

تأثیر سطوح مختلف اینولین و کیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، حسی و زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در دوغ سین‌بیوتیک

بهرام فتحی آچالوئی^{۱*}، هوشنگ محمودی مغاس^۲

۱- بهرام فتحی آچالوئی، دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی - دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی - دانشگاه محقق اردبیلی
 ۲- هوشنگ محمودی مغاس، دانش آموخته گروه علوم و صنایع غذایی - واحد سراب، دانشگاه آزاد اسلامی، سراب، ایران
 (تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۲۰)

چکیده

استفاده از محصولات لبنی پروبیوتیک به ویژه دوغ پروبیوتیک گسترش زیادی پیدا کرده است طوری که افزودن باکتری‌های پروبیوتیک و زنده‌مانی آنها در این محصولات می‌تواند منجر به ارتقای سلامتی مصرف‌کننده گردد. هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر سطوح مختلف اینولین (۱٪، ۲٪ و ۳٪) و کیتوزان (۱٪، ۲٪ و ۳٪) به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد پری بیوتیک) به همراه تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به عنوان استارتر (۱٪ و ۲٪) برای تولید دوغ سینبیوتیک و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و ویژگی‌های حسی دوغ تولید شده و نیز زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول زمان نگهداری دوغ بود. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که ماده خشک بدون چربی، ویژگی‌های حسی (رنگ، بافت و طعم) و شمارش باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) بود. همچنین اثر زمان در تلقیح استارتر میکروبی ۱٪ و ۲٪ روی اسیدیته، pH، رنگ، بافت و شمارش باکتری-های پروبیوتیک معنی‌دار ($P < 0/05$) بود، ولی محتوای ماده خشک بدون چربی و طعم معنی‌دار ($P > 0/05$) نبود. بیشترین زنده‌مانی باکتریها (به صورت لگاریتم) بعد از ۲۱ روز به ترتیب برای باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس $7/93$ CFU/g و $7/84$ CFU/g بودند. همچنین در روز ۲۱ بیشترین و کمترین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در سطوح تلقیحی مختلف استارتر به ترتیب مربوط به دوغ حاوی ۰/۳ درصد کیتوزان و دوغ کنترل بودند. همچنین در سطوح تلقیحی استارتر ۲ درصد، بیشترین و کمترین زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس مربوط به نمونه حاوی ۲ درصد اینولین و دوغ کنترل بودند.

کلیدواژگان: اینولین، کیتوزان، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم لاکتیس، دوغ سینبیوتیک

* مسئول مکاتبات: bahram1356@yahoo.com

۱- مقدمه

دوغ یکی از نوشیدنی‌های بومی کشور ایران است که پیشینه تاریخی طولانی مصرف دارد. از ویژگی‌های تغذیه‌ای دوغ می‌توان به افزایش ویتامین‌ها و متابولیت‌های مغذی، بهبود جذب کلسیم و قابلیت هضم بیشتر نسبت به شیر اولیه اشاره کرد. از طرف دیگر نتایج برخی از پژوهش‌های انجام شده نشان داده است که نوشیدنی‌های لاکتیکی یکی از محصولات مناسب برای انتقال میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به بدن می‌باشد [۱].

غذاهای فراسودمند در واقع غذاها و نوشیدنی‌هایی هستند که علاوه بر دارا بودن ارزش غذایی می‌توانند در جلوگیری یا درمان یک بیماری نقش داشته باشند. نوشیدنی‌های فراسودمند نسل جدیدی از محصولات تخمیری حاوی ریزسازواره‌ها با ویژگی‌های درمانی هستند که از طریق افزایش ارزش تغذیه‌ای و بهبود ویژگی‌های حسی - بافتی نقش موثری در سلامتی ایفا می‌کنند [۲].

پروبیوتیک‌ها، ریزسازواره‌های زنده‌ای می‌باشند که مکان اصلی فعالیت آنها دستگاه گوارش موجودات زنده به ویژه روده بزرگ است. پیشگیری از اختلالات دستگاه گوارش، افزایش سیستم ایمنی بدن، ویژگی‌های ضد سرطانی، کاهش کلسترول خون، بهبود بخشیدن به بیماری‌های مفصلی، تولید طیف وسیعی از آنزیم‌ها، اثرات ضد میکروبی و اصلاح و بهبود متابولیسم لاکتوز از جمله کارکردهای شگفت‌آور آنها می‌باشد. مواد غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها در حال حاضر به عنوان برترین محصولات غذایی فراسودمند شناخته می‌شوند طوری که مزایای سلامتی‌بخش آنها به وسیله پری‌بیوتیک‌ها افزایش می‌یابد زیرا یک پروبیوتیک واقعی بدون غذا (پری‌بیوتیک) در سیستم گوارشی قابلیت زنده‌مانی خوبی ندارد. لازم به ذکر است که پری‌بیوتیک‌ها اجزای غذایی هضم‌ناپذیر یا هضم‌پذیر اندک در برابر آنزیم‌های گوارشی بدن انسان هستند که رشد و فعالیت ریزسازواره‌های پروبیوتیک را به طور انتخابی تحریک می‌کنند و باعث بهبود سلامت میزبان می‌شوند [۳].

