مقاله علمی پژوهشی/ نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۳۰ شماره ۳/ سال ۱۳۹۹/ صفحات ۱۸۹تا ۲۰۱

تأثیر تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی ماست سویای سین‌بیوتیک

خدیجه عباباف[۱]، حسین جوینده*[۲] و بهزاد ناصحی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۸/۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۸/۶/۲

[۱] فارغ‌التحصیل کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی
[۲] دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی
[۳] دانشیار گروه مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
*مسئول مکاتبه: Email: hosjooy@asnrukh.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: در سالهای اخیر استفاده از محصولات سویا به‌دلیل آگاهی مصرف‌کنندگان در مورد فواید سویا به‌طور روزافزونی افزایش یافته است. ماست پروبیوتیک سویا به‌دلیل داشتن ترکیبات فراسودمندی همچون میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌های طبیعی (رافینوز، استاکیوز)، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و جزء فرآورده‌های سین‌بیوتیک در نظر گرفته می‌شود. **روش کار**: هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر مقادیر مختلف آنزیم ترانس‌گلوتامیناز میکروبی (۰، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳و ۰/۰۴۵ درصد) و اینولین (۰، ۱ و ۲ درصد) بر ویژگی‌های فیزیکی-شیمیایی و میکروبی ماست سویای سین‌بیوتیک طی مدت ۲۱ روز نگهداری در یخچال بود. در تولید ماست سویای سین‌بیوتیک، از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bb-12 به‌عنوان باکتری‌های پروبیوتیک استفاده گردید. **نتایج**: یافته‌ها نشان داد با افزایش غلظت آنزیم، مقدار اسیدیته و سینرزیس کاهش و میزان pH به‌طور معنی‌داری ($p<0/001$) افزایش یافت؛ درحالی‌که تأثیر معنی‌داری بر ماده خشک مشاهده نشد. همچنین افزایش غلظت اینولین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش اسیدیته، ماده خشک و کاهش pH و سینرزیس نمونه‌های ماست گردید ($p<0/001$). با گذشت زمان نگهداری، مقدار pH و سینرزیس به‌طور معنی‌داری کاهش و میزان اسیدیته تا روز چهاردهم افزایش و پس از آن کاهش یافت ($p<0/001$). این درحالی است که تغییر معنی‌داری در میزان ماده خشک مشاهده نشد. همچنین به‌طور کلی با افزایش غلظت آنزیم و زمان نگهداری، تعداد شمارش کلی پروبیوتیک‌ها کاهش و با افزایش غلظت اینولین تعداد آن‌ها افزایش یافت ($p<0/01$). درهرحال، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در تمامی نمونه‌های ماست سویای سین‌بیوتیک طی مدت ۲۱ روز نگهداری بالاتر از 10^7 cfu/g تعیین گردید. **نتیجه‌گیری نهایی**: نتایج این تحقیق نشان داد که با بکارگیری مقدار ۰/۰۱۵ درصد آنزیم ترانس‌گلوتامیناز و ۲ درصد اینولین می‌توان ماست سویای پروبیوتیکی با کیفیت مناسب و تعداد بالای باکتری پروبیوتیک تولید نمود.

واژگان کلیدی: ترانس‌گلوتامیناز، ماست سویا، اینولین، پروبیوتیک، فراسودمند

مقدمه

کلمه پروبیوتیک از واژه‌ی یونانی پروبیوس[1] به معنای برای زندگی آمده است که متضاد واژه آنتی‌بیوتیک به معنای علیه زندگی است. اکثر باکتری‌های پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم‌ها* هستند. از خواص پروبیوتیک‌ها می‌توان به جلوگیری از اسهال، یبوست، بیماری‌های التهابی روده، کمک به هضم لاکتوز و تقویت سیستم ایمنی بدن اشاره کرد (لولا و همکاران ۲۰۱۳). یکی از مهمترین چالش‌های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبیوتیک، پایین بودن قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک به‌دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار موجود در محصولات غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی است (رضایی و همکاران ۱۳۹۲). زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را می‌توان با کاربرد کربوهیدرات‌های پری‌بیوتیک[2] در مواد غذایی افزایش داد (کاپلا و همکاران ۲۰۰۶). پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات تخمیر پذیر غیرقابل هضمی هستند که توانایی تحریک رشد و فعالیت فلور میکروبی دستگاه گوارش را داشته و بنابراین سلامت میزبان و موجود زنده را بهبود می‌بخشند (گیبسون و روبرفروید ۱۹۹۵). از عمده‌ترین پری‌بیوتیک‌ها می‌توان به الیگوفروکتوزها، گالاکتوالیگوساکارید، اینولین، لاکتولوز و الیگوساکارید-های شیر اشاره کرد (گورنر و همکاران ۲۰۱۲). به ماده غذایی که حاوی هر دو عامل پروبیوتیک و پری‌بیوتیک به‌صورت همزمان باشد سین‌بیوتیک گفته می‌شود (گوون و همکاران ۲۰۰۵). فرآورده‌های لبنی به‌ویژه ماست پروبیوتیک، رایج‌ترین مواد غذایی هستند که به‌عنوان محصولات پروبیوتیک مصرف می‌شوند. از سوی دیگر تولید ماست و محصولات مشابه همواره با مشکلاتی نظیر عیوب در بافت، ساختار و سینرزیس[3] همراه بوده است. ساختار پروتئین‌ها را می‌توان با استفاده از روش‌های فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی بهبود بخشید. روش آنزیمی، به‌دلیل عملکرد بالا و کاهش تولید ترکیبات سمی در مقایسه با سایر روش‌ها ترجیح داده می‌شود (جوینده و همکاران ۲۰۱۵). آنزیم ترانس‌گلوتامیناز می‌تواند با برقراری پیوندهای کووالانسی بین گلوتامین و لیزین در سیستم‌های پروتئینی، ژلی با ساختاری متفاوت و مطلوب ایجاد نماید (اسکورچ و همکاران ۲۰۰۰). پژوهش‌های متعددی در ارتباط با کاربرد پری‌بیوتیک‌ها و آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (TG) در فرآورده‌های غذایی انجام شده است. از آن جمله می‌توان به پژوهش رضایی و همکاران (۱۳۹۲) اشاره نمود که ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی، رفتار جریانی و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را در ماست منجمد تیمار شده با اینولین مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه از اینولین در غلظت‌های ۰، ۱و ۲ درصد استفاده شد. نتایج آنان نشان داد که نمونه‌های تیمار شده با ۲ درصد اینولین دارای بالاترین کیفیت حسی بودند. از سوی دیگر، در این غلظت تأثیر معنی‌داری بر pH و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها مشاهده شد. جوینده و همکاران (۱۳۹۴) تأثیر تیمار آنزیمی سرد TG شیر بر ویژگی‌های بافت ماست را بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد تیمار آنزیمی شیر و همچنین افزایش زمان نگهداری سبب بهبود ویژگی‌های بافتی، افزایش ویسکوزیته و کاهش آب‌اندازی ماست شد. بوئینی و پوراحمد (۲۰۱۲) تأثیر غلظت اینولین بر خواص فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی ماست پروبیوتیک تهیه شده از کشت مخلوط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی*[4] را بررسی کردند. نتایج نشان داد که در طی دوره نگهداری، pH و شمارش پروبیوتیک‌ها کاهش و ویسکوزیته افزایش پیدا کرد. در مطالعه‌ای دیگر نیکبخت و همکاران (۱۳۹۶) در بهینه‌یابی فرآیند تولید داهی سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، کتیرا و اینولین به روش سطح پاسخ دریافتند، افزایش در غلظت اینولین و زمان نگهداری باعث کاهش آب‌اندازی محصول شد. همچنین افزایش غلظت کتیرا و اینولین بر شمارش پروبیوتیکی محصول تأثیر مثبت و مدت زمان نگهداری تأثیر منفی در این زمینه داشت. همچنین آریانا و مک‌گرو (۲۰۰۷) در ماست و آکین و همکاران (۲۰۰۷) در بستنی، بر اثر مثبت اینولین بر باکتری‌های پروبیوتیک تاکید کرده‌اند. تاکنون تحقیقات محدودی در زمینه تولید ماست سویای سین‌بیوتیک انجام پذیرفته است اما هیچ تحقیقی تأثیر همزمان بکارگیری تیمار

