بررسی اثر ترکیبات مکمل بر زنده‌مانی باکتری‌ها در پودر ماست پروبیوتیک

معصومه ایزدی[۱]، محمدهادی اسکندری[۲]، مهرداد نیاکوثری[۳*]، شهرام شکرفروش[۴]، محمدامین حنیف پور[۵]، زهرا ایزدی[۶]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی- دانشگاه شیراز

۲- استادیار بخش علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی- دانشگاه شیراز

۳- دانشیار بخش علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی- پژوهشکده نانوتکنولوژی دانشگاه شیراز

۴- استاد گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی- دانشگاه شیراز

۵- مدیر عامل شرکت پگاه فارس- شیراز

۶- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه صنعتی اصفهان- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی- واحد شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۸۹/۱۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۰/۸/۳)

چکیده

ماست پروبیوتیک معمول‌ترین و مهم‌ترین ماده غذایی پروبیوتیکی محسوب می‌شود. تحقیقات اخیر نشان‌داده که زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طی نگهداری ماست کاهش می‌یابد. یکی از روش‌های حفظ زنده‌مانی این باکتری‌ها، تبدیل ماست پروبیوتیک به پودر، با استفاده از خشک کن پاششی در شرایط ملایم می‌باشد. هدف از این تحقیق، بررسی اثر ترکیبات مکمل بر زنده‌مانی باکتری‌های ماست پروبیوتیک در طی خشک کردن پاششی می‌باشد. اثر افزودن ترکیبات مکمل (پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، مالتودکسترین، لاکتوز، کازئینات سدیم و شیر خشک بدون چربی) در سطح (w/v) ۱/۵٪ به شیر، بر زنده مانی باکتری‌های ماست پروبیوتیک در طی خشک کردن پاششی با دمای هوای ورودی $150\ ^{\circ}C$، دبی هوای ورودی $478\ m^3/h$ و دبی خوراک $2\ L/h$ بررسی شد. نتایج نشان داد که افزودن ترکیبات مکمل به شیر می‌تواند سبب رشد باکتری‌ها در ماست پروبیوتیک شود، همچنین سبب افزایش درصد زنده مانی باکتری‌ها، در طی خشک کردن پاششی ماست پروبیوتیک گردد.

کلید واژگان: ماست پروبیوتیک، خشک کردن پاششی، ترکیبات مکمل، درصد زنده‌مانی

* مسئول مکاتبات: Niakosar@shirazu.ac.ir,

Archive of SID

www.SID.ir

۱- مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در پی مصرف خوراکی موجب بهبود عملکرد میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش می‌شوند و اثرات مفیدی بر سلامت مصرف کننده دارند [۱]. مصرف منظم تعداد مناسبی از سلول‌های زنده که "حداقل درمانی" نامیده می‌شود برای ایجاد فواید پروبیوتیک‌ها در مصرف‌کننده ضرورت دارد [۲]. حداقل تعداد باکتری‌های پروبیوتیک پیشنهادی در زمان مصرف 10^6 cfu/g- 10^5 می‌باشد [۳].

در سال‌های اخیر باکتری‌های پروبیوتیک در رژیم‌های غذایی مختلفی به کار رفته‌اند، که در این میان فرآورده‌های لبنی تخمیری به ویژه ماست نقش مهمی را برای حمل این باکتری‌ها (مانند بیفیدوباکتریوم بیفیدیوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) ایفا می‌کنند [۲].

تحقیقات متعدد نشان داده اند که معمولاً در طی نگهداری ماست زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک آن کاهش می‌یابد [۳]. کاهش pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی رشد و تخمیر از عوامل مؤثر بر کاهش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک می‌باشند [۴].

یکی از روش‌های حفظ زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طی نگهداری، خشک کردن پاششی می‌باشد. خشک کردن باعث توقف نسبی رشد و متابولیسم باکتریها در ماست شده و زنده مانی آنها را افزایش می‌دهد. فرآیند خشک کردن پاششی فرآیندی اقتصادی با سرعت بالای تولید و هزینه پایین عملیات می‌باشد. در فرآیند خشک کردن پاششی، ماده غذایی در مدت زمان کوتاهی در معرض دمای بالا قرار می‌گیرد که اثر تعیین کننده بر زنده‌مانی باکتری‌ها دارد [۵].

با توجه به اینکه پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های حساس به گرما می‌باشند، بنابراین لازم است که فرآیند خشک کردن پاششی در شرایط ملایم صورت گیرد تا از آسیب به آن‌ها جلوگیری شود [۶]. چندین روش جهت غلبه بر، غیر فعال شدن میکروب‌ها در طی خشک کردن پاششی و نگهداری پیشنهاد شده است که شامل افزودن عوامل حفاظت کننده مانند پری‌بیوتیک ها، تنظیم pH، انکپسوله کردن میکروبی می‌باشد [۵].

