نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۴ شماره ۱/ سال ۱۳۹۳

تاثیر درون پوشانی بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) و ویژگی‌های کیفی ماست قالبی

لیلا امین الاسلامی[۱]، اصغر خسروشاهی اصل[۲] و شهین زمردی[۳*]

تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۲۷

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات خوزستان

[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

[۳] استادیار بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

*مسئول مکاتبه: Email: shahinzomorodi@gmail.com

چکیده

در این پژوهش، زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) به دو صورت آزاد و درون پوشانی شده و تأثیر آنها بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی ماست در طول نگهداری آن به مدت ۲۸ روز در دمای ۵±۱ °C بررسی گردید. تیمارها در دو تکرار تهیه شدند که عبارت از نمونه کنترل (بدون پروبیوتیک) و نمونه‌های ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد و درون پوشانی شده بودند. نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در طول نگهداری در تیمار حاوی پروبیوتیک به صورت آزاد بطور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0.05$). اما درون پوشانی، تعداد باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را نسبت به فرم آزاد در حدود یک سیکل لگاریتمی افزایش داد. همچنین باکتری‌های درون پوشانی شده نیز بطور معنی‌داری موجب افزایش تولید اگزوپلی ساکارید و ویسکوزیته ماست نسبت به نمونه کنترل گردید ($P<۰/۰۵$). بر اساس نتایج ارزیابی حسی، از نظر امتیاز طعم و بافت بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). لذا از *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده می‌توان با موفقیت در تولید ماست پروبیوتیک استفاده کرد.

واژگان کلیدی: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، درون پوشانی، ماست، ویژگی‌های کیفی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

امروزه صنعت غذا در جهان در مسیر تولید غذاهای سودمند قدم نهاده است و تلاش بر این است که با مصرف باکتری‌های پروبیوتیک توازن و تعادل میکروبی در روده برقرار گردد تا بتواند اثرات مفیدی بر سلامت افراد بر جای گذارد. برای ایجاد اثرات درمانی مطلوبی به دست کم مقدار پروبیوتیک مورد نیاز $۱۰^{۶}$ واحد کلنی در گرم نیاز هست. برخی نیز این مقدار را $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ واحد کلنی در میلی لیتر ذکر کرده‌اند (کایلاسپاتی و ربکا ۱۹۹۷). در حال حاضر تهیه سلول-های زنده پروبیوتیکی در شرایط نامطلوب یک مشکل قابل توجه می‌باشد (فاوارا و همکاران ۲۰۱۱).

ماست یکی از مشهورترین فرآورده های حامل غذایی پروبیوتیک شناخته شده است (روس و همکاران ۲۰۰۲؛ بویلستون و همکاران ۲۰۰٤). مطالعات مختلف نشان داده است که ماست محیط مناسبی برای حفظ و انتقال پروبیوتیک‌ها به بدن محسوب نمی شود زیرا ماست به دلیل داشتن هیدروژن پراکسید، اسیدیته‌ی بالا، pH پایین، فعالیت آبی کم و بالا بودن غلظت مواد محلول محیط را برای پروبیوتیک‌ها نامساعد می‌سازد (کایلاسپاتی و سوپریالی ۱۹۹٦؛ دیو و شاه ۱۹۹۷). لذا لازم است به طریقی زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک را در ماست افزایش داد. در سال‌های اخیر درون پوشانی به عنوان ابزار مفید برای تثبیت سلول‌های پروبیوتیک در غذاهای فراسدمند اهمیت یافته است. درون پوشانی، فرایند مکانیکی یا فیزیکوشیمیایی است که در آن ذرات محتوی اجزای فعال توسط برخی مواد پوشش داده می‌شود. باکتری‌های کپسوله شده در طول تولید و نگهداری محصولات شیر پروبیوتیک تخمیری، از سازگاری و ثبات بالاتری نسبت به باکتری‌های آزاد برخوردار هستند (آنال و سینگه ۲۰۰۷). همچنین حمل ونقل پروبیوتیک‌های درون پوشانی شده آسانتر و کنترل مقدار آن راحتر می‌باشد.

کایلاسپاتی (۲۰۰٦) نشان داده شده است که زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدیوم باکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس کازیی* درون پوشانی شده با آلژینات و پوشش داده شده با کیتوزان در ماست UHT[1] بطور معنی داری بیشتر از سلول های آزاد بود. گادوارد و کایلاسپاتی (۲۰۰۳) نیز نشان دادند که درون پوشانی باکتریهای پروبیوتیک قابلیت زیستی آنها را در محصولات اسیدی از جمله ماست افزایش می‌دهد. در تحقیقی دیگر با استفاده از مخلوط آلژینات، پکتین و پروتئین آب پنیر، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را درون پوشانی کردند و قابلیت زیستی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* آزاد و درون پوشانی شده را در محلول اسیدی معده و نمک صفراوی بررسی نمودند. نتایج آنها نشان داد که پس از یک ساعت قرار گرفتن در محلول اسیدی معده با pH برابر ۲/۵، سلول‌های آزاد ٤/۷۵ سیکل لگاریتمی و درون پوشانی شده‌ها کمتر از یک سیکل لگاریتمی کاهش یافت (گرین و همکاران ۲۰۰۳). گباسی و اندامی (۲۰۱۲) روش درون پوشانی پروبیوتیک ها از جمله انتخاب نوع مواد زیستی و تکنولوژی مناسب در مطالعات آزمایشگاهی را مورد بررسی قرار دادند.

