(مقاله پژوهشی)

جداسازی اگزوپلی‌ساکاریدهای باسیلوس‌های خاک مناطق کویری و اثر آنها بر کیفیت ماست قالبی طی زمان نگهداری در سرما

سیدابراهیم موسوی[۱]، محمدحسین مرحمتی زاده[۱*]، غلامحسین محبی[۲]

۱-گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی،کازرون، ایران.

۲-مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج‌فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

تاریخ دریافت:۱۳۹۹/۱۰/۲۲ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹/۱۲/۱۶

چکیده

یکی از مهمترین کاربردهای بیوتکنولوژی درصنایع غذایی، تولید مواد افزودنی مختلف می‌باشد. از جمله مواد افزودنی تولیدی به روش بیوتکنولوژی می‌توان به تولید اگزوپلی‌ساکاریدهای تولید شده توسط باکتری‌ها در محصولات لبنی اشاره نمود. تنوع در ساختار و ترکیب شیمیایی اگزوپلی‌ساکاریدهای میکروبی، سبب برتری آن‌ها نسبت به پلیمرهای جانوری و گیاهی شده است. با توجه به این موارد، می‌توان از این ترکیبات به عنوان افزودنی مواد غذایی با اثرات سلامتی بخش استفاده نمود. در پژوهش حاضر، باکتری‌های باسیلوس تولیدکننده اگزوپلی‌ساکاریدها از خاک‌های مناطق کویری جداسازی و پس از آن،گروه‌های ساختاری و عاملی اگزوپلی‌ساکاریدی با استفاده از روشFT-IR مشخص گردیدند. وجود پیک‌ها در ناحیه فرکانس(cm^{-1})۴۰۰۰ -۴۰۰ نشان‌دهنده پلی‌ساکارید بودن و خالص بودن ماده استخراج شده است. سپس، اثرات آن‌ها بر کیفیت ماست مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج،کیفیت نمونه‌های ماست حاوی اگزوپلی‌ساکارید باکتری های K, C, B, A وE در مقایسه با گروه شاهد که فاقد اگزوپلی‌ساکارید بود به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند. اگزوپلی‌ساکارید حاصل از باکتری E میزان آب‌اندازی را در مقایسه با سایر نمونه‌ها و نمونه شاهد به طور معنی‌داری کاهش داد و همچنین ویسکوزیته و ظرفیت نگهداری آب و قوام ماست را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. در نهایت، بر اساس توالی ۱۶S rDNA، باکتری که اگزوپلی‌ساکارید آن بیشترین تأثیر در بهبود کیفیت ماست داشت، *باسیلوس ویدمانی*سویه *HBUM207173* شناسایی شد.

واژه‌های کلیدی:اگزوپلی‌ساکارید، *باسیلوس ویدمانی*، بهبود کیفیت، خاک کویر، ماست.

*مسئول مکاتبات: Drmarhamati@gmail.com

۱-مقدمه

خاک یکی ازمنابع میکروارگانیزم‌ها است که منشأ محصولات فعال زیستی با فعالیت‌های فارماکولوژی متنوع هستند. این ترکیبات، به‌طور وسیع به عنوان مواد دارویی و شیمیایی در پزشکی،دامپزشکی وکشاورزی مورد استفاده قرار می گیرند (۱و۲).اگزوپلی‌ساکاریدهای‌میکروبی[1]، ترکیبات برون‌ریزی هستندکه‌از سلول به بیرون ترشح می‌شوند. مقدار و ساختمان شیمیایی‌آن‌ها بستگی به نوع میکروارگانیزم تولیدکننده و سوبسترای کربنی دارد که به‌صورت کپسول با دیواره سلولی ارتباط دارد یا به‌صورت اسلایم به محیط خارج ترشح می‌شوند (۲۳). اگزوپلی‌ساکاریدهای خارج سلولی،درواقع زیست پلیمرهای خارج‌سلولی با زنجیره ساختمانی بلند، وزن مولکولی بالا و کمپلکس کربوهیدراتی غیرشیرین بوده که از تعداد زیادی مونوساکارید متصل به هم ایجاد شده‌اند. این ترکیبات، معمولا شاخه‌دار و توانایی حلالیت در آب را داشته، ولی کریستال تشکیل نمی‌دهند و به وسیله استخراج مستقیم از زیست توده، طی آبکافت شیمیایی یا تخمیر و تولید مولکول‌های کوچک با قابلیت بسپارش شدن، بدست می‌آیند(۲۴).ا گزوپلی ساکاریدها ،به دلیل خصوصیات فیزیکوشیمیایی خود، به‌طورگسترده درصنایع غذایی به‌عنوان عوامل بهبود دهنده ویسکوزیته، ژله‌ای‌کننده و قوام‌دهنده مورد استفاده قرار می گیرند. همچنین، ازاگزوپلی‌ساکاریدها، به‌عنوان جاذب فلزات و در صنایع داروسازی به‌عنوان حامل‌های دارویی‌استفاده می‌شوند. بعضی‌از فعالیت‌های زیستی‌آن‌ها همچون اثرات ضد سرطانی، ضد ویروسی، ضدالتهابی،کاهش سطح کلسترول و قند سرم خون به اثبات رسیده است. آن‌ها، همچنین می‌توانند دردستگاه گوارش پایدار مانده و اثرات پری‌بیوتیکی از خود نشان دهند(۲۱). اگزوپلی‌ساکاریدها در بهبود رئولوژی[2]، بافت و احساس دهانی محصولات لبنی تخمیری مثل ماست اهمیت ویژه‌ای دارند (۱۶). تقاضای رو به رشد از طرف مصرف‌کنندگان برای محصولات ماستی با ویژگی‌های نرم و خامه‌ای مانند وجود دارد که این خصوصیات از طریق افزایش دادن میزان چربی، قندها، پروتئین‌ها و استابیلایزرها[3] (مانند پکتین، نشاسته، آلژینات یا ژلاتین) برآورده می‌شوند. علاقه‌مندی مصرف‌کنندگان به سوی‌محصولاتی که‌حاوی مقادیرکمتری از چربی و قند هستند و همچنین میزان کمی از افزودنی‌ها در فرمولاسیون آن‌ها به‌کار رفته باشد ،موجب می‌شود که اگزوپلی ساکاریدها به عنوان جایگزین‌های ارزشمند و امکان‌پذیری برای این ترکیبات باشند و باعث کاهش هزینه‌های مواد مصرفی شوند (۲۷). نمونه‌های ماست تولید شده با آغازگر تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید، آب‌اندازی کمتر و ویسکوزیته و قوام بیشتری نسبت به ماست تولید شده باآغازگرغیرتولیدکننده‌اگزوپلی‌ساکارید داشتند (۲). مقایسه میزان اگزوپلی‌ساکاریدهای مترشحه از باکتری‌های لاکتیک در چند نمونه ماست سنتی، صنعتی نشان داد که اگزوپلی‌ساکاریدهای مترشحه حتی درمقادیرکم می‌توانند موجب تغییرات در خصوصیات بافتی ماست شوند و افزایش مقدار این نوع اگزوپلی‌ساکاریدها، سبب کاهش آب‌اندازی نمونه‌ها شده است (۲۸). اگزوپلی‌ساکاریدها، درهنگام رشد باکتری‌ها توسط باکتری‌های مختلفی نظیر، باکتری‌های اسیدلاکتیک،بیفیدوباکتریوم‌ها[4]وباسیلوس‌ها[5] تولید می‌شوند (۲۰و۲۱). باکتری‌های خاک، به ویژه جنس باسیلوس، طیف گسترده‌ای‌ازعوامل‌ضدمیکروبی‌وفعال را تولیدمی‌نمایند(۱۰). هدف‌ازاین‌پژوهش،شناسایی میکروارگانیزم‌های تولیدکننده اگزوپلی‌ساکاریدها به‌استثنای لاکتوباسیلوس‌ها[6] و همچنین، بررسی اثر اگزوپلی‌ساکاریدهادرجهت افزایش بهبود کیفیت ماست می‌باشد.

1-Microbial Exopolysaccharides
2-Rheology

3- Stabilizers
4-*Bifidobacterium*
5-*Bacillus*
6-*Lactic Acid Bacteria*

2-Rheology

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های بکار رفته در آزمون‌ها از شرکت مرک[1] و آغازگر با کد تجاری CH-1 از شرکت کریستین‌هانسن[2]دانمارک و پرایمرهای[3] طراحی‌شده از شرکت ماکروژن و به منظور استخراج DNA از کیت‌های شرکت یکتا تجهیز استفاده گردید.

۲-۲-جمع آوری نمونه‌های خاک

در این پژوهش، نمونه‌های خاک از مناطق مختلف کویر کرمان و یزد، جمع‌آوری گردیدند. بدین منظور، سه منطقه از کویر یزد و کرمان مشخص گردید. در هر منطقه از سه نقطه در عمق ۳۰-۱۰ سانتیمتری به صورت تصادفی یک کیلوگرم خاک نمونه برداری شد و در مجموع، ۱۸ نمونه یک کیلوگرمی‌خاک برداشته شد. سپس نمونه‌های هر نقطه، به صورت مجزا، کاملاً با هم مخلوط و از هر نمونه همگن، مقداریک کیلوگرم،درشرایط‌استریل،درون‌ظروف پلاستیکی زیپ‌دار، جهت انجام آزمون‌ها به آزمایشگاه منتقل گردید.

۲-۳-جداسازی باسیلوس‌ها

ابتدا، نمونه‌های مختلف آسیاب و الک گردیدند. پس از اضافه نمودن ۱۰گرم خاک به ۹۰ سی‌سی‌آب مقطر، به مدت ۲۰ دقیقه روی شیکر قرارگرفتند تا سوسپانسیون خاک آماده گردد. سپس جهت از بین بردن فرم‌های رویشی باکتری‌ها، سوسپانسیون بدست آمده، به مدت۱۰دقیقه در دمای ۸۰ درجه‌سانتی‌گرادنگهداری‌گردید.جهت‌باقی ماندن اسپورها[4]، زمان گرمادهی نباید بیش از این به طول انجامد. حجم۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حرارت داده شده، به محیط نوترینت آگار[5] حاوی ۰/۵ درصد نمک اضافه و پخش گردید. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرمخانه‌گذاری گردیدند. سپس کلنی‌هایی با حالت موکوئیدی و خاصیت کشسانی به‌عنوان کلنی‌های تولیدکننده اگزوپلی‌ساکاریدها در نظر گرفته شدند و جهت انجام آزمون‌های شناسایی، انتخاب گردیدند.

۲-٤- آزمون‌های بیوشیمیایی

برای انجام آزمون‌های تأییدی برروی جدایه‌های موجود، بر اساس روش باصری و بهادر (۱۳۹۱)، پس از انجام آزمون کاتالاز[6]، رنگ‌آمیزی گرم و بررسی مورفولوژی، جدایه‌های گرم مثبت، کاتالاز منفی و میله‌ای جهت ادامه آزمون انتخاب گردیدند (۶).

۲-۵- بررسی تولید اگزوپلی‌ساکاریدها

کلنی‌های‌پنج‌جدایه‌باکتری‌کشت‌وایزوله‌شده (A,B,E,C,K) به‌طور جداگانه به محیط کشت MRS[7] مایع تلقیح گردیدند و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. به منظور جداسازی انواع مختلف اگزوپلی‌ساکاریدهای باکتری‌ها از روش آماتایاکول[8] و همکاران (۲۰۰۶)، استفاده گردید. بدین ترتیب‌که‌ابتدا محیط کشت حاوی باکتری، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور g×۱۵۰۰۰سانتریفیوژگردید. قسمت رویی حاصل، حاوی اگزوپلی‌ساکاریدآزاد و قسمت رسوب، حاوی اگزوپلی‌ساکارید پیوند شده بود. به منظور جداسازی اگزوپلی‌ساکاریدهای آزاد ابتدا مایع رویی بدست آمده، با ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید[9] ۲۰ ٪ مخلوط شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرارگرفت. محتویات‌لوله‌به مدت ۲۰ دقیقه دوباره سانتریفیوژ گردید. به‌منظور جداسازی اگزوپلی‌ساکاریدهای پیوند شده، رسوب بدست آمده با ۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی شستشو و به مدت ۱۵ دقیقه در دور g×۱۵۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. پس از آن، با ۵ میلی لیتر EDTA[10] ۰/۰۵ مولار مخلوط شد و

1-Merck
2- Chr.Hansen
3-Primer
4 -Spore
5 -Nutrient Agar

6- Catalase Test
7- De Man, Rogosa and Sharpe Agar
8-Amatayakul
9- Chloroacetic Acid
1-Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid

سوسپانسیون بدست آمده به مدت ۴ ساعت در انکوباتور شیکردار در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس با دور g× ۶۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در ادامه به منظور جداسازی اگزوپلی‌ساکاریدهای آزاد و پیوند یافته به مایع رویی حاصل از هرکدام، اتانول ۹۶ درجه سرد اضافه گردید و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد تا رسوب تشکیل گردد. مجددا، به مدت ۳۰ دقیقه دردمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (۶۰۰۰×g) گردید تا اینکه رسوب حاصله ته لوله‌ها تشکیل شود. سپس‌این‌رسوب،درمحیط‌آزمایشگاه‌خشک گردید(۵).

۲-۶-تولید ماست

به منظور تهیه ماست از شیر پاستوریزه کارخانه پگاه فارس با ترکیبات ۲/۵ ٪ چربی ، دانسیته ۱/۰۳۰ – ۱/۰۲۸ گرم بر سانتی‌متر مکعب ، pH= ۶/۶ و ماده خشک ۱۲/۱ درصد و پروتئین ۳/۲ درصد استفاده گردید. شیر تا دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از سرد شدن تا ۴۵ درجه سانتی‌گراد، آغازگر و اگزوپلی‌ساکارید اضافه گردید. در این مطالعه ،به منظور جلوگیری از اختلال و بررسی‌اثر اگزوپلی‌ساکاریدهای تلقیح شده از آغازگر با کد تجاری CH-1 شرکت کریستین هانسن[1] دانمارک که قادر به تولید اگزوپلی‌ساکارید نمی‌باشد، ضد استفاده گردید. سپس اگزوپلی‌ساکارید به میزان ۲٪ اضافه و در گرمخانه ۴۲ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH = ۴/۶ قرار داده شد و بلافاصله در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به منظور تولید اسید نگهداری گردید.

۲-۷-تعیین میزان آب‌اندازی

جهت تعیین میزان آب‌اندازی[2]، ۱۰ گرم از نمونه با سرعت rpm۱۶۰۰ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. میزان آب‌اندازی (S) بر حسب درصد وزنی سرم جدا شده (W) به وزن ماست اولیه (Y) طبق معادله(۱)، محاسبه گردید (۳ و ۳۲).

$$S=\frac{W}{Y}$$ (معادله۱)

۲-۸- تعیین ویسکوزیته ظاهری[3]

جهت‌اندازه‌گیری‌ویسکوزیته‌ظاهری[3]نمونه‌های ماست حاوی پلی‌ساکاریدهای‌میکروبی،ازویسکومتربروکفیلد[4] (Brookfield, USA)، مدل ۶۳ با سرعت rpm ۵۰ به مدت ۳۰ ثانیه و در شرایط دمایی محیطی استفاده گردید (۱۷).

۲-۹-تعیین ظرفیت نگهداری آب (WHC)[5]

جهت اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب، ازروش رموف[6] و همکاران (۲۰۰۳)، استفاده گردید. بدین ترتیب، مقدار ۲۰ گرم ماست (Y)، توزین و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت rpm۵۰۰۰ دردمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. سپس، مقدار آب جدا شده وزن (W) و محاسبات آن طبق معادله (۲) انجام گرفت (۲۶).

(معادله۲)

$$\text{ظرفیت نگهداری آب} = \frac{Y-W}{Y} \times 100$$

۲-۱۰- قوام

برای اندازه‌گیری قوام نمونه‌ها، از دستگاه تجزیه نیمرخ بافت(TA – TX plus)[7]، استفاده شد. برای این‌کار،۸۰ گرم نمونه با استفاده از پروب استوانه‌ای (قطر ۳۸ میلی‌متر)، با سرعت mm/s ۲ در نمونه به میزان ۱۰ میلی‌متر نفوذ کرد(۷).

1-Chr.Hansen
2-Syneresis

3-Apparent Viscosity
4-Brookfeild Viscometer
5-Water Holding Capacity
6- Remeuf
[5] Texture Analyser

۲-۱۱-بررسی ساختار اگزوپلی‌ساکاریدهای میکروبی با روش طیف سنجی مادون قرمز(FT-IR)

طیف‌سنجی‌مادون‌قرمز- تبدیل فوریه[1](FTIR)، روشی است که به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته و جذب نور مادون قرمز توسط FT–IR طیف سنجی پیوندهای مولکولی را در طول موج معین نشان می‌دهد (۳۰). طیف‌سنجی مادون قرمز، براساس جذب تابش و بررسی جهش‌های ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چند اتمی صورت می‌گیرد. با استفاده ازروش پتاسیم برمید (KBr)، گروه‌های عاملی اگزوپلی-ساکاریدی، توسط دستگاه، مورد آنالیز قرار گرفت. پس از قرارگیری نمونه‌ها درپلیت‌های KBr با نسبت(۱:۱۰۰)، طیف‌آن‌ها توسط‌دستگاه FT-IR مدل WQF-520 در ناحیه فرکانس (cm^{-1})۴۰۰۰ -۴۰۰ مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۱۲- شناسایی مولکولی باکتری‌ها

دراین‌مرحله،نمونه‌ای‌باکتریایی که‌قادربه‌تولیداگزوپلی ساکارید بودند جهت شناسایی مولکولی بر اساس ژن 16S rDNA، مورد استفاده قرار گرفتند. بر همین اساس، در ابتدا DNA باکتری مورد نظر با استفاده از کیت‌های شرکت یکتا تجهیزاستخراج گردید و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR)[2] با پرایمرهای[3] طراحی شده توسط شرکت ماکروژن[4]-'5 (F)GGATGACACTTTTCGGAGC-3' ، '(R)5'-CATTGTAGCACGTGTGTC-3'، تحت برنامه دمایی ۵ دقیقه در دمای۹۴ درجه سانتی‌گراد، جهت دناتوراسیون[5] ابتدایی و در ادامه ۴۵ سیکل شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای اتصال ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۸ ثانیه، دمای فعالیت پلیمراز ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت۷۲ ثانیه و سپس مرحله نهایی طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گردید. پس از انجام PCR، محصول آن برروی ژل آگاروز ۲ درصد انتقال یافت. سپس توالی‌های جدا شده به کمک نرم‌افزار Blast در پایگاه اطلاعات ژنومی NCBI[6] مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۱۳- آنالیز آماری

به منظور بررسی‌اثر اگزوپلی‌ساکاریدها و آنالیز آماری داده‌ها از دو تحلیل استفاده گردید. در تحلیل اول، نمونه‌ها با نمونه شاهد در هر روز مقایسه شدندکه برای این کار از آزمون Independent Sample T Test استفاده گردید. تحلیل دیگر به بررسی اثر زمان در هر تیمار پرداخته شد که در واقع از آزمون Repeated Measure استفاده گردید. در این آزمون در هر تیمار به صورت جداگانه اثر زمان بررسی و در صورت اثر معنی‌دار یا در صورت پذیرفته شدن اثر معنی‌دار زمان، روزهایی که با هم دارای اختلاف معنی‌دار بودند توسط آزمون LSD[7] مشخص گردیدند.

