Journal of Food Hygiene, Vol. 9, No. 33 Spring 2019

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2019.545852**

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

Sekhavatizadeh, S.[1], Aminlari, M.[2*], Ghaisari, H.[3], Shekarfroosh, S.[4], Golmakani, M.[5]

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 60th day of storage time about 211°D in the control sample and193 °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 14th day of storage time. On the 60th 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

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2019.545852

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

سعید سخاوتی‌زاده[۱]، محمود امین‌لاری[۲*]، حمیدرضا قیصری[۳]، سید شهرام شکرفروش[٤]، محمدتقی گلمکانی[٥]

۱. دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

۱. مربی، عضو هیئت علمی بخش تحقیقات فنی مهندسی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی، شیراز، ایران

۲. استاد، گروه بیوشیمی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

۳. دانشیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

٤. استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

٥. دانشیار، گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، فارس، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: aminlari@shirazu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۷/۲/٦ پذیرش نهایی: ۹۷/٦/۲٥)

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 ٦۰ 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. ΔE در کشک شاهد ٤/۸ و در کشک پروبیوتیک ۲/٦۲ 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 ٦ log cfu/ml، برای محصول پروبیوتیک، ۱٤ روز بود و مدت زمان ماندگاری کشک شاهد ٦۰ 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 میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر به‌مقدار کافی (10^7 cfu/g تا 10^8) در غذا به‌کار روند خصوصیات سلامت‌بخشی را برای مصرف کننده ایجاد می‌کنند (Hill *et al*., 2014). مواد تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها می‌تواند به‌طور مستقیم به‌عنوان ممانعت کننده یا درمانی برای بیماری‌های مسری و تومورها به‌کار 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 cfu /g تا 10^8) 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. به‌عنوان 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. به‌عنوان مثال گونه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (VTTE 97800) که با نشاسته ریزپوشانی شده بود در هوای اتاق به‌مدت حداقل ٦ 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)، امولسیونی (سیستم دو فاز)، کواکستروژن و روش خشک‌کن پاششی اشاره نمود (Krasaekoopt *et al*., 200).

اگرچه تکنیک ریزپوشانی می‌تواند باعث ماندگاری باکتری‌های لاکتوباسیلوس به‌واسطه کاهش آب همراه در پروسه شود ولی روش‌هایی مانند ریزپوشانی توسط خشک کردن تحت خلأ، خشک کردن انجمادی یا خشک‌کردن به‌وسیله 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 هیدروکلوئید مناسب مخلوط خواهد شد و سپس این محلول به‌صورت قطره به داخل کلرید کلسیم به‌عنوان محلول سفت کننده ریخته خواهد شد. این روش به‌دلیل سهولت کار و هزینه کم بسیار محبوب است (Krasaekoopt *et al*., 2003).

هیدروکلوئید مناسب در این روش آلژینات است که یک هتروپلی‌ساکارید خطی است. معمولاً کلسیم موجود در کلرید کلسیم با پلیمر الگلیورونیک اسید-L (acidguluronic) موجود در آلژینات پیوند برقرار کرده و تنها جزء آزاد ساختمان آلژینات که دی‌مانویورنیک اسید است که در تشکیل ژل شرکت می‌کند. قطر کپسول‌های به‌وجود 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 محصولاتی است که در ایران، به‌دلیل داشتن محیط مناسب برای فساد، به‌صورت بسته‌بندی داغ (۸۰ °C) تولید می‌گردد. این امر به‌دلیل کاهش بار میکروبی و ماندگاری بیشتر محصول و کاهش خطر آلودگی ثانویه صورت می‌گیرد. از آن‌جایی‌که این دما برای ماندگاری پروبیوتیک‌ها مطلوب نمی‌باشد (Mansouripour *et al*., 2013)، تاکنون اقبالی جهت تولید کشک پروبیوتیکی صورت نگرفته است. اضافه کردن پروبیوتیک‌ها به‌دلیل 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 به‌صورت معمول در کشک به‌کار برد.