1- Probios
2- Prebiotic
3- Syneresis
4- *Lactobacillus Casei*

آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز میکروبی، باکتری‌های پروبیوتیک و اینولین را بر ویژگی‌های ماست سویا بررسی ننموده است. بنابراین، این تحقیق جهت بررسی تأثیر بکارگیری تیمار آنزیمی ترانس‌گلوتامیناز بر خواص فیزیکی‌شیمیایی و میکروبی ماست سویای سین‌بیوتیک به‌عنوان یک فرآورده‌ی غذایی فراسودمند و با ارزش تغذیه‌ای بالا انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده

در این پژوهش شیر سویا فرادما (شرکت ماندارسوی ایران، کرج)، آنزیم ترانس‌گلوتامیناز (شرکت بی دی اف اینگریدینت نچرال، اسپانیا)[1]، اینولین زنجیره بلند با توانایی حرارتی بالا (شرکت بنو اورافتی، آلمان)، پودر استارتر یا آغازگر ماست پروبیوتیک از نوع DVS با نام تجاری ABY-10 (حاوی باکتری‌های آغازگر ماست *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*[2] و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*[3] و باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*[4] Bb-12) از نمایندگی کریستین هانسن دانمارک در ایران خریداری شد.

آماده سازی ماست سویا

جهت تولید ماست سویا، اینولین در سه سطح (۰، ۱ و ۲ درصد) به شیر سویا اضافه گردید. پس از آن، فرآیند حرارتی شیر در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. به دنبال آن دمای شیر به دمای تلقیح (۴۵ درجه سانتی‌گراد) کاهش داده شد و پس از افزودن آنزیم (در مقادیر ۰، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۴۵ درصد)، مقدار ۰/۱ درصد از پودر DVS حاوی مخلوط باکتری‌های آغازگر ماست و پروبیوتیک به آن افزوده گردید. پس از پر کردن شیر سویای مایه‌زده شده در ظروف پلی‌اتیلنی، نمونه‌ها جهت تخمیر و تا رسیدن pH ماست سویا برابر با ۴/۶–۴/۵ در داخل انکوباتور (Binder، انگلستان) در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و در همان دما تا انجام کلیه آزمون‌ها طی مدت زمان ۲۱ روز نگهداری ذخیره شدند (فارن‌ورس و همکاران ۲۰۰۶).

آزمایش‌های فیزیکی‌شیمیایی

تعیین pH و اسیدیته

اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتال (827، Metrohm، سوئیس) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد مطابق با روش استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۵۲ انجام شد. اسیدیته قابل تیتر (بر حسب اسید لاکتیک) و ماده خشک کل با استفاده از روش‌های رسمی AOAC (۲۰۰۲) اندازه‌گیری شدند.

اندازه‌گیری آب‌اندازی (سینرزیس)

در این روش حدود ۳۰ گرم از نمونه درون فالکون ۵۰ میلی لیتر مطابق روش فارن‌ورس و همکاران (۲۰۰۶) توزین شد و سپس لوله‌ها در سانتریفوژ GMBH (مدل Z206A) ساخت کشور آلمان با دور ۲۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. پس از سانتریفوژ کردن سرم آزاد شده در بالای لوله آزمایش به درون یک بشر ریخته شد و وزن آن اندازه‌گیری شد و از تقسیم میزان آب آزاد شده به میزان ماست اولیه میزان آب‌اندازی به‌صورت درصد و مطابق رابطه (۱) محاسبه گردید.

رابطهٔ (۱):

$$\text{درصد سینرزیس} = \frac{\text{وزن سرم جدا شده}}{\text{وزن اولیه نمونه}} \times ۱۰۰$$

آزمون میکروبی

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک با استفاده از محیط کشت MRS آگار (میرمیدیا، ایران) حاوی نمک صفرا مطابق با روش مرتضویان و همکاران (۲۰۰۶) انجام پذیرفت. پلیت‌ها در شرایط هوازی و بی‌هوازی در دمای ۳۷°C به‌مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. شرایط بی‌هوازی با استفاده از جار بی‌هوازی ایجاد شد. جهت رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از شرایط هوازی و برای رشد مطلوب *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از شرایط بی‌هوازی استفاده گردید.

1- BDF Ingredients Natural, Spain
2- *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
3- *Streptococcus thermophilus*
4- *Bifidobacterium lactis*

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق با توجه به مقادیر مختلف درصد اینولین (در ۳ سطح ۰، ۱ و ۲درصد) و درصد آنزیم (در ۴ سطح ۰، ۰/۰۱۵، ۰/۰۳ و ۰/۰۴۵ درصد) تعداد ۱۲ تیمار ماست سین‌بیوتیک سویا تهیه و در سه تکرار تولید شد. نمونه ماست تهیه شده از شیر سویا (فاقد آنزیم و اینولین) به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. به‌منظور بررسی اثر زمان نگهداری بر نمونه‌های ماست کلیه آزمون‌ها در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تولید انجام گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج به روش فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملا تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ انجام شد. میانگین تیمارها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد مقایسه قرار گرفت. نمودارها با بهره‌گیری از نرم‌افزار Excel ترسیم و گزارش شد.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته

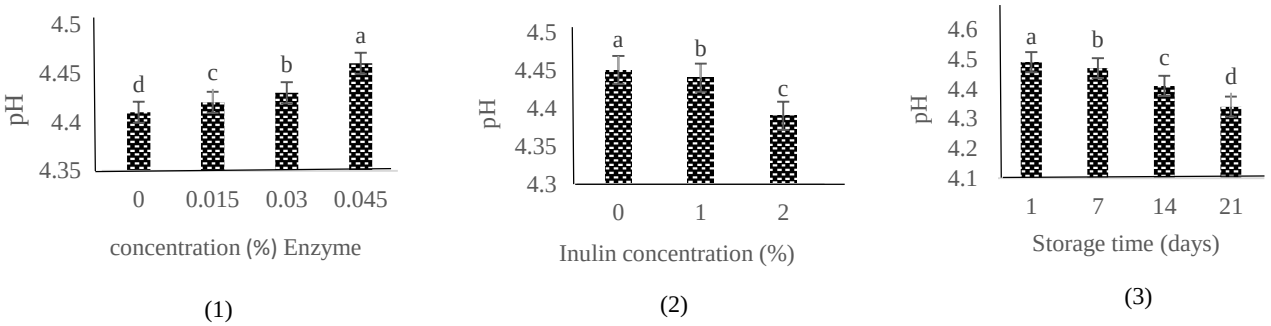
ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی شیر سویای مورد استفاده در تولید ماست سویای سین‌بیوتیک در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- مشخصات ترکیبات شیر سویای مورد استفاده در تولید ماست سویا
Table 1- Chemical composition of soy milk used in soy yogurt production

Soy milk	Energy (Kcal/100^{CC})	Carbohydrate (%)	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	Total solid (%)	pH	Acidity (°D)
Composition	49.89	5.75	0.7	2.7	1.6	10.24	6.8	10.16

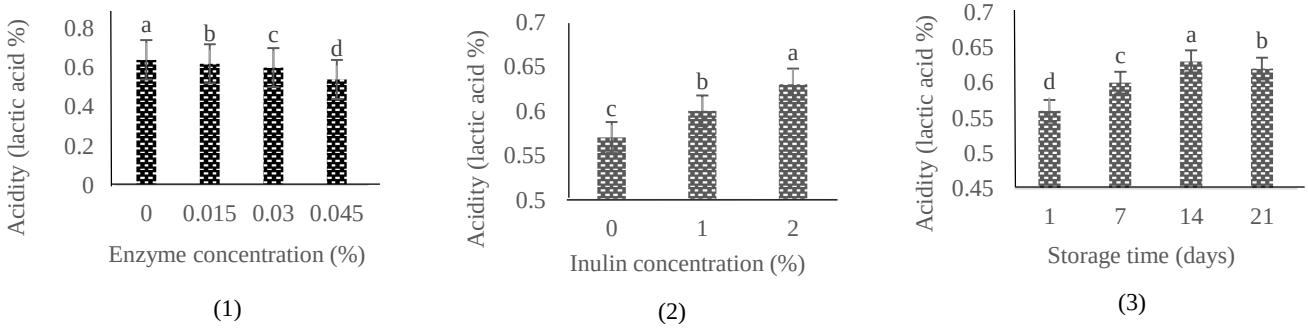
نتایج آنالیز آماری ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی نمونه‌های ماست سین‌بیوتیک سویا نشان داد که تمامی متغیرهای مورد مطالعه (غلظت آنزیم TG، اینولین و زمان نگهداری) و همچنین کلیه اثرات متقابل آن‌ها بر مقادیر pH و اسیدیته معنی‌دار بود ($P<۰/۰۰۱$). با افزایش غلظت آنزیم، pH و اسیدیته نمونه‌های ماست به‌ترتیب به‌طور معنی‌داری افزایش و کاهش یافتند (شکل‌های ۱ و ۲، نمودارهای الف). از سوی دیگر، با افزایش غلظت اینولین، مقدار pH به‌طور معنی‌داری کاهش (شکل ۱، ب) و مقدار اسیدیته به‌طور معنی‌داری افزایش (شکل۲، ب) یافت. بررسی زمان نگهداری نشان داد که با گذشت زمان نگهداری به‌ویژه تا روز چهاردهم، مقدار pH به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل ۱، ج). همچنین مقدار اسیدیته از روز یکم تا چهاردهم به‌شکل معنی‌داری افزایش و پس از آن تا انتهای دوره نگهداری به مقدار جزیی کاهش یافت (شکل ۲، ج). بررسی اثر متقابل آنزیم و زمان نگهداری نشان داد که که بیشترین کاهش pH برای نمونه شاهد در روز بیست و یکم و کمترین کاهش آن برای تیمار حاوی ۰/۰۴۵ درصد آنزیم در روز اول نگهداری بدست آمد. نمونه‌های حاوی آنزیم به‌دلیل فعالیت TG در برقراری اتصالات عرضی و به‌دام انداختن پپتیدهای مورد نیاز برای رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها، کاهش pH کمتری را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. همچنین علت احتمالی کاهش pH در طول دوره نگهداری، می‌تواند مربوط به فعالیت متابولیکی باکتری‌های استارتر باشد. از سوی دیگر، اسیدیته نیز با گذشت زمان نگهداری تا روز چهاردهم افزایش و پس از آن به مقدار جزیی کاهش یافت. بیشترین مقدار اسیدیته برای تیمار شاهد در روز چهاردهم و کمترین آن برای تیمار ۰/۰۴۵ درصد آنزیم در روز اول نگهداری بدست آمد. دلیل کاهش جزیی اسیدیته در مراحل پایانی دوره نگهداری تولید بعضی متابولیت‌های اساسی توسط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* است (تینسون و همکاران ۱۹۸۲ و رامچندران و شاه ۲۰۱۰). همچنین جی (۱۹۹۰) گزارش کرده است که میکروارگانیسم‌ها با اتمام منابع قندی در انتهای دوره نگهداری، پروتئین‌ها و اسیدهای آلی موجود در محیط را مصرف کرده و این باعث کاهش اسیدیته محصول می‌گردد. بررسی اثر متقابل غلظت اینولین و زمان نگهداری نشان داد، با افزایش غلظت اینولین طی زمان