در سال‌های اخیر مطالعاتی در ارتباط با بهبود زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طی خشک کردن پاششی و نگهداری انجام شده است [۷-۱۰]. Ananta و همکاران (۲۰۰۵) آسیب سلولی و پایداری لاکتوباسیلوس رامنوسوس جی‌جی را در طی خشک کن پاششی بررسی نمودند و نشان دادند که با استفاده از شیر بازسازی شده بدون چربی، به عنوان حامل باکتری و در دمای خروجی $80^{\circ}C$ زنده‌مانی بالای ۶۰٪ به دست آمد [۷].

تحقیقاتی در رابطه با بهبود رشد و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک با افزودن ترکیبات مکمل به شیر انجام شده است. Dave و Shah (۱۹۹۸) تأثیر افزودن سیستئین، پودر آب پنیر، پروتئین تغلیظ شده آب پنیر، کازئین هیدرولیز شده توسط اسید یا تریپتون را بر زنده‌مانی باکتری‌های ماست پروبیوتیک مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که اضافه کردن هر کدام از این افزودنی‌ها به جزء پودر آب پنیر، زنده‌مانی بیفیدوباکترها را تا حد زیادی در ماست حاوی آغازگر ABT (استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم) افزایش می‌دهد. منبع نیتروژن به شکل پپتید و اسیدهای آمینه زنده‌مانی بیفیدوباکترها را بهبود می‌بخشد [۳].

اکثر تحقیقات انجام شده با استفاده از کشت‌های آغازگر ABT (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکترها و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) صورت گرفته است که فاقد لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس می‌باشند، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس، اسید لاکتیک را در طی نگهداری تولید می‌نماید. این فرآیند اسیدی شدن باعث از دست رفتن زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود. بنابراین به منظور حفظ زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست بهتر است که تولید آن به شکل پودر صورت گیرد. همچنین میزان رطوبت پودر بر درصد زنده‌مانی باکتری‌ها و سایر ویژگی‌های پودر نقش مؤثری دارد که میزان آن باید ۵-۴٪ باشد [۱۱].

تحقیقی در رابطه با اثر افزودن ترکیبات مکمل بر درصد زنده-مانی باکتری‌های ماست پروبیوتیک در طی خشک کردن پاششی در دست نیست.

Archive of SID
www.SID.ir

هدف از این پژوهش، مطالعه اثر افزودن ترکیبات مکمل بر رشد و زنده‌مانی باکتری‌های ماست پروبیوتیک و زنده‌مانی آن‌ها در پودر آن، در شرایط ملایم فرآیند خشک کردن پاششی با دمای هوای ورودی ۱۵۰ °C، دبی هوای ورودی ۴۷۸ m^3/h و دبی خوراک ۲ L/h می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تولید ماست پروبیوتیک

شیر پاستوریزه و هموژنیزه محتوی ۲/۵٪ چربی و ۱۰/۵٪ ماده جامد کل از کارخانه پگاه فارس تهیه و تا دمای ۴۵ °C گرم شد. سپس با ترکیبات مکمل از جمله پروتئین آب پنیر تغلیظ شده ۸۰٪ (شرکت مگله، آلمان)، مالتودکسترین (معادل دکستروز ۱۲-۱۰، چین)، لاکتوز (مرک، آلمان) و شیر خشک بدون چربی (تهیه شده از کارخانه پگاه فارس) در سطح (w/v) ۱/۵٪ غنی‌سازی شد. کازئینات سدیم (کارخانه پگاه فارس) به دلیل حلالیت بیشتر در شیر سرد به آن اضافه شد. یک نمونه نیز به عنوان شاهد (فاقد ترکیبات مکمل) تهیه گردید. مخلوط در دمای ۹۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه پاستوریزه شد و پس از سرد کردن آن تا دمای ۴۳ °C، کشت آغازگر پروبیوتیک ABY-3 (شرکت کریستین هانسن، دانمارک) حاوی استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم طبق توصیه شرکت سازنده به آن افزوده شد و در دمای ۴۳ °C تا زمانیکه pH به ۴/۶ برسد گرمخانه‌گذاری و سپس در دمای ۴ °C نگهداری گردید.

۲-۲- خشک کردن پاششی

در این تحقیق از خشک کن پاششی آزمایشگاهی (مهام صنعت، نیشابور) برای فرآیند خشک کردن استفاده گردید. محفظه خشک کن به شکل استوانه‌ای با قطر ۱ متر و ارتفاع کل ۲ متر با قسمت تحتانی مخروطی شکل بود. برای ارسال خوراک به افشانه یک پمپ پریستالتیک استفاده شد. فرآیند پاشش توسط نازل دو سیاله با قطر ۱/۵ mm صورت گرفت. دمای خوراک در ۱ ±۳۰ °C به وسیله‌ی همزن مغناطیسی هیتردار (Labinco BV هلند، مدل L-81)، ثابت نگه داشته شد. هوای خشک کننده ورودی پس از عبور از یک گرم‌کن الکتریکی، به صورت جریان مخلوط با جریان خوراک وارد محفظه خشک کن شد. با توجه به مطالعه پیشین شرایط بهینه خشک کردن پاششی با هدف تولید پودر ماست پروبیوتیک که بالاترین درصد زنده‌مانی باکتری‌ها و ویژگی‌های مطلوب پودری را داشته باشد به صورت دمای هوای ورودی ۱۵۰±۱ °C، دبی هوای ورودی ۴۷۸± ۲ m^3/h و دبی خوراک ۰/۱ ±۲ L/h تعیین شد. دمای هوای خروجی در این شرایط ۶۴±۱ °C به دست آمد. سرانجام پودر تولید شده در یک ظرف شیشه‌ای که به یک سیکلون متصل بود جمع آوری شد. پودرهای تولیدی تحت خلاء (Webo Matic، آلمان) بسته-بندی و در دمای ۴ °C نگهداری گردید.

