

## بررسی اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان بر بقاء لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص فیزیکوشیمیایی و حسی ماست کم چرب پروبیوتیک

آزیتا مظفرپور نوری<sup>۱</sup>، لیلا ناطقی<sup>۲\*</sup>، امیر میمنندی پور<sup>۳</sup>

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحدورامین - پیشوا، دانشگاه آزاداسلامی، ورامین، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، گروه بیوتکنولوژی دامی، تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۲۷)

### چکیده

در دو دهه اخیر تمایل به مصرف محصولات لبنی کم چرب یا بدون چربی به دلیل تاثیرات سوء ناشی از چربی اضافی بر سلامتی انسان به طور چشمگیری افزایش پیدا کرده است، لذا استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز به منظور بهبود بافت ماست کم چرب مطلوب می باشد. جهت بقاء بهتر و رشد بیشتر باکتری های پروبیوتیک در ماست از ترکیبات پری بیوتیکی نظیر بتاگلوکان می توان استفاده نمود. بنابراین هدف کلی از پژوهش حاضر بررسی اثر آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان بر بقاء لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبیولوژی و حسی ماست کم چرب پروبیوتیک بود. بدین منظور درصدهای مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز (۰/۰۱۸، ۰/۰۱۴، ۰/۰۱) و بتاگلوکان (۰/۰۱۵، ۰/۰۱، ۰/۰۰۵) به شکل منفرد و ترکیبی مطابق با طرح کاملاً تصادفی به ماست کم چرب که حاوی ریزسازواره پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود اضافه شدند. نمونه های تولید شده از نقطه نظر میزان pH، اسیدیته قابل تیتراژ، سینرژیس، شمارش باکتری پروبیوتیک و ویژگی های حسی طی ۲۱ روز دوره نگهداری در ۴ °C، مورد ارزیابی قرار گرفتند. مطابق با نتایج، نوع نمونه (آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان) و بررسی زمان نگهداری در هر هفته طی ۲۱ روز، اثر معنی داری بر روی تغییرات pH و اسیدیته ماست داشتند ( $p \geq 0.05$ ). افزایش غلظت بتاگلوکان و آنزیم ترانس گلوتامیناز، زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در ماست کم چرب به شکل معنی داری افزایش داد ( $p \geq 0.05$ ) با افزایش غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز از آب اندازی ماست های مورد آزمون به شکل معنی داری کاهش و با افزایش غلظت بتاگلوکان آب اندازی به شکل معنی داری افزایش یافت. نمونه های ماست حاوی بالاترین درصد آنزیم ترانس-گلوتامیناز (۰/۰۱۸)، دارای بهترین خواص حسی از نظر ارزیابان بودند. همچنین در نمونه های مذکور میزان زنده ماندن ریزسازواره پروبیوتیک بالاتر از سایر نمونه ها بود در نتیجه بعنوان تیمار برتر انتخاب شدند.

**کلید واژگان:** بتاگلوکان، ترانس گلوتامیناز، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ماست پروبیوتیک.

\*مسئول مکاتبات: leylanateghi@yahoo.com

## ۱- مقدمه

مصرف غذاهای کم کالری می‌تواند احتمال ابتلا به چاقی را کاهش دهد، از اینرو در سال‌های اخیر تولید غذاهای کم چرب به شدت مورد توجه قرار گرفته است. در حال حاضر با توجه به افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان نسبت به پیشگیری از چاقی و ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی، ترجیح می‌دهند از محصولات کم چربی استفاده کنند [۱]. ماست از فرآورده‌های تخمیری پر مصرف است که به دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا تاثیر مثبتی در سلامت فرد دارد [۲-۳]. کم کردن چربی و استفاده از جایگزین‌های چربی در ماست باعث کاهش کلسترول خون می‌گردد در نتیجه ماست کم چرب مقبولیت بیشتری در بین مصرف‌کنندگان دارد [۳].

ماست کم چرب دارای درصد چربی ۰/۵٪ تا ۱/۵٪/و ماده خشک بدون چربی بیش از ۹/۵٪ می‌باشد [۴]. مصرف‌کنندگان محصولات کم چربی را با کیفیت مشابه محصولات پرچرب بیشتر می‌طلبند [۵]. ماست به طور معمول در طی زمان ماندگاری آب انداختگی ناشی از سینریزس دارد. آب جدا شده به طور قابل توجهی دارای پروتئین می‌باشد. آب‌اندازی در ماست طی زمان نگهداری باعث کاهش مقبولیت این محصول از سوی مصرف‌کنندگان می‌شود [۶]. آنزیم ترانس گلوتامیناز آنزیمی است که ارتباط متقابل پروتئین‌ها را از طریق پیوندهای کوالانسی بین دو اسید آمینه گلوتامین و لیزین کاتالیز می‌کند که باعث ایجاد یک شبکه پروتئینی بزرگ شده، در نتیجه منجر به افزایش قدرت ژل می‌گردد [۶]. همچنین می‌تواند تاثیر مثبتی از طریق این پیوندها در رفتارهای کیفی محصولات کم چرب از قبیل افزایش ویسکوزیته داشته باشد [۷]. مؤید زاده و همکاران گزارش کردند که آنزیم ترانس-گلوتامین از اثرات مطلوبی بر کاهش سینریزس و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماست قالبی داشته است، همچنین این محققان نشان دادند که با بالا رفتن غلظت آنزیم ترانس گلوتامیناز،

درصد سینریزس کاهش و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی<sup>۳</sup> و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس<sup>۴</sup> به طور معنی‌دار افزایش یافت [۵]. محمود و سبو<sup>۵</sup> (۲۰۱۲)، نیز نشان دادند که آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌تواند باعث قوام بیشتر، کاهش سینریزس در ماست گردد [۶].

پروبیوتیک‌ها دارای ویژگی‌های سلامت بخش هستند و مصرف آنها روشی برای بازسازی اصلاح فلور روده می‌باشد [۵]. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۶</sup> از ریزسازواره‌های خانواده لاکتوباسیلاسه<sup>۷</sup>، گرم مثبت، غیراسپورزا، میله‌ای، کاتالاز منفی، معمولاً غیر متحرک بوده و قادر به احیای نیتراست نیستند. این ریزسازواره از مهمترین گونه‌های موجود در دستگاه گوارش انسان می‌باشد [۸]. گونه‌های لاکتوباسیلوس نظیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارای اثرات سلامت بخشی نظیر کمک به هضم لاکتوز، کنترل سرطان و یا بیماری‌های عفونی دستگاه گوارش [۹]، ارتقاء سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول سرم خون، کاهش تظاهرات آلرژیک [۱۰] و بهبود تعادل میکروبی روده می‌باشد [۱۱]. برای تحقق این آثار سلامت بخش مصرف منظم CFU/g<sup>۹</sup> و ۱۰<sup>۶</sup> اسلول زنده این ریزسازواره توصیه می‌گردد [۹].