۳- نتایج وبحث

۳-۱- میزان آب‌اندازی

فاکتورهایی‌نظیرمیزان‌چربی،ویژگی‌های‌باکتری‌های‌آغازگر و پروبیوتیک، مقدار ماده خشک بدون چربی، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها، افزودن فیبرها و پایدارکننده‌ها، دمای تخمیر و pH فراورده از مهم ترین عوامل مؤثر بر آب‌اندازی ماست می‌باشند (۲۹). ترشح اگزوپلی‌ساکاریدها در ماست می‌تواند به عنوان بهبوددهنده بافت و نیز پایدارکننده عمل نماید. به این صورت که ابتدا ویسکوزیته محصول نهایی تخمیری شیر را افزایش می‌دهد و سپس با متصل نمودن آب و واکنش‌با اجزاء شیرمثل میسل‌های پروتئین، موجب افزایش استحکام‌شبکه کازئینی‌می‌گردد. در نتیجه، اگزوپلی‌ساکارید می‌تواند آب‌اندازی را کاهش و پایداری را افزایش دهد (۹). نتایج حاصل از افزودن اگزوپلی‌ساکاریدهای استخراج شده به نمونه‌های ماست تهیه شده در مقایسه با نمونه شاهد، نشان‌دهنده کاهش‌آب‌اندازی بود (جدول۱). بر اساس نتایج، تیمار E و K، بیشترین تأثیر را در کاهش آب‌اندازی ماست،

1-Fourier Transform Infrared Spectroscopy
2- Polymerase Chain Reaction
3- Primer
4- Macrogen Company
5 -Denaturation

6 -National Center for Biotechnological Information
7-Least Significant Difference

درمقایسه با تیمار شاهد نشان دادند، به‌طوری که، آب‌اندازی در نمونه ماست حاوی اگزوپلی‌ساکارید استحصال شده از باکتری K، در روز اول از ۰/۸۵± ۴۱/۸۰ به ۰/۳۶ ±۱۹/۴۰ در پایان‌روز ۲۸دوره نگهداری ماست رسید. این نتیجه، تأثیر معنی‌داراگزوپلی‌ساکاریدرابرنمونه‌های ماست مورد آزمایش نشان می‌دهد($p<0.05$). همچنین، در مورد باکتری E، آب‌اندازی از ۰/۵۳ ±۴۱/۹۰به ۴۰ ± ۱۸/۷۰در پایان روز ۲۸ کاهش یافت ($p<0.05$). اگزوپلی‌ساکارید باکتری‌های A ، B و C در مقایسه با E و K میزان آب‌اندازی کمتری داشتند ولی در مقایسه با نمونه شاهد اختلاف آن‌ها معنی‌دار بود. نمونهE و K بیشترین میزان کاهش آب‌اندازی را نشان دادند. در یک مطالعه مشابه، نصیرپور و همکاران (۱۳۹۱)، نشان دادند که افزودن اگزوپلی‌ساکاریدها به ماست، در مقایسه با نمونه‌های فاقد اگزوپلی‌ساکاریدها دارای آب‌اندازی کمتری هستند (۲). براساس مطالعه‌گولر-آکین[1] و همکاران (۲۰۰۹)، افزودن آغازگرهای تولید کننده اگزوپلی‌ساکارید به ماست همزده، در مقایسه با نمونه‌های فاقد این ترکیبات، دارای آب‌اندازی کمتری هستند که این می‌تواند به دلیل حضور اگزوپلی‌ساکاریدها در شبکه پروتئینی ماست و قابلیت نگهداری آب درآن باشد (۱۳). بر اساس مطالعات ولمن[2] و همکاران (۲۰۰۳)، و همچنین، پراسانا[3] و همکاران (۲۰۱۱)، ترکیبات پلی‌ساکارید به دلیل قابلیت جذب آب بالا، افزایش ویسکوزیته محصول، با تأخیر انداختن جدایی سرم باعث کاهش آب‌اندازی‌محصول طی دوره نگهداری می‌گردند(۲۵ و ۳۱).

جدول ۱- روند تغییرات میزان آب‌اندازی نمونه‌های ماست طی زمان نگهداری در سرما

	زمان نگهداری (روز)		
تیمار	۱	۱٤	۲۸
A	٤۲/۲۰±۰/۳۵ ^{a}	۲۷/۱۰±۰/۱۵ ^{*b}	۲۵/٦۰±۰/۷۱ ^{b}
B	٤۱/۷۰±۰/٤۰ ^{a}	۲۷/۷۰±۰/۲۵ ^{*b}	۲٤/۳۳ ±۰/۵۰ ^{*c}
C	٤۰/۹۷±۰/۷۷ ^{a}	۲٦/۷۰±۰/۲٦ ^{*b}	۲۳/۲۰ ±۰/۲۱ ^{*c}
E	٤۱/۹۰±۰/۵۳ ^{a}	۱۹/٦۰±۰/۲۹ ^{*b}	۱۸/۷۰ ±۰/٤۰ ^{*b}
K	٤۱/۸۰±۰/۸۵ ^{a}	۲۳/۲۰±۰/۲۱ ^{*b}	۱۹/٤۰ ±۰/۳٦ ^{*c}
شاهد	٤۲/٦۰±۰/۳۵ ^{a}	۲۹/۱۰±۰/۲۵ ^{b}	۲۷/۳۰ ±۰/۱۲ ^{c}

- حروف کوچک متفاوت در هر سطر، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها برای هر تیمار به‌صورت جداگانه می‌باشد.
- علامت (*)، در کنار بعضی داده‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار آن در مقایسه با نمونه شاهد می‌باشد.
- اعداد میانگین در سه نوبت تکرار آزمون‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.
-A-K- اگزوپلی‌ساکارید های استحصال شده از باکتری های A-K می باشند.