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

مواد و روش‌ها

- روش آماده‌سازی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*

باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (PTCC 1637) به‌صورت لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران، سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه گردید و برای فعال‌سازی از محیط MRS مایع (Merck, Germany) و به‌منظور

بی‌هوازی شدن محیط از پارافین مایع استریل استفاده شد. محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در مرحله بعد در دور ٤٥٠٠rpm به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و مایع رویی دور ریخته شد و رسوب به‌وسیله محلول آب پپتونه ۱/۵ درصد شستشو داده شد. این عمل دوبار تکرار و سپس حجم رسوب لوله به ۱ میلی‌لیتر رسانده شد و رقت‌سازی لگاریتمی با سرم فیزیولوژی انجام و جهت ارزیابی تعداد باکتری‌ها از روش کشت سطحی استاندارد استفاده شد. پلیت‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و شرایط بی‌هوازی گازپک 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 M-RTLV (Modified-rhamnose-2,3,5-triphenyltetrazolium chloride-LBS-vancomycin agar) بعد از رقیق‌سازی لگاریتمی با استفاده از سرم فیزیولوژی و شمارش سطحی استاندارد استفاده شد. پلیت‌ها به‌مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تحت شرایط بی‌هوازی با گازپک 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 ۱۱/٤ درصد تهیه گردید. محلول ۰/۸ درصد زودو توسط فیلتر واتمن شماره ٤ صاف شد و در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید.

- روش ریزپوشانی

برای ریزپوشانی از تکنیک اکستروژن به‌صورت دولایه‌ای استفاده گردید. لایه اول سدیم آلژینات و لایه دوم زودو در نظر گرفته شد. به‌منظور ریزپوشانی، ۵ میلی‌لیتر باکتری شسته و شمارش شده بر اساس روش شمارش پلیت استاندارد ($۱/۱۹ \times ۱۰^{۹}$ cfu/ml) در ۱۵ میلی‌لیتر محلول آلژینات سدیم ۲ درصد Sigma-Aldrich, Germany) حل گردید. محلول فوق توسط سرسوزن ۰/۱۱ میلی‌متر به‌صورت قطره قطره به ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ مولار $CaCl_2$ استریل اضافه گردید. پس از ۳۰ دقیقه حدود ۲۰ گرم از دانک‌های به‌وجود آمده، به‌مدت یک شب در یخچال قرار داده شد. در مرحله بعد دانک‌ها توسط پپتون واتر(Merck, Germany) ۰/۱ درصد استریل چندین‌بار شستشو شد. سپس دانک‌ها به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول زودو ۰/۸ درصد (قبلا توسط پیش‌آزمون مشخص گردید) اضافه شد و بر روی شیکر ارلن با ۱۸۰ دور در دقیقه به‌مدت ٤٠ دقیقه قرار داده شد. در مرحله بعد دانک‌ها توسط پپتون واتر ۰/۱ درصد استریل چندین‌بار شستشو شد (Krasaekoopt *et al*., 2006; Gandomi *et al*., 2016).

- تهیه کشک پروبیوتیکی به‌روش 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 kgr/cm^2 ۲۰۰-۱۵۰همگن شد. سپس به‌وسیله حرارت ۹۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه و تا دمای ٤۳ درجه سلسیوس خنک شد. سپس کشت لیوفیلیزه استارتر (Direct vat system) CH1(50U) DVS (Chr.Hansen, Denmark) به شیر اضافه گردید و در دمای ٤۳ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شد تا علاوه‌بر تشکیل لخته، اسیدیته آن به ۱۵۰ درجه دورنیک برسد. پس از آن، ماست حاصله به دیگ پخت منتقل شد و به‌مدت ٤ 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 به‌میزان ۱ درصد به آن نمک استریل اضافه و توسط دستگاه هموژن در دمای ۷۵ درجه سلسیوس در فشار kgr/cm^2 ۲۰۰-۱۵۰ 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 به‌میزان ۱۰ درصد (معادل حدود ۸ log cfu/g باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در کشک) و در نمونه دوم باکتری آزاد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (با غلظت تقریبی ۸ log 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، به‌صورت پرکردن داغ بسته‌بندی و بعد از سرد شدن به سردخانه ٤ درجه سلسیوس به‌مدت ٦۰ روز منتقل شد. جنس ظروف بسته‌بندی از پلی‌اتیلن چگالی بالا، به حجم ۲۰۰ میلی‌لیتر بود که به‌روش آرسیل بسته‌بندی گردید. برای بررسی تغییرات فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی محصول، نمونه‌برداری از کشک‌ها هر ۱۵ روز یک‌بار تا روز ٦۰ بعد از تولید، صورت پذیرفت (Tamime and Robinson, 2007; Horwitz and Latimer, 2010).