متأسفانه بسیاری از محصولات تجاری حاوی باکتری پروبیوتیک، دارای باکتری‌های پروبیوتیک کمتر از حداقل مورد نیاز می‌باشند. زیرا این میکروارگانیسم‌ها به آرامی در شیر رشد می‌کنند و اغلب

از دست دادن زنده‌مانی آنها در طول دوره ذخیره‌سازی مشاهده می‌شود. علاوه بر این باکتری‌های پروبیوتیک نسبت به pH، اسید لاکتیک، پراکسید هیدروژن و اکسیژن محلول در اثر تخمیر شیر حساس می‌باشند. از طرفی دیگر باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار موجود در محصولات غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی قابلیت زنده‌مانی کمی دارند که از مهم‌ترین چالش‌های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبیوتیکی به حساب می‌آید. در این راستا استفاده از مواد پری‌بیوتیک که تحریک‌کننده رشد پروبیوتیک‌ها در روده هستند و علاوه بر آن می‌توانند به ماندگاری بهتر آنها در طی نگهداری محصول کمک کنند، در تولید غذاهای پروبیوتیکی لازم و ضروری به نظر می‌رسد. از جمله این ترکیبات می‌توان به اینولین و کیتوزان اشاره کرد که می‌توان از آنها برای تولید محصولات سین‌بیوتیک که حاوی پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند، استفاده نمود [۴]. وثوق و همکاران (۱۳۸۸) به بررسی ماندگاری بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دوغ حاوی عصاره کاکوتی پرداختند. در این پژوهش، قابلیت زنده‌مانی دو گونه از مهم‌ترین باکتری‌های پروبیوتیکی یعنی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در دوغ و همچنین اثر عصاره کاکوتی به عنوان یکی از طعم‌دهنده‌های رایج در تولید تجاری دوغ مورد استفاده بر قابلیت زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های فوق‌الذکر مورد بررسی قرار گرفت [۱]. نتایج نشان داد که در طی دوره نگهداری تعداد بیفیدوباکتریوم‌ها نسبت به تعداد اولیه به طور متوسط ۲/۵ سیکل لگاریتمی کاهش داشتند، این در حالی است که تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس در هفته هشتم نگهداری به نزدیک صفر رسید. pH و اسیدیته نیز طی مدت نگهداری تغییر جزئی داشتند. همچنین نتایج آنها نشان داد که بین انواع دوغ از لحاظ طعم اختلاف معنی‌داری وجود داشت و دوغ‌های حاوی عصاره کاکوتی امتیاز بالاتری را از لحاظ طعم نسبت به دوغ معمولی کسب کردند.

طاهری و همکاران (۱۳۸۸) به بررسی تأثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک، ویژگی‌های حسی و پایداری بافتی دوغ پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی پرداختند [۵]. نتایج نشان داد که جمعیت هر سه باکتری مورد بررسی طی نگهداری در یخچال کاهش یافتند. مقایسه دوغ

پروبیوتیک با نمونه کنترل نشان داد که این باکتری می‌تواند روند کاهش شمارش باکتری‌های ماست را تسریع کند و به کاهش اسیدسازی بعد از تولید و بهبود مقبولیت کلی محصول طی نگهداری کمک کند. افزودن باکتری پروبیوتیک بر پایداری بافتی نمونه پروبیوتیک طی نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل، تفاوت معنی‌داری نداشت و درصد دو فازه شدن هر دو نمونه از روز اول تا هفتم شدید و بعد از آن کند ارزیابی شدند. نتایج این مطالعه نشان داد که میکروارگانیزم *لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس* می‌تواند در تولید دوغ با pH ۴/۳۰، درصد نمک ۰/۸ درصد (وزنی - حجمی) و ماده جامد کل ۷/۴ درصد مورد استفاده قرار گیرد [۵].

ابراهیم‌زادگان و همکاران (۱۳۹۲) به بررسی ماندگاری *بیفیدوباکتریوم/لاکتیس* آزاد و کپسوله شده و تأثیر آن بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی دوغ ایرانی پرداختند. این محققان عنوان داشتند که پروبیوتیک‌ها نه تنها تأثیر نامطلوب بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی دوغ نداشتند بلکه موجب بهبود خواص رئولوژیکی، پایداری و طعم دوغ شدند [۶].

دینی و همکاران (۱۳۹۲) نیز به بررسی تأثیر دماهای گرمخانه گذاری، نگهداری و pH نهایی محصول بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم/لاکتیس*) و ویژگی‌های حسی در دوغ پروبیوتیک پرداختند. بهترین نمونه‌ها از نظر زنده‌مانی کل باکتری‌های پروبیوتیک، نمونه اولیه با دمای گرمخانه گذاری ۳۷ درجه سلسیوس و pH نهایی ۴/۶ و ۴/۴ بودند. این محققان عنوان نمودند که بیشترین زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در pH بالاتر از ۴/۵ بود. نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۵ درجه سلسیوس دارای بیشترین زنده‌مانی و نمونه‌های نگهداری شده در ۱۵ درجه سلسیوس نیز دارای بهترین طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی پس از ۲۱ روز نگهداری بودند [۷].

دیبازر و همکاران (۱۳۹۵) به بهینه‌سازی مقدار فیبر انگور و کیتوزان در ماست میوه‌ای پروبیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ پرداختند. در این مطالعه تأثیر فیبر انگور و کیتوزان بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمتوم* و ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی ماست میوه‌ای حاوی کیوی در طول زمان نگهداری با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج تجزیه آماری نشان داد که با افزایش مقدار کیتوزان زنده‌مانی

لاکتوباسیلوس فرمتوم به طور معنی‌داری کاهش اما با افزایش مقدار فیبر افزایش یافت. مقدار رطوبت و آب‌اندازی نمونه‌ها نیز با افزایش مقادیر فیبر انگور و کیتوزان به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین افزایش مقدار کیتوزان فقط موجب کاهش امتیاز رنگ شد اما افزایش مقدار فیبر علاوه بر امتیاز رنگ، امتیاز طعم نمونه‌ها را نیز به طور معنی‌داری کاهش داد. در نهایت میزان فیبر انگور ۰/۹ درصد، کیتوزان ۰/۱ درصد و زمان نگهداری ۱۲ روز به عنوان شرایط بهینه برای تولید ماست میوه‌ای پروبیوتیک حاوی کیوی تعیین گردید [۸].

