مطالعه امکان تولید نان باگت سین بیوتیک با اینولین و سویه های میکرو انکپسوله شده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*

کوثر بلیش میاحی [۱]، مهناز هاشمی روان [۲*]، محمد رضا اسحاقی [۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین – ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا ، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین – ایران
۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین – پیشوا ، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین – ایران
(تاریخ دریافت: ۹۶ /۱۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۶/۱۱)

چکیده

نان غذای اصلی مردم دنیاست ، پروبیوتیک ها میکروارگانیسم زنده ای هستند. که اگر به تعداد کافی مصرف گردد، موجب بروز اثرات سلامت بخش در میزبان می شوند. غنی سازی پروبیوتیکی نان موجب افزایش سلامت در جامعه می شود. نان سین بیوتیک با افزودن خمیر به سوسپانسیون میکروبی، سویه های درون پوشانی شده باکتری پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* با نسبت ۲۵٪ و ۷۵٪ و تراکم 10^8 cfu/gr) و ