جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

بررسی تاثیر رشد باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در سطوح ویتامین ب۲ و ب۳ موجود در ماست به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا طی دوره یخچال‌گذاری

هانیه طلوعی[a]، سید رفیع عارف حسینی[b]، سید حمید هاشمی تولون[a]*، هانیه سادات اجتهد[c]

[a] کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، معاونت دانشجویی علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
[b] استادیار دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه علوم و صنایع غذایی، تبریز، ایران
[c] کارشناس ارشد دانشگاه علوم پزشکی تبریز، گروه علوم تغذیه، تبریز، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۱۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۴/۲۹

چکیده

مقدمه: در دهه‌های اخیر علاقه رو به رشد در استفاده از مصرف محصولات غذایی فراویژه سبب افزایش تولید محصولات لبنی پروبیوتیک شده است. با توجه به وجود مقادیر بالای ویتامین‌های گروه ب موجود در شیر و محصولات لبنی، این محصولات منابع طبیعی از ویتامین‌های این گروه به شمار می‌آیند از این‌رو در این پژوهش تغییرات در مقادیر ویتامین‌های ب۲ و ب۳ در ماست پروبیوتیک طی ۷ روز یخچال‌گذاری تعیین گردید و با نتایج حاصل از ماست معمولی مقایسه شد.

مواد و روش‌ها: پس از آماده‌سازی ماست معمولی و پروبیوتیک، نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند، محتوای ویتامین‌های ب۲ و ب۳ در روزهای اول، سوم و هفتم از سرماگذاری تعیین گردید. ویتامین موجود در نمونه‌ها با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا جداسازی و سپس با بهره‌گیری از شناساگر فلورسانس و ماورای بنفش به ترتیب برای ریبوفلاوین و نیاسین تعیین مقدار شد. داده ها با استفاده از نسخه ۱۸ SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان داد که محتویات ریبوفلاوین در ماست پروبیوتیک به طور معنی‌داری بیش از نمونه شاهد در تمام روزهای آزمون بود ($p<0/05$). این در حالیست که اختلاف معنی‌دار در سطوح ب۳ موجود در ماست معمولی و پروبیوتیک تنها در روز هفتم سرماگذاری مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از سویه‌های پروبیوتیک در تولید ماست می‌تواند با تولید مقدار بالاتری از ویتامین ب۲ و تا حدی ب۳ همراه باشد.

واژه‌های کلیدی: *ماست پروبیوتیک، ریبوفلاوین، نیاسین.*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: Hashemi3x@gmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

ماست از محصولات تخمیری سنتی در کشور ما به شمار می‌آید که از تخمیر لاکتیکی شیر توسط سویه‌هایی از باکتری‌های گرمادوست به‌ویژه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* حاصل می‌شود(استاندارد ملی شماره ۶۹۵). اگرچه هدف اولیه از تهیه ماست، افزایش زمان ماندگاری و طول عمر شیر به عنوان ماده‌ای به شدت مستعد به فساد بوده است(Hughes *et al.*, 1991; O'sullivan *et al.*, 1992).اما امروزه شاهد افزایش درک بشر از نقش غذا در ارتقاء سلامتی هستیم، به‌طوری که نقش مواد غذایی به عنوان منبع انرژی به ترکیبات غذایی سلامت بخش و فعال از نظر بیولوژیکی تغییر یافته است. تمام این تغییرات سبب ایجاد مفهوم جدیدی در صنایع غذایی به نام غذاهای فراویژه شده‌است(Hasler, 1998). پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی و به صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند، قادر به ایجاد اثرات مفید و سلامت بخش بر میزبان خود خواهند بود از این‌رو جزو غذاهای فراویژه محسوب می‌شوند (Harish *et al.*, 2006; Parvez *et al.*, 2006; Goldin *et al.*, 2008).