1-Guler-Akin
2-Welman
3-Prasanna

۳-۲- ویسکوزیته

از عوامل‌مؤثر بر ویسکوزیته ظاهری ماست، ترکیبات شیر، تیمارحرارتی و مواد افزودنی می‌باشند (۱۵). بر اساس نتایج، افزودن‌اگزوپلی‌ساکاریدهای‌میکروبی‌جداسازی‌شده‌از نمونه‌های میکروبی در مقایسه با نمونه شاهد موجب افزایش ویسکوزیته در نمونه‌های ماست مورد مطالعه گردید (جدول ۲). یکی از علل مهم افزایش ویسکوزیته در طول دوران نگهداری ماست، می‌تواند ناشی از وجود اگزوپلی-ساکاریدها باشد. همچنین، افزودن اگزوپلی‌ساکاریدهای استخراج شده، تأثیر معنی‌داری بر ویسکوزیته نمونه‌های ماست نشان دادند ($p<0.05$)، بطوری که ویسکوزیته نمونه‌های B، K و E در روز اول به ترتیب از ۱/۹۵ ±۰/۰۸، ۱/۹۷ ±۰/۲۰ و ۲/۲۰ ±۰/۰۴ به ۲/۱۴ ، ۰/۲۸ ±۲/۶۱ و ۲/۶۰ ±۰/۱۰ در روز ۲۸ افزایش نشان دادند . ویسکوزیته در نمونه‌های ماست C و A در روز اول به ترتیب از ۲/۰۵ ±۰/۰۳ و ۱/۸۱ ±۰/۱۱ به ۲/۲۱ ±۰/۰۶ و ۲/۲۱ ±۰/۳۲ در روز ۲۸ افزایش نشان داد هر چند اختلاف معنی‌داری در روز اول و روز ۲۸ نشان نداد و در واقع اختلاف روزهای اول و چهاردهم و بیست و هشتم معنی‌دار نبود، ولی نسبت به نمونه‌شاهداختلاف‌معنی‌داربودوتیمارهای حاوی اگزوپلی ساکاریدهای حاصل از باکتری‌های E و K بیشترین میزان افزایش ویسکوزیته را نشان دادند. براساس مطالعه‌الکدامانی[1] وهمکاران(۲۰۰۳)،افزایش‌کم‌میزان یسکوزیته‌درپایان‌دوره‌می‌تواندبه‌دلیل‌فعالیت میکروارگانیزم-های مایه کشت و تغییر در شبکه‌های ایجاد شده در بافت ماست باشد(۴).

جدول ۲-روند تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های ماست طی زمان نگهداری در سرما

تیمار	زمان نگهداری (روز)		
	۱	۱٤	۲۸
A	۱/۸۱±۰/۱۱ *a	۲/۰۱±۰/۰۵ *a	۲/۲۱±۰/۳۲ *a
B	۱/۹۵± ۰/۰٦ *a	۲/۱۱±۰/۰۵ *b	۲/۱٤±۰/۰٤ *ab
C	۲/۰۵±۰/۰۳ *a	۲/۲۰±۰/۰۵ *a	۲/۲۱±۰/۰٦ *a
E	۲/۲۰±۰/۰۲۰ *a	۲/٤۱±۰/۲۱ *b	۲/٦۰±۰/۱۰ *ab
K	۱/۹۷±۰/۰۸ *a	۲/٥٤ ±۰/۱٤ *b	۲/٦۱±۰/۲۸ *ab
شاهد	۰/٦۲±۰/۰٤ a	۰/۹٦±۰/۰٦ a	۰/۹۸±۰/۰٦ a

- حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار بین روزها برای هر تیمار بصورت جداگانه می‌باشد.
- علامت (*) در کنار بعضی داده ها نشان دهندهاختلاف آماری معنی دار آن در مقایسه با نمونه شاهد می‌باشد.
- اعداد میانگین سه نوبت تکرار آزمون ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

A-K- اگزوپلی‌ساکارید های استحصال شده از باکتری های A-K می‌باشند.

[1] Al-kadamany

۳-۳-ظرفیت نگهداری آب (WHC)

ظرفیت نگهداری آب در ارتباط با آب‌اندازی می‌باشد. با کاهش‌میزان‌آب‌اندازی‌ظرفیت‌نگهداری‌آب افزایش می‌یابد. فاکتورهای مختلفی از جمله کاهش pH، دمای نگهداری، میزان پروتئین و فرآیندهای ناقص بر آزاد سازی سرم و ظرفیت نگهداری آب در ماست تأثیرگذار هستند(۱۱). بر اساس نتایج جدول (۳)، ظرفیت نگهداری آب در نمونه های حاوی اگزوپلی‌ساکاریدها، طی دوره نگهداری در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافتند .به طوری که با کاهش میزان آب‌اندازی نمونه‌های ماست حاوی‌اگزوپلی‌ساکارید باکتری های E و K، ظرفیت نگهداری آب افزایش یافت.

جدول ۳-روند تغییرات ظرفیت نگهداری آب نمونه‌های ماست طی زمان نگهداری در سرما

	زمان نگهداری (روز)		
تیمار	۱	۱٤	۲۸
A	٦٥/٣٥ ±٠/٦٦ *a	٧١/١٢ ±٠/١٣ *b	٦٩/٨٨ ±٠/٣٥ *b
B	٦٦/٠١±٠/٢١ *a	٦٨/٤١ ±٠/٥٠ *ab	٧٠/٤٤ ±٠/٣٠ *b
C	٦٤/٢٥ ±٠/٤٦ *a	٧٠/١٤ ±٠/٥٥ *b	٧٢/٢٩ ±٠/١٠ *c
E	٦٨/٣٥ ±٠/٤١ *a	٧٢/٤٥ ±٠/٣٢ *b	٧٧/٢٤ ±٠/٦٦ *c
K	٦٦/٥٣ ±٠/٤٧ *a	٧١/٧٨ ±٠/٢٧ *b	٧٥/٤١ ±٠/٣٦ *b
شاهد	٥٩/٦٢ ±٠/٥٩ a	٦٢/٥٨ ±٠/٤٣ b	٦٤/٦٧ ±٠/٣٨ c

– حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها برای هر تیمار بصورت جداگانه می‌باشد.

– علامت (*)، در کنار بعضی داده‌ها نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی دار آن در مقایسه با نمونه شاهد می‌باشد.

– اعداد میانگین سه نوبت تکرار آزمون‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.

A-K- اگزوپلی‌ساکاریدهای حاصل شده از باکتری‌های A-K می‌باشند.

در نمونه‌های ماست با اگزوپلی‌ساکاریدهای باکتری E و K، ظرفیت نگهداری آب به‌طور معنی‌داری به ترتیب از ۰/۴۱ ±۶۸/۳۵ و۰/۴۷± ۶۶/۵۳ به ۰/۶۶ ±۷۷/۲۴ و ۰/۳۶ ± ۷۵/۴۱ افزایش یافتند. همچنین، ظرفیت نگهداری ماست در نمونه‌های A، C و B نیز به میزان کمتری در مقایسه با نمونه شاهد افزایش نشان دادند.از این میان، نمونه ماست حاوی اگزوپلی‌ساکارید باکتری A، کمترین میزان افزایش ظرفیت نگهداری آب را نشان داد. تیمار های E و K بیشترین میزان افزایش ظرفیت آب در نمونه های ماست را دارا بودند.

