

## ارزیابی ویژگی‌های کشک پروبیوتیک در شرایط پر کردن داغ حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس ریزپوشانی شده

سعید سخاوتی‌زاده<sup>۱</sup>، محمود امین‌لاری<sup>۲\*</sup>، حمیدرضا قیصری<sup>۳</sup>، سید شهرام شکر فروش<sup>۴</sup>، محمدتقی گلمکانی<sup>۵</sup>

۱. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران  
 ۲. مری، عضو هیئت علمی بخش تحقیقات فنی مهندسی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی، شیراز، ایران  
 ۳. استاد، گروه بیوشیمی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران  
 ۴. دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران  
 ۵. استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران  
 \* نویسنده مسئول مکاتبات: aminlari@shirazu.ac.ir  
 (دریافت مقاله: ۹۷/۲/۶ پذیرش نهایی: ۹۷/۶/۲۵)

### چکیده

کشک یکی از محصولات تخمیری پرطرفدار در ایران می‌باشد، که به‌صورت داغ تولید و بسته‌بندی می‌گردد. به‌علت حساس بودن باکتری‌های پروبیوتیک به حرارت، تاکنون اقبالی جهت تولید کشک پروبیوتیک صورت نگرفته است. در این تحقیق از تکنیک ریزپوشانی اکستروژن دولایه توسط آلژینات و صمغ زودو بر روی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس انجام شد و مؤلفه‌های اسیدیته، رنگ، بافت، ویژگی‌های حسی و زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که اسیدیته تا روز ۶۰ در نمونه شاهد ثابت و در حدود ۲۱۱ درجه دورنیک و در نمونه پروبیوتیک در حدود ۱۹۳ درجه دورنیک و از روندی ثابت برخوردار بود. باکتری آزاد اضافه شده به نمونه کشک، بعد از پروسه پرکردن داغ، ماندگاری نداشت ولی نمونه حاوی دانک تا روز چهاردهم نگهداری، از استاندارد حد مجاز لازم برای محصول پروبیوتیک برخوردار بود. در روز شصت، مؤلفه‌های حسی، نظر کلی، طعم، قوام و دل‌پذیری در نمونه کشک شاهد دارای امتیاز بالاتری نسبت به کشک پروبیوتیکی بود.  $\Delta E$  در کشک شاهد ۴/۸ و در کشک پروبیوتیک ۲/۶۲ بود. به‌غیر از پیوستگی، سایر مؤلفه‌های بافتی در کشک شاهد و حاوی دانک در ابتدای مدت نگهداری افزایش یافت و در طول مدت نگهداری نسبتاً ثابت ماند. زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس ریزپوشانی شده دولایه، در حداقل تعداد مجاز  $6 \log \text{ cfu/ml}$ ، برای محصول پروبیوتیک، ۱۴ روز بود و مدت زمان ماندگاری کشک شاهد ۶۰ روز بود. لذا این تکنیک می‌تواند به‌عنوان یک روش مؤثر در ماندگاری باکتری پروبیوتیک در کشک به‌کار رود.

**واژه‌های کلیدی:** کشک، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، ریزپوشانی، پروبیوتیک، زودو

## مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیزم‌های زنده‌ای هستند که اگر به مقدار کافی ( $10^7$  تا  $10^8$  cfu/g) در غذا به کار روند خصوصیات سلامت‌بخشی را برای مصرف‌کننده ایجاد می‌کنند (Hill et al., 2014). مواد تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها می‌تواند به طور مستقیم به عنوان ممانعت‌کننده یا درمانی برای بیماری‌های مسری و تومورها به کار رود (Ebringer et al., 2008). یکی از مهم‌ترین گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس رامنوسوس (*Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103) می‌باشد. بسیاری از خصوصیات سلامت‌بخشی را به لاکتوباسیلوس رامنوسوس نسبت می‌دهند که از جمله آن پیشگیری و درمان اسهال در بچه‌ها و درمان آلرژی می‌باشد (Doron et al., 2005). از سوی دیگر وجود این باکتری در ماست می‌تواند طعم بهتری را به آن بدهد (Hekmat and Reid, 2006).

مهم‌ترین مسئله در کاربرد باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات شیر، ماندگاری آن‌ها و حفظ حدنصاب لازم ( $10^6$  تا  $10^8$  cfu/g) برای حفظ شرایط پروبیوتیک محصول می‌باشد. چرا که اگر محصول پروبیوتیک دارای این حد نصاب باشد باکتری‌های آن می‌توانند خود را به روده رسانده و باعث ایجاد اثرات سلامت‌بخش شوند. از سوی دیگر ماندگاری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در ماست مناسب نمی‌باشد. به عنوان مثال در تحقیقی این باکتری به ماست معمولی و چندین نوع ماست میوه‌ای اضافه شد. نتایج نشان داد که ماندگاری باکتری آزاد در ماست معمولی تا ده روز، از حد نصاب لازم تعداد، برای فرآورده پروبیوتیکی برخوردار بود. ولی در ماست‌های میوه‌ای اکثراً تا ۵ روز،

ویژگی حدنصاب تعداد لازم باکتری پروبیوتیکی را حفظ کردند (Kumar and Kumar, 2016). یکی از تکنیک‌های پیشنهادی برای حفظ حد نصاب باکتری، ریزپوشانی است. به عنوان مثال گونه لاکتوباسیلوس رامنوسوس (VTTE 97800) که با نشاسته ریزپوشانی شده بود در هوای اتاق به مدت حداقل ۶ ماه و در صورت انجماد حداقل ۱۸ ماه مدت ماندگاری داشت. هم‌چنین، دانک تولید شده در مقابل اسید و نمک صفراوی مقاوم بوده و در دستگاه گوارش انسان نیز زنده ماندند (Mattila-Sandholm et al., 2002). از جمله مزایای دیگر ریزپوشانی می‌توان به تثبیت ترکیبات مواد غذایی، کنترل واکنش‌های اکسیداتیو، مهار یا کنترل رهاسازی پروبیوتیک‌ها، پوشش دادن طعم و عطر نامناسب، ایجاد مانع بین مواد حساس و محیط اطراف اشاره نمود (Anal et al., 2007). باکتری‌های ریزپوشانی شده نسبت به نوع معمولی از قدرت زنده‌مانی بیشتری برخوردار بوده‌اند. روش‌های مختلفی برای ریزپوشانی وجود دارد که از جمله آن می‌توان به اکستروژنی (قطرک)، امولسیون (سیستم دو فاز)، کواکستروژن و روش خشک‌کن پاششی اشاره نمود (Krasaekoopt et al., 200).

اگرچه تکنیک ریزپوشانی می‌تواند باعث ماندگاری باکتری‌های لاکتوباسیلوس به واسطه کاهش آب همراه در پروسه شود ولی روش‌هایی مانند ریزپوشانی توسط خشک کردن تحت خلأ، خشک کردن انجمادی یا خشک کردن به وسیله اسپری می‌تواند باعث کاهش تعداد یا مرگ باکتری‌ها شود (Ananta et al., 2005; Favaro-Trindade et al., 2008). یکی از روش‌های ریزپوشانی اکستروژن می‌باشد. در این روش ابتدا باکتری با یک

داغ ( $80^{\circ}\text{C}$ ) تولید می‌گردد. این امر به دلیل کاهش بار میکروبی و ماندگاری بیشتر محصول و کاهش خطر آلودگی ثانویه صورت می‌گیرد. از آنجایی که این دما برای ماندگاری پروبیوتیک‌ها مطلوب نمی‌باشد (Mansouripour et al., 2013)، تاکنون اقبالی جهت تولید کشک پروبیوتیکی صورت نگرفته است. اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به دلیل حساسیت به حرارت می‌تواند بعد از پروسه حرارتی نیز صورت بگیرد. ولی از سوی دیگر، اضافه شدن بعد از پروسه حرارتی، باعث ایجاد آلودگی ثانویه از سمت محیط می‌شود (Champagne, 2009) که این امر از جمله دلایل دیگری است که نمی‌توان پروبیوتیک‌ها را به صورت معمول در کشک به کار برد.

هدف از این تحقیق تولید کشک پروبیوتیک با استفاده از دانک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بررسی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی، میکروبی و حسی محصول می‌باشد. هم‌چنین ماندگاری پروبیوتیک در طول زمان نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت.