ماست‌های پروبیوتیک با دارا بودن میکروارگانیسم‌های زنده‌ی مفید، گامی در جهت ارتقای خواص سلامتی بخش ماست به شمار می‌آیند(Rybka & Kailasapathy, 1995). در فرآیند تولید این ماست‌ها، افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به ماست، با افزایش فرآیند تخمیر و یا ایجاد تغییر در مسیر آن، سبب افزایش و یا کاهش مقادیر ویتامین‌ها موجود در ماست خواهد شد که خود می‌تواند به عنوان معایب و یا محاسن احتمالی افزودن پروبیوتیک‌ها در ماست مطرح باشد. براساس تازه‌ترین آمار اعلام شده توسط وزارت بهداشت، تقریباً از هر۱۰ نفر، ۶ نفر از کمبود ویتامین ریبوفلاوین (ب۲) رنج می‌برند. محصولات لبنی از منابع پر ارزش این ویتامین به شمار می‌آیند مصرف ریبوفلاوین برای تکثیر، رشد و ترمیم پوست، مو، ناخن، مفاصل و ساخت سلول‌های قرمز خون ضروری است. همچنین حضور آن برای سیستم ایمنی که بدن را در مقابل بیماری‌ها حفاظت می‌کند، لازم است (Leblank *et al.*, 2006). نیاسین یکی دیگر از ویتامین‌های گروه ب می‌باشد که با عنوان ویتامین ب۳ شناخته می‌شود که در شیر موجود است. نیاسین در بدن انسان در ساختار دو کوآنزیم نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADP) شرکت می‌کند. بیماری پلاگر که در نتیجه کمبود نیاسین رخ می‌دهد با علائمی همچون همچون خارش پوست، اسهال و افسردگی همراه است (Goldsmith *et al.*, 1952).

بررسی تغییرات در مقادیر ویتامین ب۲ و ب۳ در ماست پروبیوتیک و مقایسه‌ی آن با مقادیر ویتامین موجود در ماست معمولی طی دوره‌ی یخچال‌گذاری از اهداف این پژوهش است که در مقالات، کمتر به آن پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

- تهیه ماست معمولی و پروبیوتیک

جهت آماده سازی ماست معمولی (۲/۵٪ چربی)، شیر حرارت داده شده تا دمای $58\ ^{\circ}C$، به خوبی هم زده شد. سپس در محفظه‌ای از جنس استیل ضد زنگ به مدت ۱۰ دقیقه تحت تکان‌های مداوم در دمای $90\ ^{\circ}C$ پاستوریزه گردید. نمونه‌ها تا حدود $42\ ^{\circ}C$ سرد شدند. باکتری‌های آغازگر معمول ماست متشکل از *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* (هانسن، دانمارک) با ۲٪ حجمی/حجمی به شیر اضافه شد. برای تولید ماست پروبیوتیک از باکتری‌های آغازگر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس با همان درصد حجمی/حجمی* استفاده شد. اندازه‌گیری ph و شمارش باکتری‌های پروبیوتیک ماست در روز اول و هفتم پس از تولید انجام گرفت. به منظور شمارش افتراقی باکتری‌های پروبیوتیک در حضور باکتری‌های ماست از محیط کشت MRS-bile agar استفاده شد. نتایج شمارش باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های ماست نشان داد که به طور میانگین حدود $7/3 \times 10^{6}$ cfu/g باکتری در روز اول و $2/4 \times 10^{6}$ cfu/g باکتری در روز هفتم در ماست‌های پروبیوتیک وجود داشت. ph ماست پروبیوتیک نیز از ۴/۶۵ در روز اول به ۴/۴۸ در روز هفتم کاهش یافت.

- تعیین مقادیر ب۲ و ب۳ در ماست

مقادیر ریبوفلاوین (ب۲) و نیاسین (ب۳) موجود در

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

نمونه‌ها در طول ۷ روز یخچال گذاری در دمای ۱±۴ درجه سانتی‌گراد در روزهای ۱، ۳ و ۷ تعیین گردید. تمامی ترکیبات و محلول‌های مورد استفاده از جمله بافرها دارای درجه خلوص مناسب HPLC بودند. محتویات ویتامین ب۲ با بهره گیری از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، پس از آماده‌سازی نمونه‌ها پس از هیدرولیز اسیدی به منظور رسوب پروتئین تعیین گردید(Gliszczynska & Koziolowa, 2000). بدین منظور پس از یکنواخت‌سازی ماست مقداری از آن را در یک لوله آزمایش ریخته و سپس اسید استیک به آن افزوده شد. نمونه با شدت زیاد مخلوط گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. پس از هیدرولیز اسیدی به منظور جداسازی رسوب پروتئین از سانتریفوژ استفاده گردید. سپس محلول حاصل شده از سانتریفوژ در فاز متحرک مناسب متشکل از سدیم پنتاسولفات در اسیداستیک ۱٪، متانول و تتراهیدروفوران حل گردید. محتوای ریبوفلاوین موجود در محلول حاصل به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، مدل WellChrom K-120 دارای ستون اکتیل و با بهره‌گیری از روش گزارش شده توسط گاتی و جیویا، جداسازی و به کمک شناساگر فلورسنس در طول موج‌های λem = ۳۷۰ nm و λex = ۵۲۴ nm تعیین مقدار گردید (Gatti & Gioia, 2005).