۳-٤-قوام نمونه ها

جدایه‌های تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید در محصولات تخمیری شیر موجب افزایش قوام می‌شوند (۱۹). در مطالعه حاضر، همه نمونه‌های ماست حاوی اگزوپلی‌ساکارید به نسبت‌های مختلف، موجب افزایش قوام نمونه‌های ماست شدند (جدول ۴) ،به طوری که قوام ماست حاوی اگزوپلی‌ساکاریدهای حاصل از باکتری‌های K و E، به ترتیب از۱۵/۲۴± ۳۶۱/۳۴ و ۰/۵۳± ۳۴۱/۱۶ در روز اول به ۱/۱۴ ± ۴۶۳/۱۲و ۴/۵۸ ± ۴۵۳/۹۸ در روز ۲۸ رسیدند. هر چند، در این دو تیمار اثر زمان در روز اول و روز ۱۴ معنی‌دارنبود($p>0.05$)، ولی‌درروز ۲۸ هر دو اثر معنی‌داری بر قوام داشتند($p<0.05$) و نمونه هایA، C و B نیز قوام نمونه‌های ماست را افزایش دادند. علاوه بر این، نتایج نشان داد که قوام تیمارها در روز اول در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری افزایش می‌یابند. همچنین، این فاکتور در روز ۱۴ در این نمونه‌ها در مقایسه با روز اول از نظر اثر زمان معنی‌دار بود ولی داده‌ها در مقایسه با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند. به‌علاوه، در روز ۲۸ از دوره نگهداری، اثر زمان در این تیمارها در مقایسه با نمونه شاهد

دارای اختلاف معنی‌دار بودند($p<0.05$). دو تیمار E و K بیشترین میزان افزایش قوام را نشان دادند. بر اساس مطالعه حسن[1] و همکاران (۲۰۰۲)، نوع اتصال پروتئین و اگزوپلی-ساکارید برقوام تاثیر می‌گذارد (۱۴). مطابق با مطالعه گیرارد و شافر[2] (۲۰۰۷)، اگزوپلی‌ساکاریدهای دارای شبکه وسیع از بار منفی، وزن مولکولی بالا و غنی از گروه‌های سولفات، از مؤثرترین اگزوپلی‌ساکاریدهایی هستند که به‌دلیل برهم‌کنشهای کازئین- کازئین، قادر به کاهش زمان تشکیل ژل و افزایش قوام، می‌باشند (۱۲).

جدول ٤- روند تغییرات قوامنمونه‌های ماست طی زمان نگهداری در سرما

تیمار	زمان نگهداری (روز)		
	۱	١٤	۲۸
A	۲۷٦/۲۱±٤/۰۹^{*a}	۳۲۱/۱۸±٥/٤٥^{b}	۳۸۲/۲٤±۰/٥۳^{*c}
B	۲۸۱/۱۹±۰/۹٥^{*a}	۳٤٤/۲٦±۹/۸۱^{b}	۳۸٦/۲۱±۰/٥۷^{*c}
C	۲۸۹/۰٤±۱۰/٥۲^{*a}	۳٤۲/۲۱±٤ /٥۲^{b}	۳۹۸/۱٤±٤/۷٦^{*c}
E	۳٤۱/۱٦±۰/٥۳^{*a}	۳٦٦/٥۰±۲۲/۷٦^{a}	٤٥۳/۹۸± ٤/٥۸^{*b}
K	۳٦۱/۳٤±۱٥/۲٤^{a}	۳۹۲/۲٤±۱/۱٦^{*a}	٤٦۳/۱۲±۱/۱٤^{*b}
شاهد	۳٦۳/۲۱±۰/٥٦^{a}	۳۲۸/۱۱±۰/٥٥	۳٤۱/۲۷±۱۱/٦۸^{ab}

- حروف کوچک متفاوت در هر سطر نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روزها برای هر تیمار بصورت جداگانه می باشد.
- علامت (*)، در کنار بعضی داده ها نشان‌دهندهاختلاف آماری معنی‌دار آن در مقایسه با نمونه شاهد می‌باشد.
- اعداد میانگین سه نوبت تکرار آزمون‌ها به صورت میانگین (± انحراف معیار) گزارش شده است.
A-K- اگزوپلی‌ساکاریدهای استحصال شده از باکتری‌های A-K می‌باشند.

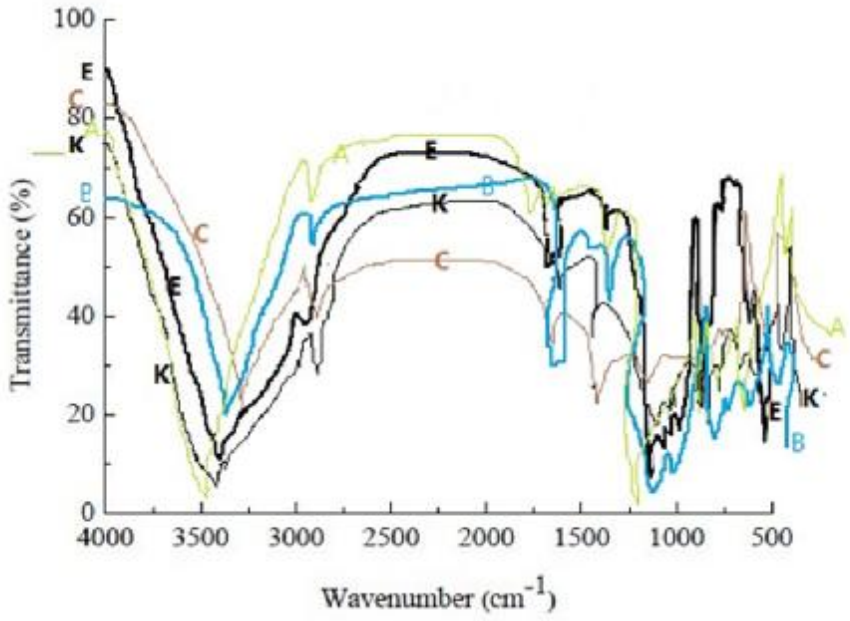
1- Hassan
2-Girard and Schffer

۳-۵-نتایج آنالیز FT-IR

وجودطیف‌ناحیه۳۶۵۰–۳۲۰۰، می‌توانند مربوط به گروه‌های عاملی‌هیدروکسیل (۱۸و۲۲) وطیف‌های ناحیه۳۰۰۰ – ۲۸۰۰ مربوط‌به‌اسیدهای‌چرب‌باشند.طیف‌های ناحیه ۱۷۰۰ – ۱۵۰۰ که ناحیه‌دوم را تشکیل می‌دهد شامل پیوندهای‌آمیدی ۱ و ۲ پروتئین‌هاوپپتیدها است. ناحیه سوم که طیف ۱۵۰۰ – ۱۲۰۰ را دربر می‌گیرد شامل لرزش‌های خمیدگی اسیدهای چرب، پروتئین‌ها و ترکیبات حاوی فسفر است. ناحیه چهارم که در بردارنده باندهای جذبی کربوهیدرات‌ها در دیواره سلولی باکتری‌هااست ناحیه۱۲۰۰ –۹۰۰ را شامل می‌شود (۸). وجود پیک در ناحیه۹۰۰cm-1 تا ۱۲۰۰ (شکل۱)ن شان از وجود گروه های C-Oو C-O-C در ترکیب را دارد (جدول ۵).