### مواد و روش‌ها

- روش آماده‌سازی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس (PTCC 1637) به صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید و برای فعال‌سازی از محیط MRS مایع (Merck, Germany) و به منظور بی‌هوازی شدن محیط از پارافین مایع استریل استفاده شد. محیط کشت در دمای  $37^{\circ}\text{C}$  درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در مرحله بعد در دور

هیدروکلویید مناسب مخلوط خواهد شد و سپس این محلول به صورت قطره به داخل کلرید کلسیم به عنوان محلول سفت کننده ریخته خواهد شد. این روش به دلیل سهولت کار و هزینه کم بسیار محبوب است (Krasaekoopt et al., 2003).

هیدروکلویید مناسب در این روش آلژینات است که یک هتروپلی‌ساکارید خطی است. معمولاً کلسیم موجود در کلرید کلسیم با پلیمر ال‌گلیورونیک اسید-L (acidgularonic) موجود در آلژینات پیوند برقرار کرده و تنها جزء آزاد ساختمان آلژینات که دی‌مانیورونیک اسید است که در تشکیل ژل شرکت می‌کند. قطر کپسول‌های به وجود آمده بین ۲ تا ۳ میلی‌متر است. اندازه دانک به ویسکوزیته محلول آلژینات سدیم، قطر سرنگ، فاصله سر سرنگ با محلول کلرید کلسیم بستگی دارد. بهتر است برای تهیه دانک‌های کوچک‌تر از آلژیناتی بهره برد که میزان گلیورونیک اسید آن کم باشد (Mattila-Sandholm et al., 2002).

صمغ زودو (صمغ فارسی) در سه نوع سفید، زرد و قرمز از تنه و شاخه‌های گیاه بادام کوهی (*Amygdalus Scoparia*) از خانواده روزاسه (*Rosaceae*)، تراوش می‌شود. این گیاه در مرکز ایران می‌روید (Kashki and Amirabadizadeh, 2011). صمغ حاصله دارای کربوهیدرات‌های گالاکتوز و آرابینوز و جزو پلی‌ساکاریدهای آربینوگالاکتان‌ها می‌باشد. نمونه سفید صمغ دارای بالاترین مقاومت گرمایی است (Islam et al., 1997).

یکی از محصولات تخمیری شیر، کشک می‌باشد. کشک از جمله محصولات است که در ایران، به دلیل داشتن محیط مناسب برای فساد، به صورت بسته‌بندی

## - روش ریزپوشانی

برای ریزپوشانی از تکنیک اکستروژن به صورت دولایه‌ای استفاده گردید. لایه اول سدیم آلزینات و لایه دوم زودو در نظر گرفته شد. به منظور ریزپوشانی، ۵ میلی لیتر باکتری شسته و شمارش شده بر اساس روش شمارش پلیت استاندارد ( $1/19 \times 10^9$  cfu/ml) در ۱۵ میلی لیتر محلول آلزینات سدیم ۲ درصد (Sigma-Aldrich, Germany) حل گردید. محلول فوق توسط سرسوزن ۰/۱۱ میلی متر به صورت قطره قطره به ۵۰ میلی لیتر محلول ۰/۱ مولار  $\text{CaCl}_2$  استریل اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه حدود ۲۰ گرم از دانک‌های به وجود آمده، به مدت یک شب در یخچال قرار داده شد. در مرحله بعد دانک‌ها توسط پیتون واتر (Merck, Germany) ۰/۱ درصد استریل چندین بار شستشو شد. سپس دانک‌ها به ۱۰۰ میلی لیتر محلول زودو ۰/۸ درصد (قبلاً توسط پیش‌آزمون مشخص گردید) اضافه شد و بر روی شیکر ارلن با ۱۸۰ دور در دقیقه به مدت ۴۰ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد دانک‌ها توسط پیتون واتر ۰/۱ درصد استریل چندین بار شستشو شد (Krasaekoopt et al., 2006; Gandomi et al., 2016).

## - تهیه کشک پروبیوتیکی به روش آب‌گیری

مقدار ۲۰ لیتر شیر توسط شرکت پگاه فارس تأمین گردید. بر روی آن آزمایش‌های متداول شیر خام صورت پذیرفت (Horwitz and Latimer, 2010; Karim et al, 2010). برای تهیه کشک ابتدا می‌بایستی ماست تهیه گردد. بدین منظور ابتدا چربی شیر روی ۱/۸ درصد استاندارد گردید و توسط دستگاه هموژن در فشار  $150-200 \text{ kg/cm}^2$  همگن شد. سپس به وسیله حرارت ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه

۴۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی دور ریخته شد و رسوب به وسیله محلول آب پیتونه ۱/۵ درصد شستشو داده شد. این عمل دوبار تکرار و سپس حجم رسوب لوله به ۱ میلی لیتر رسانده شد و رقت‌سازی لگاریتمی با سرم فیزیولوژی انجام و جهت ارزیابی تعداد باکتری‌ها از روش کشت سطحی استاندارد استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و شرایط بی‌هوازی گازیک نوع A (Merck, Germany) گرمخانه‌گذاری شدند (Sakai et al., 2010).

## - روش شمارش باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در کشک

برای شمارش باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس از محیط جامد Modified-rhamnose-2,3,5-) M-RTLTV triphenyltetrazolium chloride-LBS-vancomycin agar) بعد از رقیق‌سازی لگاریتمی با استفاده از سرم فیزیولوژی و شمارش سطحی استاندارد استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تحت شرایط بی‌هوازی با گازیک نوع A (Merck, Germany) گرمخانه‌گذاری شدند (Sakai et al., 2010).

## - آماده‌سازی صمغ زودو

صمغ زودو (اهورا دارو، فارس) با میزان پروتئین خام ۰/۲ درصد، خاکستر ۱/۵ درصد و رطوبت ۱۱/۴ درصد تهیه گردید. محلول ۰/۸ درصد زودو توسط فیلتر واتمن شماره ۴ صاف شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید.

روز ۶۰ بعد از تولید، صورت پذیرفت ( Tamime and Robinson, 2007; Horwitz and Latimer, 2010).

- روش شمارش باکتری‌های استارتر اسید لاکتیک برای کشت استریتوکوکوس ترموفیلوس (*Streptococcus thermophilus*) از محیط M17 جامد (Merck, Germany) و برای کشت لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (*L. bulgaricus*) از محیط MRS آگار (Man, Rogosa and Sharp) با ۵/۴ pH= (Merck, Germany) استفاده شد ( Tharmaraj and Shah, 2003). بعد از همگن کردن نمونه‌ها و رساندن به دمای آزمایشگاه، رقت‌سازی لگاریتمی با استفاده از سرم فیزیولوژی و کشت سطحی استاندارد صورت پذیرفت. پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تحت شرایط بی‌هوای گازپک (Anaerocult® A Gas pack) (Merck, Germany) (Sakai et al., 2010) در مخانه‌گذاری شدند.

#### - اندازه‌گیری اسیدیته و pH

اندازه‌گیری اسیدیته بر طبق روش استاندارد ۲۸۵۲ سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و بر اساس درجه دورنیک انجام گردید (ISIRI, 2852/2006). میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر (Sanxin, China) انجام شد (Horwitz and Latimer, 2010).

#### - ارزیابی رنگ کشک‌ها

به منظور ارزیابی رنگ کشک از روش عکس‌برداری دیجیتال توسط دستگاه رنگ‌سنج (Chroma meter CR-400, Japan) استفاده گردید. دستگاه با کاشی سفید استاندارد ۹۲/۲۳،  $L^* = 92/23$ ،  $a^* = -1/29$  و  $b^* = 1/19$  کالیبره شد. برای هر بار اندازه‌گیری رنگ، ۵ گرم کشک در داخل محفظه مخصوص قرار داده شد و مؤلفه‌های