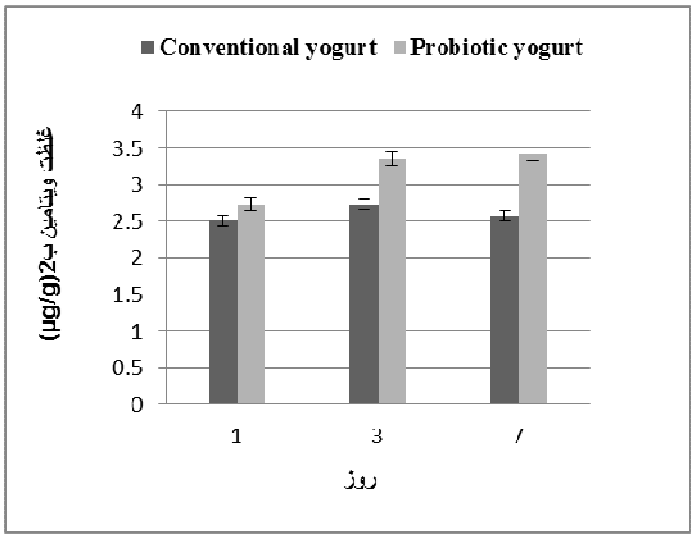
مقادیر نیاسین به روش پیشنهادی توسط اسکورای و نوبیل، تعیین گردید بدین منظور از اسید سولفوریک ۰/۲ مولار و در ادامه هضم اسیدی برای آزادسازی نیکوتینیک اسید از اشکال ترکیبی موجود در ماست استفاده گردید (Nobile *et al.*, 1972; Skurray, 1981). بدین منظور محلول حاصل از فرآیند هضم با محلول سود ۰/۱۵ و محلول ۰/۱ پتاسیم فروسیانید (تازه آماده شده) مخلوط شد. نمونه‌ها با عبور از یک فیلتر ۰/۲۵ میلی‌متری صاف گردید. در این بررسی از محلول بافر استات ۰/۲ مولار و هپتان سولفوریک اسید ۰/۰۰۵ مولار استفاده گردید. ویتامین ب۳ با بهره‌گیری از کروماتوگراف مایع دارای ستون c-۱۸ نوع (Perfectsil Target ODS-3) جداسازی گردیده و با شناساگر فرابنفش در طول موج ۲۶۲ نانومتر تعیین مقدار گردید.

- تجزیه و تحلیل آماری

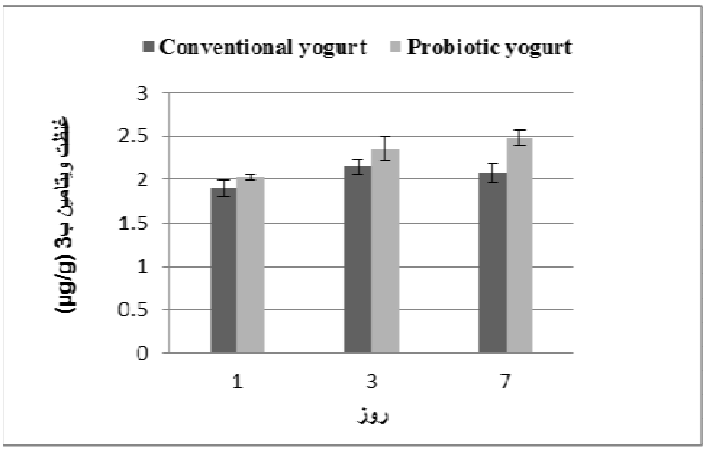
تفاوت معنی‌دار میان روزها با بهره‌گیری از آنالیز واریانس داده‌ها (ANOVA) تعیین شد. آزمون T مستقل برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تعیین سطوح ویتامین ب۲ و ب۳ در ماست معمولی و پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۸ انجام شد. در این پژوهش سطح معنی‌دار از نظر آماری کمتر از (p<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