پروبیوتیک‌ها مواد مغذی هستند که به عنوان منبع کربن به وسیله باکتری‌های خاص مصرف می‌شوند و بنابراین می‌توانند جهت افزایش رشد و بقاء ریزسازواره‌ها به محیط افزوده گردند [۱۰]. مدهو<sup>۸</sup> و همکاران، (۲۰۱۲) گزارش کردند ترکیب ریزسازواره پروبیوتیک با پری‌بیوتیک در ماست باعث افزایش بقاء پروبیوتیک‌ها طی دوره نگهداری و هنگام عبور از دستگاه گوارش، شده است [۱۲]. همچنین پری‌بیوتیک‌ها باعث کاهش مقدار کالری در غذا می‌گردند و می‌توانند در برطرف کردن برخی از مشکلات مربوط به خواص ارگانولپتیکی و حسی ناشی از سطح کم چربی در محصولات نهایی، مورد استفاده

3. *Lactobacillus casei*  
4. *Lactobacillus bulgaricus*  
5. Mahmood and Sebo  
6. *Lactobacillus acidophilus*  
7. *Lactobacillasea*  
8. Madhu

1. Syneresis  
2. Transglutaminase

از (شرکت کریستینهانسن<sup>۷</sup>، دانمارک) خریداری شد و محیط کشت MRS آگار از (شرکت مرک<sup>۸</sup>، آلمان)، آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین<sup>۹</sup> و کلیندامایسین<sup>۱۰</sup> از (شرکت تولید دارو، ایران) تهیه گردیدند.

## ۲-۲- روش‌ها

### ۲-۲-۱- روش تولید ماست

جهت تولید ماست، ابتدا ۱/۵ درصد شیر خشک بدون چربی را به شیر (۱/۵ درصد چربی) اضافه کرده که در این مخلوط اسیدیته ۱۷/۵ درجه دورنیک، pH ۶/۶۵، دانسیته ۱/۰۳۷۰ بود. سپس بتاگلوکان مطابق با جدول ۱ به تیمارهای مورد نظر اضافه شد، نمونه‌هایی نیز بدون بتاگلوکان بودند، کلیه نمونه‌ها تا دمای ۹۰°C به مدت ۵ دقیقه در بن ماری جوش پاستوریزه شدند، آنگاه شیر تا دمای ۴۵°C خنک شد [۱۶]، به بعضی از نمونه‌ها آنزیم ترانس گلوتامیناز مطابق با جدول ۱ تیمارها در این دما اضافه شد [۶]. همچنین یک پاکت ۲۰۰ واحدی از استارتر (Express 1.0) که جهت مصرف در یک تن شیر می‌باشد، در یک لیتر شیر خنک حل شد. مقدار ۰/۱٪ آزان و CFU/g<sup>۱۰</sup> از ریز سازواره لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5)، به طور هم‌زمان در این دما به کلیه تیمارها اضافه گردید. نمونه شاهد بدون بتاگلوکان و آنزیم ترانس گلوتامیناز به همراه استارتر ماستو پروبیوتیک بود. سپس ظروف بسته بندی شده در دمای ۴۳°C تا رسیدن به pH ۴/۷۰ در آنکوباتور، گرمخانه‌گذاری گردیدند و پس از آن کلیه نمونه‌ها به یخچال منتقل شدند.

### ۲-۲-۲- اندازه‌گیری pH و اسیدیته

در این آزمون با استفاده از pH متر (متلر<sup>۱۱</sup>- آلمان)، pH کلیه نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد همچنین آزمون اندازه‌گیری اسیدیته نیز بر اساس درجه دورنیک و با استفاده از سود ۰/۱ نرمال و معرف فنل‌فتالین محاسبه گردید و

قرار بگیرند. بتاگلوکان<sup>۱</sup> فیبر محلول در رژیم غذایی و همچنین یک پری‌بیوتیک می‌باشد که از کنسانتره غلیظ جو دوسر گرفته شده است [۱۳]. بتاگلوکان دیواره سلولی پلی‌ساکاریدهای دانه‌های غلات می‌باشد [۱۴] و نشان داده است که در بهبود بیوست، کاهش خطر سرطان انتهای روده بزرگ [۱۵]، تقلیل قند خون ناشی از خوراک [۱۵، ۱۶]، کمک به ساخت زنجیره کوتاه اسیدچرب و ازدیاد فلور روده تاثیر دارد. بیشترین خواص سودمند بتاگلوکان در کاهش کلسترول سرم خون می‌باشد [۱۴، ۱۵، ۱۷، ۱۸]. بتاگلوکان نیز در جهت بهبود بافت و احساس دهانی در محصولات لبنی کم‌چرب به رسمیت شناخته شده است و عملکردی شبیه به چربی دارد [۱۵]. هدف کلی از این پژوهش با استناد بر مسائل مطرح شده در قسمت‌های پیشین، بررسی تاثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز به جهت ایجاد شبکه پروتئینی مستحکم و جلوگیری از آب اندازی و بتاگلوکان به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک بر بقاء لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و همچنین تاثیر این دو ترکیب بر خواص فیزیکیوشیمیایی و حسی ماست کم‌چرب پروبیوتیک بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد مصرفی

شیر ۱/۵ درصد چربی از (شرکت لبنی پاکبان، ایران)، به همراه شیر خشک بدون چربی از (شرکت لبنی پگاه، ایران)، بتاگلوکان از (شرکت پروموت<sup>۲</sup>، سوئد) و آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی از استرپتومایسس موبارانس<sup>۳</sup> با میانگین فعالیت ۱۰۰ واحد در گرم از (شرکت بی‌اف<sup>۴</sup>، اسپانیا) تهیه گردید. سویه ریزسازواره پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA5) و استارتر تجاری ماست لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس<sup>۵</sup> و استرپتوکوکوس سالواریسزیرگونه ترموفیلوس<sup>۶</sup> (Express 1.0)

1. Beta-glucan
2. Promoat
3. *Streptomyces mobaraensi*
4. BDF
5. *Lactobacillus delbruekii subsp. Bulgaricus*
6. *Streptococcus thermophilus*

7. Chr.Hansen
8. Merck
9. Ciprofloxacin
10. Cilindamacyin
11. Mettler

هر دو آزمون مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ بود [۱۹].

### ۲-۲-۳- سنجش آب اندازی یا جدا شدن سرم (سینتریزس)

جهت اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی، ابتدا ۲۵ گرم نمونه ماست در لوله‌های سانتریفیوژ وزن شد و سپس لوله‌ها در سانتریفیوژ (هتیچ روتو اف ۳۲) با دور ۳۵۰ G به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰°C، سانتریفیوژ شدند. مایع جدا شده از نمونه که در قسمت بالای لوله جمع شده بود، خارج گردید و لوله‌ها مجدداً وزن شدند. مقدار آب‌اندازی به صورت وزن آب از دست رفته در ۱۰۰ گرم ماست گزارش گردید [۱۰].

### ۲-۲-۴- شمارش میکروبی

در این آزمون مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۹۶۱۶، از محیط کشت MRS آگار به همراه آنتی‌بیوتیک‌های کلیندامایسین و سیپروفلوکساسین و روش کشت سطحی، جهت شمارش ریزسازواره‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس استفاده شد. مقدار ۲ mg از آنتی‌بیوتیک کلیندامایسین و ۲۰ mg آنتی‌بیوتیک سیپروفلوکساسین در ۱۰ ml آب مقطر استریل به صورت جداگانه حل شدند. پس از عبور از فیلتر سرنگی ۰/۲۲ μm در یک لوله آزمایش سترون، از این محلول‌ها به مقدار ۰/۰۵٪ کلیندامایسین و ۰/۰۵٪ سیپروفلوکساسین، بعد از اتوکلاو به محیط کشت MRS آگار در دمای ۴۷-۴۴°C اضافه گردید و این محیط کشت در ظروف پتری ذخیره شد. رقت‌های مناسب در محلول رینگر استریل تهیه شد و بعد از انجام کشت، پلیت‌ها در جار بی‌هوازی که توسط گاز پک A&C (شرکت مرک، آلمان) بی‌هوازی شده بودند به گرمخانه ۳۷°C منتقل و بعد از مدت ۷۲h گرمخانه‌گذاری، شمارش شدند [۸].