Lee و همکاران (۲۰۰۲) به بررسی اثر پری‌بیوتیکی الیگوساکاریدهای کیتوزان بر باکتری‌های پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و گونه‌های *لاکتوباسیلوس* پرداختند. نتایج این مطالعه نشان داد که الیگوساکاریدهای کیتوزان دارای اثر بیفیدوزنیک قابل توجهی هستند. الیگوساکاریدهای کیتوزان باعث تحریک رشد اکثر گونه‌های *لاکتوباسیلوس* و همچنین *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم KCTC 3440* گردید. نرخ رشد به ویژه *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با افزایش غلظت کیتوزان افزایش پیدا کرد. رشد سلولی و نرخ رشد *لاکتوباسیلوس برویس* با افزودن ۰/۱ درصد کیتوزان، به میزان ۲۵ درصد افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که الیگوساکاریدهای کیتوزان می‌توانند رشد برخی از باکتری‌های روده‌ای را تحریک نموده و بنابراین می‌توان از آن به عنوان یک ماده پری‌بیوتیکی در غذاهای سلامت‌بخش (عملگرا) استفاده نمود [۹].

هدف از پژوهش حاضر بررسی تأثیر سطوح مختلف اینولین و کیتوزان بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، ویژگی‌های حسی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم/لاکتیس* که معمول‌ترین گونه‌های باکتریایی مورد استفاده در تولید محصولات پروبیوتیک هستند، در دوغ سین-بیوتیک تولیدی شرکت مغانه می‌باشد. همچنین بهینه‌سازی روش تولید دوغ پروبیوتیک با افزودن سطوح مختلف اینولین و کیتوزان همراه با افزودن سطوح مختلف استارتر میکروبی محتوی باکتری-های *لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم/لاکتیس* و ارزیابی زنده‌مانی آنها می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مصرفی

کشت‌های آغازگر پروبیوتیک لیوفیلیزه شده تجارتي ABY-2 تهیه شده از نمایندگی شرکت کریستین هسن دانمارک (محتوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس و باکتری‌های معمولی ماست) تهیه گردید. مواد پری‌بیوتیکی شامل اینولین و کیتوزان از نمایندگی شرکت اورافتی بلژیک تهیه شد و محیط کشت میکروبی bile Agar-MRS از نمایندگی شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

۲-۲- تهیه دوغ سینبیوتیک

برای تهیه دوغ ابتدا با تلقیح استارتر معمولی ماست به شیر ماست تولید شد، سپس در مرحله آماده‌سازی دوغ با استفاده از همزن مغناطیسی و اضافه کردن آب و مواد دیگر، دوغ حاصل شد. از دوغ به دست آمده در این مرحله به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. سپس مواد پری‌بیوتیک اینولین به میزان ۱٪، ۲٪ و ۳٪ وزنی/ وزنی و کیتوزان به میزان ۰/۱٪، ۰/۲٪ و ۰/۳٪ وزنی/ وزنی، به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل (فاقد پری‌بیوتیک) به همراه تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به عنوان استارتر (۱٪ و ۲٪) برای تولید دوغ سینبیوتیک و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی، ویژگی‌های حسی و نیز زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول زمان نگهداری دوغ در چهار بازه زمانی ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز به عنوان تیمارهای مورد بررسی در این پژوهش، استفاده شدند.

۲-۳- ارزیابی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

برای شمارش باکتری‌های پروبیوتیک از محیط MRS-BA استفاده گردید، به طوری که ۱۰ گرم از دوغ پروبیوتیک مورد نظر در ۹۰ میلی‌لیتر تری‌سیترات‌سدیم استریل مخلوط گردیده و کاملاً رقیق شد. سپس رقت‌های سریالی به صورت کسره‌های یک دهم آماده و از رقت‌های مربوطه به میزان یک میلی‌لیتر برداشته شد و در پلیت‌های مجزا قرار گرفتند و به محیط کشت MRS-BA انتقال داده شدند. محیط کشت MRS-BA حاوی نمونه، در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت نگهداری شده و در پایان،

شمارش باکتریایی انجام گرفت. کلیه رقت‌ها در سه تکرار صورت گرفتند [۷].

۲-۴- آزمون‌های شیمیایی

آزمون‌های شیمیایی مانند تعیین اسیدیته، ماده خشک، pH، محتوای چربی و پروتئین دوغ‌های تولیدی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۲۴۵۳ در طول چهار بازه زمانی انجام گرفت [۱۰].

۲-۵- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ پروبیوتیک با استفاده از آزمون هدونیک ۵ امتیازی انجام شد. نمونه‌های دوغ در دمای اتاق از نظر ویژگی‌های ارگانولپتیکی، طعم و رنگ توسط گروه ارزیاب ۹ نفره مورد ارزیابی قرار گرفتند [۱۱].

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تیمار دوغ کنترل و دوغ‌های تیمار شده با مواد پری‌بیوتیکی با سطوح مختلف و با غلظت استارتر میکروبی با سطوح متفاوت بطور جداگانه (جدول ۱) و آنالیز داده‌ها با استفاده از رویه GLM در نرم‌افزار SAS 9.2 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها در زمان‌های مختلف با روش حداقل میانگین مربعات انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار اکسل استفاده شد.

Table 1 Different treatments used in the dooghs microbial starter inoculated (percentage)

	1%	2%
	Blank	Blank
	I%1	I%1
treatments	I%2	I%2
	I%3	I%3
	C %0.1	C %0.1
	C %0.2	C %0.2
	C %0.3	C %0.3

I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%

۳- نتایج و بحث

۳-۱- نتایج تجزیه واریانس اثرات تیمارها و زمان های مختلف روی صفات اندازه گیری شده در درصد های مختلف استارتر

نتایج آنالیز واریانس مربوط به اثر افزودن درصد های مختلف (۱ و ۲ درصد) استارتر روی ویژگی های کیفی و فیزیکی و شیمیایی دوغ سین بیوتیک در جدول های ۲ و ۳ ارائه شده است. قابل ذکر است که پروتئین و چربی در آنالیز واریانس هیچ نوع تفاوت معنی داری را نشان ندادند و به همین دلیل در ادامه به آنها پرداخته نشده است.

Table 2 ANOVA analysis of the effects of different treatments and times on the some parameters in the starter 1%.