و تا دمای ۴۳ درجه سلسیوس خنک شد. سپس کشت لیوفیلیزه استارتر (Direct vat system) (CH1(50U) (Chr.Hansen, Denmark) DVS به شیر اضافه گردید و در دمای ۴۳ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد تا علاوه بر تشکیل لخته، اسیدیته آن به ۱۵۰ درجه دورنیک برسد. پس از آن، ماست حاصله به دیگ پخت منتقل شد و به مدت ۴ ساعت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس حرارت‌دهی گردید تا تغییر رنگ شیری به کرم مایل به قهوه‌ای مشاهده شود. ماده خشک کل نمونه به ۲۰ درصد رسانده شد و به میزان ۱ درصد به آن نمک استریل اضافه و توسط دستگاه هموژن در دمای ۷۵ درجه سلسیوس در فشار  $150-200 \text{ kgf/cm}^2$  همگن شد. در مرحله بعد به ۳ قسمت مساوی تقسیم گردید. دو نمونه به دمای ۸۰ درجه سلسیوس رسانده شد و در همین دما به نمونه اول دانک باکتری پروبیوتیک به میزان ۱۰ درصد (معادل حدود  $8 \log \text{ cfu/g}$  باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در کشک) و در نمونه دوم باکتری آزاد لاکتوباسیلوس رامنوسوس (با غلظت تقریبی  $8 \log \text{ cfu/g}$  باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در کشک) اضافه و یک نمونه به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. کلیه نمونه‌ها بعد از یک دقیقه که در دمای ۸۰ درجه سلسیوس قرار داشتند، به صورت پرکردن داغ بسته‌بندی و بعد از سرد شدن به سردخانه ۴ درجه سلسیوس به مدت ۶۰ روز منتقل شد. جنس ظروف بسته‌بندی از پلی‌اتیلن چگالی بالا، به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر بود که به روش آرسیل بسته‌بندی گردید. برای بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی محصول، نمونه‌برداری از کشک‌ها هر ۱۵ روز یک‌بار تا

Fritzen-Freire *et al.*, 2012; Abbasi and Azari, )  
 2009). هر چه  $\Delta E$  بیشتر باشد اختلاف رنگ محصول  
 در طول مدت نگهداری، بیشتر است (Nasehi, 2012 )  
 ; (Hunt *et al.*, 1999).

روشنایی  $L^*$ ، گرایش به قرمزی  $a^*$ ، گرایش به زردی  $b^*$   
 برای هر نمونه کشک اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری  
 تغییر رنگ در طول مدت نگهداری از مؤلفه  $\Delta E$ ، که  
 برطبق فرمول‌های [۱ تا ۴] به‌دست آمد، استفاده گردید

معادله (۱)

$$\Delta L = L^*_{\text{sample}} - L^*_{\text{standard}}$$

معادله (۲)

$$\Delta a = a^*_{\text{sample}} - a^*_{\text{standard}}$$

معادله (۳)

$$\Delta b = b^*_{\text{sample}} - b^*_{\text{standard}}$$

معادله (۴)

$$\Delta E = (\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$$

سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت تحت شرایط بی‌هوای  
 گرمخانه‌گذاری گردید. از نمونه‌ها قبل از اعمال حرارتی  
 نیز نمونه‌برداری انجام و کشت بر روی محیط فوق‌الذکر  
 انجام شد.

#### - بررسی بافت کشک

بدین منظور از دستگاه بافت‌سنج (field CT3  
 4500, USA Brook) استفاده گردید. در این تحقیق از  
 آزمون بافتی (Texture profile analysis) با استفاده از  
 پروب استوانه‌ای TA4/1000 استفاده شد. نمونه‌ها در  
 ظروف لیوانی به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر بسته‌بندی گردید.  
 ارتفاع نمونه ۴۲ میلی‌متر و قطر نمونه ۶۳ میلی‌متر بود و  
 سرعت پروب قبل از نفوذ به کشک ۱ میلی‌متر بر ثانیه و  
 در کشک ۱۰ point/s و بعد از خروج از کشک، ۱  
 میلی‌متر بر ثانیه در نظر گرفته شد. میزان نفوذ پروب در  
 کشک ۱۰/۵ میلی‌متر در نظر گرفته شد. پارامترهای  
 بافتی شامل سفتی، صمغیت، فنریت یا قابلیت ارتجاع،  
 قابلیت جویدن، پیوستگی و چسبندگی مورد بررسی  
 قرار گرفت. برای هر نمونه تمام این اندازه‌گیری‌ها در

#### - آزمون ارگانولپتیکی

آزمون ارگانولپتیکی بر اساس روش ارزیابی حسی  
 بر طبق استاندارد ۶۶۹۱ انجام گردید (ISIRI,  
 4691/1999). این آزمون با استفاده از ۳۰ نفر داور که  
 بیش‌ترین امتیاز ارزیابی چشایی را از خود نشان دادند  
 انجام شد. جدول امتیازی برحسب اعداد ۱ تا ۵  
 "هدونیک ۵ نقطه‌ای" به ترتیب برای امتیاز ۱ (شدیداً  
 مخالفم) تا امتیاز ۵ (شدیداً موافقم) در نظر گرفته شد.  
 در بین هر بار آزمون از آب معدنی و بیسکویت استفاده  
 گردید.

#### - بررسی ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیکی در شرایط مشابه غذایی

از آنجایی که عمده مصرف کشک در فرآورده‌هایی  
 است که دارای پخت می‌باشند لذا ماندگاری باکتری‌های  
 پروبیوتیکی در شرایط پخت غذایی بسیار مهم است.  
 بدین منظور سه نمونه از کشک، در روز ۱۴ نگهداری،  
 انتخاب و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه  
 سلسیوس حرارت‌دهی گردید. سپس بر روی M-  
 RLTV به صورت پورپلیت کشت و در دمای ۳۷ درجه

## یافته‌ها

- خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژی شیر و کشک

شیر مصرفی در تولید کشک دارای وزن مخصوص  $1.035 \text{ g/cm}^3$ ،  $\text{pH} = 6.6$ ، نقطه انجماد  $0.524$  درجه سلسیوس، چربی  $1/8$  درصد، تست الکل و آنتی بیوتیک منفی، درصد ماده خشک بدون چربی شیر (Solid non fat)  $8/1 \text{ m/m}$ ، اسیدیته  $16$ ، بار میکروبی  $\text{cfu/ml}$   $2/4 \times 10^5$  بود. کشک تولیدی دارای اسیدیته  $210$  درجه دورنیک،  $\text{pH} = 4/18$ ، ماده خشک  $20$  درصد، نمک  $1$  درصد، پروتئین  $3/82$  درصد بود. هم‌چنین کپک، مخمر، *اشریشیا کولای*، *کلی فرم* و *استافیلوکوکوس ارئوس* شناسایی نشد.

- اندازه‌گیری اسیدیته و pH

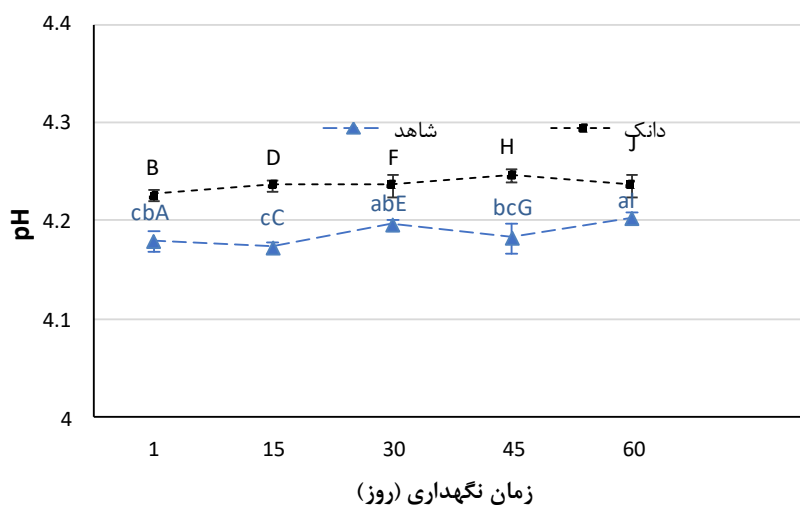
میزان اسید در طول مدت نگهداری اختلاف معنی‌دار نداشت. ولی pH در پایان دوره نگهداری در نمونه شاهد افزایش یافت. نمونه حاوی دانک دارای اسیدیته پایین‌تر و pH بالاتر نسبت به نمونه شاهد بود (نمودارهای ۱ و ۲).

دمای  $3 \pm 25$  درجه سلسیوس در حداقل ۳ تکرار انجام شد (Jooyandeh et al., 2015).