نگهداری مقدار pH و اسیدیته نمونه‌های ماست به‌ترتیب کاهش و افزایش یافتند. اگرچه مقدار اسیدیته برای تیمار شاهد تا روز چهاردهم افزایش و پس از آن کاهش یافت. مطابق نتایج بدست آمده در این تحقیق (رینالدونی و همکاران ۲۰۱۲) نشان دادند که دو متغیر اینولین (غلظت‌های ۲، ۳، ۵ و ۷ درصد) و مدت زمان نگهداری (مدت ۲۱ روز) اثر متقابل معنی‌داری بر pH و اسیدیته ماست سویا دارند. در پژوهش مذکور، بیشترین اسیدیته و کمترین pH مربوط به نمونه ۵ درصد اینولین در روز بیست و یکم نگهداری گزارش گردید. در بررسی اثر متقابل غلظت آنزیم و اینولین دریافتیم، بیشترین pH و کمترین اسیدیته برای تیمار ۰/۰۴۵ درصد آنزیم TG و اینولین صفر درصد و کمترین pH و بیشترین اسیدیته برای تیمار ۲ درصد اینولین و آنزیم صفر درصد بدست آمد. بررسی اثرات متقابل هر سه متغیر آنزیم، اینولین و زمان نگهداری در جدول ۲ آورده شده است، مطابق جدول ۲، بیشترین pH برای تیمار حاوی ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و فاقد اینولین در روز اول نگهداری بدست آمد که تفاوت معنی‌داری با نمونه حاوی ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و اینولین ۱ درصد در روز اول نداشت. همچنین کمترین آن در روز بیست و یکم برای تیمار ۲ درصد اینولین و آنزیم صفر درصد مشاهده شد، که با نمونه حاوی ۰/۰۱۵ درصد آنزیم و اینولین ۲ درصد در همان روز تفاوت معنی‌داری نداشت. از طرفی کمترین اسیدیته در روز اول نگهداری برای تیمار ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و اینولین ۱ درصد بدست آمد که با تیمار ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و اینولین صفر درصد در روز یکم تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین اسیدیته با مقدار ۰/۷۱ درصد اسید لاکتیک نیز برای تیمار فاقد آنزیم و اینولین ۲ درصد در روز بیست و یکم نگهداری بدست آمد.



شکل ۱- **تأثیر افزودن آنزیم، اینولین و زمان نگهداری بر pH نمونه‌های ماست سویای پروبیوتیک**

Figure 1- Linear effect of addition of enzyme, inulin, and storage time on pH of soy probiotic yogurts



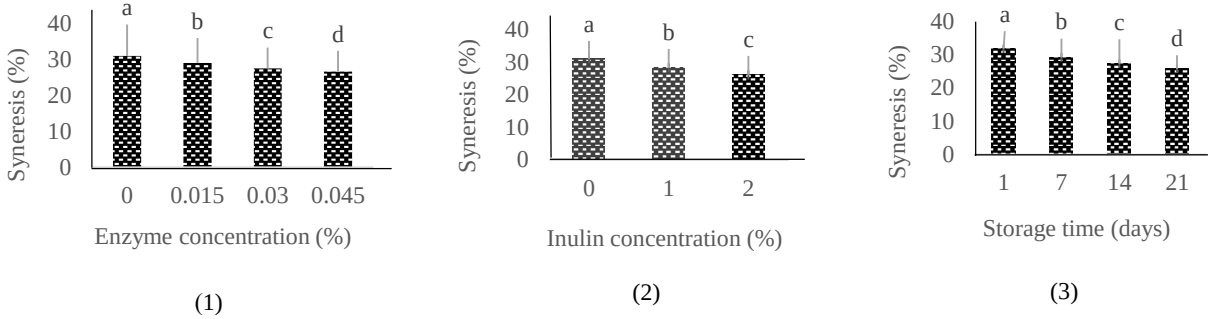
شکل ۲- تأثیر افزودن آنزیم، اینولین و زمان نگهداری بر مقادیر اسیدیته نمونه‌های ماست سویای پروبیوتیک

Figure 2- Linear effect of enzyme, inulin, and storage time on acidity of yogurts of soy probiotic yogurts

سینرزیس

آب‌اندازی در ژل، عبارت است از جدا شدن فاز آبی از فاز پیوسته. این پدیده در پنیر سازی

مطلوب و در تولید ماست نامطلوب است. درصد چربی، ویژگی‌های باکتری‌های آغازگر، میزان ماده خشک بدون چربی، تولید اگزو پلی ساکاریدها، افزودن فیبرها و پایدار کننده‌ها، دمای تخمیر و pH فرآورده از مهمترین عوامل موثر بر آب‌اندازی ماست می‌باشد. از راه‌های حذف و یا کاهش سینرزیس در محصولات لبنی می‌توان به‌غنی سازی ماده خشک و افزودن هیدروکلوئیدها اشاره کرد (یدملت و همکاران ۱۳۹۶ و جوینده و همکاران ۱۳۹۸). اما استفاده بیش از اندازه این پایدار کننده‌ها می‌تواند با ایجاد طعم غیرطبیعی و سفت شدن بیش از حد بافت، اثر منفی بر ویژگی‌های حسی ماست داشته باشد (لوسی ۲۰۰۴). مطابق نتایج، اثرخطی هر سه فاکتور آنزیم TG، اینولین و زمان نگهداری ($p<۰/۰۰۱$) همچنین اثر متقابل اینولین و زمان نگهداری ($p<۰/۰۱$)، اثر متقابل آنزیم و اینولین و اثر متقابل سه تایی آنزیم، اینولین و زمان نگهداری($p<۰/۰۰۱$) بر مقادیر سینرزیس نمونه‌های ماست معنی‌دار بود. همان‌طور که در شکل ۳، نمودارهای ۱، ۲ و ۳ مشاهده می شود، با افزایش هر سه متغیر مستقل آنزیم، اینولین و زمان نگهداری میزان سینرزیس نمونه‌های ماست به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در بررسی اثر متقابل اینولین و زمان نگهداری دریافتیم، با افزایش غلظت اینولین طی زمان نگهداری، میزان سینرزیس نمونه‌های حاوی اینولین نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. بیشترین میزان سینرزیس در روز اول نگهداری برای تیمار شاهد و کمترین آن در روز بیست و یکم برای تیمار ۲ درصد اینولین مشاهده شد. در طی تخمیر با توجه به افت سریع pH، شبکه پروتئینی به صورت نامنظم و غیریکنواخت تشکیل می شود، در نتیجه پیوندهای آب‌گریز پروتئین‌های سویا در سطح شبکه ژلی قرار گرفته و در نهایت موجب افزایش آب‌اندازی در پایان تخمیر می‌گردد. این در حالی است که، طی دوره نگهداری با گذشت زمان، فرصت کافی برای بازآرایی شبکه ژلی ماست و افزایش ظرفیت نگهداری آب وجود خواهد داشت. همین مساله می‌تواند یکی از دلایل کاهش آب‌اندازی ماست در طول دوره نگهداری باشد (ویولتا و همکاران ۲۰۱۰)، در موافقت با نتایج این پژوهش (رینالدونی و همکاران ۲۰۱۲) نشان دادند با افزایش غلظت اینولین و گذشت زمان نگهداری، میزان سینرزیس نمونه‌های ماست کاهش یافت که دلیل آن را خاصیت جذب آب اینولین بیان کردند. همچنین با توجه به قابلیت ظرفیت نگهداری آب اینولین، مقداری از آب سرم ماست جذب آن می‌گردد (آریانا و مک گرو ۲۰۰۷). اثر متقابل آنزیم و اینولین طی زمان نگهداری نشان داد، با افزایش غلظت آنزیم و اینولین، میزان سینرزیس به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت. بیشترین سینرزیس برای نمونه شاهد و کمترین آن برای تیمار حاوی ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و اینولین ۲ درصد مشاهده شد. با فعالیت آنزیم TG، شبکه پروتئینی با منافذ کوچکتری تشکیل می‌گردد، در نتیجه نفوذ پذیری شبکه پروتئینی کاهش یافته و می‌تواند آب آزاد بیشتری درون خود نگه دارد (مون و هانگ ۲۰۰۳). علاوه بر آن TG می‌تواند ظرفیت نگهداری آب درون شبکه ژلی ماست را بهبود بخشد (موتوکی و سگورو ۱۹۹۸). بررسی اثرات متقابل هر سه متغیر آنزیم TG، اینولین و زمان نگهداری در جدول ۲ نشان داد، تیمار شاهد در روز اول بیشترین میزان سینرزیس را به‌خود اختصاص داد. همچنین کمترین آن در روز بیست و یکم برای تیمار ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و اینولین ۲ درصد بدست آمد، که با نمونه حاوی ۰/۰۳ درصد آنزیم و ۲ درصد اینولین در روز بیست و یکم تفاوت معنی‌داری نداشت.