### ۲-۲-۵- آزمون حسی

با استفاده از ۹ نفر ارزیاب حرفه‌ای با روش هدونیک ۵ نقطه‌ای ویژگی‌های طعم، ظاهر، بافت دهانی و بافت غیردهانی ارزیابی شدند. امتیاز شاخص‌های خیلی خوب (رضایت بخش) نمره ۵، خوب (رضایت بخش) نمره ۴، متوسط (قابل قبول) نمره ۳، ضعیف (غیر قابل قبول) نمره ۲ و برای خیلی ضعیف

(غیر قابل مصرف) نمره ۱، در نظر گرفته شد. با توجه به اهمیت طعم در ویژگی‌های حسی ماست اگر به طعم ماست امتیازی تعلق نگیرد، نمونه از نظر ارزشیابی کلی غیر قابل قبول است [۲۰].

### ۲-۲-۶- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور طراحی تیمارها از طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل استفاده شد، برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش مقایسه میانگین‌های یک طرفه دانکن و دو طرفه در نرم افزار مینی تب ۱۶ استفاده شد. بنابراین تعداد ۸ تیمار طراحی گردید. کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار انجام گردید و نتایج به شکل  $\pm$  انحراف معیار<sup>۲</sup> گزارش شد.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- نتایج تغییرات pH و اسیدیته

#### ماست‌های کم-چرب پروبیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان

مطابق با جدول ۲ و ۳ بر طبق نتایج حاصله از آزمایشات این پژوهش میتوان بیان کرد، با افزایش طول دوره نگهداری تا روز بیستویکم، کاهش Ph و افزایش اسیدیته در تمام نمونه‌های ماست به صورت معنی‌دار مشاهده شد ( $p \geq 0.05$ ). در نمونه‌های ماست کم-چرب پروبیوتیک طی زمان ماندگاری، با افزایش طول دوره نگهداری تا روز بیست و یکم، افزایش اسیدیته (برحسب دورنیک) در اکثر نمونه‌ها دیده شد که از نظر آماری در مقایسه با روز اول نسبت به روز بیست و یکم، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ( $p \geq 0.05$ )، که این می‌تواند به علت فعالیت ریزسازواره‌های استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در دمای یخچال باشد که همچنین با تخمیر لاکتوز، اسید لاکتیک تولید میکنند در نتیجه pH را کاهش و اسیدیته را افزایش می‌دهند [۵]. نتایج آنالیز واریانس تغییرات pH مطابق جدول ۷ نشان داد که نوع و ترکیبات نمونه‌ها (درصد‌های مختلف آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان)، اثر زمان نگهداری (روز ۱ پس از تولید، ۷، ۱۴ و ۲۱) و اثر متقابل آن‌ها بر روی تغییرات pH نمونه‌های ماست کم-چرب معنی‌دار بود ( $p \geq 0.05$ ).

Table 1 Treatments used in research

Treatments	Formulation		
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> CFU/g	Transglutaminase Enzyme (%)	Beta-glucan (%)
T1 (Control)	$0^8 \times 11$	-	-
T2	$0^8 \times 11$	0.01	-
T3	$0^8 \times 11$	0.014	-
T4	$0^8 \times 11$	0.018	-
T5	$0^8 \times 11$	-	0.005
T6	$0^8 \times 11$	-	0.01
T7	$0^8 \times 11$	-	0.015
T8	$0^8 \times 11$	0.014	0.01

بررسی تاثیر سطوح مختلف بتاگلوکان بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پلانتروم در ماست پرداختند و گزارش نمودند pH نمونه‌های حاوی بتاگلوکان در طی روزهای نگهداری دارای کاهش معنی‌دار ( $0.05 \geq p$ ) در مقایسه با نمونه کنترل داشت [۱۶]. همچنین مهروس<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۱۴) در کل نمونه‌های ماست حاوی بتاگلوکان، کاهش pH را در طی دوره نگهداری در یخچال مشاهده کردند و این کاهش همانند ماست‌های تجاری حاوی پروبیوتیک طی زمان نگهداری بود و آنها دریافتند که میانگین مقدار pH ماست حاوی ۰/۷٪ بتاگلوکان و پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل کمتر بود و نمونه‌های دیگر کاهش کمتری در pH طی زمان نگهداری داشتند [۲۲]. در تایید نتایج فوق همچنین لیوتکویسیوس<sup>۴</sup> و همکاران (۲۰۱۵) دریافتند در محصولات تخمیری به همراه آب‌میوه، کاهش pH در نمونه‌های حاوی بتاگلوکان نسبت به نمونه‌های بدون بتاگلوکان وجود داشت [۱۸]. نتایج آنالیز واریانس تغییرات اسیدیته مطابق جدول ۷ نشان داد که نوع و ترکیبات نمونه‌ها، اثر زمان نگهداری و اثر متقابل آنها بر روی تغییرات اسیدیته نمونه‌های ماست کم‌چرب، معنی‌دار بود ( $0.05 \geq p$ ). با توجه به فاکتور F ratio، اثر زمان نگهداری بر تغییرات میزان اسیدیته نسبت به سایر فاکتورها معنی‌دارتر بود ( $0.05 \geq p$ ).

با توجه به فاکتور F ratio، اثر زمان نگهداری (۱۷۹/۱۷) بر روی تغییرات میزان pH نسبت به سایر فاکتورها معنی‌دارتر بود ( $0.05 \geq p$ ). در تایید نتایج حاصل از این تحقیق یگانه زاد<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند فعالیت ریز سازواره‌های آغازگر ماست موجب افت معنی‌دار pH ( $0.05 \geq p$ ) در طی بیست و یک روز نگهداری ماست شده است [۲۱]. مقایسه نمونه کنترل با نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز نشان داد که در تغییرات pH هیچ اختلاف معنی‌داری نداشتند در نتیجه آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با این درصد مصرفی تاثیر معنی‌داری از نظر آمار در کاهش یا افزایش pH روز اول پس از تولید طی زمان نگهداری در ۴°C نداشت ( $p > 0.05$ ). با توجه به جدول ۲، روند کاهش pH در نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز روز اول تا روز چهاردهم آهسته‌تر نسبت به نمونه کنترل بود و به طور کلی pH این نمونه‌ها در مقایسه با نمونه کنترل اندکی بالاتر بود ولی اختلاف معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). این می‌تواند به دلیل ایجاد پیوند عرضی آمینواسیدها و پپتیدهای کوچک لازم برای رشد ریز سازواره‌های اسیدلاکتیک با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز باشد، در نتیجه این آمینواسیدها و پپتیدها برای ریز سازواره غیر قابل دسترس شده و سبب تاخیر در رشد ریزسازواره‌ها و کاهش تولید اسیدلاکتیک می‌گردد [۶]. کیلیک و آکپینار<sup>۲</sup> (۲۰۱۳) به