در این بررسی، هدف مقایسه زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد و درون پوشانی شده در ماست قالبی و تاثیر آنها بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی محصول نهایی است.

مواد و روش‌ها

مواد

شیر، تهیه شده از دامداری‌های ارومیه (با ۸۸/۸۱ درصد رطوبت، ۳/٦ درصد چربی، ۳ درصد پروتئین، ۰/٦٤ درصد خاکستر، ۰/۱٤ درصد اسیدیته برحسب اسید لاکتیک و pH=٦/٦۲)، استارتر تجاری ماستYC-X11 (کشت مخلوط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*) از

[1] Ultra High Temperatrue (UHT)

Archive of SID

www.SID.ir

شرکت کریستن هانسن دانمارک، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) از شرکت DSM استرالیا، محیط کشت RCA[1] از شرکت لیوفیلکوم کشور ایتالیا و محیط MRS[2] آگار و M17 آگار از شرکت مرک آلمان بود.

درون پوشانی

درون پوشانی به روش اکستروژن انجام گرفت. مقدار ۰/۰۵ گرم از پودر لیوفیلیزه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* برای هر کیلوگرم از ماست (در حدود ۸ سیکل لگاریتمی، محاسبه شده بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده) در ۵ میلی لیتر آب پپتون ۰/۱ درصد (وزنی/ حجمی) استریل حل شد و با ۲۰ میلی لیتر محلول آلژینات سدیم ۲ درصد (وزنی/حجمی) استریل (در دمای ۱۲۱ °C به مدت ۱۵ دقیقه) مخلوط شد. سوسپانسیون سلولی حاصل توسط سرنگ استریل با قطر ۰/۲ میلی متر به ظرف حاوی محلول ۰/۰۵ مولار کلرید کلسیم استریل تزریق شد. کپسول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه برای سفت شدن در محلول فوق نگهداشته شدند. پس از آبکشی، تا زمان مصرف در آب پپتون ۰/۱ درصد استریل در دمای ۵±۱°C نگهداری شدند (زمردی و همکاران ۲۰۱۱؛ کراسکوپ و همکاران ۲۰۰۳).

تهیه ماست پروبیوتیک

شیر تا دمای ۵۰ °C گرم و با افزودن ۲ درصد شیر خشک، ماده خشک آن تنظیم گردید. سپس در دمای ۸۵°C ، به مدت ۱۵ دقیقه در حال هم زدن آرام، در حمام آب گرم پاستوریزه گردید. پس از خنک شدن تا دمای ٤۳°C، استارتر تجاری ماست (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن، حدود ۰/۰۵ گرم به هر کیلوگرم از شیر) و باکتری‌های پروبیوتیک به صورت آزاد و درون پوشانی شده (در حدود ۸ سیکل لگاریتمی، محاسبه شده بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده) به هر تیمار اضافه گردید. تیمارها در ۲ تکرار به شرح زیر تهیه شدند:

۱-تیمار کنترل (C)، بدون پروبیوتیک، ۲-تیمار حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد (BL) ۳-تیمار حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت درون پوشانی شده (BLC).

نمونه‌های ماست به مدت ۲۸ روز در دمای ۵±۱ °C نگهداری شدند. در طول نگهداری در فواصل زمان ۱, ۷ ,۱٤, ۲۱ و ۲۸ روز مورد آزمایش قرار گرفتند.

آزمایشات تکمیلی

شمارش پروبیوتیک‌ها و استارترهای ماست

جهت متلاشی شدن کپسول‌ها و آزاد شدن محتویات آن، رقت اول از نمونه‌ها در محلول ۲ درصد تری سدیم سیترات استریل تهیه شد. برای تهیه آن، مقدار ۱۰ گرم نمونه همگن شده ماست در کیسه‌های زیپ دار استریل حاوی ۹۰ میلی لیتر تری سدیم سیترات ۲ درصد استریل توزین شد و مدت ۵ دقیقه توسط استومیچر با دور ۲٦۰ در دقیقه همگن گردید تا کپسول‌ها کاملا باز شوند. سری بعدی رقت‌ها با افزایش یک میلی لیتر از هر رقت به ۹ میلی لیتر آب پپتون ۰/۱ درصد استریل تهیه گردید. *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در محیط RCA، *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در محیط MRS آگار که pH آن با استفاده از اسید کلریدریک یک نرمال به ۵/۲ تنظیم شده بود و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در محیط M17 آگار به روش پورپلیت کشت داده شدند. پلیت‌های کشت *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک (,Anaerocult A) مرک آلمان) و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* تحت شرایط هوازی، به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شدند (کراسکوپ و همکاران۲۰۰٤ ؛ راولا و شاه ۱۹۹۸).