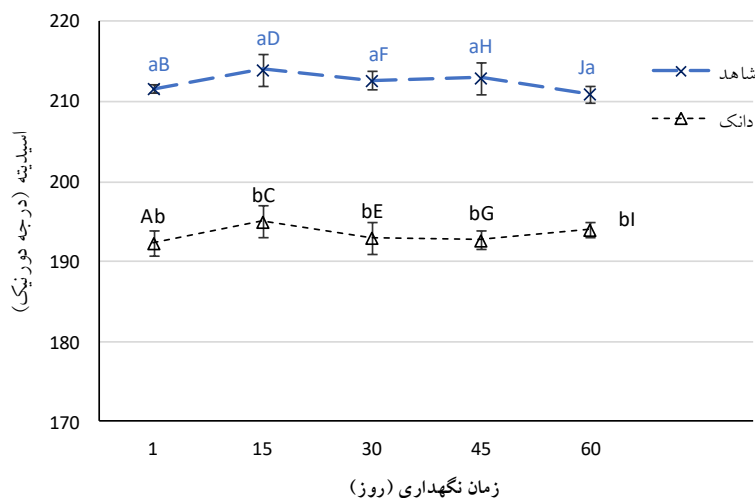
- بررسی زمان ماندگاری کشک پروبیوتیکی و معمولی بر طبق روش استاندارد ملی، آزمون‌های وجود و شمارش کلی فرم، *اشریشیا کولای*، کپک، مخمر و *استافیلوکوکوس ارئوس* تا روز ۶۰ صورت پذیرفت (ISIRI, 2406/2017).

- آزمون‌های آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار (SPSS نسخه ۲۲) آنالیز گردیدند. کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد. جهت آنالیز آماری داده‌ها در طول مدت نگهداری از آزمون آنالیز واریانس تکراری و برای اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین میانگین‌های زمانی از آزمون LSD استفاده گردید جهت بررسی اختلاف بین نمونه شاهد و دانک در زمان معین، از آزمون T test غیرزوجی در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. برای آنالیز حسی انواع کشک تولیدی از تست کروسکال والیس و من ویتنی یو استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل ۲۰۱۶ استفاده گردید.



نمودار (۱) - تغییرات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) pH در طول مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس؛ a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشانگر اختلاف معنی دار ( $p < 0/05$ ) در زمان های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی دار ( $p < 0/05$ ) بین دو نمونه کشتک در یک زمان است.

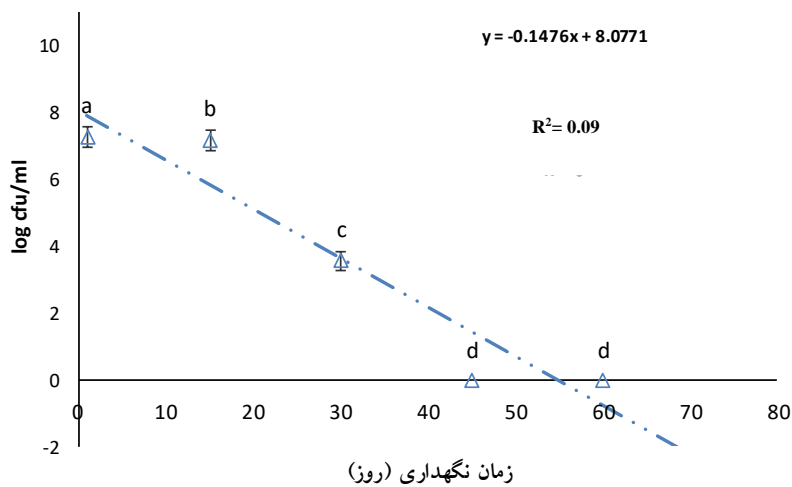


نمودار (۲) - تغییرات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) اسیدیته در طول مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس؛ a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشانگر اختلاف معنی دار ( $p < 0/05$ ) در زمان های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی دار ( $p < 0/05$ ) بین دو نمونه کشتک در یک زمان است.



در کشک حاوی باکتری آزاد، بعد از مرحله پرکردن داغ هیچ رشد باکتری در محیط M-RLTV مشاهده نگردید. نتایج ماندگاری دانک باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در نمودار (۳) آورده شده است. در شرایط مشابه غذایی هیچ رشد باکتری در محیط M-RLTV مشاهده نگردید.

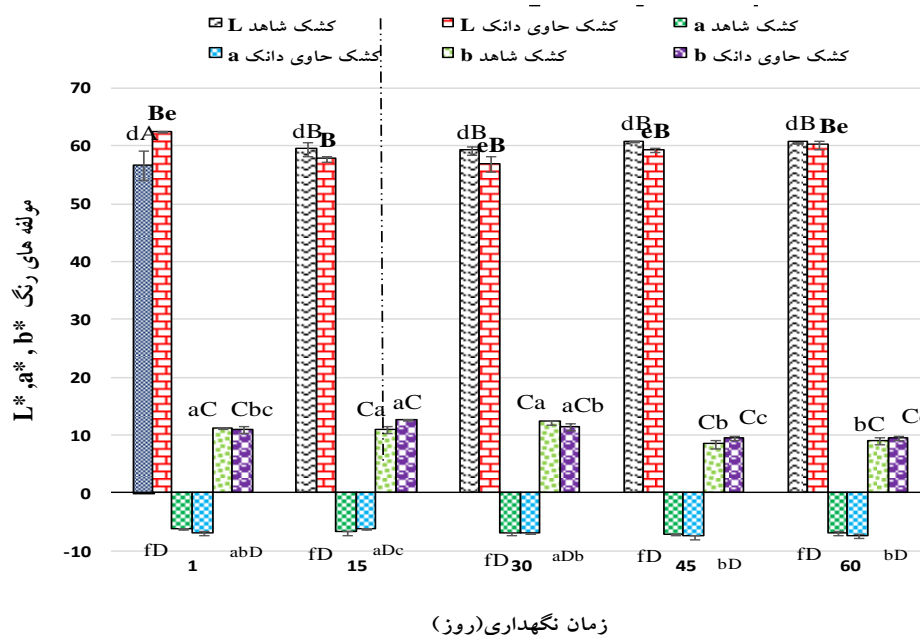
- ماندگاری باکتری‌های استارتر در کشک  
بررسی ماندگاری باکتری‌های استارتر بعد از اعمال حرارتی نشان داد که هیچ رشد باکتری بر روی محیط‌های M<sub>17</sub> و MRS آگار مشاهده نگردید.  
- ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس و دانک آن در کشک بعد از پرکردن داغ و شرایط مشابه غذایی



نمودار (۳). تغییرات زمان ماندگاری (میانگین ± خطای استاندارد) دانک پروبیوتیک در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ دوره نگهداری؛ a, b, c, d: نتایج با حروف فوقانی کوچک متفاوت از لحاظ آماری تفاوت معنی دار دارند ( $p < 0/05$ ).

معنی داری بین نمونه شاهد و نمونه پروبیوتیک وجود نداشت. از لحاظ مؤلفه‌های a\* و b\* در طول مدت نگهداری کشک شاهد و پروبیوتیک دارای اختلاف معنی داری نبودند.  $\Delta E$  در نمونه شاهد ۴/۸ و در نمونه کشک حاوی دانک ۲/۶۲ بود. لذا تغییرات رنگی در نمونه شاهد بیشتر از نمونه حاوی دانک در طول مدت نگهداری بود.

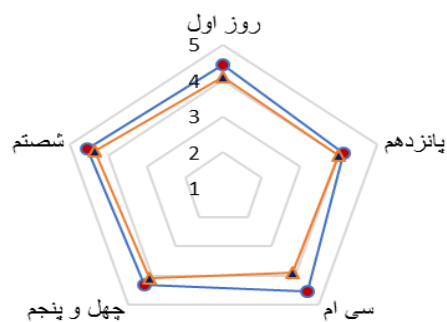
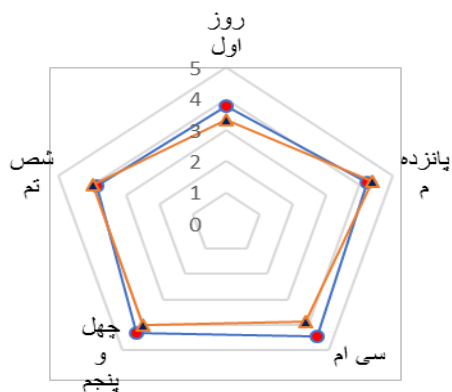
- ارزیابی رنگ کشک‌ها  
بر اساس یافته‌های نمودار (۴) در مؤلفه L\* و a\* در نمونه شاهد و نمونه پروبیوتیک در طول مدت نگهداری افزایش معنی داری مشاهده نگردید. ولی مؤلفه b\* در نمونه‌ها ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. در مقایسه بین نمونه شاهد و پروبیوتیک مشخص گردید که در روز اول مؤلفه L\* کشک شاهد کمتر از کشک حاوی دانک بود. احتمالاً دانک باعث روشن‌تر شدن رنگ محصول گردیده است. ولی در سایر روزها اختلاف



نمودار (۴) - تغییرات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) مؤلفه‌های رنگ در طول مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس؛ a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در زمان‌های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین دو نمونه کشک در یک زمان است.