CV	df	SNF	Acidity	L. acidophilus	Bif. lactis	Color	Texture	Flavor
Time	3	0.02 ^{ns}	736.64 ^{**}	129.36 ^{**}	259.49 ^{**}	3.65 [*]	3.51 [*]	0.28 ^{ns}
Treatment	6	1782.93 ^{**}	0.2 ^{ns}	4.01 ^{**}	9.35 ^{**}	57.71 ^{**}	68.67 ^{**}	22.28 ^{**}
Time* Treatment	18	0.2 ^{ns}	0.2 ^{ns}	2.17 ^{**}	5.48 ^{**}	1.85 [*]	1.51 ^{ns}	0.72 ^{ns}

ns: nonsignificant

*: Significant at the 5% level

** : Significant at the 1% level

اسیدیته، رنگ و بافت معنی دار بوده ($P < 0/05$) در حالی که اثر این فاکتور روی مقدار ماده خشک و طعم معنی دار نبود ($P > 0/05$). بررسی اثر تیمار نشان می دهد که این فاکتور روی اسیدیته تأثیر معنی داری نداشت ($P > 0/05$), در حالی که روی مقدار ماده خشک، زنده مانگی باکتری ها، رنگ، بافت و طعم در سطح معنی دار بود ($P < 0/05$).

۳-۲- تغییرات اسیدیته

تغییرات اسیدیته دوغ های سین بیوتیک بر اساس معنی دار بودن در زمان های مختلف نگهداری و در سطوح مختلف از استارتر پروبیوتیک در شکل های ۱ و ۲، نشان داده شده است.

در همه سطوح مختلف استارتر، همانطور که پیش بینی می شد با افزایش مدت زمان نگهداری، بر اسیدیته نمونه ها افزوده شد.

جدول ۲ که نشان دهنده آنالیز واریانس مربوط به اثر افزودن ۱ درصد استارتر روی ویژگی های دوغ سین بیوتیک می باشد، نشان می دهد که اثر زمان روی محتوای ماده خشک و طعم معنی دار نبود ($P > 0/05$). همچنین اثر این فاکتور روی اسیدیته، زنده مانگی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس، رنگ و بافت معنی دار بود ($P < 0/05$). نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف (درصد های مختلف کیتوزان و اینولین) روی محتوای ماده خشک، رنگ، بافت، طعم و زنده مانگی باکتری ها معنی دار بوده ($P < 0/05$) و همچنین تأثیر این فاکتور روی اسیدیته معنی دار نبود ($P > 0/05$).

در جدول ۳، داده های آنالیز واریانس مربوط به اثر افزودن ۲ درصد استارتر روی ویژگی های دوغ و همچنین زنده مانگی باکتری ها نشان داده شده است. نتایج نشان داد که تأثیر زمان روی

Table 3 ANOVA analyses of the effects of different treatments and times on the some parameters in the starter 2%.

CV	df	SNF	Acidity	L. acidophilus	Bif. lactis	Color	Texture	Flavor
Time	3	0.00 ^{ns}	892.23 ^{**}	173.29 ^{**}	3904.37 ^{**}	41.83 ^{**}	27.95 ^{**}	2.0 ^{ns}
Treatment	6	1778.21 ^{**}	0.00 ^{ns}	13.45 ^{**}	191.26 ^{**}	831.61 ^{**}	380.14 ^{**}	42.53 ^{**}
Time* Treatment	18	0.00 ^{ns}	0.00 ^{ns}	6.34 ^{**}	99.32 ^{**}	13.69 [*]	4.35 ^{**}	1.06 ^{ns}

۳-۳- تغییرات ماده خشک

تأثیر سطوح مختلف اینولین و کیتوزان در همه درصدهای مختلف تلفیح استارتر بر محتوای ماده خشک نمونه‌های دوغ سین‌بیوتیک تولیدی معنی‌دار بود که در شکل های ۳ و ۴ نشان داده شده است. شکل ۳ نشان می‌دهد که بیشترین مقدار ماده خشک مربوط به تیمار محتوی ۳ درصد اینولین می‌باشد. از طرفی کمترین مقدار ماده خشک مربوط به تیمار کنترل بود. همچنین نتایج نشان داد که با کاهش درصد اینولین و کیتوزان درصد ماده خشک کاهش پیدا می‌کند. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد با توجه به اینکه اینولین و کیتوزان به عنوان ماده خشک به محصول اضافه می‌شود، بنابراین افزایش درصد ماده خشک در اثر افزودن این دو ماده امری بدیهی است. با توجه به شکل ۴، می‌توان بیان داشت که افزودن درصدهای بیشتر (۲٪) باکتری‌های پروبیوتیک تأثیر قابل توجهی روی محتوای ماده خشک نداشت زیرا در شکل مذکور نیز با افزایش محتوای اینولین و کیتوزان، مقدار ماده خشک افزایش پیدا کرده است و همچنین درصد ماده خشک مربوط به تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری با تیمارهای مشابه در هر دو غلظت مورد استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک نداشت.

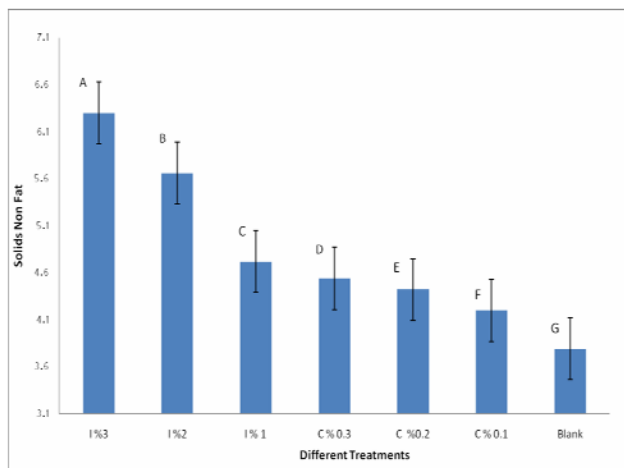


Fig 3 Solids non fat of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 1%. I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