- روش شمارش باکتری‌های استارتر اسید لاکتیک

برای کشت *استرپتوکوکوس 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 ٤/۵ 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 به‌مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تحت شرایط بی‌هوازی گازپک (Merck, Germany) (Anaerocult® A Gas pack) گرمخانه‌گذاری شدند (Sakai *et al.*, 2010).

- 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

به‌منظور ارزیابی رنگ کشک از روش عکس‌برداری دیجیتال توسط دستگاه رنگ‌سنج (Chroma meter CR-400, Japan) استفاده گردید. دستگاه با کاشی سفید استاندارد $L^*=$ ۹۲/۲۳، $a^*=$ -۱/۲۹ و $b^*=$ ۱/۱۹ کالیبره شد. برای هر بار اندازه‌گیری رنگ، ۵ گرم کشک در

داخل محفظه مخصوص قرار داده شد و مؤلفه‌های 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 ΔE، که برطبق فرمول‌های [۱ تا ٤] به‌دست آمد، استفاده گردید (Fritzen-Freire *et al*., 2012; Abbasi and Azari, 2009). هر چه ΔE بیشتر باشد اختلاف رنگ محصول در طول مدت نگه‌داری، بیشتر است (Nasehi, 2012 ; Hunt *et al*., 1999).

$$\Delta L=L^*_{sample}-L^*_{standard} \quad \text{معادله (۱)}$$

$$\Delta a=a^*_{sample}-a^*_{standard} \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\Delta b=b^*_{sample}-b^*_{standard} \quad \text{معادله (۳)}$$

$$\Delta E=(\Delta L^{*2}+\Delta a^{*2}+\Delta b^{*2})^{1/2} \quad \text{معادله (٤)}$$

- آزمون ارگانولپتیکی

آزمون ارگانولپتیکی بر اساس روش ارزیابی حسی بر طبق استاندارد ٤٦٩١ 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" به‌ترتیب برای امتیاز ۱ (شدیداً مخالفم) تا امتیاز ۵ (شدیداً موافقم) در نظر گرفته شد. در بین هر بار آزمون از آب معدنی و بیسکوییت استفاده گردید.

- بررسی ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیکی در شرایط مشابه غذایی

از آن‌جایی‌که 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 ١٤ نگه‌داری، انتخاب و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس حرارت‌دهی گردید. سپس بر روی M-RLTV به‌صورت پورپلیت کشت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌مدت ٤٨ ساعت تحت شرایط بی‌هوازی 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 ٤٢ میلی‌متر و قطر نمونه ٦٣ 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 دمای ۳ ± ۲۵ 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 *کلی‌فرم*، *اشریشیا کولای*، کپک، مخمر و *استافیلوکوکوس ارئوس* تا روز ٦٠ 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 ($p<۰/۰۵$) 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 ۲۰۱٦ استفاده گردید.