[1] Reconstituted Clostriadial Agar (RCA)
[2] De Man, Rogosa, Sharpe (MRS)

Archive of SID

www.SID.ir

اندازه گیری ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی ماست

رطوبت توسط خشک کردن در آون (ممرت ساخت آلمان) در°C ۲±۱۰۳، چربی به روش ژربر و پروتئین با استفاده از روش میکروکلدال (گرهارت ساخت آلمان)، pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر (متروم ساخت سویس) و اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در مجاورت معرف فنل فتالئین اندازه‌گیری شد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی، ۱۳۷۱).

اندازه گیری ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری با استفاده از ویسکومتر (بروکفیلد ساخت امریکا) توسط ویسکومتر با اسپیندل LV_2 شماره ٦٤ و سرعت اسپیندال ۳۰ دور در دقیقه، بعد از ۳۰ ثانیه چرخش، بر حسب سانتی پواز در ثانیه قرائت شد. نمونه‌های ماست قبل از اندازه‌گیری به مدت ۱ دقیقه هم زده شدند. اندازه‌گیری‌ها با ۲۵۰ میلی‌لیتر نمونه در دمای °C ۱۵ انجام گرفت (قاسم‌پور و همکاران ۲۰۱۲) .

اندازه‌گیری اگزوپلی‌ساکاریدها (EPS[1])

۵۰ میلی لیتر ماست رقیق شده (۱ به ۱ با آب) با ٤ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد مخلوط شد تا پروتئین‌های کازینی رسوب کند. سپس با دور ۲۵۰۰g در °C ٤ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. pH مایع رویی با سود ٤۰ درصد روی ٦/۸ تنظیم و مدت ۳۰ دقیقه جوشانده شد. سپس سانتریفوژ گردید. مایع رویی جدا و در اتانول سرد به نسبت ۱ به ۳ حل و یک شب در دمای °C ٤ نگهداری شد. سپس با همان شرایط بالا سانتریفوژ گردید. رسوب در ۱۰ میلی لیترآب مقطر حل شد. مقدار جذب به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از روش فنل-اسید سولفوریک در طول موج ٤۹۰ نانومتر قرائت شد (درلو-خطکایا و همکاران ۲۰۰۷).

ارزیابی حسی

در طی دوره نگهداری طعم و بافت نمونه‌های ماست توسط گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف کننده و روش هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. از هر تیمار تعداد ۱۵ نمونه یکسان تهیه و همراه با فرم مخصوصی که دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای بود به داوران داده شد تا با توجه به ذائقه خود فرم‌ها را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت مطلوب و امتیاز یک برای کیفیت نامطلوب اختصاص داده شد. داوران برای شستشوی دهان خود بین نمونه‌ها از آب استفاده کردند. فرم‌های تکمیل شده شامل ارزیابی کلی مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی درآورده شد و تجزیه واریانس گردید (زمردی و همکاران ۲۰۱۱).

روش طرح آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار Minitab تجزیه و تحلیل شد. میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه گردید.

نتایج و بحث

تغییرات تعداد پروبیوتیک‌های *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، به دو صورت آزاد (BL) و درون پوشانی شده (BLC) در شکل ۱ در ماست در طول ۲۸ روز نگهداری در دمای °C ۱±۵ آورده شده است. همانطوریکه در شکل ۱ مشخص است تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در تیمار BL (حاوی پروبیوتیک به صورت آزاد) در طول نگهداری بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$) و از ۸/۵۸ سیکل لگاریتمی در روز اول تولید به ۷/٤ سیکل لگاریتمی در انتهای زمان نگهداری رسید (کاهش حدود یک سیکل لگاریتمی).

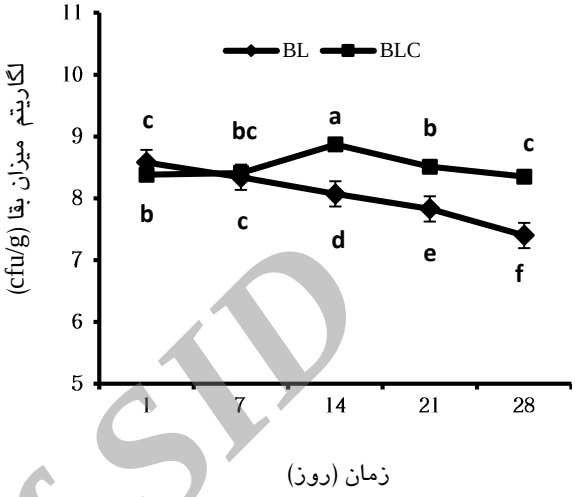
بیشتر مطالعات حاکی از پایین بودن زنده‌مانی پروبیوتیک ها در ماست می‌باشد (دیو و شاه ۱۹۹۷ و کایلاساپاتی و ریبکا ۱۹۹۷). این محققین بالا بودن میزان اسیدیته و پایین بودن نسبی pH ماست را علت

[1] Exopolysacchardes (EPS)

Archive of SID

www.SID.ir

اصلی کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری مبیان نمودند (قودیوسی و رابنسون ۱۹۹۶).