در واقع با رشد باکتری‌های پروبیوتیک، اسیدیته به دلیل تولید اسیدهای آلی افزایش یافت. نتایج حاصل از پژوهش حاضر با نتایج پژوهش طاهری و همکاران (۱۳۸۸) مطابقت داشت [۵]. این محققان به بررسی تأثیر باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /سیدوفیلوس بر ویژگی‌های دوغ پروبیوتیک در طی نگهداری یخچالی پرداختند و گزارش کردند که اسیدیته دوغ پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل بالاتر بوده و حضور باکتری پروبیوتیک مقدار تولید اسید در حین تخمیر را بالا برده و اسیدیته نهایی بعد از مدت تخمیر در دوغ پروبیوتیک بالاتر از نمونه کنترل بود [۵]. تأثیر تیمارهای مختلف کیتوزان و اینولین نیز بر اسیدیته در سطوح مختلف استارتر معنی‌دار نبود ($P>0/05$). هاشمی و همکاران (۲۰۱۵) نیز به تولید دوغ سین‌بیوتیک با استفاده از باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و ماده پری‌بیوتیک اینولین پرداختند و مشاهده نمودند که در طی مدت زمان نگهداری از pH نمونه‌ها کاسته شد [۱۲].

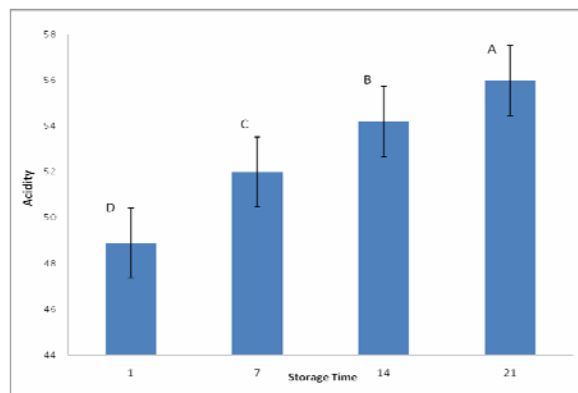


Fig 1 Acidity of dooghs at different storage times in the microbial starter inoculated with 1%.

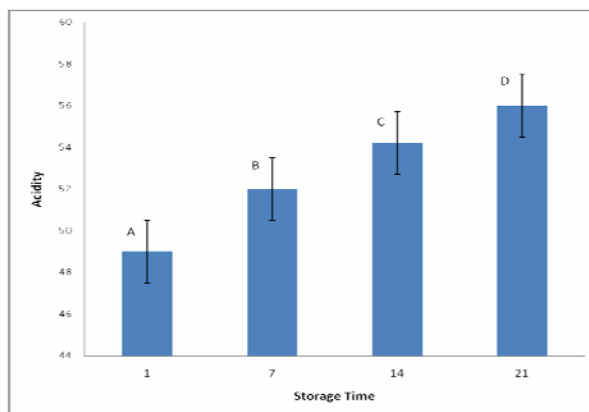


Fig 2 Acidity of dooghs at different storage times in the microbial starter inoculated with 2%.

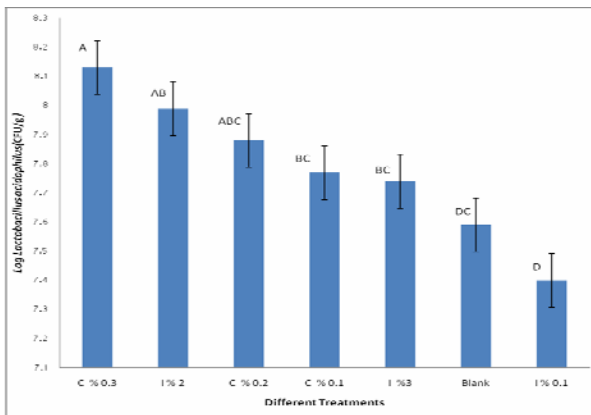


Fig 5 *Lactobacillus acidophilus* count (CFU/g) of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 1%.

I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

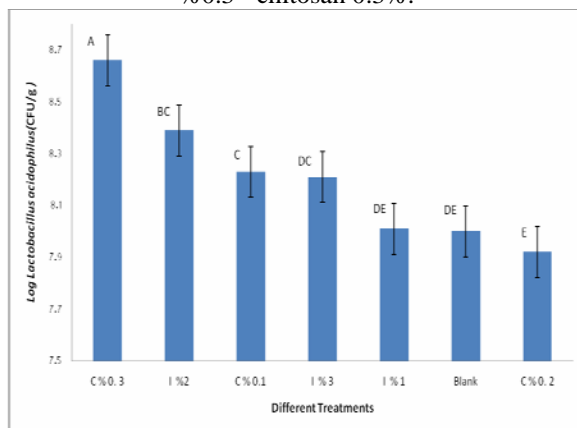


Fig 6 *Lactobacillus acidophilus* count (CFU/g) of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 2%.

I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

۳-۵- زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس

تأثیر تیمارهای مختلف (سطوح مختلف اینولین و کیتوزان) بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در سطوح مختلف تلقیح استارتر نیز در شکل های ۷ و ۸ ارائه داده شده است. در همه درصدهای تلقیح از باکتری پروبیوتیک، مقدار باکتری در درصدهای مختلف مطابق با استاندارد بود. در سطح یک درصد از تلقیح بیشترین زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد اینولین و کمترین زنده‌مانی نیز مربوط به نمونه دوج کنترل بود. در سطح ۲ درصد از

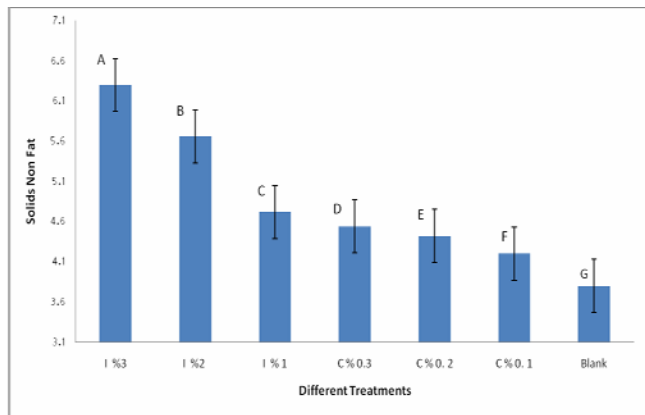


Fig 4 Solids non fat of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 2%. I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