۲-۳- تعیین میزان رطوبت

میزان رطوبت با روش خشک کردن در دمای ۱۰۲± ۲ °C اندازه گیری شد [۱۲].

۲-۴- آزمایش میکروبی

تعداد سلول‌های زنده استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم در ماست و پودر ماست پروبیوتیک تولیدی ۳-۱ روز بعد از تولید شمارش شد. برای تهیه سری رقت جهت کشت باکتری‌ها از نرمال سیلین استریل استفاده شد. پس از همگن نمودن نمونه‌های ماست ۱ میلی لیتر از نمونه به ۹ میلی لیتر نرمال سیلین استریل اضافه و با تکان دادن کاملاً همگن شد. پس از آن رقت‌های بعدی تهیه گردید. در نمونه پودرهای ماست تهیه شده، مقدار ماده خشک نمونه‌های پودر با توجه به میزان رطوبت آن، با آب مقطر به ماده خشک ماست تازه رسانده شد. مقدار ۱ میلی لیتر از رقت‌های مورد نظر به صورت پور پلیت کشت داده شد. شمارش استرپتوکوکوس ترموفیلوس در محیط M17-Agar (مرک، آلمان) و گرمخانه‌گذاری (Leec، انگلستان) در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ ساعت در شرایط هوازی انجام شد [۱۳]. شمارش لاکتوباسیلوس

Archive of SID

www.SID.ir

بولگاریکوس با کشت در محیط MRS-Agar (مرک، آلمان) که pH (Crison، اسپانیا) آن با استفاده از اسید کلریدریک ۱ نرمال روی ۵/۲ تنظیم شد، صورت گرفت [۱۳]. شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (مرک، آلمان) با کشت در محیط MRS-Agar همراه با ۱۰ میلی گرم در لیتر سیپروفلوکساسین (شرکت داروسازی فارابی) و ۰/۱ میلی گرم در لیتر کلایندومایسین (شرکت داروسازی سها) [۱۴] و شمارش بیفیدوباکتریوم با استفاده از محیط کشت MRS-Agar همراه با ۵۰ تا ۱۰۰ میلی گرم در لیتر آنتی‌بیوتیک موپیروسین (های-مدیا، هند) و ۵ میلی لیتر در لیتر سیستئین هیدروکلراید ۱۰٪ (مرک، آلمان) انجام شد [۱۵]. جهت رشد لاکتوباسیوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم، گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ $^{\circ}C$ به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی با استفاده از گاز پک نوع A (مرک، آلمان) صورت گرفت. در نهایت پلیت‌های حاوی ۳۰۰-۳۰ کلنی با استفاده از پرگنه‌شمار (Zurich سوئیس، مدل ۴۳) شمارش شد. نتایج به صورت لگاریتم تعداد کلنی بر میلی‌لیتر نمونه بیان گردید. همچنین درصد زنده‌مانی از رابطه تعداد باکتری‌ها در پودر ماست پروبیوتیک به تعداد اولیه آن‌ها در ماست محاسبه شد [۱۱].

۲-۵- آزمون های آماری

جهت بررسی تأثیر ترکیبات مکمل بر زنده‌مانی باکتری‌ها در ماست پروبیوتیک و پودر آن آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح $p < ۰/۰۵$ مورد استفاده قرار گرفت و مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن و نرم‌افزار آماری SPSS 17 صورت گرفت. آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و سپس میانگین و انحراف معیار بدست آمد.

۳- نتایج

میزان رطوبت نمونه‌های پودر در حضور ترکیبات مکمل در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱ میزان رطوبت نمونه‌های پودر

نمونه	رطوبت (٪)
شاهد	۵/۳۲±۰/۳۹^{c}
پروتئین آب پنیر تغلیظ شده	۴/۳±۰/۲۹^{b}
مالتودکسترین	۴/۱۴±۰/۲۱^{b}
لاکتوز	۴/۰±۰/۱۴^{b}
کازئینات سدیم	۲/۸۹±۰/۱۵^{a}
شیر خشک بدون چربی	۵/۳۱±۰/۱۵^{c}

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می-باشد.

حروف متفاوت در ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

اثر ترکیبات مکمل بر رشد باکتری‌ها در ماست پروبیوتیک و درصد زنده‌مانی آن ها در پودر آن، تحت شرایط خشک کن پاششی در جدول‌های ۲ تا ۵ آمده است.