شکل ۱-تغییرات تعداد *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در ماست در طول ۲۸ روز نگهداری

BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم* لاکتیس به صورت آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* درون پوشانی شده).

با توجه به شکل ۱، تعداد باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در تیمار BLC ۸/۳۵ سیکل لگاریتمی در روز اول تولید به ۸/۳۸ سیکل لگاریتمی در انتهای دوره نگهداری رسید. بنابراین درون پوشانی نسبت به فرم آزاد موجب افزایش زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در حدود یک سیکل لگاریتمی گردید. این افزایش شاهدی برای نشان دادن درون پوشانی به حفظ کشت های پروبیوتیک در ماست است. درون پوشانی و پوشش دادن پروبیوتیک‌ها با ترکیبات هیدروکلوئیدی، آنها از شرایط نامساعد از جمله افزایش مقدار اسید لاکتیک، کاهش pH و دمای پایین نگهداری محافظت می‌کنند لذا در مقایسه با پروبیوتیک‌های آزاد زنده‌مانی آنها افزایش می‌یابد (سلطانا و همکاران ۲۰۰۰، کراسکوپ و همکاران ۲۰۰۳).

تحقیقات کایلاساپاتی (۲۰۰۶) نیز به ترتیب افزایش بقا ۲ و ۱ سیکل لگاریتمی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را در نتیجه درون پوشانی گزارش نمودند. ادهیکاری و همکاران (۲۰۰۰) نیز نشان دادند تفاوت معنی‌داری بین بقای *بیفیدوباکتریوم لانگوم* درون پوشانی شده در مقایسه با سلول‌های آزاد در ماست در ۵±۱ °C به مدت ۳۰ روز وجود داشت.

استارترهای تجارتی ممکن است از طریق تولید سوبستراهای مطلوب رشد پروبیوتیک‌ها یا با کاهش فشار اکسیژن شرایط رشد پروبیوتیک‌ها را بهبود دهند. *بیفیدوباکتریوم‌ها* به اکسیژن بسیار حساس هستند اما با انتخاب سویه‌های مناسب *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، می‌توان بقاء بیفیدوباکترها را بهبود بخشید (ایشیباشی و شیمامیرا ۱۹۹۳).

نتایج این مطالعه همچنین حاکی است که در نمونه‌های ماست زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس، در پایان دوره نگهدری، بیش از میزان پیشنهادی مورد نیاز برای تامین سلامتی می‌باشد (حداقل 10^7 واحد کلنی در هرگرم).

نتایج تجزیه آماری داده‌ها حاکی است که تاثیر نوع تیمار بر تعداد کلنی‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* معنی‌دار ($P<0/05$) اما بر تعداد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* معنی‌دار نبود ($P<0/05$). تأثیر نوع نیمار بر تعداد میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در ماست در طول ۲۸ روز نگهداری در دمای ۵±۱ °C در شکل ۲ آورده شده است.

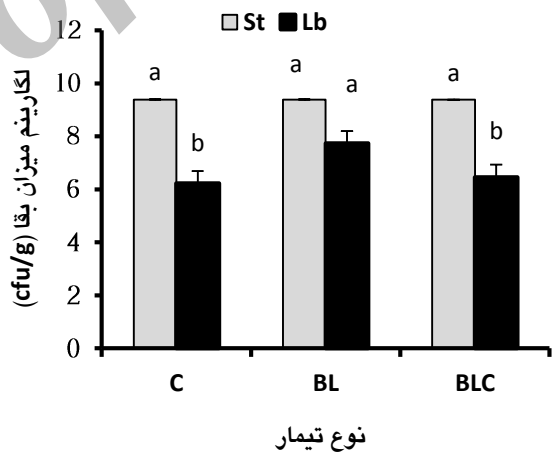
در تمام نمونه‌ها تعداد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بیشتر از *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* بود (شکل ۲). در تیمارهای مختلف کاهش تعداد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* نسبت به *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* کمتر بود. نتایج تحقیقات کوک تاش و گوزل-سیدیم (۲۰۱۰) نیز تأیید کننده بقای بیشتر *استرپتوکوکوس*ها نسبت به *لاکتوباسیل*ها در نمونه‌ها بود. در دوغ پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نشان داده شد که

Archive of SID

www.SID.ir

کاهش تعداد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* بیشتر از *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بود (طاهری و همکاران ۱۳۸۸).