۳-۴- زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

تأثیر تیمارهای مختلف (سطوح مختلف اینولین و کیتوزان) بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در سطوح مختلف تلقیح استارتر در شکل های ۵ و ۶ ارائه داده شده است. در همه نمونه‌ها با درصدهای مختلف از اینولین و کیتوزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مطابق با استاندارد بود زیرا استاندارد ملی ایران عنوان می‌کند که قابلیت زیستی هر یک از سویه‌های پروبیوتیک به کار رفته در دوج پروبیوتیک تا پایان تاریخ انقضای مصرف نباید از 10^6 CFU/g کمتر باشد. در درصدهای مختلف از تلقیح باکتری پروبیوتیک، زنده‌مانی این باکتری در مقایسه با نمونه کنترل دارای تفاوت معنی‌دار بوده و در اکثر نمونه‌ها افزودن کیتوزان و اینولین موجب بهبود زنده‌مانی این باکتری گردید. هم راستا با نتایج پژوهش حاضر، هاشمی و همکاران (۲۰۱۵) عنوان نمودند که افزودن اینولین به دوج موجب بهبود زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانکتاریوم می‌شود [۱۲]. فرجی و همکاران (۱۳۹۱) نیز به بهینه‌سازی فرآیند تولید ماست پروبیوتیک کم‌چرب با استفاده از طرح مرکب پرداختند. این محققان اثر درصدهای مختلف از اینولین، کیتوزان و زانتان را بر بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست پروبیوتیک بررسی نمودند و عنوان نمودند که افزایش اینولین و کیتوزان باعث افزایش بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس می‌شود [۱۳].

۳-۶- ارزیابی حسی (رنگ، بافت و طعم)

تأثیر تیمارهای مختلف (سطوح مختلف اینولین و کیتوزان) بر رنگ نمونه‌های دوغ در سطوح مختلف تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک نیز در جدول ۴ ارائه شده است. همانطور که مشاهده می‌شود، اثر تیمارهای مختلف روی رنگ نمونه‌ها در هر دو غلظت مورد استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک معنی‌دار بود ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که افزودن اینولین تا غلظت ۳ درصد تأثیری روی رنگ نمونه‌ها نداشت به طوری که اختلاف رنگ بین نمونه‌های مذکور و نمونه کنترل معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). زمانی که از غلظت‌های مختلف کیتوزان استفاده شد، رنگ محصول به طور معنی‌داری کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش رنگ مربوط به زمانی بود که میزان ۰/۳ درصد کیتوزان مورد استفاده قرار گرفت. مظلومی و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهشی اثر افزودن ۲ نسبت مختلف (۱ و ۲ درصد) اینولین را روی رنگ ماست پروبیوتیک (تولید شده با لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس) کم‌چرب مورد بررسی قرار دادند. این محققان نیز نتایج مشابه با این پژوهش بدست آوردند به طوری که بیان داشتند استفاده از غلظت‌های مختلف اینولین تأثیر معنی‌داری روی رنگ ماست پروبیوتیک نداشت [۱۴].

تأثیر تیمارهای مختلف (سطوح مختلف اینولین و کیتوزان) بر امتیاز بافت نمونه‌های دوغ از نظر ارزیابی‌های حسی در سطوح مختلف تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک در جدول ۴ ارائه شده است. همان طور که بیان شد تأثیر تیمارهای مختلف روی امتیاز بافت در تمامی نمونه‌ها معنی‌دار بود ($P < 0.05$). نتایج نشان داد که استفاده از اینولین به‌عنوان تنها ماده پری‌بیوتیک مورد استفاده سبب کاهش ویژگی‌های بافتی نمی‌شود در حالی که استفاده از کیتوزان، سبب کاهش امتیاز مربوط به بافت شده و به شدت کیفیت بافتی را کاهش می‌دهد. این نتیجه مشابه با گزارش مظلومی و همکاران (۲۰۱۱)، می‌باشد، این محققان گزارش کردند که افزودن اینولین به مقدار ۲ درصد سبب کاهش ویژگی‌های بافتی مربوط به ماست پروبیوتیک می‌شود [۱۴].

تلقیح نیز بیشترین زنده‌مانی مربوط به نمونه دوغ حاوی ۰/۳ درصد کیتوزان بود. نتایج پژوهش حاضر هم راستا با نتایج فرجی و همکاران (۱۳۹۱) بود که گزارش کردند که افزودن اینولین و کیتوزان به ماست پروبیوتیک موجب افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود [۱۳].

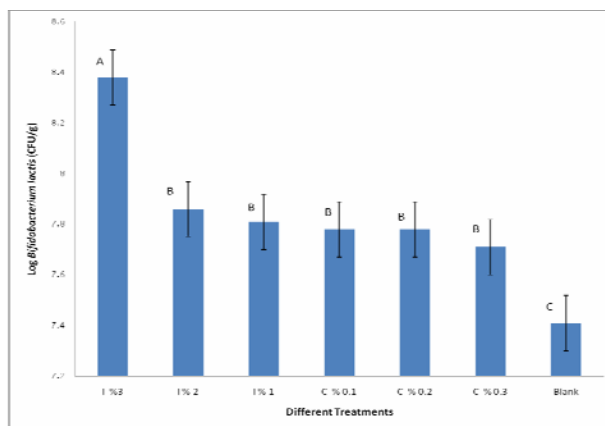


Fig 7 *Bifidobacterium lactis* count (CFU/g) of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 1%.