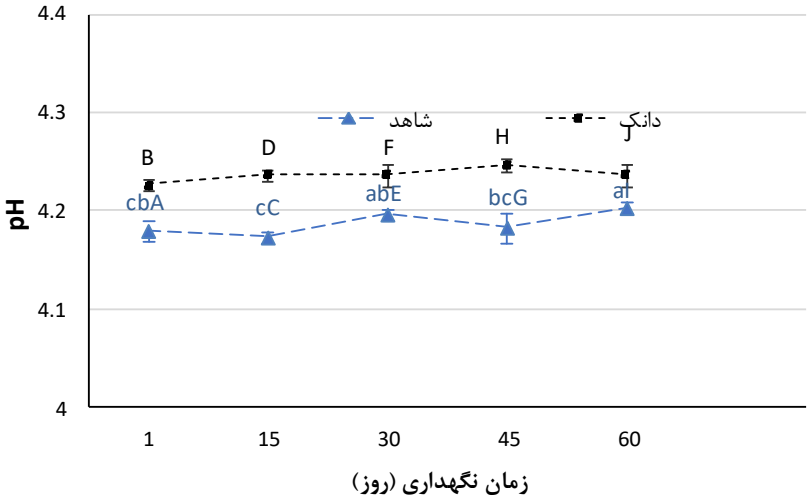
یافته‌ها

- خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژی شیر و کشک

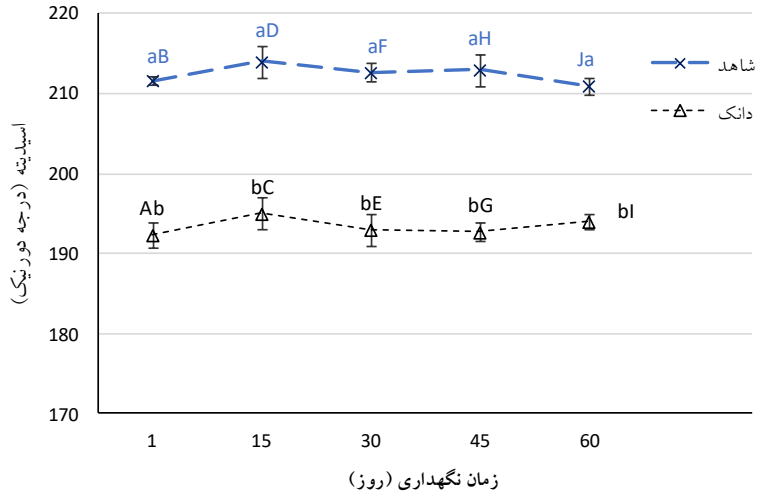
شیر مصرفی در تولید کشک دارای وزن مخصوص $1/035 g/cm^3$، pH= ٦/٦، نقطه انجماد ۰/٥٢٤ درجه سلسیوس، چربی ۱/۸ درصد، تست الکل و آنتی‌بیوتیک منفی، درصد ماده خشک بدون چربی شیر (Solid non fat) $m/_m$ ۸/۱، اسیدیته ١٦، بار میکروبی cfu/ml $2/٤\times10^{٥}$ بود. کشک تولیدی دارای اسیدیته ۲۱۰ درجه دورنیک، pH= ٤/١٨، ماده خشک ۲۰ درصد، نمک ۱ درصد، پروتئین ۳/۸۲ درصد بود. هم‌چنین کپک، مخمر، *اشریشیا کولای*، کلی‌فرم 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).



نمودار (۱)- تغییرات (میانگین ± خطای استاندارد) pH در طول مدت نگه‌داری در دمای ٤ درجه سلسیوس؛ a,b,c :حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۵) در زمان‌های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۵) بین دو نمونه کشک در یک زمان است.



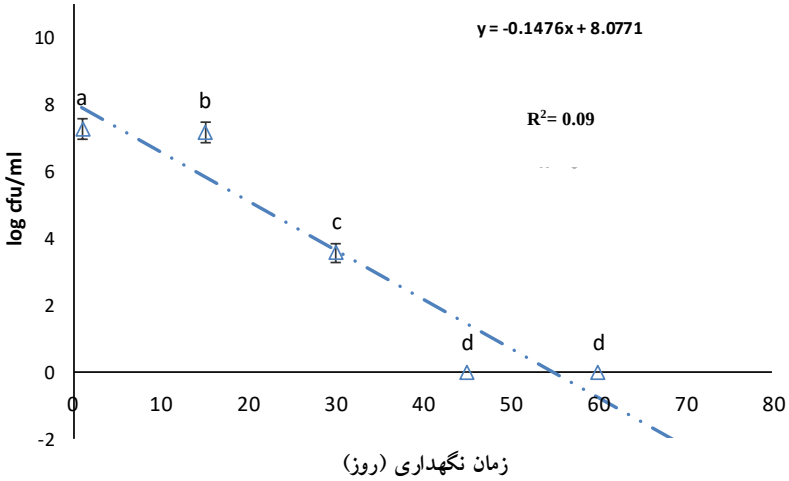
نمودار (۲)- تغییرات (میانگین ± خطای استاندارد) اسیدیته در طول مدت نگه‌داری در دمای ٤ درجه سلسیوس؛ a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشانگر اختلاف معنی‌دار (p <۰/۰۵) در زمان‌های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار (p< ۰/۰۵) بین دو نمونه کشک در یک زمان است.

- ماندگاری باکتری‌های استارتر در کشک

بررسی ماندگاری باکتری‌های استارتر بعد از اعمال حرارتی نشان داد که هیچ رشد باکتری بر روی محیط‌های M_{17} و MRS آگار مشاهده نگردید.