تعداد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در نمونه کنترل بطور معنی داری کمترین مقدار و در تیمار حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد بیشترین مقدار بود. دلیل آن شاید نیازمندی این باکتری به اسیدآمینه-های آزاد و پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین باشد. علت بالا بودن تعداد این باکتری در تیمار آزاد اثر همزیستی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با این باکتری باشد که از طریق افزایش قابلیت دسترسی مواد مغذی موجب افزایش رشد و فعالیت آن شده است. پایداری استارترها در ماست پروبیوتیکی نیز گزارش شده است (عریان و همکاران ۱۳۸۹).



شکل ۲- تعداد *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در تیمارهای مختلف

C (ماست کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت درون پوشانی شده).

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی نمونه های ماست

در جدول ۱ ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی نمونه‌های ماست تولیدی آورده شده است.

طبق استاندارد ملی ایران اگر درصد چربی نمونه‌های ماست بین ۳-۱/۵ درصد باشد ماست نیم چرب نامیده می‌شود که مواد جامد بدون چربی شیری این نوع ماست نباید کمتر از ۹ درصد (وزنی/وزنی، بر پایه مرطوب) باشد. بنابراین با توجه به جدول ۱ نمونه‌های ماست تولیدی در این بررسی نیم چرب بوده و مواد جامد بدون چربی نیز بیشتر از ۹ درصد (وزنی/ وزنی، بر پایه مرطوب) است. لذا ویژگی‌های نمونه‌های ماست تولیدی در این بررسی (جدول۱) با استاندارد ایران مطابقت دارد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ۱۳۸۷).

جدول ۱-ترکیبات شیمیایی نمونه های ماست در روز اول پس از تولید

ماست	رطوبت (٪)	پروتئین (٪)	چربی (٪)	MSNF
C	۸۷/۶۹±۰/۱٤	۲/۹۷±۰/۰۸	۳±۰/۰۰	۹/۳۱
BL	۸۷/۲۱±۰/۳٦	۲/۸۳±۰/۰۸	۳±۰/۰۰	۹/۷۹
BLC	۸٦/۸۳±۰/۳٤	۲/۸۷±۰/۰۸	۳±۰/۰۰	۱۰/۱۷

C (ماست کنترل)، BL ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به صورت درون پوشانی شده).

تغییرات pH و اسیدیته

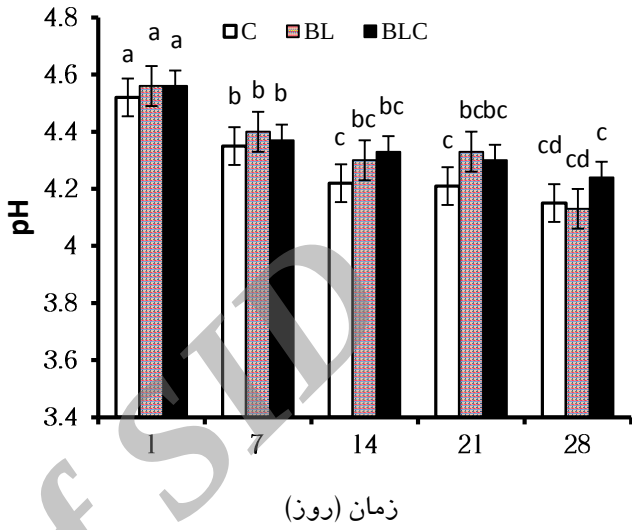
همانطوری که در شکل‌های ۳ و ٤ مشاهده می‌شود مقدار pH در تمام نمونه‌ها در طول نگهداری بطور معنی داری کاهش و اسیدیته افزایش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$).

بیفیدوباکتریوم لاکتیس به صورت آزاد در مقایسه با نوع درون پوشانی آن بطور غیر معنی‌داری موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته شد که نشان می‌دهد به دلیل قرار گرفتن پروبیوتیک‌ها در داخل کپسول، فعالیت اسیدی کمتری داشته و در نتیجه pH این نمونه‌ها بالاتر و اسیدیته آنها کمتر بود. نتایج مشابهی نیز در سایر تحقیقات گزارش شده است (کایلاسپاتی ۲۰۰٦). *بیفیدوباکتریوم*‌ها توسط آنزیم فروکتو ٦-فسفات

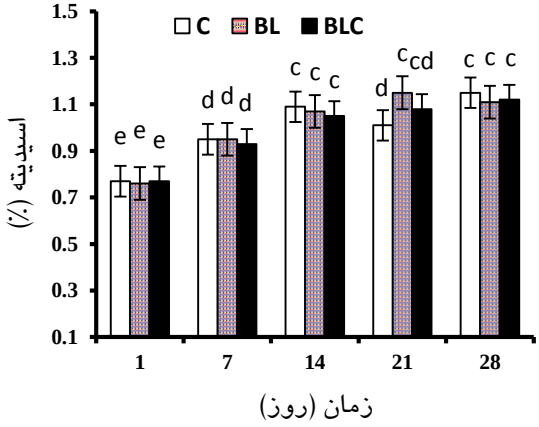
Archive of SID

www.SID.ir

می‌توانند از لاکتوز اسید استیک و اسید لاکتیک تولید کنند (برنو و همکاران ۲۰۰۲).