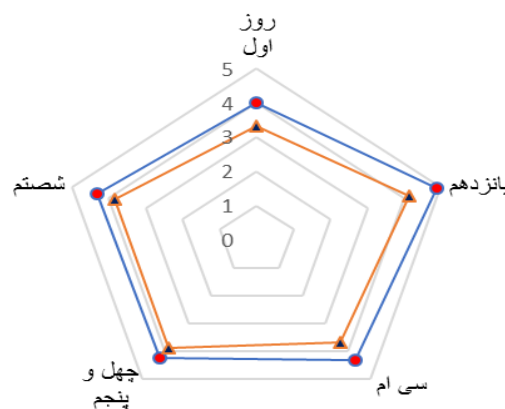
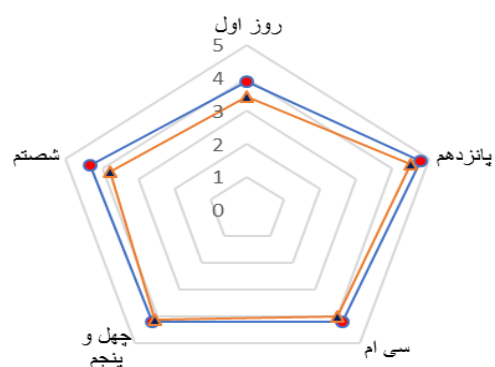
آزمون ارگانولپتیکی -  
 نتایج تست حسی در نمودار (۵) آورده شده است. در مقایسه دو نمونه کشک مشخص شد که در روز ۶۰ نگهداری امتیاز مؤلفه‌های قوام، نظر کلی، دل‌پذیری و طعم در نمونه شاهد بالاتر از نمونه حاوی دانک بود ( $p < 0.05$ )، ولی در سایر مؤلفه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند.

نتایج تست حسی در نمودار (۵) آورده شده است. در مقایسه دو نمونه کشک مشخص شد که در روز ۶۰ نگهداری امتیاز مؤلفه‌های قوام، نظر کلی، دل‌پذیری و



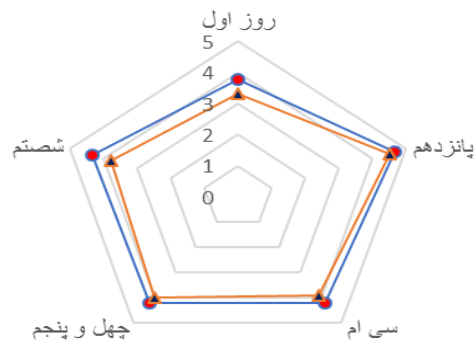
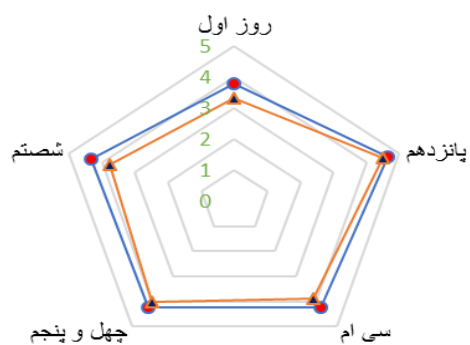
●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک

●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک



●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک

●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک



●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک

●—● کشک معمولی    ▲—▲ کشک حاوی دانک

نمودار (۵) - آزمون‌های حسی کشک معمولی و پروبیوتیک در طول مدت نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس؛ نمودارها به ترتیب از راست به چپ و از بالا به پایین شامل رنگ، بو، قوام، طعم، دل‌پذیری و نظر کلی می‌باشد؛ اعداد میانگین ۳۰ تکرار هستند.

که در پایان ۶۰ روز نگهداری، کشک شاهد دارای مقدار عددی بالاتری در مؤلفه‌های صمغیت و قابلیت جویدن، سفتی و چسبندگی نسبت به نمونه پروبیوتیک بوده است (جدول ۱).

- بررسی بافت کشک

سفتی، صمغیت، قابلیت جویدن، قابلیت ارتجاع و چسبندگی نمونه‌ها در طول مدت نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است ( $p < 0.05$ ). ولی مؤلفه پیوستگی در طول مدت نگهداری ثابت بوده است. مقایسه بین نمونه‌های شاهد و پروبیوتیک نیز نشان داد

جدول (۱)- تغییرات (میانگین  $\pm$  خطای استاندارد) مؤلفه‌های سفتی، چسبندگی، پیوستگی، قابلیت ارتجاع، صمغیت و قابلیت جویدن در انواع کشک طی نگهداری

آزمون	نوع کشک	زمان نگهداری (روز)				
		۶۰	۴۵	۳۰	۱۵	۱
سفتی (g)	شاهد	۱۲۲/۰۸ $\pm$ ۸/۵۷ <sup>Ba</sup>	۱۱۸/۶۷ $\pm$ ۲/۳۰ <sup>Aa</sup>	۱۲۲/۷۵ $\pm$ ۸/۶۰ <sup>aA</sup>	۱۲۰/۸۳ $\pm$ ۸/۰۲ <sup>Aa</sup>	۶۸/۰ $\pm$ ۴/۶۸ <sup>Ab</sup>
	پروبیوتیک	۱۱۰/۵۰ $\pm$ ۱/۰۴ <sup>Aa</sup>	۱۱۵/۶۷ $\pm$ ۰/۸۸ <sup>Aa</sup>	۱۲۵/۳۳ $\pm$ ۹/۷۲ <sup>Aa</sup>	۱۱۹/۰۰ $\pm$ ۱/۱۵ <sup>Aa</sup>	۷۱/۰۸ $\pm$ ۱۱/۲۱ <sup>Bb</sup>
چسبندگی (mJ)	شاهد	۸/۲۵ $\pm$ ۰/۱۲ <sup>Ba</sup>	۸/۸۱ $\pm$ ۰/۴۹ <sup>Ba</sup>	۸/۹۵ $\pm$ ۰/۸۵ <sup>Aa</sup>	۵/۲۸ $\pm$ ۱/۲۹ <sup>Bb</sup>	۲/۹۸ $\pm$ ۰/۵۲ <sup>Bb</sup>
	پروبیوتیک	۷/۱۵ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>Ab</sup>	۷/۶۸ $\pm$ ۰/۲۸ <sup>Ab</sup>	۹/۱۱ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>Aa</sup>	۴/۴۳ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>Ac</sup>	۲/۲۱ $\pm$ ۰/۳۱ <sup>Ad</sup>
پیوستگی	شاهد	۰/۸۰ $\pm$ ۰/۰۱ <sup>Aa</sup>	۰/۷۸ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۷۳ $\pm$ ۰/۰۳ <sup>Aa</sup>	۰/۸۶ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>Ba</sup>	۰/۸۹ $\pm$ ۰/۰۷ <sup>Aa</sup>
	پروبیوتیک	۰/۸۲ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۷۰ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۷۴ $\pm$ ۰/۰۵ <sup>Aa</sup>	۰/۷۵ $\pm$ ۰/۰۲ <sup>Aa</sup>	۰/۸۴ $\pm$ ۰/۰۸ <sup>Aa</sup>
قابلیت ارتجاع (mm)	شاهد	۱۲/۷۰ $\pm$ ۰/۲۱ <sup>Aa</sup>	۱۳/۹۷ $\pm$ ۰/۵۰ <sup>Aa</sup>	۱۳/۸۵ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>Ba</sup>	۱۲/۶۳ $\pm$ ۳/۹۳ <sup>Ba</sup>	۱۰/۶۶ $\pm$ ۰/۰۴ <sup>Ab</sup>
	پروبیوتیک	۱۲/۹۰ $\pm$ ۰/۲۶ <sup>Ac</sup>	۱۱/۷۷ $\pm$ ۰/۷۸ <sup>AcD</sup>	۱۰/۲۶ $\pm$ ۰/۳۱ <sup>Ac</sup>	۱۰/۷۱ $\pm$ ۲/۳۸ <sup>AdC</sup>	۱۰/۴۹ $\pm$ ۰/۲۵ <sup>AdC</sup>
صمغیت (g)	شاهد	۹۵/۸۷ $\pm$ ۱/۸۵ <sup>Ba</sup>	۹۳/۷۰ $\pm$ ۲/۹۵ <sup>Bb</sup>	۹۷/۴۰ $\pm$ ۵/۵۲ <sup>Bc</sup>	۱۰۰/۸۰ $\pm$ ۰/۲۴ <sup>Ba</sup>	۶۸/۶۳ $\pm$ ۰/۴۷ <sup>Ab</sup>
	پروبیوتیک	۹۰/۶۰ $\pm$ ۰/۱۷ <sup>Ac</sup>	۸۶/۳۳ $\pm$ ۳/۱۸ <sup>Ac</sup>	۸۷/۴۳ $\pm$ ۴/۹۵ <sup>Ac</sup>	۴۹/۳۷ $\pm$ ۲/۵ <sup>Ad</sup>	۵۰/۴۳ $\pm$ ۵/۰۲ <sup>dA</sup>
قابلیت جویدن (mJ)	شاهد	۱۳/۳۲ $\pm$ ۰/۳۳ <sup>Ba</sup>	۱۶/۱۳ $\pm$ ۱/۰۵ <sup>Ba</sup>	۱۳/۲۲ $\pm$ ۰/۷۴ <sup>Ba</sup>	۱۲/۶۷ $\pm$ ۳/۹۲ <sup>Ba</sup>	۷/۱۸ $\pm$ ۰/۱۶ <sup>Bb</sup>
	پروبیوتیک	۱۱/۵۵ $\pm$ ۰/۳۰ <sup>Ac</sup>	۱۲/۴۰ $\pm$ ۱/۸۲ <sup>cA</sup>	۱۲/۲۳ $\pm$ ۱/۰۴ <sup>Ac</sup>	۵/۱۹ $\pm$ ۰/۴۴ <sup>Ad</sup>	۵/۲۱ $\pm$ ۰/۶۳ <sup>Ad</sup>