همان‌گونه که جدول ۲ نشان می‌دهد در بین نمونه‌های ماست پروبیوتیک شاهد و ترکیبات مکمل در سطح (w/v) ۱/۵٪ تفاوت معنی‌داری در رشد استرپتوکوکوس ترموفیلوس مشاهده نشد، اگرچه در ماست پروبیوتیک مکمل با لاکتوز رشد آن در مقایسه با ماست شاهد ۰/۶۴ log cfu/ml کاهش نشان داد اما میزان آن معنی‌دار نبود. ترکیبات مکمل نظیر مالتودکسترین، لاکتوز، کازئینات سدیم و شیر خشک بدون چربی در فرآیند خشک کردن پاششی اثر حفاظتی بر استرپتوکوکوس ترموفیلوس داشته‌اند، به طوری‌که در نمونه‌های پودر ماست پروبیوتیک تفاوت معنی‌داری با ماست آن‌ها مشاهده نگردید. درصد زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس در حضور ترکیبات مکمل افزایش یافت، اگرچه تفاوت معنی‌داری در نمونه مکمل با لاکتوز و شاهد مشاهده نشد. بین درصد زنده-مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس در پودر ماست پروبیوتیک با ترکیبات مکمل پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، مالتودکسترین، کازئینات سدیم و شیر خشک بدون چربی افزایش معنی داری ($p< ۰/۰۵$) با نمونه شاهد مشاهده شد. بالاترین درصد زنده-مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس در حضور مالتودکسترین (۴۵/۱۸٪) به دست آمد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲ اثر ترکیبات مکمل بر رشد و درصد زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست پروبیوتیک و زنده‌مانی آن‌ها در پودر آن تحت شرایط بهینه خشک کن پاششی

نمونه	ماست پروبیوتیک	پودر ماست پروبیوتیک	درصد زنده‌مانی
	log cfu/ml		
شاهد	۱۱/۵۴±۰/۱۹^{A}	۱۰/۸۳±۰/۱۶^{ab,B}	۱۹/۷۰±۳/۳۱^{b}
پروتئین آب پنیر تغلیظ شده	۱۱/۱۷±۱۱^{A}	۱۰/۷۸±۰/۰۹^{ab,B}	۴۱/۲۰±۴/۷۵^{a}
مالتودکسترین	۱۱/۳۷±۰/۵	۱۱/۰۲±۰/۴۸^{ab}	۴۵/۱۸±۳/۵۸^{a}
لاکتوز	۱۰/۹±۰/۵۷	۱۰/۳±۰/۵۹^{b}	۲۵/۱۹±۱/۵۲^{b}
کازئینات سدیم	۱۱/۶۳±۰/۵۶	۱۱/۲۴±۰/۴۸^{a}	۴۰/۹۱±۷/۴۴^{a}
شیر خشک بدون چربی	۱۱/۲±۰/۴۳	۱۰/۸±۰/۴۴^{ab}	۴۰/۰۱±۲/۶۲^{a}

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

همان گونه که جدول ۳ نشان می‌دهد در بین نمونه‌های ماست پروبیوتیک، ماست حاوی کازئینات سدیم داوای بیشترین تعداد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می‌باشد. ماست مکمل با مالتودکسترین و لاکتوز تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نشان ندادند. در نمونه‌های پودر ماست پروبیوتیک پس از فرآیند خشک کردن پاششی، تعداد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در نمونه پودر ماست پروبیوتیک شاهد و دارای ترکیبات مکمل در مقایسه با ماست آن کاهش معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) یافته است، که طبق جدول کمترین و بیشترین کاهش به ترتیب در نمونه مکمل با پروتئین آب پنیر تغلیظ شده و کازئینات سدیم به میزان ۰/۹۶ log cfu/ml و ۱/۳۶ به دست آمد. درصد زنده-مانی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در حضور مالتودکسترین در مقایسه با نمونه‌های دیگر بیشتر می‌باشد.

جدول ۳ اثر ترکیبات مکمل بر رشد ودرصد زنده‌مانی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در ماست پروبیوتیک و زنده‌مانی آن‌ها در پودر آن تحت شرایط بهینه خشک کن پاششی

نمونه	ماست پروبیوتیک	پودر ماست پروبیوتیک	درصد زنده‌مانی
	log cfu/ml		
شاهد	۷/۵۷±۰/۰۹^{c,A}	۶/۴±۰/۱۷^{b,B}	۶/۸۰±۱/۴۳^{bc}
پروتئین آب پنیر تغلیظ شده	۸/۱±۰/۲۸^{b,A}	۷/۱۴±۰/۲۵^{a,B}	۸/۹۹±۱/۷۵^{ab}
مالتودکسترین	۷/۴۵±۰/۴۰^{c,A}	۶/۴۶±۰/۱۰^{b,B}	۱۰/۴۴±۱/۳۴^{a}
لاکتوز	۷/۷۲±۰/۲۱^{c,A}	۶/۴۷±۰/۱۴^{b,B}	۵/۸۳±۱/۴۸^{c}
کازئینات سدیم	۸/۶۷±۰/۴^{a,A}	۷/۳۱±۰/۳۷^{a,B}	۴/۴۱±۱/۳۵^{c}
شیر خشک بدون چربی	۸/۲۷±۰/۲۸^{ab,A}	۷/۱۱±۰/۲۶^{a,B}	۶/۹۰±۱/۶۰^{bc}