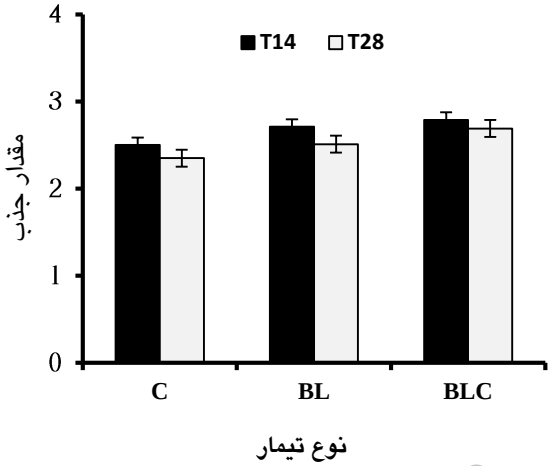
شکل ۳- تغییرات pH ماست در طول ۲۸ روز نگهداری
C (کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده).



شکل ۴- تغییرات اسیدیته ماست در طول ۲۸ روز نگهداری
C (کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده).

تولید اگزوپلی‌ساکارید (EPS)

مقدار اگزوپلی‌ساکاریدها در نمونه‌های ماست در شکل ٦ آورده شده است. با توجه به شکل، در کلیه نمونه‌های ماست اگزوپلی ساکارید وجود دارد. در تیمار کنترل مقدار این ترکیب بطور معنی‌داری کمترین مقدار بود ($P<0/05$). همچنین در نمونه‌هایی که پروبیوتیک به صورت کپسوله بکار برده شده مقدار اگزوپلی ساکارید بطور غیر معنی داری بیشتر از فرم آزاد بود ($P>0/05$).



شکل ۶- تأثیر نوع تیمار بر میزان تولید اگزوپلی-ساکاریدها در نمونه‌های ماست.
C (کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده)
T14: زمان نگهداری به مدت ١٤ روز و T28: زمان نگهداری به مدت ۲۸ روز

در طول نگهداری نیز مقدار آن کاهش یافته است. پلی مرهای مورد استفاده در کپسوله کننده باکتری‌ها نه تنها موجب افزایش قابلیت زیستی باکتری‌ها شد بلکه موجب بهبود خصوصیات ویسکوزیته/ژله‌ای شدن ماست نیز گردید. گزارش شده است کشتهای درون پوشانی شده با تولید اگزوپلی ساکارید می‌توانند در ماتریکس ماست موثر باشد (حسن و همکاران ١٩٩٦). در صنعت ماست از کپسول‌های پلی ساکاریدی برای ایجاد بافت کشی استفاده می‌شود. اگزوپلی‌ساکاریدها موجب ثبات

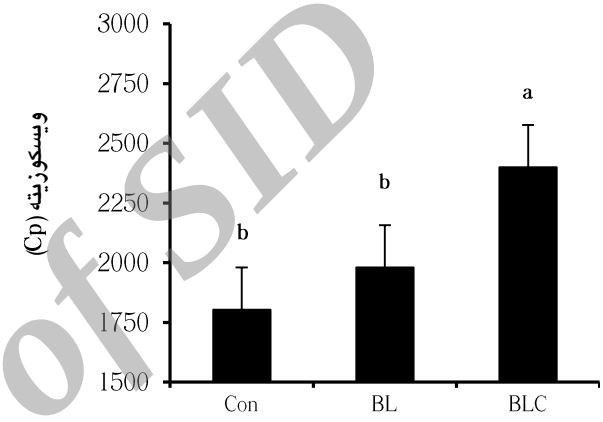
Archive of SID

www.SID.ir

ساختمان ژل ماست شده و از سینرسیس جلوگیری می‌کند (کایلاپاتی ۱۹۹۶).

تغییرات ویسکوزیته

نتایج نشان داد که استفاده از پروبیوتیک‌ها به صورت آزاد بطور غیرمعنی‌داری و به صورت درون پوشانی بطور معنی‌داری موجب افزایش ویسکوزیته نمونه‌های ماست نسبت به نمونه کنترل شد ($P <$ ۰/۰۵).



شکل ۵- تأثیر نوع تیمار بر میزان ویسکوزیته نمونه‌های ماست.

C (کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده).