شکل ۳- تأثیر افزودن آنزیم، اینولین و زمان نگهداری بر مقادیر سینرزیس نمونه‌های ماست سویای پروبیوتیک
Figure 3- Linear effect of enzyme, inulin, and storage time on syneresis of soy probiotic yogurts

ماده خشک

مطابق نتایج آنالیز آماری اثر خطی آنزیم، زمان نگهداری و کلیه اثرات متقابل بر مقادیر ماده خشک نمونه‌های ماست سویا غیرمعنی‌دار شدند ($p>۰/۰۵$). این در حالی است که اینولین اثر معنی‌داری بر این فاکتور داشت ($p<۰/۰۵$). با افزایش غلظت اینولین میزان ماده خشک نمونه‌های حاوی اینولین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. بیشترین ماده خشک برای نمونه اینولین ۲ درصد و کمترین آن برای نمونه شاهد بدست آمد. نتایج رینالدونی و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد افزایش غلظت اینولین باعث افزایش ماده خشک ماست می‌گردد و اینولین تأثیری بر میزان چربی و پروتئین نمونه‌ها نداشت. نتایج این پژوهش با نتایج عظیمی محله و همکاران (۱۳۹۱) نیز مطابقت داشت.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

آنالیز آماری داده‌ها نشان داد، اثر خطی آنزیم TG بر مقادیر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* ($p<۰/۰۱$) و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار بود، همچنین اثر خطی هر دو متغیر غلظت اینولین ($p<۰/۰۱$) و زمان نگهداری ($p<۰/۰۵$) بر مقادیر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* معنی‌دار بودند، درحالی که تأثیر معنی‌داری بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نداشتند. مطابق شکل۴، با افزایش غلظت آنزیم، میزان زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* کاهش یافت. این کاهش برای غلظت‌های ۰/۰۳ و ۰/۰۴۵ درصد نسبت به نمونه شاهد معنی‌دار بود. بیشترین زنده‌مانی برای نمونه شاهد (۸/۱۷ log cfu/g) و کمترین آن برای نمونه حاوی بالاترین سطح آنزیم (۷/۸۱ log cfu/g) بدست آمد. سطح بسیار شدید اتصالات عرضی در اثر افزودن آنزیم TG می‌تواند پپتیدهای با وزن مولکولی پایین را از دسترس باکتری‌ها خارج کند و در نتیجه سبب کاهش رشد آن‌ها گردد (فیرگیمند و اویست ۱۹۹۷). به‌عبارتی، اگر چه با افزایش غلظت آنزیم میزان *بیفیدوباکتریوم‌ها* کاهش یافت، اما در نهایت تعداد باقی مانده آن‌ها در نمونه حاوی بالاترین سطح آنزیم در سطح قابل قبولی و بالاتر از حد استاندارد بود. برای بروز ویژگی‌های سلامتی بخش پروبیوتیک‌ها، باید تعداد $۱۰^{۶}$–$۱۰^{۷}$ log cfu/g باکتری پروبیوتیک در هر گرم از محصول پروبیوتیک وجود داشته باشد (یو و همکاران ۲۰۰۴).

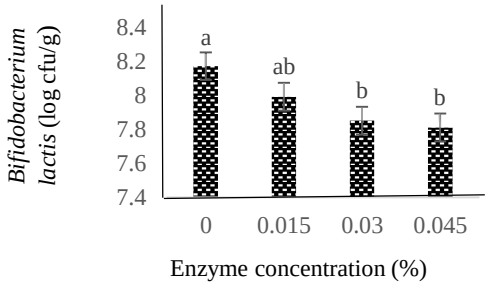
از سوی دیگر مطابق شکل ۵ با افزایش غلظت آنزیم، بر خلاف *بیفیدوباکتریوم‌ها* میزان زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌داری یافت ولی در نهایت مقدار آن‌ها کمتر از حد استاندارد بود.

جدول ۲- بررسی اثرات متقابل آنزیم، اینولین و زمان نگهداری بر مقادیر pH، اسیدیته و سینرزیس نمونه‌های ماست سویای پروبیوتیک

Table 2- Interaction effect of enzyme, inulin and storage time on physicochemical properties of the soy probiotic yogurts