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

همان گونه که جدول ۴ نشان می‌دهد تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست مکمل با ترکیبات پروتئین آب پنیر تغلیظ شده و کازئینات سدیم افزایش معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) در مقایسه با سایر نمونه‌ها نشان داد. حضور ترکیبات مکمل در نمونه‌های ماست پروبیوتیک در طی خشک کردن پاششی اثر حفاظتی بر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نداشته است به طوری‌که تعداد آن‌ها در نمونه‌های پودر ماست پروبیوتیک کاهش معنی داری ($p< ۰/۰۵$) را نشان داده است. طبق جدول ۴ بیشترین و کمترین درصد زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بعد از فرآیند خشک کردن پاششی در حضور شیر خشک بدون چربی (۱۵/۱۶٪) و کازئینات سدیم (۹/۰۳) به دست آمد. بین درصد زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های مکمل با آب پنیرتغلیظ شده، مالتودکسترین،لاکتوز و شیر خشک بدون چربی افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد مشاهده نگردید.

جدول ۴ اثر ترکیبات مکمل بر رشد ودرصد زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک و زنده‌مانی آن‌ها در پودر آن تحت شرایط بهینه خشک کن پاششی

نمونه	ماست پروبیوتیک	پودر ماست پروبیوتیک	درصد زنده‌مانی
	log cfu/ml		
شاهد	۷/۳۸±۰/۱۴^{b,A}	۶/۴۷±۰/۱۲^{c,B}	۱۲/۴±۱/۳۸^{ab}
پروتئین آب پنیر تغلیظ شده	۷/۷۹±۰/۲۴^{a,A}	۶/۷۸±۰/۲۷^{ab,B}	۹/۹۲±۱/۳۶^{bc}
مالتودکسترین	۷/۳۳±۰/۱۱^{b,A}	۶/۳۸±۰/۰۹^{c,B}	۱۱/۲۴±۱/۸۴^{bc}
لاکتوز	۷/۳±۰/۰۷^{b,A}	۶/۳۷±۰/۰۶^{c,B}	۱۱/۸۴±۱/۴۴^{bc}
کازئینات سدیم	۸/۰±۰/۱۷^{a,A}	۶/۹۵±۰/۲۳^{a,B}	۹/۰۳±۱/۵۹^{c}
شیر خشک بدون چربی	۷/۴۱±۰/۱^{b,A}	۶/۵۹±۰/۰۴^{bc,B}	۱۵/۱۶±۲/۰۴^{a}

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

همان گونه که جدول ۵ نشان می‌دهد در بین نمونه‌های ماست پروبیوتیک، حضور کازئینات سدیم در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی‌داری ($p< ۰/۰۵$) را در تعداد بیفیدوباکتریوم نشان داد، اگرچه تعداد آن در نمونه‌های مکمل با پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، لاکتوز و شیر خشک بدون چربی تفاوت معنی‌داری را با نمونه شاهد و کازئینات سدیم نشان نداد. همچنین تعداد بیفیدوباکتریوم در بین پودرهای پروبیوتیک مکمل، در حضور کازئینات سدیم، بالاتر و تعداد آن ۷/۰۳ log cfu/ml می‌باشد. بین نمونه‌های ماست پروبیوتیک شاهد و با ترکیبات مکمل، خشک کردن پاششی باعث کاهش معنی‌دار ($p< ۰/۰۵$) در تعداد بیفیدوباکتریوم در پودر ماست پروبیوتیک شد. درصد زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم در پودر ماست پروبیوتیک در حضور لاکتوز کاهش معنی داری ($p< ۰/۰۵$) را در مقایسه با سایر نمونه‌ها نشان داده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵ اثر ترکیبات مکمل بر رشد ودرصد زنده‌مانی گونه‌های بیفیدوباکتریوم در ماست پروبیوتیک و زنده‌مانی آن‌ها در پودر آن تحت شرایط بهینه خشک کن پاششی

نمونه	ماست پروبیوتیک	پودر ماست پروبیوتیک	درصد زنده‌مانی
	log cfu/ml		
شاهد	۷/۲۱±۰/۳۷^{b}	۶/۴۷±۰/۳۲^{b}	۱۸/۱۱±۲/۶۲^{a}
پروتئین آب پنیر تغلیظ شده	۷/۴۶±۰/۳۴^{ab,A}	۶/۶۹±۰/۲۵^{ab,B}	۱۷/۳۷±۳/۳۴^{a}
مالتودکسترین	۷/۱۵±۰/۱۵^{b,A}	۶/۴۱±۰/۱۱^{b,B}	۱۷/۹۲±۱/۸۹^{a}
لاکتوز	۷/۴۷±۰/۴۱^{ab,A}	۶/۴۷±۰/۳۳^{b,B}	۱۰/۲۴±۲/۶۴^{b}
کازئینات سدیم	۷/۷۸±۰/۰۸^{a,A}	۷/۰۳±۰/۱۱^{a,B}	۱۷/۴۴±۱/۴۳^{a}
شیر خشک بدون چربی	۷/۲۹±۰/۱۹^{ab,A}	۶/۵۴±۰/۰۹^{b,B}	۱۸/۱۳±۴/۱۶^{a}

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

حروف کوچک متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

حروف بزرگ متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد ($p< ۰/۰۵$).