I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

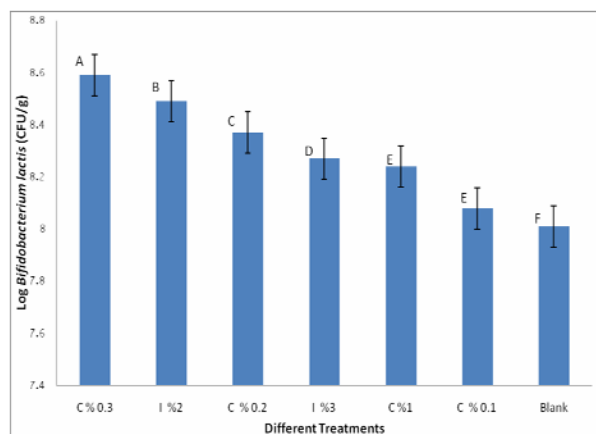


Fig 8 *Bifidobacterium lactis* count (CFU/g) of dooghs in the different treatments of microbial starter inoculated with 2%.

I%1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%.

Table 4 Sensorial scores of dooghs in the different treatments*.

Sensory properties	treatments	microbial starter inoculated (percentage)	
		1%	2%
Color	Blank	5 ± 0.16 ^a	5 ± 0.16 ^a
	I% 1	5 ± 0.16 ^a	5 ± 0.16 ^a
	I% 2	5 ± 0.16 ^a	5 ± 0.16 ^a
	I% 3	5 ± 0.16 ^a	5 ± 0.16 ^a
	C %0.1	4.33 ± 0.16 ^b	4 ± 0.16 ^b
	C %0.2	2.75 ± 0.16 ^c	2.91 ± 0.16 ^c
	C %0.3	2.25 ± 0.16 ^d	2.5 ± 0.16 ^d
Texture	Blank	5 ± 0.26 ^a	5 ± 0.26 ^a
	I% 1	5 ± 0.26 ^a	5 ± 0.26 ^a
	I% 2	4.91 ± 0.26 ^a	4.91 ± 0.26 ^a
	I% 3	4.08 ± 0.26 ^b	4.0 ± 0.26 ^b
	C %0.1	3.83 ± 0.26 ^b	3.66 ± 0.26 ^c
	C %0.2	2.58 ± 0.26 ^c	2.75 ± 0.26 ^d
	C %0.3	1.5 ± 0.26 ^d	1.5 ± 0.26 ^e
Flavor acceptability	Blank	4.75 ± 0.20 ^a	4.83 ± 0.20 ^a
	I% 1	4.75 ± 0.20 ^a	4.75 ± 0.20 ^a
	I% 2	4.66 ± 0.20 ^a	4.66 ± 0.20 ^a
	I% 3	4.66 ± 0.20 ^a	4.66 ± 0.20 ^a
	C %0.1	4.66 ± 0.20 ^a	4.66 ± 0.20 ^a
	C %0.2	3.66 ± 0.20 ^b	3.5 ± 0.20 ^b
	C %0.3	2.91 ± 0.20 ^c	3.00 ± 0.20 ^c

^{a-d} Means ± standard error means within the same column with different superscript letters differ significantly (P<0.05). I% 1= Inulin 1%, I%2= Inulin 2%, I%3= Inulin 3%, C %0.1= chitosan 0.1%, C %0.2= chitosan 0.2%, C %0.3= chitosan 0.3%,

داده بود، نشان داد که افزودن این ماده پریبیوتیک تأثیر معنی-داری روی طعم و سایر ویژگی‌های حسی نداشت [۱۵].

۴- نتیجه گیری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس روی تیمارهای مختلف اندازه-گیری شده در تلقیح استارتر میکروبی ۱٪ و ۲٪ نشان داد که ماده خشک بدون چربی، ویژگی‌های حسی (رنگ، بافت و طعم) و شمارش باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در بین تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی‌داری بود (P<۰/۰۵). همچنین اثر زمان در تلقیح استارتر میکروبی ۱٪ و ۲٪ روی اسیدیته، رنگ، بافت و شمارش باکتری-های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس معنی-دار بود (P<۰/۰۵)، ولی روی محتوای ماده خشک بدون چربی و طعم معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در همه نمونه‌ها با درصد‌های مختلف از اینولین و کیتوزان زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس مطابق با استاندارد بود (بیشتر از ۱۰^۶CFU/g). همچنین در روز ۲۱ در تمام سطوح

همچنین در پژوهشی دیگر کاردارللی و همکاران (۲۰۰۸)، که ویژگی‌های حسی مربوط به پنیر سین‌بیوتیک حاوی اینولین را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که افزودن اینولین سبب کاهش امتیاز بافتی نمی‌شود و تأثیری معنی‌داری روی این ویژگی حسی نداشت [۱۵].

تأثیر تیمارهای مختلف (سطوح مختلف اینولین و کیتوزان) بر امتیاز طعم نمونه‌های دوغ از نظر ارزیابی حسی در سطوح مختلف تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که افزودن اینولین تأثیر معنی‌داری روی طعم دوغ‌های تولیدی نداشت. همچنین افزودن کیتوزان در غلظت‌های کم (۰/۱ درصد) نیز تأثیر معنی‌داری روی طعم نداشت (P>۰/۰۵). افزودن کیتوزان در غلظت‌های بالاتر از ۰/۱ درصد به طور معنی‌داری سبب کاهش طعم می‌شود. مظلومی و همکاران (۲۰۱۱)، در پژوهشی گزارش کردند که افزودن ۲ درصد اینولین به ماست پروبیوتیک تأثیر معنی‌داری روی طعم نداشت [۱۴]. همچنین نتایج پژوهشی که ویژگی‌های حسی مربوط به پنیر سین‌بیوتیک حاوی اینولین را مورد بررسی قرار