جدول ۵- گستره جذب گروه‌های عاملی موجود در اگزوپلی‌ساکارید(Cm^{-1})

گروه‌های عاملی	OH	C-H	C=O	COO^-	C-Oو C-O-C
تیمار					
A	۳٤۲٥	۲۹۲۹	۱٦۲۸ – ۱٦۷۲	۱٤۷٥	۹۰۰– ۱۲۰۰
B	۳۳۰۹	۲۹۲۹	۱٦۲۸	۱٤۷٥	۹۰۰– ۱۲۰۰
C	۳۳۰٥	۲۹۲۹	۱٦۷۲	۱٤۷۳	۹۰۰– ۱۲۰۰
E	۳۳۰۹	۲۹۲۹	۱٦۲۸– ۱٦۷۲	۱٤۷۳	۹۰۰– ۱۲۰۰
K	۳۳٤٥	۲۹۲۹	۱٦۷۲	۱٤۷۳	۹۰۰– ۱۲۰۰



شکل ۱- آنالیز FT – IR اگزوپلی‌ساکاریدهای تولید شده

۳-٦-شناسایی سویه‌های شاخص باکتریایی موثر در بهبود کیفیت ماست

شناسایی باکتری که اگزوپلی‌ساکاریدآن بیشترین تأثیر بر بهبود کیفیت ماست‌داشت در دو مرحله صورت گرفت. در مرحله اول، شناسایی بر اساس آزمون‌های بیوشیمیایی صورت گرفت و در مرحله دوم جهت شناسایی دقیق‌تر از روش مولکولی با تعیین‌توالی ۱۶S rDNAاستفاده شد. و توالی ژن‌های‌بدست آمده با توالی‌های بانک ژن مقایسه و مشخص گردیدسویه‌برتر تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید (نمونه باکتری E)،بیشترین‌شباهت به *Bacilluwiedmannii* سویه*HBUM207173* دارد.

٤- نتیجه‌گیری

نتایج‌بررسی‌ومطالعه‌باکتری‌های‌تولیدکننده‌اگزوپلی‌ساکارید نشان داد که علاوه بر باکتری‌های اسید لاکتیک که قابلیت تولید اگزوپلی‌ساکاریدها را دارند خاک‌های مناطق کویری که‌دارای‌شرایط‌خاص‌آب‌وهوایی‌می‌باشند می‌توانند زیستگاه باکتری‌هایی باشند که بیوپلیمرهای آن‌ها اثرات مطلوبی بر فرآورده‌های غذایی از جمله صنایع لبنی به خصوص ماست دارند. اکثر باسیلوس‌های جدا شده در این مطالعه، قادر به تولید اگزوپلی‌ساکاریدها بودند، که بر کیفیت نمونه‌های ماست به نسبت‌های مختلف تاثیر داشتند. همان‌طور که نتایج نشان دادند اگزوپلی‌ساکارید جداسازی شده از باکتری *Bacillus wiedmannii* سویه *HBUM207173* به طور معنی‌داری آب‌اندازی نمونه‌های ماست را کاهش و همچنین میزان ویسکوزیته، ظرفیت نگهداری آب و قوام نمونه های ماست را بطور معنی‌داری افزایش داد.

٥- منابع

۱. پردلی، ح.، هاشمی هزاوه، ج.، جمشیدیان، م. و بیات، م. ۱۳۹۲. جداسازی، شناسایی مولکولی و تعیین اثر ضد قارچی باسیلوس‌های جدا شده از خاک ریزوسفریک منطقه گرگان علیه تریکوفیتون منتاگروفایتس. *نشریه علوم آزمایشگاهی*، جلد ۷، شماره ۲، ۲٦-۲۱.

۲. نصیرپورتبریزی، ن.، حصاری، ج.، قنبرزاده، ب.، آزادمرد دمیرچی، ص. و قیاسی فر، ش. ۱۳۹۱. ویژگی‌های رئولوژیکی، حسی و آب‌اندازی نمونه‌های ماست تهیه شده با آغازگر تولیدکننده اگزوپلی‌ساکارید YF-L811. *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی*، جلد ۳۳، شماره ٤، ٤٨٦-٤٧٧.

3. Ahmed, N.A., El Soda, M., Hassan, A.N. and Frank, J. 2005. Improving the textural properties of an acid-coagulated (Karish) cheese using exopolysaccharide producing cultures. *Journal of LWT - Food Science and Technology*, 38(8): 843-847.

4. Al-kadamany, E., khattar, M., Haddad, T. and Toufeili, I. 2003. Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physiological changes during storage. *Journal of LWT - Food Science and Technology*, 36(4): 407–414.

5. Amatayakul, T., Halmos, A. L., Sherkat, F. and Shah, N. P. 2006. Physical characteristics of yoghurts Made using exopolysaccharideproducing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. *International Dairy Journal*, 16(1): 40-51.

6. Baseri, S. M., and Bahador, N. 1391. *Diagnostic Bacteriology*. Navid Press, First Edition, p. 183-187.

7. Bayarri, S., Carbonell, I., Barrios, E. X. and Costell, E. 2011. Impact of sensory differences on consumer acceptability of yoghurt and yoghurt-like products. *International Dairy Journal*, 21(2): 111-118.

8. Davis, R., Irudayaraj, J., Reuhs, B.L. and Mauer, L. J. 2010. Detection of escherichia coli O157:H7 in groundbeef using Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy and chemometrics. *Journal of Food Sciences*, 75(6): 340-346.

9. Duboc, P., and Mollet, B. 2001. Application of exopolysaccharides in the dairy industry. *International Dairy Journal*, 11(9): 759-768.

10. El-Gendy, M. M. and El-Bondkly, A. M. 2010. Production and genetic improvement of a novel antimycoti agent, Saadamycin, against dermatophytes and other clinical fungi from endophyticstreptomyces sp. Hedaya48. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 37(8): 831-41.