3. Mahrous  
4. Liutkevicius

1. Yeganehzad  
2. Kilic and Akpinar

**Table 2** Results of pH changes during, 21 days of storage in 4 °C

21	14	7	1	Treatments
0.005 <sup>abB</sup> ±4.393	0.005 <sup>abB</sup> ±4.403	0.005 <sup>aA</sup> ±4.456	0.015 <sup>aA</sup> ±4.456	T1 (Control)
0.005 <sup>abB</sup> ±4.393	0.005 <sup>aA</sup> ±4.433	0.005 <sup>bA</sup> ±4.436	0.010 <sup>abA</sup> ±4.450	T2
0.005 <sup>abB</sup> ±4.406	0.005 <sup>abB</sup> ±4.416	0.005 <sup>abA</sup> ±4.446	0.010 <sup>abA</sup> ±4.440	T3
0.005 <sup>aC</sup> ±4.396	0.005 <sup>Ab</sup> ±4.423	0.005 <sup>bAB</sup> ±4.436	0.010 <sup>abA</sup> ±4.450	T4
0.020 <sup>bA</sup> ±4.323	0.026 <sup>dA</sup> ±4.320	0.005 <sup>eA</sup> ±4.353	0.005 <sup>cA</sup> ±4.436	T5
0.023 <sup>bC</sup> ±4.313	0.010 <sup>cdC</sup> ±4.330	0.005 <sup>dB</sup> ±4.383	0.010 <sup>aA</sup> ±4.470	T6
0.005 <sup>bC</sup> ±4.346	0.005 <sup>cC</sup> ±4.353	0.005 <sup>dB</sup> ±4.386	0.020 <sup>bA</sup> ±4.420	T7
0.005 <sup>aC</sup> ±4.393	0.005 <sup>bBC</sup> ±4.386	0.005 <sup>cB</sup> ±4.406	0.005 <sup>bA</sup> ±4.423	T8

Results are shown as mean ± Standard deviation

<sup>a-c</sup>. In each column indicate significant differences ( $p \geq 0.05$ )

<sup>A-C</sup>. In each row indicate significant difference ( $p \geq 0.05$ )

**Table 3** Results of acidity changes (in Dornic) during, 21 days of storage in 4 °C

21	14	7	1	Treatments
1.528 <sup>dA</sup> ±89.667	0.289 <sup>bcA</sup> ±89.333	1.000 <sup>aA</sup> ±88.000	0.557 <sup>abA</sup> ±88.333	T1 (Control)
0.577 <sup>abcA</sup> ±92.667	0.577 <sup>cB</sup> ±88.667	0.577 <sup>abB</sup> ±88.333	1.000 <sup>bB</sup> ±87.000	T2
1.000 <sup>bcA</sup> ±92.000	0.289 <sup>bcB</sup> ±89.667	0.577 <sup>abB</sup> ±89.333	0.577 <sup>abB</sup> ±89.667	T3
0.577 <sup>abA</sup> ±93.667	0.289 <sup>abcB</sup> ±90.167	0.866 <sup>abB</sup> ±90.500	0.577 <sup>abB</sup> ±90.333	T4
0.577 <sup>aA</sup> ±94.667	1.000 <sup>abcB</sup> ±90.000	0.577 <sup>abB</sup> ±89.667	1.000 <sup>abB</sup> ±89.000	T5
0.577 <sup>cdA</sup> ±90.667	1.000 <sup>abcA</sup> ±90.000	1.155 <sup>aA</sup> ±89.333	0.577 <sup>aA</sup> ±90.333	T6
0.577 <sup>abA</sup> ±93.667	0.577 <sup>abB</sup> ±91.667	0.577 <sup>aC</sup> ±89.333	1.155 <sup>abC</sup> ±88.667	T7
0.00 <sup>bcA</sup> ±92.00	1.000 <sup>abAB</sup> ±91.000	1.528 <sup>abcB</sup> ±88.333	0.500 <sup>aC</sup> ±89.500	T8

Results are shown as mean ± Standard deviation

<sup>a-c</sup>. In each column indicate significant differences ( $p \geq 0.05$ )

<sup>A-C</sup>. In each row indicate significant difference ( $p \geq 0.05$ )

تخمیر و pH فرآورده از مهمترین عوامل موثر بر آب‌اندازی می‌باشند [۱۰]. در این تحقیق نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس-گلوتامیناز در مقایسه با نمونه کنترل، دارای درصد آب‌اندازی کمتری بودند و هر چه مقدار استفاده از آنزیم ترانس گلوتامیناز بالاتر بود، میزان آب‌اندازی کمتر شد که از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌دار داشت ( $p \geq 0.05$ ). با توجه به افزایش زمان نگهداری در 4°C، درصد آب‌اندازی نیز کمتر شد که از نظر آماری نیز اختلاف معنی‌دار داشت ( $p \geq 0.05$ ). به نظر می‌رسد که آنزیم ترانس گلوتامیناز قابلیت بهبود ثبات و استحکام، افزایش ویسکوزیته، قابلیت ارتجاعی و باند کردن آب در

### ۳-۲- نتایج تغییرات آب‌اندازی (سینرژیس) ماست‌های کم چرب پروبیوتیک حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان

آب‌اندازی در ژل عبارت است از جدا شدن فاز آبی از فاز پیوسته یعنی شبکه ژل، این پدیده در پنیر سازی مطلوب و در تولید ماست نامطلوب است. درصد چربی، ویژگی‌های ریزسازواری‌های آغازگر، میزان ماده خشک بدون چربی، تولید آگزوپلی ساکاریدها، افزودن فیبرها و پایدارکننده‌ها، دمای

1. Exopolysaccharides

متقابل آنها بر روی تغییرات آب‌اندازی (سینریزس) نمونه‌های ماست کم چرب، معنی‌دار بود ( $p \geq 0.05$ ). با توجه به فاکتور F ratio، اثر نوع نمونه (۲۱۹۰/۳۶) بر روی تغییرات میزان آب‌اندازی نسبت به سایر فاکتورها معنی‌دارتر بود ( $p \geq 0.05$ ).

### ۳-۳- نتایج تغییرات زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست‌های کم چرب پروبیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و بتاگلوکان

قابلیت زیستی و بقاء پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در درجه اول اهمیت دارد و در فرآورده‌های لبنی تخمیری، فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، شرایط کشت، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، مواد مغذی موجود، اکسیژن محلول (بویره برای بیفیدوباکتریوم)، سطح تلقیح، درجه حرارت آن و زمان تخمیر از مهمترین عوامل موثر بر بقاء پروبیوتیک‌ها می‌باشند [۱۰].

بررسی شمارش ریزسازواره‌های پروبیوتیک طی روزهای مختلف نگهداری نشان داد زنده‌مانی ریزسازواره پروبیوتیک در نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در مقایسه با نمونه کنترل، به طور معنی‌داری ( $p \geq 0.05$ ) بالاتر بوده است از آنجاییکه سطح تلقیح اولیه ریزسازواره لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کل نمونه‌ها یکسان بوده است بنابراین می‌توان علت زنده‌مانی بیشتر را به عملکرد مثبت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و افزایش غلظت آن نسبت داد.

در تایید این مطلب موثردزاده و همکاران (۱۳۹۱) دریافتند که با افزایش غلظت آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $p \geq 0.05$ ). این آنزیم با در هم تنیدن پروتئین‌های شیر باعث ایجاد پیوند کوالانسی جدید شده در حالیکه عمدتاً در ماست، ژل با اتصالات عرضی غیرکوالانسی پایدار می‌گردد، بنابراین شبکه پروتئین مقاوم موجب تقویت زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی شده بود [۵]. زنده‌مانی ریزسازواره‌های پروبیوتیک در همه تیمارها پس از بیست و یک روز نگهداری در  $4^{\circ}\text{C}$  نسبت به روز اول به صورت معنی‌داری ( $p \geq 0.05$ ) کاهش داشت ولی روند کاهش در نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز ملایم‌تر بود بطوریکه بالاترین میزان زنده‌مانی در نمونه حاوی ۰/۰۱۸ درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز مشاهده گردید.