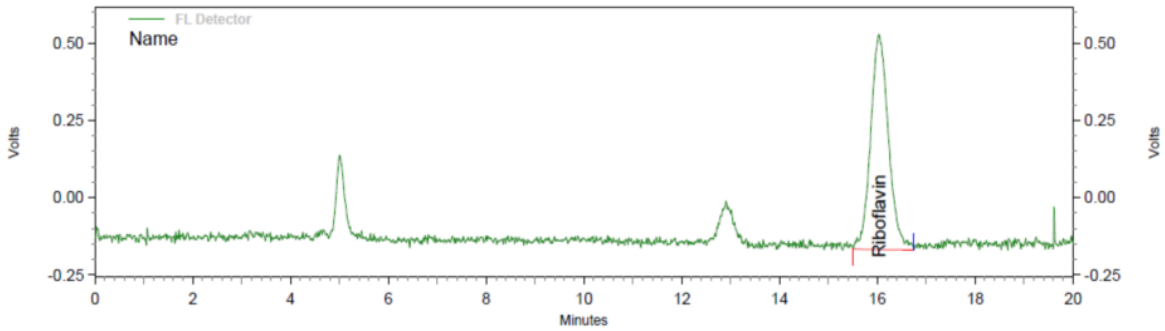
تغییرات در مقادیر ویتامین ب۲ و ب۳ در ماست معمولی و پروبیوتیک در طول نگهداری در یخچال در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد در تمامی روزهای آزمون سطوح ریبوفلاوین موجود در نمونه‌های ماست پروبیوتیک به طور معنی‌داری بالاتر از مقادیر ریبوفلاوین در نمونه‌های کنترل بوده است (p<۰/۰۵). در ماست پروبیوتیک، رویکرد خطی صعودی در تولید ویتامین ب۲ طی دوره‌ی ۷ روزه از نگهداری ماست در یخچال مشاهده گردید. روند صعودی مشابهی در ماست معمولی تا پایان روز سوم از نگهداری در یخچال مشاهده شد (p<۰/۰۵). سطوح ویتامین مذکور تا روز هفتم با اندکی کاهش همراه بود. به طور متوسط مقادیر نیاسین در ماست معمولی و ماست پروبیوتیک در روز نخست سرماگذاری به ترتیب ۱/۹۰ میکروگرم/گرم تا ۲/۳۰ میکروگرم/گرم بود. با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل آماری، اختلاف معنی‌دار در محتویات ب۳ موجود در ماست معمولی و پروبیوتیک فقط در روز هفتم سرماگذاری (p<۰/۰۵) مشاهده گردید. با این وجود محتوای ب۳ در نمونه‌های پروبیوتیک در تمامی روزهای آزمایش بیش از نمونه‌های ماست معمولی بود.



نمودار ۱ - تغییرات در مقادیر ویتامین ب۲ در ماست معمولی و ماست پروبیوتیک در طول دوره‌ی یخچال‌گذاری



نمودار ۲ – تغییرات در مقادیر ویتامین ب۳ در ماست معمولی و ماست پروبیوتیک در طول دوره‌ی یخچال‌گذاری



شکل ۱ - کروماتوگرام ریبوفلاوین موجود در ماست پروبیوتیک

بحث

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا از روش‌های نوین در سنجش اجزای موجود در غذاها و داروها می‌باشد که در دهه‌های اخیر، به دلیل عملکرد تخصصی و حساسیت بالا کاربرد گسترده‌ای یافته است. به کارگیری تلفیقی کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا به همراه شناساگر مناسب از دقیق‌ترین شیوه‌های جداسازی و سنجش سطوح ریبوفلاوین و نیاسین موجود در محصولات غذایی محسوب می‌گردد. در این پژوهش افزایش در سطوح هر دو ویتامین ب۲ و ب۳ در ماست پروبیوتیک مشاهده گردید. افزایش در سطوح نیاسین و ریبوفلاوین در ماست پروبیوتیک به دلیل فرآیند تخمیر در حضور باکتری‌های اسید لاکتیکی و به