a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در زمان‌های مختلف است.

A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بین دو نمونه کشک در یک زمان است.

استافیلوکوکوس ارتوس بودند. لذا نمونه کشک شاهد و کشک پروبیوتیک، تا روز ۶۰ مناسب برای مصرف بودند.

مقایسه زمان ماندگاری بین کشک پروبیوتیکی و معمولی نیز نشان داد که هر دو نمونه کشک تا روز ۶۰، فاقد کلی‌فرم، اشیریشیا کولای، کپک، مخمر و

## بحث و نتیجه‌گیری

افزایش اسیدیته و یا کاهش pH مواجهه نبوده است. بنابراین باکتری‌های تولیدکننده اسید تأثیر چندانی بر اسیدیته نداشته‌اند. هم‌چنین اسیدیته کشک حاوی دانک کمتر از نمونه شاهد بود، یکی از دلایل آن می‌تواند اضافه شدن میزان ۱۰ درصد دانک به محصول باشد که باعث رقیق شدن اسید می‌گردد.

لاکتوباسیلوس رامنوسوس آزاد بعد از پروسه پر کردن داغ در محصول ماندگاری نداشت. شمارش اولیه دانک در کشک، ابتدای اعمال حرارتی یک دقیقه‌ای (پر کردن داغ)  $8/28 \log \text{cfu/g}$  و بعد از مرحله پر کردن  $0/98 \log \text{cfu/g}$  باکتری کاهش داشت. تعداد باکتری موجود در کشک حاوی دانک  $7/3 \log \text{cfu/g}$  در روز اول بوده است. از روز چهل و پنجم به بعد، باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس از کشک جدا نشد. ماندگاری باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس در کشک از روند کاهش برخوردار بود. کشک در روز ۱۴ نگهداری از حدنصاب لازم برای محصول پروبیوتیک برخوردار بود. الگوی آماری نشان دهنده مدل مناسب آماری برای محاسبه کاهش باکتری‌ها در این مطالعه است و در جدول ضرایب، کلیه ضرایب مدل معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) بودند (نمودار ۳).

از آنجایی که تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در محصول مهم‌ترین خصوصیت یک محصول فراسودمند است، لذا استفاده از میکروکپسول می‌تواند باعث ماندگاری بیشتر این دسته از باکتری‌ها شود (Krasaekoopt *et al.*, 2006). در تحقیقی که بر روی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس طبیعی انجام شد، در روز اول تعداد باکتری آزاد لاکتوباسیلوس رامنوسوس اضافه شده به محصول  $\log$

در مطالعه حاضر تولید لاکتیک اسید تا روز ۶۰ در هر دو نمونه ثابت بود. یکی از دلایل آن می‌تواند نامناسب بودن pH برای لاکتوباسیلوس رامنوسوس باشد. در تحقیقی مشخص گردید بیش‌ترین تولید لاکتیک اسید در لاکتوباسیلوس پلانشاروم در pH برابر ۵ تا ۶ صورت می‌پذیرد در pH کم‌تر از ۵/۵ مصرف گلوکز محدود می‌شود و مدت زمان بیش‌تری صرف ورود گلوکز به داخل باکتری می‌گردد. لذا تولید لاکتیک اسید چندانی صورت نمی‌گیرد (Fu and Mathews, 1999)، لذا از سوی دیگر دما عامل مهمی در تولید اسید و رشد باکتری به حساب می‌آید که بهترین دما برای رشد این باکتری ۳۳-۳۵ درجه سلسیوس می‌باشد (Hofvendahl and Hahn-Hägerdal, 2000) که با دمای نگهداری این تحقیق متفاوت است. در تحقیقی که لاکتوباسیلوس رامنوسوس ریزپوشانی شده به‌وسیله آلژینات و کاراگینان، به ماست میوه اضافه شد، میزان اسیدیته افزایش و میزان pH در طول مدت نگهداری کاهش یافت (Kumar and Kumar, 2016) که با یافته‌های این تحقیق هم‌خوانی ندارد. چرا که افزایش اسیدیته و یا کاهش pH، به‌واسطه باکتری‌های استارتر استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس در دمای ۴ درجه سلسیوس می‌باشد (Donkor *et al.*, 2006). باکتری‌های استارتر ماست شامل لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس بعد از اعمال حرارتی و کشت از محصول جدا نشدند. از آنجایی که در تحقیق حاضر این دو باکتری در فرایند تولید کشک از بین رفتند، لذا کشک‌های تولیدی در این طرح با

$L^*$  گردیده بود و این امر به دلیل جذب آب توسط فیبر بوده است. لذا احتمالاً در این تحقیق به دلیل آن که آب توسط دانک جذب نمی‌شود. تیرگی محصول حاوی دانک نسبت به نمونه شاهد، وجود نداشته است (García-Pérez *et al.*, 2005).

در طول مدت نگهداری محصول لبنی تخمیری، اسیدیته افزایش و pH کاهش یافت که این امر باعث کاهش مؤلفه روشنایی و افزایش مؤلفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  گردید. بنابراین رنگ ماست تابعی از pH می‌باشد. مؤلفه  $b^*$  بیش‌ترین ضریب همبستگی را (نسبت به سایر مؤلفه‌ها) با pH از خود نشان می‌دهد. در pH برابر ۵ محلول شدن فسفات کلسیم در میسل کازئینی رخ می‌دهد. بنابر این به پروتئین‌های موجود در میسل کازئینی این امکان را می‌دهد که از میسل به راحتی خارج شوند و وارد سرم فاز شیر گردند و باعث حفره‌دار شدن (تخلخل) میسل کازئینی گردند. در ۵/۲ pH= میسل کازئینی به حداقل اندازه خود می‌رسد که کاهش مؤلفه  $L^*$  رابطه مستقیمی با آن دارد و در عوض مؤلفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  افزایش می‌یابند. لذا در تحقیق حاضر یکی از دلایل کاهش مؤلفه  $b^*$  در کشک شاهد در طول مدت نگهداری افزایش pH در انتهای دوره نگهداری است. pH و اسیدیته در دانک ثابت بوده است لذا اختلاف معنی‌داری در مؤلفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  مشاهده نگردید. در روز اول مؤلفه  $L^*$  در کشک دانک بیش‌تر از کشک شاهد بود که نشان دهنده ایجاد تیرگی توسط دانک اضافه شده می‌باشد (García-Pérez *et al.*, 2005).