محصولات غذایی را دارد [۲۳]. مطالعات گذشته نشان داده است که شیر پیش تیمار شده با آنزیم ترانس‌گلوتامیناز باعث افزایش ویسکوزیته و کاهش سینریزس به صورت معنی‌دار ( $p \geq 0.05$ ) می‌گردد [۲۳، ۲۴، ۲۵] که در تایید نتایج فوق‌سالی و همکاران (۲۰۱۱) دریافتند، طبق نتایج حاصل از میکروسکوپ الکترونی افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز منجر به توزیع بیشتر پروتئین‌ها در شبکه ناشی از اتصالات عرضی میان پروتئین‌ها شد که در کاهش سینریزس نیز موثر بود [۲۵] و همچنین کامولزی گاسپار و گوئز فاوونی (۲۰۱۵) دریافتند که مکانیسم اصلی فعالیت درگیر شدن پروتئین‌ها توسط آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، پلیمریزاسیون می‌باشد که نتیجه آن تغییر در مولکول‌های آب‌گریز پروتئین بود و آن‌ها از این خواص عملکردی آنزیم، اثر حلالیت، ایجاد ژل، امولسیفیکاسیون، ایجاد کف، ویسکوزیته و ظرفیت نگهداری آب را بیان کردند که همه این ویژگی‌ها را وابسته به حلالیت پروتئین دانستند [۲۶]. نمونه‌های حاوی بتاگلوکان، سینریزس بالاتری در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز داشتند که این تفاوت نیز معنی‌دار بود ( $p \geq 0.05$ ) ولی افزایش درصد مورد استفاده بتاگلوکان، تفاوت معنی‌داری در افزایش سینریزس نداشت ( $p > 0.05$ ) در نمونه مخلوط بتاگلوکان و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز، هم‌چنان افزایش سینریزس با تفاوت معنی‌داری، در مقایسه با نمونه‌های کنترل و حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز دیده شد ( $p \geq 0.05$ )، که اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های حاوی بتاگلوکان نداشت. در این زمینه کیلیک و آکپینار<sup>۲</sup> (۲۰۱۳) ماست حاوی درصد‌های مختلف بتاگلوکان را با نمونه کنترل بدون بتاگلوکان مقایسه کردند و دریافتند که در ماست حاوی بتاگلوکان افزایش سینریزس وجود داشت ولی در مقدار درصد پایین این حالت کمتر یا اصلاً مشاهده نشد [۱۶]. به طور کلی تلفیق بتاگلوکان با شیر باعث جدا شدن فاز پروتئین و پلی‌ساکارید می‌شود بنابراین تجمع پروتئین و اسیدسازی نیز با تاخیر انجام می‌شود که منجر به ضعیف شدن ساختار ژل در مقایسه با نمونه شاهد می‌گردد [۱۴].

نتایج آنالیز واریانس تغییرات آب‌اندازی مطابق با جدول ۷ نشان داد که نوع و ترکیبات نمونه‌ها، اثر زمان نگهداری و هم اثر

1. Sanli
2. Camolezi Gaspar and GoesFavoni
3. Hydrophobic
4. Emulsification
5. Kilic and Akpinar

**Table 4** Results of changes in syneresis value (Syneresis, in 100 grams of yogurt) during 21 days of storage in 4°C

Treatments	1	7	14	21
T1 (Control)	52.6±0.344 <sup>bA</sup>	50.68±0.5 <sup>cAB</sup>	49.028±0.924 <sup>cB</sup>	51.36±0.16 <sup>Dc</sup>
T2	48.828± <sup>cA</sup> 1.056	49.972±0.62 <sup>cdAB</sup>	46.292±1.164 <sup>dBC</sup>	47.36±0.384 <sup>cC</sup>
T3	49.36±1.144 <sup>cA</sup>	49.572±0.752 <sup>cdA</sup>	44.012±0.08 <sup>deB</sup>	46.00±0.712 <sup>fB</sup>
T4	46.148±0.64 <sup>dA</sup>	48.332±0.328 <sup>dB</sup>	42.572±0.244 <sup>eC</sup>	43.732±0.428 <sup>gD</sup>
T5	60.092±0.02 <sup>aA</sup>	56.6±1.196 <sup>abB</sup>	56.372±0.44 <sup>abB</sup>	54.892±0.568 <sup>abB</sup>
T6	59.12±0.46 <sup>aA</sup>	55.16±0.672 <sup>bB</sup>	54.532±1.344 <sup>bB</sup>	54.360±0.344 <sup>abB</sup>
T7	58.784±0.492 <sup>aA</sup>	55.92±0.604 <sup>abAB</sup>	57.240±1.152 <sup>abB</sup>	53.532±0.28 <sup>bcC</sup>
T8	59.148±1.128 <sup>aA</sup>	57.652±0.784 <sup>aAB</sup>	56.412±0.14 <sup>abB</sup>	52.292±0.636 <sup>cdC</sup>

Results are shown as mean ± Standard deviation

<sup>a-g</sup> In each column indicate significant differences. ( $p \geq 0.05$ )

<sup>A-D</sup> In each row indicate significant difference ( $p \geq 0.05$ )

همکاران (۲۰۰۲)، نشان دادند که از محصولات بر پایه جو دوسر با منو دی ساکاریدهای<sup>۵</sup> مختلف جهت رشد ریزسازواره‌های مفید دستگاه گوارش انسان (پروبیوتیک‌ها) می‌توان استفاده کرد که باعث زنده‌مانی این ریزسازواره‌ها در محصول طی زمان ماندگاری می‌گردد [۱۷] وال-شراجی<sup>۶</sup> و همکاران (۲۰۱۳)، عنوان کردند که پری‌بیوتیک‌ها زنجیره‌های کوتاه کربوهیدرات غیر قابل هضم توسط آنزیم‌های دستگاه گوارش هستند که به طور انتخابی ریزسازواره‌های مفید دستگاه گوارش را محبوس کرده و باعث فعالیت آنها می‌گردند [۱۳]. در تصدیق مطالب فوق همچنین کیلیک و آپینار (۲۰۱۳)، بدست آوردند که افزودن بتاگلوکان با ۰/۵ تا ۱٪ به‌ماست، گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم را محبوس می‌کند که این حالت تاثیر معنی‌داری در زنده‌مانی ریزسازواره داشت ( $p \geq 0.05$ ) [۱۶]، همچنین لازاریدو<sup>۷</sup> و همکاران (۲۰۱۴)، سازگاری خوب میان لاکتوباسیلوس پاراکازئی<sup>۸</sup> را با استارتر کالچر ماست نشان دادند و بیان کردند که افزودن بتاگلوکان در محصولات تخمیری باعث محبوس شدن ریزسازواره پروبیوتیک در شبکه پروتئینو زنده‌مانی معنی‌دار طی زمان ماندگاری در ۴°C می‌گردد [۱۴].

نمونه T8 که حاوی مخلوط آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان بود در روز اول تولید کمترین شمارش ریزسازواره

در تایید نتیجه فوق میتونیویسز- مالک (۲۰۱۴)، بررسی آنزیم ترانس گلوتامیناز و اینولین در شیر تخمیر شده بز حاوی ریزسازواره پروبیوتیک را تحقیق کردند و آنها کاهش pH شیر تخمیر شده بز را پاسخی برای کم شدن جمعیت ریزسازواره پروبیوتیک دانستند و دریافتند که در این کاهش جمعیت، بیفیدوباکتریوم‌ها نسبت به لاکتوباسیلوس‌ها حساس‌تر هستند [۲۷].