ویژه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکترها* گزارش شده است(Shahani & Chandan, 1979; Alm, 1982; Gomes & Malcata, 1999). به طور مشابه افزایش در مقادیر نیاسین و ریبوفلاوین در ماست حاوی آغازگر معمول ماست توسط آلم و هوگس گزارش شده است (Alm, 1982; Hughes *et al*., 1991). علت را می‌توان وجود مشتقی از ریبوفلاوین در ماست معمولی و شیر ترش دانست که به عنوان ریبوفلاوینD گالاکتوزید شناخته می‌شود (Hasselmann *et al*., 1989). این فلاوین در ماست ساده محصول فعالیت میکروارگانیسم‌های خاص موجود در ماست همچون *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس سالیواریس* زیرگونه *ترموفیلوس* می‌باشد. گلیکوزیدهای ریبوفلاوین ممکن است به دلیل انکوبه شدن ریبوفلاوین و قند اهدا کننده‌ی مناسب موجود در محیط کشت و یا در حضور آنزیم‌های تولید شده توسط میکروارگانیسم‌های مختلف تولید گردند (Gliszczynska & Koziolowa, 2000). بررسی‌های پاروز و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که تخمیر موادغذایی توسط باکتری‌های مفید، میزان ویتامین‌های ریبوفلاوین، نیاسین و اسید فولیک را در ماست، شیر بیفیدوس و کفیر افزایش می‌دهد(Parvez *et al*., 2006).

فابیان و همکاران (۲۰۰۸)، به منظور بررسی تاثیر ماست پروبیوتیک و ماست معمولی بر وضعیت ویتامین‌های ب۱، ب۲ و ب۶، مطالعه‌ای بر روی زنان جوان سالم انجام دادند. غلظت ریبوفلاوین در پلاسما و ادرار این افراد قبل و بعد از مداخله با روش HPLC اندازه‌گیری شد، در این بررسی سطح ریبوفلاوین آزاد به‌طور قابل توجهی در دو گروه افزایش یافت(Fabian *et al*., 2008). در این پژوهش محتویات ویتامین ب۲ و ب۳ در ماست پروبیوتیک بیش از ماست معمولی بود. سیدی و وارتسن (۱۹۹۳) آورده‌اند که ریبوفلاوین موجود در شیر تخمیر شده در مقایسه با انواع تخمیر نشده، از پایداری بیشتری در مقابل نور برخوردار است (Saidi & Warthesen, 1993). رخا و ویجایالاکشمی (۲۰۱۰) افزایش در مقادیر ریبوفلاوین و نیاسین در شیر سویای تخمیر شده توسط میکروارگانیسم پروبیوتیک را گزارش کردند (Rekha & Vijayalakshmi, 2010). همچنین این محققین بیان کردند که رشد مخمرهای پروبیوتیک به همراه باکتری‌های پروبیوتیک می‌تواند زنده‌مانی باکتری‌های لاکتیکی پروبیوتیک را افزایش دهد. بهبود در مقدار ریبوفلاوین موجود در شیر سویا تخمیر شده نیز گزارش شده است (Hou *et al*., 2000).

زنده‌مانی و بقای *لاکتوباسیولوس اسیدوفیلوس* متاثر از حضور باکتری *لاکتوباسیلوی دلبروکی* زیر گونه‌ی *بولگاریکوس* می‌باشد از سوی دیگر رشد باکتری‌های *بیفیدوباکتریوم* در ماست و محیط کشت‌های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*، با ماندگاری بیشتر این میکروارگانیسم‌ها همراه است (Dave & Shah, 1997) از اینرو پیشنهاد می‌گردد که بررسی‌هایی پیرامون سویه‌های سنتزکننده ویتامین های ب۲ و ب۳ به صورت ترکیبی و در محیط های حاوی سویه های گوناگون صورت پذیرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که افزودن سویه‌های پروبیوتیک در تولید ماست می‌تواند سطوح ویتامین ب۲ و ب۳ را در محصول نهایی افزایش دهد. همچنین افزایش اندکی در محتوای ب۲ و ب۳ در حضور سویه‌های پروبیوتیک در طی ۷ روز یخچال‌گذاری مشاهده گردید. با این وجود انجام پژوهش‌های بیشتر پیرامون سطوح ریبوفلاوین و نیاسین تولیدی، پس از افزودن سویه‌های مختلف از پروبیوتیک و یا ایجاد تغییر در شرایط تخمیر توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

به این وسیله از معاونت دانشجویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز برای حمایت مالی سپاسگزاری می‌شود. همچنین از راهنمایی‌های ارزنده استاد محترم جناب آقای دکتر جواد مهتدی نیا جهت ارتقای کیفی مقاله تشکر قدردانی می‌گردد.