۴- بحث

محتوی رطوبت نمونه‌های پودر بین ۵/۳۲- ۲/۸۹٪ متغیر بود که این میزان در دامنه مطلوب برای ثبات پودر در طی نگهداری می‌باشد. میزان رطوبت پودر اثر مهمی روی پایداری فیزیکوشیمیایی پودر شیر در طی نگهداری و توزیع دارد و پایداری اکسیداتیو آن بسته به میزان رطوبت تغییر می‌نماید [۱۶]. همچنین ویژگی‌های تکنولوژیک پودر نظیر حلالیت و قابلیت خیس شدن تحت تأثیر میزان رطوبت می‌باشد [۱۷]. Koc و همکاران (۲۰۱۰) گزارش نمودند که فعالیت آبی پودر باید کمتر از ۰/۲۵-۰/۲ و میزان رطوبت آن کمتر از ۵-۴٪ باشد تا در طی نگهداری پایدار بماند [۱۱].

نتایج این تحقیق نشان داد که در حضور لاکتوز تعداد استرپتوکوکوس ترموفیلوس در ماست پروبیوتیک کاهش یافته است که احتمالاً به دلیل pH اسیدی، در اثر تبدیل لاکتوز به اسیدلاکتیک، می‌باشد. Tamime و Robinson بیان کردند که حضور کازئین هیدرولیز شده به دلیل افزایش آمینو اسیدها رشد استرپتوکوکوس ترموفیلوس به میزان ۱/۵ برابر افزایش می‌دهد [۱۸]. در این مطالعه نیز تأثیر کازئینات سدیم بر افزایش رشد استرپتوکوکس ترموفیلوس در ماست پروبیوتیک مشاهده گردید، اما تفاوت معنی داری با سایر نمونه‌ها نشان نداد.

لاکتوز به دلیل داشتن گروه هیدروکسیل قادر به تشکیل باند هیدروژنی با پروتئین‌ها می‌باشد که در مطالعه حاضر در میان باکتری‌ها، تنها اثر حفاظتی آن بر استرپتوکوکوس ترموفیلوس در طی خشک کردن پاششی مشاهده گردید، که احتمالاً به دلیل اختصاصی نبودن پیوند آن با پروتئین‌های دیواره سلولی باکتری، اثر حفاظتی پایینی را نشان داده است.

لاکتوباسیلوس بولگاریکوس توانایی تبدیل کازئینات سدیم و پروتئین آب پنیر تغلیظ شده را به آمینواسیدها و پپتیدها دارد که برای رشد آن‌ها ضروری می‌باشد. همچنین شیر خشک بدون چربی غنی از کربوهیدرات و پروتئین است که پروتئین آن قابل استفاده برای لاکتوباسیلوس بولگاریکوس می‌باشد که موجب افزایش تعداد آن در مقایسه با سایر نمونه‌ها شد. پروتئیناز لاکتوباسیلوس تاثیر بیشتری بر کازئین نسبت به پروتئین‌های آب پنیر دارد [۱۹] و با توجه به تعداد باکتری در ماست مشخص می‌شود که تعداد باکتری در حضور کازئینات سدیم بیشتر از پروتئین آب پنیر تغلیظ شده می‌باشد.

پودر شیر بدون چربی غنی از ترکیبات پروتئین و آمینواسیدها می‌باشد که اثر حفاظتی در طی خشک کردن پاششی دارند. پروتئین‌های شیر خشک با پایدار نمودن ترکیبات غشای سلولی از آسیب سلولی در طی خشک کردن ممانعت می‌کنند. همچنین شیر خشک می‌تواند پوشش حفاظتی را روی پروتئین‌های دیواره سلولی ایجاد نماید [۲۰]. شیر خشک بدون چربی

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت پروتئین و آمینواسیدها را در شیر افزایش می‌دهد که رشد کشت‌های آغازگر ماست را تحریک می‌نماید [۲۱].

باکتری‌های پروبیوتیک فاقد فعالیت پروتئولیتیکی می‌باشند و باید آمینواسیدها و پپتیدها جهت رشد آن‌ها در اختیارشان قرار گیرد. در ماست‌های مکمل با ترکیبات کازئینات سدیم و پروتئین آب پنیر تغلیظ شده به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، این ترکیبات به آمینواسیدها و پپتیدها تبدیل می‌شوند که جهت رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ضروری می‌باشد و سبب افزایش تعداد آن‌ها در نمونه‌های ماست و پودر آن‌ها شده است. این نتایج، با یافته‌های Kailasapathy و Supriadi در سال ۱۹۹۶ مطابقت دارد که تأثیر پروتئین آب پنیر تغلیظ شده را بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بررسی کردند و نشان دادند که جایگزینی نسبی شیر خشک با پروتئین آب پنیر تغلیظ شده موجب افزایش تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال می‌گردد [۲۲].