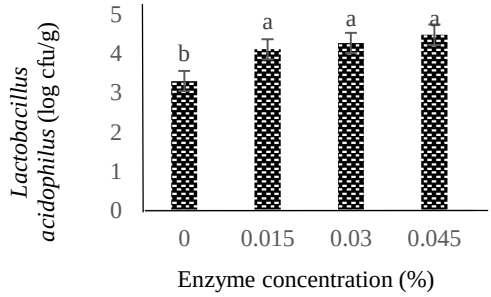
Parameter	Inulin (%)	Day	Enzyme (%)			
			0	0.015	0.03	0.045
pH	0	1	4.490±0.000^{cd}	4.490±0.005^{cd}	4.500±0.005^{bc}	4.530±0.000^{a}
		7	4.460±0.005^{hij}	4.470±0.000^{fghi}	4.480±0.005^{def}	4.510±0.005^{b}
		14	4.420±0.005^{l}	4.440±0.005^{k}	4.450±0.005^{ijk}	4.500±0.005^{bc}
		21	4.350±0.005^{q}	4.370±0.010^{p}	4.390±0.005^{n}	4.430±0.017^{l}
	1	1	4.48±0.000^{defg}	4.480±0.005^{de}	4.490±0.000^{cd}	4.520±0.005^{a}
		7	4.450±0.005^{jk}	4.460±0.000^{hij}	4.460±0.005^{ghij}	4.490±0.011^{cd}
		14	4.400±0.011^{m}	4.420±0.005^{k}	4.440±0.005^{k}	4.480±0.010^{defg}
		21	4.330±0.010^{r}	4.350±0.005^{q}	4.370±0.010^{p}	4.380±0.020^{o}
	2	1	4.460±0.000^{hij}	4.470±0.000^{fghi}	4.470±0.011^{efgh}	4.500±0.005^{bc}
		7	4.440±0.005^{k}	4.450±0.005^{ijk}	4.460±0.005^{hij}	4.470±0.005^{efgh}
		14	4.350±0.005^{q}	4.350±0.005^{q}	4.350±0.005^{q}	4.360±0.005^{pq}
		21	4.270±0.011^{t}	4.280±0.005^{t}	4.300±0.000^{s}	4.330±0.010^{r}
Acidity (%lactic acid)	0	1	0.600±0.000^{nop}	0.590±0.005^{opq}	0.510±0.005^{wx}	0.500±0.005^{xy}
		7	0.620±0.000^{lm}	0.610±0.005^{lmn}	0.590±0.023^{opq}	0.520±0.005^{vw}
		14	0.650±0.000^{ghij}	0.640±0.005^{ijk}	0.620±0.020^{lm}	0.540±0.005^{uv}
		21	0.620±0.005^{klm}	0.550±0.000^{tu}	0.530±0.000^{vw}	0.520±0.000^{wx}
	1	1	0.600±0.005^{mno}	0.570±0.034^{rs}	0.520±0.020^{vw}	0.490±0.015^{y}
		7	0.630±0.026^{jkl}	0.620±0.015^{klm}	0.620±0.010^{lm}	0.520±0.005^{vw}
		14	0.660±0.000^{defghi}	0.650±0.005^{efghi}	0.650±0.005^{fghi}	0.550±0.005^{stu}
		21	0.680±0.005^{bc}	0.670±0.005^{bcde}	0.670±0.000^{bcdefg}	0.570±0.005^{vw}
	2	1	0.650±0.000^{ghij}	0.590±0.023^{opq}	0.560±0.005^{rst}	0.520±0.005^{de}
		7	0.670±0.000^{bcdefg}	0.65±0.010^{ghij}	0.640±0.005^{hij}	0.550±0.005^{stu}
		14	0.690±0.000^{b}	0.670±0.005^{bcdef}	0.660±0.005^{cdefgh}	0.580±0.010^{pqr}
		21	0.710±0.017^{a}	0.690±0.010^{b}	0.680±0.000^{bcd}	0.590±0.005^{opq}
Syneresis (%)	0	1	38.280±0.440^{a}	33.160±0.057^{cd}	32.180±0.230^{defg}	31.440±0.160^{fgh}
		7	35.960±0.530^{b}	31.800±0.190^{efgh}	30.960±0.460^{ghi}	30.550±0.060^{hij}
		14	32.630±2.400^{cdef}	30.440±0.190^{hij}	29.180±0.150^{jklm}	28.220±0.830^{lmno}
		21	30.450±1.390^{hij}	29.010±0.011^{klm}	27.340±1.410^{opq}	25.820±0.680^{rst}
	1	1	33.560±0.740^{c}	33.060±1.010^{cde}	30.840±0.000^{ghi}	29.180±0.280^{jklm}
		7	31.010±0.980^{ghi}	29.960±1.900^{ijk}	27.260±0.260^{opq}	26.100±0.100^{qrst}
		14	29.600±0.300^{ijkl}	27.450±0.250^{nopq}	26.340±0.030^{pqrs}	25.470±0.300^{stu}
		21	28.700±0.075^{klmn}	25.190±0.017^{stuvw}	24.830±0.150^{tuvw}	23.890±0.040^{wx}
	2	1	31.520±1.290^{fgh}	31.500±1.680^{fgh}	28.140±0.560^{mno}	27.620±0.280^{nop}
		7	27.810±0.350^{mno}	26.990±1.280^{opqr}	26.340±0.030^{pqrs}	25.310±0.030^{stuv}
		14	26.120±0.110^{qrst}	25.170±0.160^{stuvw}	24.020±0.970^{vwx}	23.360±1.010^{xy}
		21	25.590±0.190^{rstu}	24.380±0.065^{uvwx}	22.500±0.100^{yz}	21.910±0.280^{z}

Different letters in each attribute indicate a significant difference in the level of 5% ($p < 0.05$) (Mean ±SD)



شکل ۴- بررسی غلظت‌های مختلف آنزیم بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*

Figure 4- Effect of different concentrations of enzyme on the survival rate of *Bifidobacterium lactis*

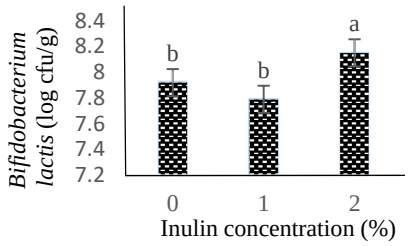


شکل ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف آنزیم بر قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

Figure 5- Effect of different concentrations of enzyme on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus*

شاید یکی از دلایل پایداری و امکان رشد بیشتر *بیفیدوباکتریوم‌ها*، هم کشت کردن باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌همراه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به‌عنوان مصرف‌کننده مؤثر اکسیژن مولکولی باشد، که باعث مساعد شدن شرایط و افزایش زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم‌ها* در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* گردیده است.

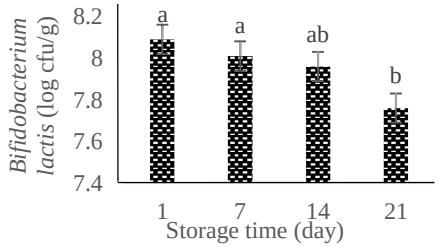
شکل ۶ تأثیر غلظت‌های مختلف اینولین بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های ماست را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، بین نمونه شاهد و نمونه حاوی اینولین ۱ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. اما با افزایش غلظت اینولین در سطح ۲ درصد میزان رشد *بیفیدوباکتریوم‌ها* به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. علت افزایش زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم* با افزایش غلظت اینولین به خاصیت پری‌بیوتیکی اینولین مربوط می‌شود. اینولین می‌تواند به‌عنوان منبع کربن و انرژی توسط باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده قرار گیرد و باعث افزایش بقای آن‌ها در محصول شود. آکین و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند، اینولین به‌خاطر اثر پری-بیوتیکی خود می‌تواند زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را در بستنی سین‌بیوتیک بهبود ببخشد. مظلومی و همکاران (۲۰۱۱) در تولید ماست سین‌بیوتیک گزارش کردند، با افزودن اینولین به شیر میزان زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* افزایش یافت.