منابع

Alm, L. (1982). Effect of fermentation on B-vitamin content of milk in Sweden. Journal of Dairy Science, 65, 353-359.

Dave, R. I. & Shah, N. P. (1997). "Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal. **7**(1): 31-41.

Fabian, E., Majchrzak, D., Dieminger, B., Meyer, E. & Elmadfa, I. (2008). Influence of Probiotic and Conventional Yoghurt on the Status of Vitamins B1, B2 and B6 in Young Healthy Women. Annals of Nutrition and Metabolism, 52**,** 29-36.

Gatti, R. & Gioia, M. (2005). Liquid chromatographic determination with fluorescence detection of B6 vitamers and riboflavin in milk and pharmaceuticals. Analytica chimica acta, 538**,** 135-141.

Gliszczyńska-świgło, A. & Koziołowa, A. (2000). Chromatographic determination of riboflavin and its derivatives in food. Journal of Chromatography, 881**,** 285-297.

Goldin, B. & Gorbach, S. (2008). Clinical indications for probiotics :an overview. Clinical infectious diseases, 46**,** S96-S100.

Goldsmith, G. A., Sarett, H. P., Register, U. & Gibbens, J. (1952). Studies of niacin requirement in man. I. Experimental pellagra in subjects on corn diets low in niacin and tryptophan. Journal of Clinical Investigation, 31**,** 533.

Gomes, A. M. P. & Malcata, F. X. (1999). Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science & Technology, 10**,** 139-157.

Harish, K. & Varghese, T. (2006). Probiotics in humans–evidence based review. Calicut Med J, 4**,** e3.

Hasler, C. M. (1998). Functional foods: their role in disease prevention and health promotion. food technology-champaign then chicago-, 52**.**

Hasselmann, C., Franck, D., Grimm, P., Diop, P. & Soules, C. (1989). High-performance liquid chromatographic analysis of thiamin and riboflavin in dietetic foods. Journal of Micronutrient Analysis, 5**,** 269-280.

Hou, J. W., Yu, R. C. & Chou, C. C. (2000). Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. Food Research International, 33**,** 393-397.

Hughes, D. & Hoover, D. (1991). Bifidobacteria: their potential for use in American dairy products. Food Technology, 45.

Leblanc, J. G., Rutten, G ,.Bruinenberg, P., Sesma, F., De Giori, G. S. & Smid, E. J. (2006). A novel dairy product fermented with Propionibacterium freudenreichii improves the riboflavin status of deficient rats. Nutrition, 22**,** 645-651.

Nobile, S., Savage, V. & Huber, U. (1972) . A new procedure for the determination of thiamine in foods. Int J Vitam Nutr Res, 42**,** 444-50.

O'sullivan, M., Thornton, G., O'Sullivan, G. & Collins, J. (1992). Probiotic bacteria: myth or reality? Trends in Food Science & Technology, 3**,** 309-314.

Parvez, S., Malik, K., Ah kang, S. & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. Journal of applied microbiology, 100**,** 1171-1185.

Rekha, C. & Vijayalakshmi, G. (2010). Bioconversion of isoflavone glycosides to aglycones ,mineral bioavailability and vitamin B complex in fermented soymilk by probiotic bacteria and yeast. Journal of applied microbiology, 109**,** 1198-1208.

Rybka, S. & Kailasapathy, K. (1995). The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB yoghurts. Australian journal of dairy technology, 50**,** 51-57.

Saidi, B. & Warthesen, J. (1993). Effect of milk fermentation on riboflavin content and stability. International Dairy Journal, 3**,** 675-684.

Shahani, K. M. & Chandan, R. C. (1979). Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods. Journal of Dairy Science, 62**,** 1685-1694.

Skurray, G. R. (1981). A rapid method for selectively determining small amounts of niacin, riboflavin and thiamine in foods. Food Chemistry, 7**,** 77-80.