اضافه کردن دانک به کشک باعث کاهش امتیاز مؤلفه‌های دل‌پذیری، طعم، نظر کلی و قوام در پایان

۸/۹ cfu/g بود و محصول واجد حدنصاب لازم برای محصول پروبیوتیک تا روز دهم بود ولی در روز ۱۵ نگهداری به  $4/04 \log \text{cfu/g}$  رسید. در صورتی که با استفاده از تکنیک ریزپوشانی با آلژینات، این کاهش از  $8/79 \log \text{cfu/g}$  (در روز اول) به  $5/28 \text{cfu/g}$  (در روز ۱۵) رسید. به‌رغم این که محصول واجد دانک در روز ۱۵ از نظر جمعیت میکروبی پروبیوتیک محسوب نمی‌شود، ولی از کاهش کم‌تری نسبت به محصول باکتری‌های آزاد برخوردار بود (Kumar and Kumar, 2016). در تحقیقی که بر روی ماندگاری حرارتی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (ATCC 43121) انجام شد، مشخص گردید که درجه حرارت ۶۲/۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه باعث کاهش تعداد باکتری آزاد از  $2 \times 10^7 \text{cfu/ml}$  به  $3/5 \times 10^4 \text{cfu/ml}$  و در باکتری ریزپوشانی شده از  $1/2 \times 10^7 \text{cfu/ml}$  به  $2/1 \times 10^6 \text{cfu/ml}$  شد که با یافته‌های این تحقیق مطابقت ندارد (Kim *et al.*, 2008). یکی از دلایل این اختلاف می‌تواند در دما و زمان و pH متفاوت محصول باشد. هم‌چنین جنس دانک در تحقیق ذکر شده از آلژینات، زانتان و گلیسرول بوده است که متفاوت با آلژینات و زودو در این تحقیق می‌باشد. در تحقیق حاضر، باکتری‌های ریزپوشانی شده در شرایط مشابه غذایی ماندگاری نداشتند. لذا از محصول پروبیوتیک تولید شده نمی‌توان در محصولاتی که دارای جوشش زیادی هستند، استفاده نمود.

از روز ۱۵ به بعد، کشک حاوی دانک با نمونه شاهد از لحاظ مؤلفه  $L^*$  دارای تفاوت معنی‌داری نبود. مؤلفه روشنایی به‌طور مستقیم با میزان آب سطحی در ارتباط است تا رطوبت کل؛ از این جهت در تحقیقی که از فیبر در ماست استفاده شده بود باعث کاهش ارزش مؤلفه

در روز اول با سایر روزها دارای اختلاف معنی‌دار بود ولی بین سایر روزها اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید که با یافته‌های این پژوهش هم‌خوانی دارد (Shahbandari et al., 2016). نتایج تحقیقات سایر محققین هم نشان داد که سفتی بافت ماست حاوی دانک و ماست شاهد در ابتدای مدت نگهداری افزایش می‌یابد که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد از سوی دیگر یکی از علت‌های کاهش سفتی در ماست حاوی دانک تک‌لایه، تولید اسید در طی مراحل نگهداری قید شده است که این کاهش سفتی در نتایج این تحقیق به دلیل ثابت بودن میزان اسیدیته در طول مدت نگهداری مشاهده نگردید (Mousa et al., 2014).

نیروی چسبندگی، نیروی جاذب بین سطح ماده غذایی و سطح دیگر اجسام می‌باشد، بنابراین ساختار ژل و شبکه پروتئین ماست هر قدر سخت‌تر باشد باعث افزایش نیروی چسبندگی می‌گردد، مؤلفه پیوستگی ماست در طول ذخیره‌سازی کاهش یافت که با یافته‌های این تحقیق هم‌خوانی دارد (Domagala et al., 2005; Shahbandari et al., 2016).

در تحقیقی که بر روی ماست حاوی دانک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (La-5) انجام شد مشخص گردید که در روز ۲۱، سختی، پیوستگی، چسبندگی، صمغیت و قابلیت جویدن نمونه‌های حاوی دانک بالاتر از نمونه‌های شاهد بود. چرا که کشت مخلوط استارتر دارای پیوند شدیدتری در زنجیره‌های پروتئینی است و احتمالاً لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La-5 و باکتری‌های استارتر به‌ویژه در ماست حاوی دانک اثر سینرژیک بر روی استحکام بافت دارد. ولی در تحقیق حاضر به دلیل عدم ماندگاری کشت استارتر بعد از پروسه پخت این

دوره نگهداری گردید ولی بر سایر مؤلفه‌ها تأثیر به‌سزایی نداشت. نتایج تحقیقات در ماست حاوی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده نشان داد که مؤلفه رنگ و ظاهر ماست حاوی دانک و نمونه شاهد هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در روز ۴۹ با هم نداشتند که با یافته‌های این پژوهش مطابقت ندارد؛ چرا که در تحقیق یاد شده از کاراگینان استفاده شده بود که رنگ سفید مشابه به ماست را داشته است در صورتی‌که در تحقیق حاضر از زودو استفاده شده بود که رنگ قهوه‌ای را ایجاد نموده است (Adhikari et al., 2003). هم‌چنین قوام ماست حاوی دانک کم‌تر از نمونه شاهد بود. به دلیل این‌که مؤلفه قوام به دلیل ایجاد پلی‌ساکارید تولید شده توسط باکتری‌های استارتر افزایش یافت که در این تحقیق به دلیل از بین رفتن باکتری‌های استارترها بعد از مرحله پر کردن داغ، کشک از قوام خوبی برخوردار نبود (Tamime and Robinson, 2007). از سوی دیگر در تحقیقی قوام ماست حاوی دانک به دلیل واکنش پروتئین‌های شیر با آلزینات و کاهش چشم‌گیر pH و از سوی دیگر استفاده از نشاسته در ساختار دانک نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است که با تحقیق جاری هم‌خوانی ندارد، چرا که در تحقیق جاری از pH نسبتاً ثابت بوده و ماده ریزپوشانی باکتری نیز متفاوت بوده است (Onsoyen, 1992).

ارزیابی بافت کشک شاهد و پروبیوتیک در طول مدت نگهداری نشان داد که در طول مدت نگهداری مؤلفه‌های سفتی، صمغیت، قابلیت جویدن، قابلیت ارتجاع و چسبندگی افزایش یافتند. در پژوهشی که بر روی ماست سویای هم‌زده انجام شد میزان مؤلفه سختی

هم‌چنین کشک تولید شده دارای حدنصاب لازم  $cfu/g$  تا  $10^6$  باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در محصول، تا روز ۱۴ نگهداری بود لذا دارای حد نصاب لازم برای محصول پروبیوتیک بود. نتایج آزمون‌های حسی، بافت و رنگ نیز نشان‌دهنده این موضوع است که می‌توان از این باکتری ریزپوشانی شده در کشک استفاده کرد.

### سپاسگزاری

این مطالعه در قالب پایان‌نامه دکتری تخصصی و با استفاده از امکانات آزمایشگاه و پایلوت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس صورت پذیرفت.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

اختلاف بین نمونه شاهد و دانک دیده نشد (Flávia et al., 2005; Zhang et al., 2016).

صمغیت متأثر از مؤلفه‌های سفتی و پیوستگی می‌باشد. بدان دلیل که سفتی و پیوستگی نمونه شاهد بیش‌تر از نمونه پروبیوتیک بوده است لذا نمونه شاهد صمغیت بالاتری داشت. از سوی دیگر به‌علت بالا رفتن مؤلفه سفتی در دو نمونه روز پانزدهم، صمغیت نیز در همان راستا افزایش یافته است. قابلیت جویدن متأثر از دو مؤلفه فنریت و صمغیت می‌باشد لذا با توجه به این موضوع یکی از دلایل اختلاف معنی‌دار در قابلیت جویدن بین نمونه شاهد و پروبیوتیک، بالاتر بودن صمغیت نمونه شاهد نسبت به نمونه پروبیوتیک بوده است (Koca and Metin, 2004).

با توجه به نتایج مطالعه می‌توان به این جمع‌بندی رسید که استفاده از ریزپوشانی اکستروژن دولایه با آلژینات و صمغ زودو می‌تواند باعث ماندگاری باکتری در شرایط پر کردن داغ نسبت به باکتری آزاد گردد.

### منابع

- Abbasi, S. and Azari, S. (2009). Novel microwave–freeze drying of onion slices. *International Journal of Food Science and Technology*, 44(5): 974-979. [In Persian]
- Adhikari, K., Mustapha, A. and Grün, I.U. (2003). Survival and metabolic activity of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in stirred yogurt. *Journal of Food Science*, 68(1): 275-280.
- 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(5): 240-251.
- Ananta, E., Volkert, M. and Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* G.G. *International Dairy Journal*, 15(4): 399-409.
- Champagne, C.P. (2009). *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. 1<sup>st</sup> edition, Springer, New York, pp. 761-804.
- Domagala, J., Sady, M., Grega, T. and Bonczar, G. (2005). The influence of storage time on rheological properties and texture of yoghurts with the addition of oat-maltodextrin as the fat substitute, *International Journal of Food Properties*, 8(2): 395-404.



- Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. and Shah, N.P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16(10): 1181-1189.
- Doron, S., Snyderman, D.R. and Gorbach, S.L. (2005). *Lactobacillus GG*: bacteriology and clinical applications. *Gastroenterology Clinics*, 34(3): 483-498.
- Ebringer, L., Ferenčík, M. and Krajčovič, J. (2008). Beneficial health effects of milk and fermented dairy products. *Folia Microbiologica*, 53(5): 378-394.
- Favaro-Trindade, C.S., Pinho, S.D. and Rocha, G.A. (2008). Revisão: Microencapsulação de ingredientes alimentícios. *Brazilian Journal of Food Technology*, 11(2):103-112.
- Flávia, C.A.B., da Rocha, J.S. and Susana, M.I.S. (2005). Incorporation of *Lactobacillus acidophilus* in Minas fresh cheese and its implications for textural and sensorial properties during storage *International Dairy Journal*, 15(12): 1279-1288.
- Fritzen-Freire, C.B., Prudêncio, E.S., Amboni, R. D., Pinto, S.S., Negrão-Murakami, A.N. and Murakami, F.S. (2012). Microencapsulation of *bifidobacteria* by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Research International*, 45(1): 306-312.
- Fu, W., Mathews, A.P. (1999). Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*, 3(3): 163-170.
- Gandomi, H., Abbaszadeh, S., Misaghi, A., Bokaie, S. and Noori, N. (2016). Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Science and Technology*, 69: 365-371.
- García-Pérez, F.J., Lario, Y., Fernández-López, J., Sayas, E., Pérez-Alvarez, J. A. and Sendra, E. (2005). Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. *Color Research and Application*, 30(6): 457-463.
- Hekmat, S. and Reid, G. (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition Research*, 26(4): 163-166.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B. *et al.* (2014). Expert consensus document: the international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 11(8): 506-514.
- Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B. (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(2): 87-107.
- Horwitz, W. and Latimer, G. (2010). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. J. Editors .ed. Available on CD.
- Hunt, M.C., Sørheim, O. and Slinde, E. (1999). Color and heat denaturation of myoglobin forms in ground beef. *Journal of Food Science*, 64(5): 847-851.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (1999). General method for sensory evaluation of dairy products. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 4691. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2006). Milk and Milk products-determination of titrable acidity and pH value test method. 1<sup>st</sup> edition, ISIRI No. 2852. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2017). Microbiology of milk and milk products – Specifications and test methods. 3<sup>rd</sup> revision, ISIRI No. 2406. [In Persian]

- Islam, A., Phillips, G., Sljivo, A., Snowden, M. and Williams, P. (1997). A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 11(4): 493–505.
- Jooyandeh, H., Mahmoodi, R., Samavati, V. and Hojjati, M. (2015). Effect of cold enzymatic treatment of milk by transglutaminase on textural properties of yogurt. *Journal of Food Science and Technology*, 13(1): 91-99.
- Karim, G., Mohammadi, K., Khandaghi, J. and Karami Darehaby, H. (2010). *Analysis of Milk and Milk Product*. 2<sup>nd</sup> edition, Univesity of Tehran Press, Tehran, pp.137-148. [In Persian]
- Kashki, M.T. and Amirabadizadeh, H. (2011). Approach to plant communities in desert regions of khorasan province in Iran. *International Journal of Science and Nature*, 2(1): 42-46. [In Persian]
- Kim, S.J., Cho, S.Y., Kim, S.H., Song, O. J., Shin, I.S., Cha, D.S., *et al.* (2008). Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3): 493-500.
- Koca, N., Metin, M. (2004). Textural, melting and sensory properties of low-fat fresh kashar cheeses produced by using fat replacers. *International Dairy Journal*, 14(4): 365-373.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H.C. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13(1):3-13.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H.C. (2006). Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT-and conventionally treated milk during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 39(2): 177-183.
- Kumar, A., Kumar, D. (2016). Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* culture. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1): 667-675.
- Mansouripour, S., Esfandiari, Z. and Nateghi, L. (2013). The effect of heat process on the survival and increased viability of probiotic by microencapsulation: a review. *Annals of Biological Research*, 4(4): 83-87.
- Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R. and Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12:173-182.
- Mousa, A., Liu, X.M., Chen, Y.Q., Zhang, H. and Chen, W. (2014). Evaluation of physiochemical, textural, microbiological and sensory characteristics in set yogurt reinforced by microencapsulated *Bifidobacterium bifidum* F-35. *International Journal of Food Science and Technology*, 49(7): 1673-1679.
- Nasehi, B. (2012). Evaluation of different methods of color evaluation in spaghetti. *Journal of Food Research*. 23(1): 47-57. [In Persian]
- Onsoyen, E. (1997). Alginate, In: Imeson, A.P. (Editor), *Thickening and Gelling Agents for Food*. 2<sup>nd</sup> edition, Blackie Academic and Professional, Hong Kong, pp. 22-44.
- Sakai, T., Oishi, K., Asahara, T., Takada, T., Yuki, N., Matsumoto, K. *et al.* (2010). M-RTL agar, a novel selective medium to distinguish *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* from *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Food Microbiology*, 139(3): 154-160.
- Shahbandari, J., Golkar, A., Taghavi, S.M. and Amiri, A. (2016). Effect of storage period on physicochemical, textural, microbial and sensory characteristics of stirred soy yogurt. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 5 (6): 476-484.

- 
- Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. (2007). Tamime and Robinson's Yoghurt: Science and Technology. 3<sup>rd</sup> edition, Elsevier, USA, pp. 535-607.
  - Tharmaraj, N. and Shah, N.P. (2003). Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. Journal of Dairy Science, 86(7): 2288-2296.
  - Zhang, T., Wang, S., Zheng, J., Gao, F., Ahmad, S. and Guo, M. (2016). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* (La-5), its evaluation and application in the yoghurt. Pakistanian Journal of Agriculture Science, 53(4): 933-939.

## The evaluation of probiotic Kashk properties in hot filling condition containing microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus*

Sekhvatizadeh, S.<sup>1</sup>, Aminlari, M.<sup>2\*</sup>, Ghaisari, H.<sup>3</sup>, Shekarfroosh, S.<sup>4</sup>, Golmakani, M.<sup>5</sup>

1. Ph.D. graduate of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Fars, Iran
1. Lecturer, Faculty of Agricultural Engineering Research Institute, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Fars, Iran
2. Professor, Biochemistry and Food Hygiene Department, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Fars, Iran
3. Associate Professor, Food Hygiene Department, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Fars, Iran
4. Professor, Food Hygiene Department, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Fars, Iran
5. Associate Professor, Food Science and Technology Department, School of Agriculture, Shiraz University, Fars, Iran

\*Corresponding Author: aminlari@shirazu.ac.ir  
(Received: 2018/4/26 Accepted: 2018/9/16)

### Abstract

Kashk is one of the most popular fermented products in Iran which is produced and packaged in the hot filling mode. Due to the sensitivity of probiotic bacteria to heat, so far, there is no attempt to produce probiotic Kashk. Therefore, in this project, two-layered extrusion microencapsulation technique by alginate and Zedo gum was applied to *Lactobacillus rhamnosus*. Acidity, color, texture, sensory parameters and bacterial viability were evaluated. The results showed that the acidity was constant during the 60<sup>th</sup> day of storage time about 211 °D in the control sample and 193 °D in the probiotic sample. The free bacteria had not survived after the hot filling process in the Kashk sample, but the probiotic sample had a standard limit for the probiotic product until the 14<sup>th</sup> day of storage time. On the 60<sup>th</sup> day, general view, flavor, acceptance, and viscosity as sensory parameters in the control Kashk sample had a higher rating than the probiotic one. ΔE was 4.8 and 2.62 in control and probiotic Kashk, respectively. Except for cohesiveness, the other texture parameters increased at the beginning of the storage period and remained relatively constant during the time in control and probiotic Kashk samples. Therefore, according to the results of this research, the two-layered microencapsulated *L. rhamonosus* survived for 14 days as the recommended minimum limit of 6 log CFU/g bacteria for probiotic products and control Kashk had a shelf life of 60 days. Thus, this technique can be used as an effective method for the survival of probiotic bacteria in Kashk.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Kashk, *Lactobacillus rhamnosus*, microencapsulation, probiotics, Zedo