شکل ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف اینولین بر قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*

Figure 6- Effect of different concentrations of inulin on the survival rate of *Bifidobacterium lactis*

با گذشت زمان نگهداری میزان زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* کاهش یافت، این کاهش در روز بیست و یکم نسبت به روزهای اول و هفتم معنی‌دار و نسبت به روز چهاردهم غیرمعنی‌دار بود (شکل ۷). بیشترین میزان رشد و فعالیت *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در روز اول نگهداری و کمترین آن در روز بیست و یکم نگهداری بدست آمد.



شکل ۷- تأثیر اثر زمان نگهداری بر قابلیت زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*

Figure 7- Effect of storage time on the survival rate of *Bifidobacterium lactis*

نتیجه‌گیری

نتایج حا صل از این پژوهش ن شان داد، افزودن آنزیم و اینولین در طی زمان نگهداری هیچ گونه اثر

نامطلوبی روی pH و اسیدیته نداشته و همچنین باعث کاهش سینرزیس گردید. نمونه حاوی ۰/۰۴۵ درصد آنزیم و ۲ درصد اینولین در پایان دوره نگهداری کمترین سینرزیس را نسبت به نمونه شاهد از خود نشان داد. در این پژوهش از بین باکتری‌های پروبیوتیک، *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با وجود گذشت زمان نگهداری و همچنین در غلظت های بالای آنزیم در مقایسه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* توانست قابلیت زنده‌مانی خود را بالاتر از حد استاندارد حفظ نماید. از بین نمونه های مختلف، نمونه حاوی اینولین ۲ درصد در روز اول نگهداری بیشترین قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک را به‌خود اختصاص داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایتهای مالی این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع مورد استفاده

جوینده ح، رستم‌آبادی ح، و گودرزی م، ۱۳۹۸. بررسی اثر به‌کارگیری مو سیلاژ دانه‌های اسفرزه، شاهی و ریحان بر رفتار رئولوژیکی دسر لبنی شکلاتی کم‌چرب. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۹(۱): ۹۸-۸۳.

جوینده ح، محمودی ر، سمواتی و و حجتی م، ۱۳۹۴. تأثیر تیمار آنزیمی سرد ترانس‌گلوتامیناز شیر بر ویژگی‌های بافت ماست. علوم و صنایع غذایی، ۱ (۱۳): ۹۹-۹۱.

رضایی ر، خمیری م، اعلمی م و کاشانی نژاد م، ۱۳۹۲. بررسی اثر اینولین بر خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی، حسی و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماست منجمد. علوم و صنایع غذایی، ۴۱(۱۰): ۹۰-۸۱.

عظیمی محله ا، زمردی ش، محمدی ثانی ع و احمدزاده قوی‌دل ر، ۱۳۹۱. بررسی تأثیر فیبر پرتقال بر خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی و حسی ماست میوه‌ای توت فرنگی به روش سطح پاسخ. مجله نوآوری در علوم و فناوری غذایی، ۱: ۳۳-۲۴.

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۵. استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲، شیر و فرآورده‌های آن، تعیین اسیدیته و pH- روش آزمون

نیکبخت کشکولی ت، جوینده ح، تهموزی دیده‌بان و، و سمواتی و، ۱۳۹۶. بهینه‌یابی فرآیند تولید داهی سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، کتیرا و اینولین به روش سطح پاسخ (RSM). علوم و صنایع غذایی، ۶۲ (۱۴): ۱۰۳-۸۹.

یدملت م، جوینده ح و حجتی م، ۱۳۹۶. تأثیر صمغ فارسی و صمغ دانه بالنگو شیرازی بر ویژگی‌های بافتی ماست همزده کم‌چرب. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۷(۴): ۱۸۱-۱۷۱.

Akın MB, Akın MS and Kırmacı Z, 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food Chemistry 104(1): 93-99.

AOAC, 2002. Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th ed. AOAC International, Gaithersburg, MD.

Aryana KJ and Mcgrew P, 2007. Quality attributes of yogurt with *lactobacillus* and various prebiotics. LWT-Food Science and Technology 40: 1808-1814.

Boeni S and Pourahmad R, 2012. Use of inulin and probiotic lactobacilli in synbiotic yogurt production. Animal of Biological Research 3(7): 3486-3491.

Capela P, Hay TKC and Shah NP, 2006. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yogurt and freeze-dried yogurt. Food Research International 39: 203–211.

Faergemand M and Qvist KB, 1997. Transglutaminase: effect on rheological properties, microstructure and permeability of set style acid skim milk gel. Food Hydrocolloid 11: 287–292.

Farnworth JP, Lia J, Hendricks GM and Guo MR, 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. Small Ruminant Research 65: 113-121.

Gibson GR and Roberfroid MB, 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. The Journal of Nutrition 125(6): 1401-1412.

Guarner F, Khan AG, Garisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, Krabshuis J, Lemair T, Kaufmann P, De Paula JA and Fedorak R, 2012. World gastroenterology organisation global guidelines. Journal of Clinical Gastroenterology 46(6): 468-481.

Guven M, Yasar K, Karaca O and Hayaloglu A, 2005. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. International Journal of Dairy Technology 58**:** 180-184.

Jai JM, 1990. Modern Food Microbiology.Chapman and Hall.

Jooyandeh H, Mortazavi SA, Farhang P and Samavati V, 2015. Physicochemical Properties of Set-Style Yoghurt as Effect by Microbial Transglutaminase and Milk Solids Contents. Journal of Applied Environmental and Biological Sciences 4(11)59-67.

Lollo PCB, de Moura CS, Morato PN, Cruz AG and Castro WF, 2013. Corrigendum to "Probiotic yogurt offers higher immune-protection than probiotic whey beverage. Food Research International 54: 923.

Lucey JA, 2004. Cultured dairy products: An overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology 57: 77-84.

Mazloomi S, Shekarforoush S, Ebrahimnejad H and Sajedianfard J, 2011. Effect of adding inulin on microbial and physico-chemical properties of low fat probiotic yogurt. Iranian Journal of Veterinary Research 12**:** 93-98.

Moon, JH and Hong YH, 2003. Electron microscopic property of transglutaminase added milk. Korean Journal Food Science Animal Research 23 (4): 350-355.

Mortazavian AM, Ehsani MR, Mousavi SM, Reinheimer JA, Emamjomeh Z, Sohrabvandi S and Rezaei K, 2006. Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic microorganisms in freshly made yogurt. International Journal of Dairy Technology 59: 8-11.

Motoki M and Seguro K, 1998. Transglutaminase and its use for food processing. Trends in Food Science and Technology 9: 204-210.

Ramchandran L and Shah NP, 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. LWT- Food Science and Technology 43: 819–827.