از فاکتورهای بسیار مهم و تاثیر گذار بر کیفیت محصول، ویسکوزیته می‌باشد که وابسته به عواملی از جمله ترکیبات شیر (نسبت کازئین به پروتئین سرمی)، دمای انکوباسیون، نوع استارتر مورد استفاده و توانایی در تولید اگزوپلی‌ساکارید می‌باشد (وربلوسکا و همکاران ۲۰۰۹).

بر اساس نتایج تحقیق حاضر استفاده از *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده موجب افزایش معنی‌دار ویسکوزیته گردید. افزایش ویسکوزیته را می‌توان به میزان تولید اگزوپلی‌ساکاریدها توسط پروبیوتیک‌ها نسبت داد. تشکیل اگزوپلی‌ساکاریدها توسط پروبیوتیک به افزایش ویسکوزیته و احساس دهانی بهتر کمک کند. گریفن و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که تولید پلی-ساکارید توسط باکتری‌ها بر ویسکوزیته و بافت ماست مهم می‌باشد. آنها نیز خاطر نشان کردند که یونهای سدیم در ژل آلژینات می‌تواند با یون کلسیم، جایگزین و این پدیده ممکن است ثبات لخته ماست را افزایش دهد. تورم کپسول‌ها نیز به افزایش ویسکوزیته کمک می‌کند (کایلاسپاتی ۲۰۰۶).

ترکیب پلی مرهای مورد استفاده در درون پوشانی باکتری‌ها نه تنها موجب افزایش قابلیت زیستی باکتری-ها می‌شود بلکه ممکن است موجب بهبود خصوصیات ویسکوزیته/ ژله‌ای شدن ماست نیز می‌گردد. گزارش شده است کشت‌های درون پوشانی با تولید اگزوپلی ساکارید می‌توانند در ماتریکس ماست موثر باشد (حسن و همکاران ۱۹۹۶). در صنعت ماست از کپسول های پلی ساکاریدی برای ایجاد بافت کشی استفاده می‌شود (یومیرا و همکاران ۱۹۹۳).

ویژگی‌های حسی

ویژگی‌های حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فراورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آنها است. با توجه به اهمیت این خواص، بررسی و شناخت عوامل موثر بر آنها به منظور دستیابی به خواص حسی بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است. نتایج تجزیه آماری خواص حسی نمونه‌های ماست تولیدی در جدول ۲ آورده شده است.

داوران اختلاف معنی‌داری را در طعم و بافت نمونه‌ها تشخیص ندادند (جدول ۲). نتایج مشابهی نیز توسط کایلاسپاتی (۲۰۰۶) گزارش شده است. بر اساس گزارشات این نویسنده انتظار می‌رفت افزودن کپسول‌ها به دلیل زبری، حالت شنی در ماست ایجاد کند. اما داوران حسی چنین حالتی را در نمونه‌های ماست تشخیص ندادند.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- خواص حسی نمونه‌های ماست تولیدی

ماست	طعم	بافت
C	۳/۳۳±۱/٤٤ [b]	۳/۸±۱/۰۷ [a]
BL	۳/۲±۱/۲۸ [b]	۳/۷۳±۱/۰۳ [a]
BLC	۳/٤۸±۱/۲٤ [b]	۳/۵۷± ۱/۱٤ [a]

در هر ردیف میانگین‌های دارای حروف مشترک در یک سطح آماری قرار دارند (آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵).

C (ماست کنترل)، BL (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* آزاد) و BLC (ماست حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* درون پوشانی شده).

نتیجه گیری

نتایج نشان داد که درون پوشانی پروبیوتیک‌ها منجر به افزایش قابلیت زیستی این باکتری‌در مقایسه با فرم آزاد آنها در ماست گردید. همچنین تعداد نهایی باکتری‌های پروبیوتیک به هر دو صورت آزاد و درون پوشانی شده بعد از ۲۸ روز نگهداری در دمای ۵±۱ °C در نمونه‌های ماست بیشتر از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان ($۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$ واحد کلنی در گرم) بود. افزودن *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به فرم درون پوشانی همچنین منجر به افزایش ویسکوزیته ماست شد. بر اساس نتایج ارزیابی حسی هیچ اختلافی از نقطه نظر طعم و قوام بین تیمارها مشاهده نشد. به طور کلی با توجه به نتایج این بررسی، درون پوشانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* نه تنها تأثیر نامطلوب بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نداشت بلکه موجب بهبود ویسکوریته و افزایش زنده‌مانی در ماست گردید.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از همکاری آزمایشگاه صنایع غذایی بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی به دلیل قرار دادن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷. استاندارد ماست-ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. شماره ٦۹۵.

Adhikari K, Mustapha A, Gruen I U and Fernando L, 2000. Viability of microencapsulated *bifidobacteria* in set yogurt during refrigerated storage. Journal of Dairy Science 83: 1946–1951.

Anal A K and Singh H, 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science and Technology 18: 240-251.

Dave R I and Shah N P, 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy J 7: 31-41.