11. Girard, M. and Schaffer-Lequart, C. 2007. Gelation of skim milk containing anionic

exopolysaccharides and recovery of texture after shearing. *Food Hydrocolloids*, 21(7): 1031- 1040.
12. Girard, M., and Schaffer-Lequart, C. 2007. Gelation and resistance to shearing of fermented milk: Role of exopolysaccharides. *International Dairy Journal*, 17(6): 666-673.
13. Guler-Akin, M B., Akin, M S. and Korkmaz, A. 2009. Influence of different exopolysaccharide-producing strains on the physicochemical, sensory and syneresis characteristics of reduced-fat stirred yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*, 62(3): 422-430.
14. Hassan, A. N., Corredig, M. and Frank, J. F. 2002. Capsule formation by non-ropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yogurt during structure formation. *Journal of Dairy Sciences*, 85(4): 716–720.
15. Helal, A., Rashid, N., Dyab, M., Otaibi, M. and Alnemr, T. 2018. Enhanced functional, sensory, microbial and texture properties of low-fat set yogurt supplemented with high-density inulin. *Journal of Food Processing & Beverages*, 6(1): 1-11.
16. Jung, S. W., Kim, W. J., Lee, K. G. and Kim, C. W. 2009. Isolation and identification of lactic acid bacteria from sourdough with high exopolysaccharides production ability. *Food Science and Biotechnology*, 18(2): 384-389.
17. Katsiari, M C., Voutsinas, L. P. and Kondyli, E. 2002. Manufacture of yogurt from stored frozen sheep's milk. *Food Chemistry*, 77(4): 413– 420.
18. Koening., J.L. 1979. *Vibrational Spectroscopy of Carbohydrates. InInfrared and Raman Spectroscopy of Biological Molecules; Springer International Publishing: Cham, Switzerland*, pp. 125–137.
19. La Torre, L., Tamime, A. Y. and Muir, D. D. 2003. Rheology and sensory profiling of set-type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter culture. *International Journal of Dairy Technology*, 56(3): 163–170.
20. Larpin, S., Sauvageot, N. S., Pichereau, V., Laplace, J. M. and Auffray, Y. K. 2002. Biosynthesis of exopolysaccharide by eacillus licheniformis strain isolated from ropy cider. *International Journal of Food Microbiology*, 77(1-2): 1-9.
21. Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F. and Xiao, M. 2010. Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by bacillus licheniformis 8-37-0-1. *Bioresource Technology*, 101(14): 5528–5533.
22. Mathlouthi, M., Koening, J.L. 1987. Vibrational spectra of carbohydrates. *Advances in Carbohydratechemistryand Biochemistry*, 44: 7–89.
23. Pawar, S.T., Bhosale, A.A., Gawade, T.B. and Nale, T.R. 2013. Isolation, screening and optimization of exopolysaccharide producing bacterium from saline soil. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*, 3(3): 24-31.
24. Pichavant, L. 2009. Design, synthesis and reactivity of monomers from agroresources for free radical polymerization. (Doctoral dissertation, Reims), Available at: http://www.theses.fr/2009REIMS031.
25. Prasanna, P. H. P., Grandison, A. S. and Charalampopoulos, D. 2011. Effect of dairy based protein sources and temperature on growth, acidification and exopolysaccharide production of Bifidobacterium strains in skim milk. *Food Research International*, 47(1): 6–12.
26. Remeuf, F., Mohammed, S., Sodini, I. and Tissier, J.P. 2003. Preliminary observations on the effects of milk fortification and heating on microstructure and physical properties of stirred yogurt. *International Dairy Journal*, 13(9): 773–782.
27. Rolene, B., Jan, P. B., Nathan, V. W., Christian, D. T., Leon, M.T.D. and Jens, K. 2009. Exopolysaccharide production by lactose-hydrolyzing bacteria isolated from traditionally fermented milk. *International journal of food microbiology*, 131(2-3): 260-264.
28. Tadaion, M., Sheikh Zainuddin, M., Dokhani, S. and Salmanian Rad, S. 2009. Comparison of polysaccharides secreted from the lactic bacteria in some of our traditional manufacturing industries and in the laboratory and its effect on the physical properties of the product. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 48(1): 207-217.
29. Tamime, A.Y., Barrantes, E., and Sword, A. M. 1996. The effects of starch based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 49(1): 1–10.
30. Verhoef, R., Schols, H. A., Blanco, A., Siika-Aho, M., Rättö, M., Buchert, J., Lenon,

G. and Voragen, A. G. J. 2005. Sugar composition and FT-IR analysis of exopolysaccharides produced by microbial isolates from paper mill slime deposits. *Biotechnology and Bioengineering Journal*, 91(1): 91–105.

31. Welman, A. D., Maddox, I. S. and Archer, R. H. 2003. Screening and selection of exopolysaccharide-producing strains of Lactobacillus delbruecki subsp. Bulgaricus. *Journal of Applied Microbiology*, 95(6): 1200 – 1206.

32. Zarrin, R., Ghasempour, Z., Rezazad, B. M., Alizadeh, M., and Moghaddas-Kia, E. 2014. Investigating the effects of microalgae spirulina platensis and zedo gum on probiotic yogurt. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 3(3): 197- 210.

(Original Research Paper)

Isolation of Bacillus Soil Exopolysaccharides in Desert Areas and Their Effect on the Quality of Molded Yogurt During Cold Storage

Seyyed Ebrahim Moosavi[1], Mohammad Hossein Marhamatizadeh[1*], Gholamhossein Mohebbi[2]

1-Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.
2-The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran.

Reveived:11/01/2021 Accepted:06/03/2021

Abstract

One of the most important applications of biotechnology in the food industry is the production of various additives. Among the additives produced by biotechnology method is the production of exopolysaccharides produced by bacteria in dairy products.Diversity in the structure and chemical composition of microbial exopolysaccharides has made them superior to animal and plant polymers. Due to these cases, these compounds can be used as food additives with health effects. In the present study, Bacillus bacteria producing exopolysaccharides were isolated from the soils of desert areas and then, the structural and functional groups of exopolysaccharides were identified using FT-IR method. The presence of peaks in the frequency range 400-4000 (cm^{-1})indicates the polysaccharide and purity of the extracted material. Then, their effects on the quality of yogurt were investigated. Based on the results, the quality of yogurt samples containing exopolysaccharide of bacteria K, C, B, A and E significantly increased compared to the control group that did not contain exopolysaccharide.Exopolysaccharide from E bacterium significantly reduced hydration compared to other samples and control samples and also significantly increased the viscosity and water holding capacity and consistency of yogurt. Finally, based on the 16S rDNA sequence, the bacterium whose exopolysaccharide had the greatest effect on improving the quality of yogurt, *Bacillus wiedmannii* strain *HBUM207173* was identified.

Keywords: Exopolysaccharide, *Bacillus wiedmannii,* Improve Quality, desert Soil, Yogurt

[*]Corresponding Author: Drmarhamati@gmail.com