Doherty, S.B., Gee, V.L., Ross, R.P., Stanton, C., Fitzgerald, G.F and A. Brodkorb, 2010, Efficacy of whey protein gel networks as potential viability-enhancing scaffolds for cell immobilization of Lactobacillus rhamnosus GG, *Journal of Microbiological Methods*, 80(3), 231-241.

Doherty, S.B., Gee, V.L., Ross, R.P., Stanton, C., Fitzgerald, G.F and A. Brodkorb, 2011, Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection, *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1604-1617.

Doherty, S.B., Auty, M.A., Stanton, C., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F and A. Brodkorb, 2012, Survival of entrapped Lactobacillus rhamnosus GG in whey protein micro-beads during simulated ex vivo gastro-intestinal transit, *International Dairy Journal*, 22(1), 31-43.

Domagałaa, J.,Wszołeka,M.,Tamimeb, A.Y., Kupiec-Teahan,B,2013, The effect of transglutaminase concentration on the texture, syneresisand microstructure of set-type goat's milk yoghurt during the storage period, *Small Ruminant Research*,112, 154– 161.

Gauche, C., Barreto, P.L.M., Bordignon-Luiz, M.T, 2010, Effect of thermal treatment on whey protein polymerization by transglutaminase, Implications for functionality in processed dairy foods, *Food Science and Technology*, 43, 214-219.

Güler-Akin, M.B., Akin, M.S, 2007, Effect of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat milk, *Food Chemistry*, 100, 788-793.

Kailasapathy, K, 2006,Survial of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yogurt, *Food Science of Technology*, 39, 1221-1227.

Katsiari, M.C., Voutsinas, L.P., Kondyli, E, 2002, Manufacture of yogurt from stored frozen sheep's milk, *Food Chemistry*, 77, 413-420.

Keogh, M.K., O kennedy, B.T, 1998, Rheology of stirred Yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids,*Journal of Food Science*, 63, 108-112.

Latorre, L., Tamime, A.Y., Muir, D.D, 2003, Rheology and sensory profiling of set type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter cultures,*International Journal of Dairy Technology*, 56, 1-9.

Lorenzen, P.C., Neve, H., Mautner, A and Schlimme, E,2002, Effect of enzymatic cross-linking of milk protein on functional properties of set yoghurt,*International Journal of Dairy Technology*, 55, 152157.

Marafon, A.P., Sumi, A., Alcantara, M.R., Tamime, A.Y., Oliveria, M.N.D, 2011,Opimization of the rheological properties of probiotic yogurt supplemented with milk proteins,*Food Science and Technology*, 44, 511-519.

Matomoto-Pintro, P.T., Rabiey, L., Robitaille, G., Britten, M, 2010, Use of modified whey protein in yoghurt formulations, *International dairy Journal*, 21,21-26.

Nadal, E.S., Sayas-Barberá, E., Fernández-López, J and Pérez-Alvarez, J.A, 2010, Food formulation to increase probiotic bacteria action or population. Bioactive Foods in Promoting Health: Probiotics and Prebiotics, 335-351.

Özer, B., Kırmacı, H.A., Öztekin, S., Hayalo_glu, A., &Atamer, M,2007, Incorporation of microbial transglutaminase

into non-fat yogurt production, *International Dairy Journal*, 17(2), 199-207.
Patel,S, 2011,Evaluating the Effect of Milk Protein Concentrates (MPC) Fortification on Rheological Properties of Non-fat Set Yoghurt Using Vane Rheometry. Dissertation, Wisconsin-Stout University, M.C. *Faculty of Food and Nutritional Sciences*.
Ramchandran, L, 2009,Physico-chemical and therapeutic properties of low-fat yogurt as influenced by fat replacers, exopolysacharids and probiotis, Doctor of philosophy dissertation, *Victoria University* (Australia).
Rezazad, B. M., Ashrafi, R., Alizadeh, M., Rofehgarineghad, L, 2009,Effect of different content of yogurt starter/probiotic bacteria, storage time and different concentrations of cystein on the microflora characteristics of bio-yogurt,*Research Journal of Biological Science*, 4, 137-142.
Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A.A,2008, Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a β-glucanhydrocolloidal composite during storage, *Food Hydrocolloid*, 22, 1291-1297.
Şanli, T., Sezgin, E., Deveci, O., Şenel, E., Benli, M, 2011, Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt,*Food Hydrocolloid*, , 1-5.
Seelee, W., Tungjaroenchai, W., and Natvaratat, M, 2009, Development of low fat set-type probiotic yoghurt from goat milk,*Asian Journal of Food Agriculture Industry*, 2(04), 771-779.
Shah, N.P, 2000,Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy food, *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
Sodini, I., Remeuf, F., Haddad, SandCorrieu, G, 2004, The relative effect of milk base, starter, and process on yogurt texture, *Critical Reviews in Food Scienceand Nutrition*, 44, 113-137.
Souza, C.H.B, Saad, S.M.I, 2009, Viability of lactobacillus acidophilus La-5 added solely or in co-culture with a yoghurt stater culture and implications on physic-chemical and related properties on minas fresh cheese during storage,*Food Science and Technology*, 42, 633-640.
Tamime. A.V and Robinson, R.K, 1999,Yoghurt science and technology 2nded,Boca Ratan. CRC press,NY, 587.
Ünal, B., Metin, S., Işikli, N.D, 2003, Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt,*International Dairy Journal*, 13, 909-916.
Van de Casteele, S., Vanheuverzwijn, T., Ruyssen, T., Van Assche, P., Swings, J and Huys, G, 2006, Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yogurt or cheese starters,*International Dairy Journal*,16, 1470–1476.
Vinderola, C.G., Bailo, N and Reinheimer, J.A,2000, Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurts during refrigerated storage,*Food Research International*, 33, 97–102.
Williams, P.A., Phillips, G.O, 2009, Gum Arabic. In: G. O. Philips & P. A. Williams editors, Handbook of hydrocolloids, 2 nd ed. *CRC Press*, 252-273.
YÜksel, Z and Erdem, Y.K, 2010,The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt,*International Journal of Dairy Technology*, 63(1), 86-97.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 12, No. 4, Oct- Nov 2016, p. 428-437