اضافه نمودن ۲-۱٪ پروتئین آب پنیر تغلیظ شده به محیط بر پایه آب پنیر، اثر تحریک کننده بر رشد باکتری‌های اسید لاکتیک داشته است [۲۳].

در مطالعه حاضر در پودر ماست پروبیوتیک تعداد کلنی‌های زنده استرپتوکوکوس ترموفیلوس 10^{11}-10^{10} و تعداد لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم 10^{7}-10^{6} کلنی در هر میلی‌لیتر به دست آمد.

بر اساس مطالعات انجام شده توسط Kearney و همکاران (۲۰۰۹) در پودر ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس پاراکازئی و باکتری‌های آغازگر ماست در اثر خشک کردن پاششی، زنده مانی لاکتوباسیلوس پاراکازئی و استرپتوکوکوس ترموفیلوس بیش از 10^{8} و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس 4×10^{5} کلنی در هر گرم پودر می‌باشد. زنده مانی کمتر (۰/۲٪) لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس بعد از خشک کردن پاششی احتمالاً به دلیل آسیب غشایی می‌باشد که ممکن است در طی فرآیند رخ داده باشد [۲۴].

Lian و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کردند که در طی خشک کردن پاششی بیفیدوباکترها در معرض غیر فعال شدن گرمایی قرار می‌گیرند که میزان زنده‌مانی آن‌ها بسته به حامل به‌کار رفته و سوش باکتری متفاوت می‌باشد [۱۰]. در مطالعه حاضر نیز تأثیر ترکیبات مکمل را بر درصد زنده‌مانی بررسی شد که درصد زنده‌مانی تنها در نمونه پودر مکمل با لاکتوز کاهش معنی‌داری را نسبت به سایر نمونه‌ها نشان داده است.

نتایج Rascón-Díaz و همکاران (۲۰۱۰) اثر حفاظتی هیدروکلوئیدها را بر زنده‌مانی کشت‌های آغازگر در مقایسه با ماست شاهد بررسی کردند. در بین تیمارها پکتین به عنوان عامل حفاظت کننده زنده‌مانی آن‌ها را بهبود داده است [۲۵].

Luna-solano و همکاران (۲۰۰۰) اثر حفاظت گرمایی مالتودکسترین بر مخمر را در طی فرآیند خشک کردن پاششی گزارش کردند [۲۶].

مطالعه حاضر امکان تولید پودر ماست پروبیوتیک با زنده‌مانی بالای باکتری‌ها را نشان داد که می‌توان از آن به عنوان یک ترکیب مفید در مواد غذایی استفاده نمود. درصد زنده‌مانی باکتری‌ها در پودر ماست پروبیوتیک در حضور ترکیبات مکمل به حساسیت آن‌ها به دمای خشک کن پاششی و تعداد آن‌ها در ماست قبل از خشک کردن پاششی، بستگی دارد. درصد زنده‌مانی استرپتوکوکوس ترموفیلوس در مقایسه با لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بالاتر می‌باشد.

۵- تشکر و قدردانی

از کارشناسان و کارکنان کارخانه پگاه فارس به خاطر تأمین بخشی از مواد اولیه و همکاری‌هایشان در انجام پایان‌نامه سپاسگزاری می‌گردد.

۶- منابع

[1] Ehsani, A., Mahmudi, R., Tokmechi, A., Pajohi, M.R. (2011). Iranian white cheese as a food carrier for probiotic bacteria. IJFST; 8(31): 77-83.

[2] Lourens-Hattingh, A., Viljoen, B.C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. Int Dairy J; 11: 1-17.

[3] Dave, R.I., Shah N.P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. J Dairy Sci; 81: 2804–2816.

[4] Donkor, O.N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. Int Dairy J; 16: 1181–1189.

[5] Wirjantoro, T.I., Phianmongkhol, A. (2009). The viability of lactic acid bacteria and

Archive of SID
www.SID.ir

Bifidobacterium bifidum in yoghurt powder during storage. CMU J Nat Sci; 8(1): 95-104.

[6] Chávez, B.E., Ledeboer, A.M. (2007). Drying of probiotics: Optimization of formulation and process to enhance storage survival. Drying Tech; 25: 1193–1201.

[7] Ananta, E., Volkert, M., Knorr, D. (2005). Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. Int Dairy J; 15: 399-409.

[8] Desmond, C., Ross, R.P., O'Callaghan, E., Fitzgerald, G., Stanton, C. (2002). Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFCB 338 in spray-dried powders containing gum acacia. J Appl Microbiol; 93: 1003–1011.

[9] Desmond, C., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Collins K, Ross, R.P. (2001). Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying. Int Dairy J; 11: 801–808.

[10] Lian, W-C., Hsiao, H-C., Chou, C-C. (2002). Survival of bifidobacteria after spray-drying. Int J Food Microbiol; 74: 79–86.

[11] Koc, B., Yilmazer, M.S., Balkır, P., Ertekin, F.K. (2010). Spray drying of yogurt: Optimization of process conditions for improving viability and other quality attributes. Drying Tech; 28: 495–507.