- Science and Technology (Journal of Food Science and Technology), 5(4): 105-114 [in Persian].
- [7] Dini, A, Razavi, S.H, Mousavi, S.M. 1392. Effect of incubation and storage temperatures and final pH on the viability of probiotic bacteria and sensory characteristics in probiotic Doogh, Journal of Food Research, 23(3): 367-380 [in Persian].
- [8] Dibazar, P, Khosrowshahi Asl, A, Zomorodi, Sh, 1395, Optimization grape fiber and chitosan amounts in fruit yoghurt using response surface methodology (RSM) , Journal of Food Science and Technology, 51(13): 75-88[in Persian].
- [9] Lee, H. W, Park, Y. S, Jung, J. S, Shin, W. S. 2002. Chitosan oligosaccharides, dp 2–8, have prebiotic effect on the Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus sp. Anaerobe, 8(6):319-324.
- [10] Anonymous, 1371. Institute of Standard and Industrial Researches of Iran (ISIRI), No: 11324, Probiotic Doogh – Specifications and Test Method. Institute of Standard and Industrial Researches of Iran. Iran.
- [11] Aghajani A.R, Pourahmad, R, Mahdavi Adeli H.R. 1391, Production and Storage of Symbiotic Yogurt, Journal of Food Technology and Nutrition, 10(1):19-28 [in Persian].
- [12] Hashemi, S.M.B, Shahidi, F, Mortazavi, S. A, Milani, E, Eshaghi, Z. 2015. Synbiotic potential of Doogh supplemented with free and encapsulated Lactobacillus plantarum LS5 and Helianthus tuberosus inulin, Journal of Food Science and Technology, 52(7): 4579-4585.
- [13] Faraji, M, Alizadeh Khaled Abadi M, Khosroushahi Asl A, Faraji S. 1391. Optimization of Low Fat Probiotic Yogurt Production Using Combined Design, Iranian Food Science and Technology Research Journal, 8(2): 121-136[in Persian].
- [14] Mazloomi, S. M, Shekarfroush, S. S, Ebrahimnejad, H, Sajedianfard, J. 2011. Effect of adding inulin on microbial and physicochemical properties of low fat probiotic yogurt. Iranian Journal of Veterinary Research, 12(2): 93-98.
- [15] Cardarelli, H. R, Buriti, F. C, Castro, I. A, Saad, S. M. 2008. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. LWT-Food Science and Technology, 41(6): 1037-1046.
- تلقیحی استارتر بیشترین و کمترین زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به ترتیب مربوط به دوغ حاوی ۰/۳ درصد کیتوزان و دوغ کنترل بود. بیشترین و کمترین زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس در سطح تلقیح استارتر ۱ درصد مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد اینولین و دوغ کنترل بود اما در سطوح تلقیحی استارتر ۲ درصد بیشترین و کمترین زنده‌مانی مربوط به نمونه دوغ حاوی ۲ درصد اینولین و دوغ کنترل بود. در کل می‌توان با استفاده از مواد پری‌بیوتیکی اینولین و کیتوزان برای تولید دوغ سین‌بیوتیک با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی و حسی مطلوب و زنده‌مانی بهبود یافته باکتری‌های پروبیوتیک استفاده کرد.

۵- منابع

- [1] Voosogh, A. S, Khomeiri, M, Kashani Nijad, M, Jafari, S. M. 1388. Survival of Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus in Iranian doogh flavored by ziziphora extract, Journal of Food Science and Technology, 6(4): 77-85[in Persian].
- [2] Nematollahi, A, Sohrabvandi, S, Mortazavin Farsani, A.M, Berarnejad Bariki, I. 1391. Application of fruit and vegetable for the production of non-dairy-based probiotic drink. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(4): 73-81[in Persian].
- [3] Oelschlaeger, T. A. 2010. Mechanisms of probiotic actions—a review”. International Journal of Medical Microbiology, 300(1):57-62.
- [4] Karimi, R, Azizi, M. H, Ghasemlou, M, Vaziri, M. 2015. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer. A review: Carbohydrate polymers, 119: 85-100.
- [5] Taheri, P, Ehsani, M.R, Khosravi Darani, K. 1388. Effects of Lactobacillus acidophilus La-5 on microbiological characteristics, sensory attributes and phase separation of Iranian Doogh drink during refrigerated storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(4): 73-81[in Persian].
- [6] Ebrahimzadegan, S, Zomorodi, S, Hojatoleslami, M, Khosroushahi Asl, A.1392, Survival of free and encapsulated Bifidobacterium lactis (LAFTI-B94) and its effect on the sensory and chemical properties of yogurt drink (Doogh), Innovation in Food

Effect of different levels of Inulin and Chitosan on the physicochemical, sensory properties and survival of probiotics in synbiotic Doogh

Fathi-Achachlouei, B. ^{1*}, Mahmoudi Moghas, H. ²

1. Associate Professor, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Azad University of Sarab, Sarab, Iran.

(Received: 2017/09/23 Accepted:2017/11/11)

The use of probiotic dairy products, especially probiotic doogh has become very important. So that adding probiotic bacteria and the viability of them can contribute to improving the health of consumers. The aim of this study was to evaluate the effects of inulin (1%, 2% and 3%) and chitosan (0.1%, 0.2% and 0.3%) as a prebiotic compared with control sample (without prebiotic) along with bacteria inoculation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* as starter (1% and 2%) to produce synbiotic doogh and assessment of physicochemical characteristics, sensory properties and the viability of probiotic bacteria in the doogh during storage. The results of the ANOVA indicated that SNF, sensory properties and *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* bacteria count were significantly ($P < 0.05$) different among the treatments. The effect of time in the microbial starter inoculated with 1% and 2% was significant on acidity, pH, texture, color, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* bacteria count ($P < 0.05$), but had no significant effect on SNF and flavor ($P > 0.05$). The highest survival of bacteria (as logarithm of the number of bacteria) after 21 days for *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*, were 7.93 CFU/g and 7.84 CFU/g, respectively. Moreover, maximum and minimum viability of *Lactobacillus acidophilus* on 21th day were related to doogh containing 0.3% chitosan and control, respectively. In the microbial starter inoculated with 2% also maximum and minimum viability of *Bifidobacterium lactis* also were related to doogh containing 2% inulin and control, respectively.

Keywords: Inulin; Chitosan; *Lactobacillus acidophilus*; *Bifidobacterium lactis*; synbiotic doogh

* Corresponding Author E-Mail Address: bahram1356@yahoo.com