Donkor O N, Nilmini SLI, Stolic P, Vasiljevic T and Shah NP, 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal 17: 657-665.

Durlu-Ozkaya F, Belma Aslim B and Ozkaya M T, 2007. Effect of exopolysaccharides (EPSs) produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains to bacteriophage and nisin sensitivity of the bacteria. LWT 40: 564–568.

Favaro-Trindade C S, Heinemann R J B, Pedroso DL, 2011. Developments in probiotic encapsulation. CAB Rev 6: 1–8.

Ghasempour Z, Alizadeh M and Razazadeh Bari M, 2012. Optimisation of probiotic yoghurt production containing Zedo gum. International Journal of Dairy Technology. 65, 118-125.

Gildas K, Gbassi G K and Vandamme T, 2012. Probiotic Encapsulation Technology: From Microencapsulationto Release into the Gut. Pharmaceutics 4: 149-163.

Gismondo M R, Drago L and Lombardi A, 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. International Journal of Antimicrobial Agents 12: 287–292.

Godward G & Kailasapathy K, 2003. Viability and survival of free, encapsulated and co-encapsulated probiotic bacteria in yoghurt. Milchwissenschaft 58: 396–399.

Archive of SID

www.SID.ir

Hansen L T, Allan-Wojtas P M, Jin Y L and Paulson A T, 2002. Survival of Ca-alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. In milk and simulated gastrointestinal conditions. Food Microbiology 19: 35-45.

Kailasapathy K and Rybka S, 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. their therapeutic potential and survival in yoghurt. Australian Journal of Dairy Technology 52: 28–34.

Kailasapathy k, 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT 39: 1221–1227.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International Dairy J 13: 3–13.

Ozer B, Kirmaci HA, Senel E, Atamer M and Hayaloglu A, 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. International Dairy Journal 19 (1): 22–29.

Rasic J L, 1990. Culture media for detection and enumeration of bifidobacteria in fermented milk products. IDF Bulletin 252: 22–48.

Ravula R and Shah N P, 1998. Selection enumeration of *Lactobacillus casei* from yoghurts and fermented milk drinks. Biotechnol. Techniques 12: 819-822.

Ross R P, Fitzgerald G, Collins K and Stanton C, 2002. Cheese delivering biocultures- probiotic cheese. Australian Journal of Dairy Technology 57: 71–78.

Rybka S and Kailasapathy K, 1995. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB yoghurts. The Australian Journal of Dairy Technology 50: 51–57.

Shah N P, Lankaputhra W E, Britz M and Kyle W S A, 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. International Dairy Journal 5: 515–521.

Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R and Peiris P, 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt. International Journal of Food Microbiology 62: 47–55.

Tamime A Y, Marshall V M E and Robinson R K, 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. Journal of Dairy Research 62: 151–187.

Tarakci Z and Kucukoner E, 2004. Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yogurt. Journal Food Science Technology 41: 177-181.

Wroblewska B, Kolakowsk P and Pawlikowska K, 2009. Influence of the addition of transglutaminase on the immunoreactivity of milk proteins and sensory quality of kefir. Food Hydrocolloids 23: 2434-2445.

Zomorodi Sh, Khosrowshahi Asl A, Razavi Rohani S M and Miraghaei S, 2011. Survival of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* in free and microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. International Journal of Dairy Technology 64: 84-91.

Archive of SID

www.SID.ir

The effects of encapsulation on the survival of *Bifidobacterium lactis* (LAFTI-B94) and the quality properties of set yogurt

L Amineslami[1], A Khosrowshahi Asl[2] and Sh Zomorodi[3*]

Received: October 22, 2013 Accepted: February 16, 2014
[1]MSc Student, Department of Food Science, Islamic Azad University of Ahwaz, Iran
[2]Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Engineering, Agricultural Research Center, West Azerbijan, Urmia Iran
[*]Corresponding author: Email: shahinzomorodi@gmail.com

Abstract
In this study, survival of *Bifidobacterium lactis* (LAFTI-B94) was investigated in both free and encapsulated forms and their effect on physicochemical and sensory properties of yogurt samples during storage for 28 day at 5±1°C. Treatments including: C (control, no probiotic) and *Bifidobacterium lactis* in free and encapsulated form. The analysis of the results showed that the number of *B. lactis* in free form in yogurt samples decreased significantly ($P<0.05$) during storage. The encapsulated form in yogurt samples increased about 1 log in comparison with free form during storage. Also the encapsulated forms of probiotics bacteria increased amount of exopolysaccharides and viscosity of yogurt in comparison with control sample ($P<0.05$). According to the results of sensory evaluation, significant difference was not observed between both samples of yogurt from a flavor and texture point of view. Therefore, it was concluded that, the encapsulated *Bifidobacterium lactis* can be used successfully in the production of probiotic yoghurt.

Key words: *Bifidobacterium lactis*, Microencapsulate, Yogurt, Sensorial properties.

Archive of SID

www.SID.ir