- ماندگاری باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و دانک آن در کشک بعد از پرکردن داغ و شرایط مشابه غذایی

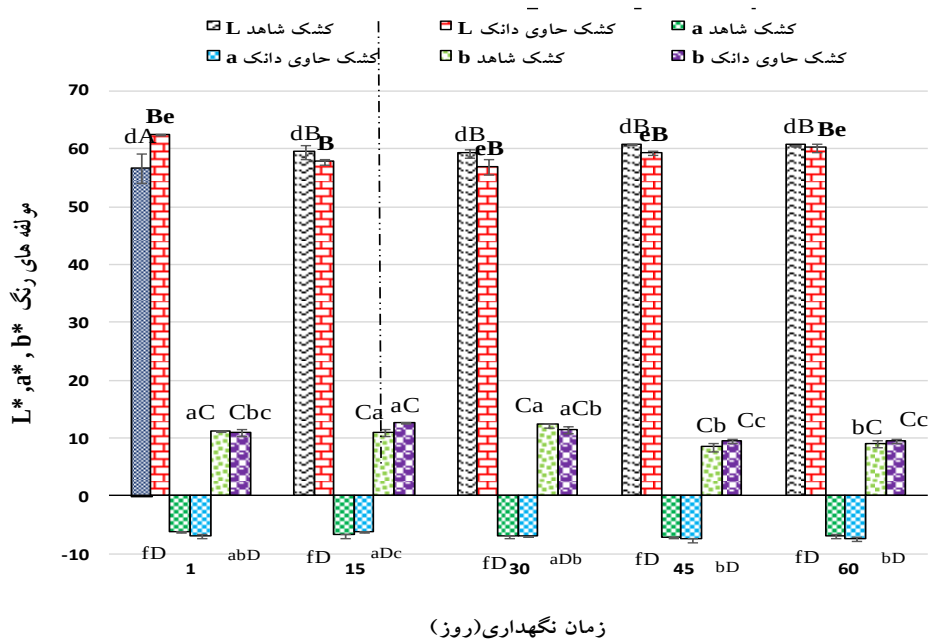
در کشک حاوی باکتری آزاد، بعد از مرحله پرکردن داغ هیچ رشد باکتری در محیط M-RLTV مشاهده نگردید. نتایج ماندگاری دانک باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در نمودار (۳) آورده شده است. در شرایط مشابه غذایی هیچ رشد باکتری در محیط M-RLTV مشاهده نگردید.



نمودار (۳). تغییرات زمان ماندگاری (میانگین ± خطای استاندارد) دانک پروبیوتیک در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ٤٥، ٦٠ دوره نگه‌داری؛ a, b, c, d: نتایج با حروف فوقانی کوچک متفاوت از لحاظ آماری تفاوت معنی‌دار دارند (p< ۰/۰۵).