در مقایسه نمونه‌های حاوی بتاگلوکان نسبت به نمونه کنترل مشاهده شد که هرچه درصد مصرف بتاگلوکان بیشتر شد، افزایش معنی‌داری در شمارش ریزسازواره دیده شد ( $p \geq 0.05$ )، به طوری که نمونه حاوی کمترین درصد بتاگلوکان (۰/۰۰۵ درصد)، اختلاف معنی‌داری در شمارش ریزسازواره با نمونه کنترل نداشت ( $p > 0.05$ ) و شمارش ریزسازواره به شکل معنی‌داری با افزایش درصد بتاگلوکان بالا رفت ( $p \geq 0.05$ ). همچنین روزبرگ<sup>۳</sup> (۲۰۱۰)، اظهار داشت که بتاگلوکان یک اثر محافظتی نسبت به استرس ناشی از نگهداری طولانی در سرما را روی گونه‌های بیفیدوباکتریوم داشت [۱۵]. در تایید نتایج حاصل از این تحقیق آقاجانی و همکاران (۱۳۹۰)، بیان کردند که اینولین به عنوان یک پری‌بیوتیک موجب رشد و فعالیت ریزسازواره‌های آغازگر ماست و ریزسازواره پروبیوتیک شد [۱۰]، همچنین مارتنسون<sup>۴</sup> و

5. Mono and Disaccharides  
6. Al-sheraji  
7. Lazaridou  
8. *Lactobacillus paracasei*

1. Mituniewicz-Malek  
2. Bifidobacterium  
3. Rosburg  
4. Martensson



نتایج آنالیز واریانس زنده‌مانی ریزسازواره پروبیوتیک مطابق با جدول ۷ نشان داد که، نوع و ترکیبات نمونه‌ها، اثر زمان نگهداری و هم اثر متقابل آنها بر روی تغییرات زنده‌مانی ریزسازواره لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس نمونه‌های ماست کم-چرب، معنی‌دار بود ( $p \geq 0.05$ ). با توجه به فاکتور F ratio، اثر زمان نگهداری (۶۲/۴۲) بر روی تغییرات میزان زنده‌مانی نسبت به سایر فاکتورها معنی‌دارتر بود ( $p \geq 0.05$ ).

(CFU/ml) را داشت که با نمونه کنترل اختلاف معنی‌داری نداشت ( $p > 0.05$ ) ولی با گذشت زمان شمارش ریزسازواره پروبیوتیک در این نمونه به شکل معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها شد ( $p \geq 0.05$ ) که در بعضی موارد معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ )، ولی شمارش ریزسازواره نمونه T8 در روز بیست و یکم تولید حتی از نمونه کنترل کمتر بود که نشان دهنده تاثیر منفی این دو ماده در زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بود.

**Table 5** Results of viability changes of *Lactobacillus acidophilus* (CFU/ml) during 21 days of storage in 4 °C

21	14	7	1	Treatments
$2.4 \times 10^6 \pm 4.04 \times 10^5$ cdC	$5.6 \times 10^6 \pm 3.2 \times 10^5$ cdB	$7.4 \times 10^6 \pm 6.02 \times 10^5$ bcA	$7.8 \times 10^6 \pm 9.01 \times 10^5$ cdeA	T1 (Control)
$6.5 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$ abC	$9.1 \times 10^6 \pm 3.6 \times 10^5$ bB	$1.1 \times 10^7 \pm 6.8 \times 10^5$ abA	$1.02 \times 10^7 \pm 6.4 \times 10^5$ abAB	T2
$3 \times 10^6 \pm 3.8 \times 10^5$ bcdB	$9.4 \times 10^6 \pm 7.9 \times 10^5$ bA	$7.3 \times 10^6 \pm 5.5 \times 10^5$ bcA	$9.6 \times 10^6 \pm 5.7 \times 10^5$ abcA	T3
$8.6 \times 10^6 \pm 2.8 \times 10^5$ aD	$1.3 \times 10^7 \pm 5.2 \times 10^5$ aB	$1.6 \times 10^7 \pm 1 \times 10^6$ aA	$1.1 \times 10^7 \pm 1.09 \times 10^6$ aC	T4
$2.6 \times 10^6 \pm 3.6 \times 10^5$ bcdC	$5.5 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$ dB	$6.7 \times 10^6 \pm 2.5 \times 10^5$ bcA 10 <sup>5</sup>	$7.4 \times 10^6 \pm 5.1 \times 10^5$ deA	T5
$3.9 \times 10^6 \pm 1 \times 10^5$ bcdC	$4.6 \times 10^6 \pm 2.8 \times 10^5$ dC	$7.5 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$ bcB	$8.8 \times 10^6 \pm 7.3 \times 10^5$ bcdA	T6
$5.6 \times 10^6 \pm 5.2 \times 10^5$ abcC	$6.8 \times 10^6 \pm 6.02 \times 10^5$ cBC	$7.6 \times 10^6 \pm 5.2 \times 10^5$ bcB	$9.6 \times 10^6 \pm 5.7 \times 10^5$ abcA	T7
$5.3 \times 10^5 \pm 2.5 \times 10^5$ Dc	$9 \times 10^5 \pm 1 \times 10^5$ eC	$2.5 \times 10^6 \pm 5 \times 10^5$ cB	$6.5 \times 10^6 \pm 6.4 \times 10^5$ eA	T8

Results are shown as mean  $\pm$  Standard deviation

<sup>a-c</sup>. In each column indicate significant differences ( $p \geq 0.05$ )

<sup>A-D</sup>. In each row indicate significant difference ( $p \geq 0.05$ )

بعد از پاستوریزاسیون، مقدار ویسکوزیته را افزایش و سینریزس را کاهش داد و آنها هیچ اثر نامساعدی را بر خواص حسی محصول نهایی مشاهده نکردند [۲۵]. همچنین جوینده و همکاران (۲۰۱۵)، بالاترین ویسکوزیته را در تحقیق خود به نمونه ماست حاوی ۰/۳٪ آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و پایین‌ترین مقدار ویسکوزیته را به نمونه کنترل اختصاص دادند و آنها دریافتند که مقدار ویسکوزیته این نمونه‌ها در روز اول  $17/49$  Pa.s بود که به  $19/98$  Pa.s بعد از بیست و یک روز نگهداری رسید [۲۹]. مقایسه نمونه‌های حاوی بتاگلوکان با کنترل به ما نشان داد که با بالا رفتن درصد بتاگلوکان امتیاز ظاهر، بافت غیردهانی، بافت دهانی و مطلوبیت نهایی کاهش یافت. در روز بیست و یکم کمترین امتیاز مطلوبیت نهایی را نمونه T7 کسب کرد. نمونه T8، از نظر ظاهر، بافت غیردهانی، بافت دهانی و مطلوبیت نهایی اختلاف معنی‌داری با نمونه‌های حاوی بتاگلوکان نداشت ( $p > 0.05$ ).

### ۳-۴- نتایج تغییرات امتیاز ظاهر، بافت غیر دهانی، طعم، بافت دهانی، مطلوبیت نهایی روز بیست و یکم در ماست‌های کم‌چرب پروبیوتیک حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و بتاگلوکان

رنگ ماست باید یکنواخت و به طور نسبی سفید با سطح درخشان باشد و وجود هر گونه رنگ غیر طبیعی نمایان‌گر فساد است [۲۸]. این بررسی به ما نشان داد که هر چه میزان درصد مورد استفاده آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بالاتر باشد، نمونه امتیازهای بالاتری مربوط به ظاهر، بافت غیردهانی، بافت دهانی و مطلوبیت نهایی طی دوره نگهداری کسب می‌کند. بیشترین امتیاز را در کل تیمارها، نمونه حاوی بالاترین درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (۰/۱۸٪)، تقریباً با تفاوت معنی‌دار از نظر آماری کسب کرد ( $p \geq 0.05$ ). در تصدیق مطالب فوق سائلی و همکاران (۲۰۱۱)، بیان کردند که افزودن آنزیم ترانس‌گلوتامیناز

کمتری در طعم داشتند ( $p \geq 0.05$ ) و نمونه حاوی بالاترین درصد بتاگلوکان (۰/۰۱۵) کمترین امتیاز طعم را با تفاوت معنی دار در بین همه نمونه‌ها داشت ( $p \geq 0.05$ )، در نتیجه با بالا رفتن درصد بتاگلوکان امتیاز طعم کاهش یافت. نمونه مخلوط آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان، از نظر طعم همانند نمونه‌های حاوی بتاگلوکان بود، که اختلاف معنی دار هم نداشت ( $p > 0.05$ )، ولی با نمونه‌های کنترل و دارای آنزیم ترانس گلوتامیناز اختلاف معنی دار از نظر آماری داشت ( $p \geq 0.05$ ).

در بررسی امتیاز طعم بین نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس-گلوتامیناز و کنترل طی زمان نگهداری در  $4^{\circ}\text{C}$ ، نمونه حاوی بیشترین ترانس گلوتامیناز (۰/۰۱۸) دارای بالاترین امتیاز طعم بود ولی هیچ اختلاف معنی داری در این امتیاز میان نمونه‌ها نبود ( $p > 0.05$ )، در بیان تایید مطالب فوق‌سنانلی و همکاران (۲۰۱۱)، اظهار داشتند که آنزیم ترانس گلوتامیناز تاثیری در عطر و طعم نمونه‌های ماست ندارد [۲۵]. نمونه‌های حاوی بتاگلوکان، در مقایسه با نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس گلوتامیناز و کنترل، طی زمان نگهداری در  $4^{\circ}\text{C}$  به شکل معنی دار امتیاز

**Table 6** Results of rating changes appearance, Non-oral tissue, Taste, Oral texture, Marginal utility during 21 days of storage in  $4^{\circ}\text{C}$

Sensory properties					Treatments
Marginal utility	Oral texture	Taste	Non- oral tissue	Appearance	
3.333±0.500 <sup>bc</sup>	3.000±0.707 <sup>cd</sup>	4.778±0.441 <sup>a</sup>	3.000±0.500 <sup>cd</sup>	3.333±0.500 <sup>cd</sup>	T1 (Control)
3.667±0.500 <sup>b</sup>	3.556±0.527 <sup>bc</sup>	4.889±0.333 <sup>a</sup>	3.667±0.500 <sup>bc</sup>	3.667±0.500 <sup>bc</sup>	T2
4.000±0.500 <sup>b</sup>	4.000±0.500 <sup>ab</sup>	4.889±0.333 <sup>a</sup>	4.000±0.500 <sup>b</sup>	4.111±0.333 <sup>b</sup>	T3
5.000±0.000 <sup>a</sup>	4.778±0.441 <sup>a</sup>	5.000±0.000 <sup>a</sup>	4.778±0.441 <sup>a</sup>	5.000±0.000 <sup>a</sup>	T4
3.556±0.527 <sup>bc</sup>	3.667±0.500 <sup>bc</sup>	3.556±0.527 <sup>b</sup>	3.556±0.527 <sup>bc</sup>	3.778±0.441 <sup>bc</sup>	T5
3.556±0.527 <sup>bc</sup>	3.333±0.500 <sup>bcd</sup>	3.556±0.527 <sup>b</sup>	3.444±0.527 <sup>bc</sup>	3.667±0.500 <sup>bc</sup>	T6
2.889±0.333 <sup>c</sup>	2.667±0.707 <sup>d</sup>	3.111±0.333 <sup>b</sup>	2.667±0.500 <sup>d</sup>	2.889±0.333 <sup>d</sup>	T7
3.556±0.527 <sup>bc</sup>	3.444±0.527 <sup>bcd</sup>	3.667±0.500 <sup>b</sup>	3.333±0.500 <sup>bcd</sup>	3.556±0.527 <sup>bc</sup>	T8

Results are shown as mean ± Standard deviation

<sup>a-c</sup>. In each column indicate significant differences ( $p \geq 0.05$ )

**Table 7** Analysis of pH variance, acidity, syneresis and viability of bacteria

Variables		Independent variables		
		Sample Type (B)	storage time (A)	Interaction Effects (A × B)
pH	<i>p</i> value	0.000*	0.000*	0.000*
	F ratio	121.77	179.17	11.15
Acidity (in Dornic)	<i>p</i> value	0.000*	0.000*	0.000*
	F ratio	12.46	88.87	4.48
Syneresis ,in 100 grams of yogurt	<i>p</i> value	0.000*	0.000*	0.000*
	F ratio	2190.36	621.92	53.48
Viability of <i>Lactobacillus acidophilus</i> (CFU/ml)	<i>p</i> value	0.000*	0.000*	0.000*
	F ratio	75.01	62.42	3.49

\* Significant differences ( $p \geq 0.05$ )

- [4] Anonymous., (1387)., Yogu9rt-specifications and test methods., Institute of Standard and Industrial Research of Iran, the Fourth Revision Printing, Standard No. 695.
- [5] Moayedzadeh, S., Khosrowshahi Asl, A and Zomorodi, Sh., (2012)., Effects of transglutaminase treatment on *Lactobacillus casei* viability, physicochemical and sensory properties of nonfat stirred yoghurt., *Food Industry Research*, 22(2): 201-214.
- [6] Mahmood, W, A and, Sebo, N, H., (2012)., Improvement of yogurt properties by microbial transglutaminase, *Journal of Agricultural Sciences*, 8(3): 333-342.
- [7] Tsevdou, M., Christos, S., Cappellin, L., Gasperi, F., Taoukis, P, S and Biasioli, F., (2013)., Monitoring the effect of high pressure and transglutaminase treatment of milk on the evolution of flavor compounds during lactic acid fermentation using PRT-TOF-MS., *Food Chemistry*, 138(4): 2159-2167.
- [8] Anonymous., (1386)., *Lactobacillus acidophilus* products milky counting electorol potential in the medium colony count at 37 ° C., Institute of Standard and Industrial Research of Iran, printing, Standard No. 9616.
- [9] Abghari, A., Sheikh Zeinedin, M., Soleimanian zad, S and Dokhani, Sh., (2008)., Assess the viability of *Lactobacillus acidophilus* in a non-fermented cream., Eighteenth Congress of the Food Industry, 15-16 October, Mashhad, Iran.
- [10] Aghajani, A., R., Pourahmad, R and Mahdavi Adeli, H, R., (2011)., The Effect of prebiotics on probiotic yogurt containing *Lactobacillus casei*., *Food Science and Nutrition*, 4(32): 73-82.
- [11] Rasdhari, M., Parekh, T., Dave, N., Patel, V and Subhash, R., (2008)., Evaluation of various physico-chemical properties of hibiscus sabdariffa and *L. casei* incorporated probiotic yogurt., *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(17): 2101-2108.
- [12] Madhu, A, N., Nanjaiah, A and Prapulla, S, G., (2012)., Characterization and antioxidant property of probiotic and symbiotic yoghurts., *Probiotic and Antimicrobial Proteins*, 4(2): 90-97.
- [13] Al-sheraji, S, H., Ismail, A., Manap, M, Y., Mustafa, S., Yusof, R, M and Hassan, F, A., (2013)., Prebiotics as functional food: A review., *Journal Functional Food*, 5(4): 1542-1553.