[12] A/S Niro Atomizer. (1978). Determination of moisture. In: Sørensen IH, Krag J, Pisecky J, Westergaard V, editors. Analytical methods for dry milk products. 4th ed. Copenhagen, Denmark: De Forenede Trykkerier A/S. pp. 8-9.

[13] Kim, S.S., Bhowmik, S.R. (1990). Survival of lactic acid bacteria during spray drying of plain yogurt. J Food Sci; 55: 1008–1010, 1048.

[14] International Organization for Standardization and International Dairy Federation. (2005). Fermented milk-Enumeration of *lactobacillus acidophilus*-Colony-count technique at 37 °C. ISO/DIS 20128 IDF 192.

[15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2009). Probiotic yogurt-Specifications and test methods. ISIRI no11325. 1rd revision, Karaj: ISIRI.

[16] Reh, C., Bhat, S.N., Berrut, S. (2004). Determination of water content in powdered milk. Food Chem; 86: 457–464.

[17] Mathlouthi, M. (2001). Water content, water activity, water structure and the stability of food stuffs. Food Control; 12: 409–417.

[18] Tamime, A.Y., Robinson, R.K., editors. (1999). Yoghurt: Science and Technology. 2th ed. Woodhead: Cambridge, UK,.

[19] Zourari, A., Accolas, J.P., Desmazeaud, M.J. (1992). Metabolism and biochemical characteristics of yoghurt bacteria. A review. Lait; 72: 1–34.

[20] Meng, X.C., Stanton, C., Fitzgerald, G.F., Daly, C., Ross, R.P. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. Food Chem; 106: 1406–1416.

[21] Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B., Ferragut, V. (2009). Flavour profiles and survival of starter cultures of yoghurt produced from high-pressure homogenized milk. Int Dairy J; 19: 100–106.

[22] Kailasapathy, K., Supriadi, D. (1996). Effect of whey protein concentrate on the survival of *Lactobacillus acidophilus* in lactose hydrolysed yoghurt during rerigerated storage. Milchwissenschaft; 51: 565–569.

[23] Isleten M, Karagul-Yuceer, Y. (2008). Effects of functional dairy based proteins on nonfat yogurt quality. J Food Quality; 31: 265–280.

[24] Kearney, N., Meng, X.C., Stanton, C., Kelly, J., Fitzgerald, G.F., Ross, R.P. (2009). Development of a spray dried probiotic yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. Int Dairy J;19: 684–689.

[25] Rascón-Díaz, M.P., Tejero, J.M., Mendoza-Garcia, P.G., García, H.S., Salgado-Cervantes, M.A. (2010). Spray drying yogurt incorporating hydrocolloids: Structural analysis, acetaldehyde content, viable bacteria, and rheological properties. Food Bioprocess Tech; DOI 10.1007/s11947-009-0312-x.

[26] Luna-Solano, G., Salgado-Cervantes, M.A., Garcia-Alvarado, M.A., Rodriguez-Jihtenes, G. (2000). Improved viability of spray dried brewer's yeast by using starch (grits) and maltodextrin as processing aids. J Food Process Eng; 23: 453-46.

Archive of SID

www.SID.ir

Investigating the effect of ingredients supplementation on survival rate of bacteria in probiotic yogurt powder

Izadi, M.[1], Eskandari, M. H.[2], Niakousari, M.[3] *, Shekarforoush, Sh.[4], Hanifpour, M. A.[5], Izadi, Z.[6]

1. M.Sc Graduated Student, Department of Food Science and Technology, Shiraz University, Shiraz
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Shiraz University, Shiraz
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology and Nano Technology Research Institute, Shiraz University, Shiraz
4. Professor, Department of food hygiene, school of veterinary medicine, Shiraz University, Shiraz
5. Managing director, Pegah Fars Dairy Co., Shiraz
6. Ph.D Student Isfahan University of technology and Young Researchers Club, Islamic Azad University, Shahrekord Branch

(Received: 89/12/23 Accepted: 90/8/3)

Probiotic yogurt is one of the most common and important probiotic products in the market. Researchers have revealed that the survival of probiotic organisms in yogurt during storage has often been low. An appropriate technique to preserve the survival rate of these organisms is to prepare yogurt powder using spray drying. The objective of this study was to investigation the effect of ingredient supplementation on survival of bacteria in probiotic yogurt during spray drying process. Effect of supplementing milk before preparing probiotic yogurt with various of ingredient (including whey protein concentrate, maltodextrin powder (DE=10-12), lactose, sodium caseinate and skim milk powder at a level of 1.5% (w/v) on survival of bacteria in probiotic yogurt powder after spray drying using inlet air temperature of 150 ˚C, air flow rate of 478 m^3/h and feed flow rate of 2 L/h was investigated. The results indicate that supplementing milk with various ingredients prior to preparing probiotic yogurt not only enhances the growth of bacteria in fresh yogurt but also improve the survival rate these bacteria following spray drying and preparation of probiotic yogurt powder.

Keywords: Probiotic yogurt, Spray drying, Ingredient supplementation, Percentage survival

Archive of SID

* Corresponding Author E-Mail Address: niakosar@shirazu.ac.ir

www.SID.ir