Rinaldoni AN, Campderros ME and Padilla AP, 2012. Physico-chemical and sensory properties of yogurt from ultra filtreted soy milk concentrate added with inulin. LWT-Food Science and Technology 45: 142-147.

Schorsch C, Carrie H, Clark AH and Norton IT, 2000. Cross-linking casein micelles by microbial transglutaminase conditions for formation of transglutaminase-induced gels. International Dairy Journal 10: 519–528.

Tinson W, Broome MC, Hillier AJ and Jago GR, 1982. Metabolism of *Streptococcus thermophilus*. 2. Production of CO2 and NH3 from urea. Australian Journal of Dairy Technology 37: 14–16.

Violeta N, Ion T and Mira EI, 2010. HPLC Organic Acid Analysis in Different Citrus Juices under Reversed Phase Conditions. Notulae Botanicae Horti AgrobotaniciCluj-Napoca 6: 44-48.

You HJ, Oh DK and Ji GE, 2004. Anticancerogenic effect of a novel Chiroinositol-containing polysaccharide from *Bifidobacterium bifidum BNG*. Microbiology Letters 240(2): 131-136.

Journal of Food Researches/vol.30 No.3/ 2020/pp 189-201
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Effect of transglutaminase enzyme treatment on the physicochemical and microbial properties of synbiotic soy yogurt

Kh Ababaf[1], H Jooyandeh[2*] and B Nasehi[3]

Received: May 1, 2019 Accepted: August 24, 2019

[1]MSc, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[2]Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[3]Associate Professor, Department of Agricultural Engineering and Technology, Payame Noor University (PNU), Iran
[*]Corresponding author: hosjooy@asnrukh.ac.ir

Introduction: The word "probiotic" comes from the Greek word "pro bios" meaning "for life", which is the opposed of the term "antibiotics" meaning "against life." Probiotics are alive bacteria and the majority of probiotic microorganisms are belonging to the genera of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. Regular consumption of probiotics in the adequate amounts have many beneficial health such as prevention of diarrhea, constipation, intestinal diseases and help to digest lactose and strengthen the immune system. On the other hand, recently the use of soy products has been progressively increased due to consumer consciousness about soy benefits. Soy probiotic yogurt is of special importance due to the presence of functional compounds such as probiotic microorganisms and natural prebiotics (raffinose, stachyose), the combination which is considered and dubbed as synbiotic. Dairy products, especially probiotic yogurt, are the most common foods that are used as probiotic products. On the other hand, yogurt production and similar products have always been accompanied with problems such as defects in texture, structure and syneresis. The functionality and structure of proteins can be modified with physical, chemical and enzymatic procedures. Enzymatic modification has been recommended as a useful technique owing to high specificity of enzymatic reactions and therefore a little risk of formation of toxic products. Transglutaminase enzyme can produce a gel with a desirable structure by forming covalent bonds between glutamine and lysine in protein systems. Therefore, the effect of application of transglutaminase enzyme in protein food systems (such as milk, yogurt, cheese, ice cream, bread, fish, meat and other food products) have been extensively studied by many researchers. So, the aim of this study was to evaluate the physicochemical and microbial properties of symbiotic soy yogurt as affected by TG-enzymatic treatment at different inulin concentrations.

Material and methods: The effect of different amounts of TG-enzyme (0, 0.015, 0.03 and 0.045%) and inulin (0, 1 and 2%) on physicochemical (pH, acidity, syneresis) and microbial characteristics (probiotic count) of synbiotic soy yogurt during 21 days of cold storage (1, 7, 14 and 21 days) was investigated. To prepare the synbiotic soy yoghurt samples, inulin as a prebiotic and *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* as probiotic bacteria were used and added to the soy milk. After addition of inulin, soy milk was heated (95 $^{\circ}$C for 5 min) and cooled to inoculation temperature (45 $^{\circ}$C). After the enzyme addition, the probiotic starter culture was added and fermentation was done at 42 $^{\circ}$C until the pH was reached to 4.6. Sample without TG-enzyme and inulin was considered as control yogurt. For performing analysis, data were analyzed by a completely randomized factorial design using SPSS software, version 24. The mean of treatments was compared with Duncan test at 95% confidence level.

Results and discussion: The results showed that with increasing the enzyme concentration, amount of acidity and syneresis decreased while pH increased significantly ($p<0.001$). This was probably due to formation of internal and interstitial bonds in protein network which causes reduction of bioavailability of organic compounds for microorganisms (reduce acidity) and increases water holding capacity (reduce syneresis). However, enzymatic treatment had no significant effect on total solids of the samples. Increasing the amount of inulin also caused a significant increase in acidity and total solids while expressively reduced pH and syneresis of yoghurt samples ($p<0.001$). The reduction of syneresis as a consequence of inulin addition was probably due to water absorption and water holding capacity of this compound. The highest total solids was recorded for yogurt sample containing 2 percent inulin and the lowest was recorded for control (0 percent inulin). By passing the time of storage, pH and syneresis significantly decreased and acidity until the fourteenth day increased and thereafter decreased considerably ($p<0.001$). However, there was no significant effect on the amount total solids. The results of microbial analysis showed that with increasing enzyme concentration, the survival amount of *Bifidobacterium lactis* decreased significantly ($p<0/01$). Although their number in the sample containing the highest level of enzyme was higher than standard. The formation of covalent bonds due to the addition of the TG enzyme can remove lower the molecular weight of peptides from the available microorganisms and thus reduce their growth. On the other hand, by increasing the enzyme concentration, unlike *Bifidobacterium*, the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* increased significantly compared to the control sample, but eventually the amount was lower than the standard. By increasing the inulin concentration at level 2% the growth rate of *Bifidobacterium lactis* was significantly increased ($p<0/01$). The effect of storage period on the survival rate of *Bifidobacterium* showed that during storage, their number decreased significantly ($p<0/05$). However, the number of probiotic bacteria in all soy synbiotic yogurts at the end of 21-day maintenance were over 10^7 logcfu/g. Our results also showed significant interactions between three tested variables on the physicochemical characteristics and the probiotic counts.

Conclusion: In general, the results of this study showed that the addition of enzyme and inulin during storage period did not have an adverse effect on pH and acidity and also reduced the syneresis. The sample containing 0.045% enzyme and 2% inulin at the end of the storage period showed the least syneresis compared to the control sample. In this study, amongst two probiotic bacteria, *Bifidobacterium lactis*, in comparison with *Lactobacillus acidophilus*, was able to maintain its survival rate above the standard level. Among the different samples, the sample containing 2% inulin on the first day of storage period had the highest probiotic content. According to the results, the best synbiotic soy yogurt with acceptable probiotic count and physicochemical properties could be produced using 2% inulin and 0.015% TG-enzyme concentration.

Keywords: Transglutaminase enzyme, Soy yogurt, Inulin, Probiotic, Functional foods