## ۴- نتیجه گیری کلی

مطابق با نتایج فوق، آنزیم ترانس گلوتامیناز اثر معنی داری بر کاهش pH نداشته ولی بتاگلوکان تاثیر معنی داری در این کاهش داشته است. با توجه به اینکه آنزیم ترانس گلوتامیناز باعث کاهش سینریزیس در ماست می گردد، این آنزیم در بهبود بافت ماست کم چرب و کاهش آب اندازی می تواند جایگزین چربی گردد، ولی بتاگلوکان باعث افزایش معنی داری در سینریزیس شده، لذا هنگام استفاده در ماست باید به درصد مقدار مصرف آن توجه کرد. در خصوص زنده مانگی، آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان تاثیر مثبتی در افزایش زنده مانگی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشتند. در بین همه تیمارها نمونه حاوی بالاترین درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز زنده مانگی بالاتری از ریزسازواره پروبیوتیک را در روز آخر نشان داد. نمونه مخلوط آنزیم ترانس گلوتامیناز و بتاگلوکان تاثیر منفی در زنده مانگی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس داشتند که این مورد می تواند در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار بگیرد. افزایش درصد آنزیم ترانس گلوتامیناز، خواص حسی ماست کم چرب (ظاهر، بافت غیر دهانی، طعم، بافت دهانی و مطلوبیت نهایی) را بالا برد و افزایش درصد بتاگلوکان امتیاز خواص حسی را کاهش داد. بررسی حاضر نشان داد که می توان از آنزیم ترانس گلوتامیناز با غلظت ۰/۰۱۸ درصد به جهت بهبود خواص کیفی و افزایش بقاء ریز سازواره های پروبیوتیک در ماست کم چرب استفاده کرد.

## ۵- منابع

- [1] Motamedzadegan, A., shahidi, S, A., hosseini parvar, S, H and Ebdali, S., (2015)., Study of type effect of gelatin on functional properties of non-fat yogurt., *Journal of Food Science and Technology*, 12(47): 221-230.
- [2] Fadaei Noghani, V., Mofidi, A and Zarei, M., (2014)., Effect of using microbial transglutaminase as a substitute for part of milk Protein concentrate on the selected physicochemical and sensory properties of spinach yoghurt., *Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 9(3), 93-100.
- [3] Sekhavati zadeh, S and sadeghifar, S, H., (2013)., The impact of guar gum as a fat substitute in some chemical and sensory characteristics of low-fat yogurt., *Training Center of Agriculture*, 5(2): 38-29.0

- African Journal of Agricultural Research, 2(8): 366-3.
- [22] Mahrous, H., El-Kholi, V.M and Elsanhoty, R.M., (2014)., Production of new symbiotic yoghurt whit local probiotic isolate and oat and study its effect on mice., *Advances in Dairy Research*, 2(2): 1-7.
- [23] Kieliszek, M and Misiewicz, A., (2014)., Microbial transglutaminase and its application in the food industry: A review., *Folia Microbiologica*, 59(3): 241-250.
- [24] Farnsworth, J.P., Li, J.,Hendricks, G.M and Guo MR., (2006)., Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt., *Small Ruminant Research*, 65(1-2):113-121.
- [25] Sanli, T., Sezgin, E., Deveci, O., Senel, E and Benil, M., (2011)., Effect of using transglutaminase on physical, chemical and sensory properties of set-type yoghurt., *Food Hydrocolloids*, 25(6): 1477-1481.
- [26] Camolezi Gaspar, A.L and Goes-Favoni, S.P.,(2015)., Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review., *Food Chemistry*, 171: 315-322.
- [27] Mituniewicz-Malek, A., Ziarno, M and Dmytrow, I., (2014)., Short communication: Incorporation of inulin and transglutaminase in fermented goat milk containing probiotic bacteria., *American Dairy Science Association*, 97: 3332-3338.
- [28] Anonymous., (1385)., the determination of acidity of milk and its products and pH-test method., *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, Printing, Standard No. 2852.
- [29] Jooyandeh, H., Mortazavi, S.A., Farhang, P and Samavati, V., (2015), *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 4(11): 59-67.
- [14] Lazaridou, A., Serafeimidou, A., Biliaderis, C., Moschakis, T and Tzanetakis, N., (2014)., Structure development and acidification kinetics in fermented milk containing oat  $\beta$ -glucan, a yogurt culture and a probiotic strain., *Food Hydrocolloids*, 39: 204-214.
- [15] Rosburg, V.A., Boylston, T and White, P., (2010)., Viability of *bifidobacteria* strain in yogurt with added beta-glucan and corn starch during cold storage., *Journal of Food Science*, 75(5):439-444.
- [16] Kilic, G, Band Akpinar, D, (2013)., The effects of levels of beta glucan on yoghurt manufactured with *lactobacillus plantarum* strain as adjunct culture., *Jurnal of Food, Agriculture and Environment*, 11(1): 281-287.
- [17] Martensson, O., Oste, R and Holst, O., (2002)., The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products., *Food Research International*, 35(8):775-784.
- [18] Liutkevicius, A., Speiciene, V., Alencikiene, G., Miezieliene, A., kaminskas, A., Abaravicius, J.A., Vitkus, D and Jablonskiene, V., (2015)., Oat  $\beta$ -glucan in milk products: impact on human health., *Agriculture and Food*, 3: 1314- 8591.
- [19] Anonymous., (1385)., The determination of acidity of milk and its products and pH-test method, *Institute of Standards and Industrial Research of Iran*, Printing, Standard No. 2852.
- [20] Guinee T.P., Feeney, E.P and Fox, P.F., (2001)., Effect of ripening temperature on low moisture mozzarella cheese: 2. Texture and functionality., *Le Lait*, 81(4): 475-485.
- [21] Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M and Shahidi, F., (2007)., Studying microbial, physicochemical and sensory properties of directly concentration probiotic yogurt.,

## Evaluation of the effect of transglutaminase enzyme and beta-glucan on survival of *Lactobacillus acidophilus* and physicochemical and sensory properties of probiotic low-fat yogurt

Mozaffarpour Nuri, A.<sup>1</sup>, Nateghi, L.<sup>2\*</sup>, Meimandipour, A.<sup>3</sup>

1. Master, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3. National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology (NIGEB), Department of animal biotechnology, Tehran, Iran

(Received: 2017/05/18 Accepted: 2018/06/17)

In the last two decades' desire to consume low-fat or fat-free dairy products, due to adverse effects on human health from the consumption of excess fat, has dramatically increased. Therefore, the use of Transglutaminase enzymes to improve the texture of low-fat yogurt is desirable. In order to better survival and growth of probiotic bacteria in yogurt, prebiotic compounds such as beta-glucan can be used. Therefore, the overall aim of this study was to investigate the effect of transglutaminase enzyme and beta-glucan on survival of *Lactobacillus acidophilus* and physicochemical, microbiological and sensory properties of the probiotic low-fat yogurt. For this purpose, different percentage of transglutaminase enzyme (0.01, 0.014, 0.018) and beta-glucan (0.005, 0.01, 0.01) in a single form and combined according to a completely randomized design were added to low-fat yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* microorganisms. Produced samples from the point of view pH value, titratable acidity, syneresis, probiotic bacteria count and organoleptic properties within 21 days of storage in 4 °C, were evaluated. According to the results, the type of sample (transglutaminase and beta-glucan) and storage time every week for 21 days had a significant effect on pH and acidity of the yogurt ( $p \geq 0.05$ ). Increasing the concentration of beta-glucan and the transglutaminase enzyme, significantly increased viability of *Lactobacillus acidophilus* in low-fat yogurt ( $p \geq 0.05$ ). By increasing the concentration of the transglutaminase enzyme, syneresis of tested yogurts significantly decreased and by increasing the concentration of beta-glucan, syneresis significantly increased. The yogurt samples containing the highest percentage of transglutaminase enzyme (0.018), had the best viability of probiotic and sensory properties from the point of view of evaluators. Also in mentioned samples the survival rate of probiotic bacteria was higher than other samples and consequently were selected as superior treatments.

**Keywords:** Beta-glucan, Transglutaminase, *Lactobacillus acidophilus*, Probiotic yogurt.

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: leylanateghi@yahoo.com