- ارزیابی رنگ کشک‌ها

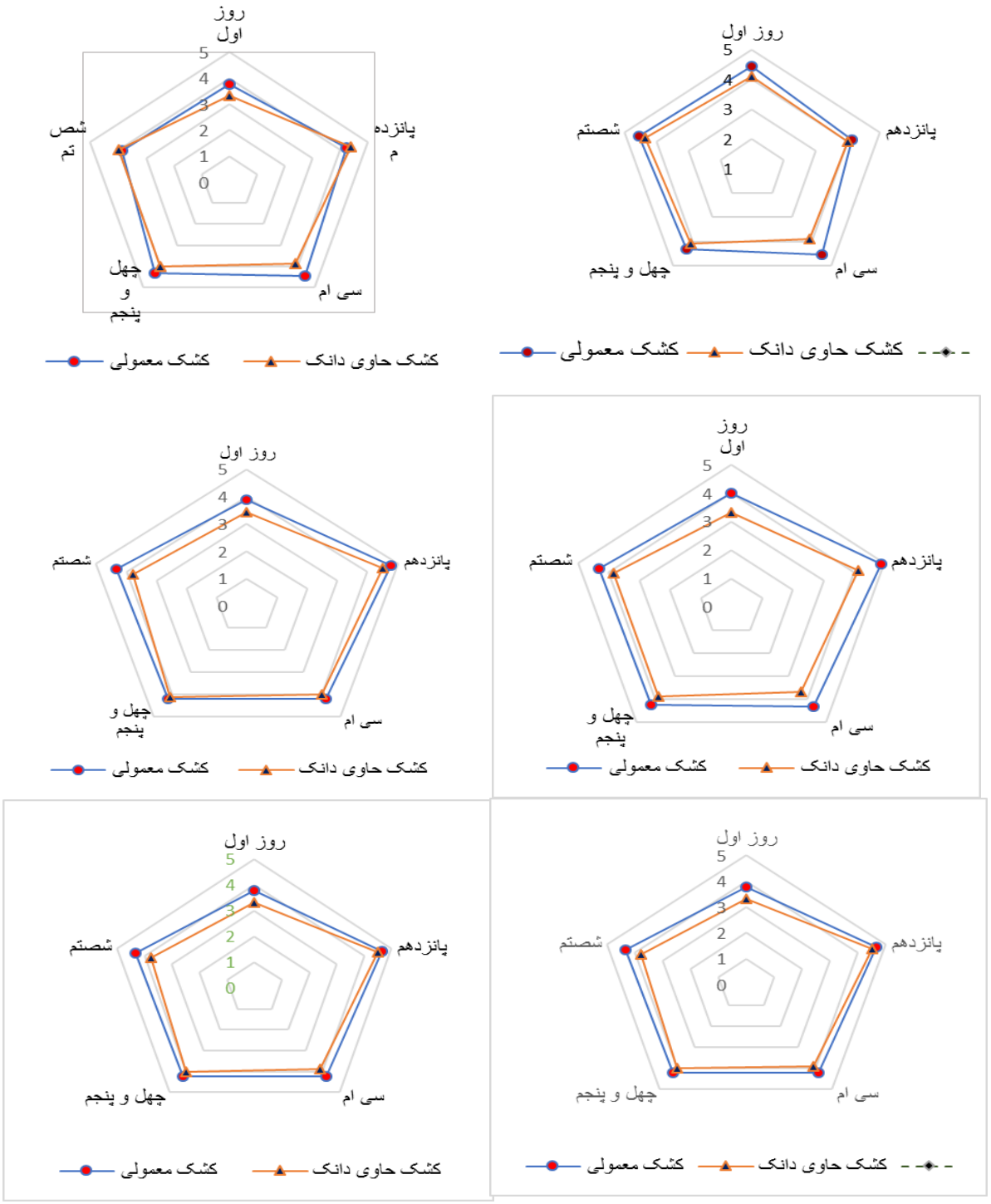
بر اساس یافته‌های نمودار (٤) در مؤلفه L^* و a^* در نمونه شاهد و نمونه پروبیوتیک در طول مدت نگه‌داری افزایش معنی‌داری مشاهده نگردید. ولی مولفه b^* در نمونه‌ها ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. در مقایسه بین نمونه شاهد و پروبیوتیک مشخص گردید که در روز اول مؤلفه L^* کشک شاهد کمتر از کشک حاوی دانک بود. احتمالاً دانک باعث روشن‌تر شدن رنگ محصول گردیده است. ولی در سایر روزها اختلاف معنی‌داری بین نمونه شاهد و نمونه پروبیوتیک وجود نداشت. از لحاظ مؤلفه‌های a^* و b^* در طول مدت نگه‌داری کشک شاهد و پروبیوتیک دارای اختلاف معنی‌داری نبودند. $\triangle E$ در نمونه شاهد ٤/٨ و در نمونه کشک حاوی دانک ۲/٦۲ بود. لذا تغییرات رنگی در نمونه شاهد بیشتر از نمونه حاوی دانک در طول مدت نگه‌داری بود.



نمودار (٤)- تغییرات (میانگین ± خطای استاندارد) مؤلفه‌های رنگ در طول مدت نگه‌داری در دمای ٤ درجه سلسیوس؛ a, b, c: حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر نمونه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) در زمان‌های مختلف است؛ A, B, C: حروف لاتین بزرگ غیرمشابه نشان‌گر اختلاف معنی‌دار (p<۰/۰۵) 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 ٦٠ نگه‌داری امتیاز مؤلفه‌های قوام، نظر کلی، دل‌پذیری و طعم در نمونه شاهد بالاتر از نمونه حاوی دانک بود (p<۰/۰۵)، ولی در سایر مؤلفه‌ها با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند.