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۲، شماره ۴، مهر- آبان ۱۳۹۵، ص. ۴۳۷-۴۲۸

Studying on the effect of Arabic gum, Milk protein concentrate and Whey protein concentrate on the quality indices of synbiotic yoghurt supplemented with transglutaminase

A. Saleh[1], M. Rezazad Bari[2]*, M. Alizadeh Khaled Abad[3], N. Sabahi Mohammadi[4]

Received: 2014.06.20
Accepted: 2015.06.20

Introduction: Yoghurt is one of the most popular dairy products in all over the world**.**Nowadays due to the tendency of consumers to use the products with healthy effects, probiotic and synbiotic products are considered. Yoghurt by itself is a healthy food; because of its high levels of protein and calciumcontents.Consumption ofprobiotic bacteria via food products is a way to reestablishthe intestinal microflora balance. Several studies have been done to improve the growth and viability of probiotic bacteria by adding supplements to milk.The objective of this study was to investigate the effect of three component mixture (Arabic gum, whey protein concentrate and milk protein concentrate) on quality indices of synbiotic yoghurt containing transglutaminaseenzyme. The content of theseprotein component, the amount of enzyme, enzyme addition time to the yoghurt samples and storage time were variable

Materials and methods:Yoghurt samples were prepared with milk which contained 2.5 percent fat.Milk was heated around 40℃. WPC, MPC and Arabic gum were added to samples according to the research design and increasing the solid none-fat content of the milk up to 1.5%. Samples were pasteurized at 90℃ for 10 minutes in a water bath and were cooled rapidly to 43℃ for inoculation starter culture and probiotic bacteria. Also enzyme was added to samples before or after pasteurization (according to the research design).In this study microbial test was done to investigateviability of probiotics (BB-12) by differential culture medium (MRS-LP Agar). The titratable acidity was determined using 0.1 N NaOH until accessing the constant pink colour for 30secondes. Water holding capacity (WHC) was determined due to measure the protein quality of keeping water inside. Syneresis is expressed as the weight percentage of serum released by centrifugation. Viscosity was measured using a Brookfield viscometer.Viscosity measurementswere made using 250 mL ofyoghurt samples at 10 _C

Discussion & Results: The effect of WPC, MPC, Arabic gum, enzyme concentration and theaddition time of enzyme on viability of *B. lactis (BB-12)* for 21 days of cold storage at 4℃ were monitored. The results indicatedthat the effect of Arabic gum, WPC and MPC on viability of probiotic was significant *(p*<0.05). The effect of storage time and addition time of transglutaminase were significant on titratable acidity (TA) of samples (α< 0.05). By mixingenzyme after pasteurization, acidity developed more rapidly.Storage time and protein mixture had significant effect on WHC ($\alpha\leq$ 0.05). Linearly stage of storage time effect of WPC was higher than other components while at the end of storage period MPC increased WHC more than other factors. As time goes on syneresis was decreased and MPC was more effective than other constitutes in the reduction of Synersis of the samples. MPC was more effective than other factors on improving viscosity too.By using 3 components mixture (Arabic gum, WPC and MPC) and transglutaminasecould improve quality of synbiotic yoghurt and viability of probiotics.

Keywords: Synbiotic Yoghurt, Bifidobacterium Animalis, Viability, Microbial Transglutaminase

1-Msc of Food Technology, Department Of Food Science And Technology, Faculty Of Agriculture, Urmia University, Urmia. Iran.
2, 3- Associate professor, Department of food science and technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
4- Ph. D Candidate of Food Microbiolog, Department of food science and technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, iran.
(*-Corresponding Author Email: m.rezazadehbari@urmia.ac.ir)