نمودار (۵)- آزمون‌های حسی کشک معمولی و پروبیوتیک در طول مدت نگه‌داری در دمای ٤ درجه سلسیوس؛
نمودارها به‌ترتیب از راست به چپ و از بالا به پایین شامل رنگ، بو، قوام، طعم، دل‌پذیری و نظر کلی می‌باشد؛ اعداد میانگین ۳۰ تکرار هستند.

- 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 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).

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

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

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.

مقایسه زمان ماندگاری بین کشک پروبیوتیکی و معمولی نیز نشان داد که هر دو نمونه کشک تا روز ۶۰، فاقد *کلی‌فرم*، *اشریشیا کولای*، کپک، مخمر و *استافیلوکوکوس ارئوس* بودند. لذا نمونه کشک شاهد و کشک پروبیوتیک، تا روز ۶۰ مناسب برای مصرف بودند.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر تولید لاکتیک اسید تا روز ٦٠ 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 پلانتاروم* در pH برابر ۵ تا ٦ 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 به‌حساب می‌آید که بهترین دما برای رشد این باکتری ۳۵-۳۳ 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 ٤ درجه سلسیوس می‌باشد (Donkor *et al*., 2006). باکتری‌های استارتر ماست شامل *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکس ترموفیلوس* بعد از اعمال حرارتی و کشت از محصول جدا نشدند. از آن جایی‌که در تحقیق حاضر این دو باکتری در فرایند تولید کشک از بین رفتند، لذا کشک‌های تولیدی در این طرح با افزایش اسیدیته و یا کاهش pH مواجه 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) ۸/۲۸ log cfu/g و بعد از مرحله پر کردن ۰/۹۸ log cfu/g باکتری کاهش داشت. تعداد باکتری موجود در کشک حاوی دانک ۷/۳ log 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 کاهشی برخوردار بود. کشک در روز ١٤ 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 ($p< ۰/۰۵$) بودند (نمودار ۳).

از آن‌جایی‌که 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

cfu/g ۸/۹ بود و محصول واجد حدنصاب لازم برای محصول پروبیوتیک تا روز دهم بود ولی در روز ۱۵ نگه‌داری به log cfu/g ٤/۰٤ رسید. در صورتی‌که با استفاده از تکنیک ریزپوشانی با آلژینات، این کاهش از log cfu/g ۸/۷۹ (در روز اول) به cfu/g ۵/۲۸ (در روز ۱۵) رسید. به‌رغم این‌که محصول واجد دانک در روز ۱۵ از نظر جمعیت میکروبی پروبیوتیک محسوب نمی‌شود، ولی از کاهش کم‌تری نسبت به محصول با 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 ٦۲/۵ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ دقیقه باعث کاهش تعداد باکتری آزاد از cfu/ml ۲×۱۰^{۷} به cfu/ml $۳/۵\times۱۰^{٤}$ و در باکتری ریزپوشانی شده از cfu/ml $۱/۲\times۱۰^{۷}$ به cfu/ml $۲/۱\times۱۰^{۵}$ 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 ذکرشده 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 L^* گردیده بود و این امر به‌دلیل جذب آب توسط فیبر بوده است. لذا احتمالاً در این تحقیق به‌دلیل آن‌که 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 به‌راحتی 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 مولفه 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 مولفه L^* در کشک دانک بیش‌تر از کشک شاهد بود که نشان دهندهٔ 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

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 ٤٩ 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. به‌دلیل این‌که مؤلفه قوام به‌دلیل ایجاد پلی‌ساکارید تولید شده توسط باکتری‌های استارتر افزایش یافت که در این تحقیق به‌دلیل 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 به‌دلیل واکنش پروتئین‌های شیر با آلژینات 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 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 به‌دلیل 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 به‌دلیل عدم ماندگاری کشت استارتر بعد از پروسه پخت این

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 نمونهٔ پروبیوتیک بوده است لذا نمونهٔ 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. هم‌چنین کشک تولید شده دارای حدنصاب لازم cfu/g 10^6 باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در محصول، تا روز ١٤ 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 منافعی برای اعلام ندارند.

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.1st 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., Snydman, 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. 1st 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. 1st 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. 3rd 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. 2nd 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. 2nd 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-RTLV 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. 3rd 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.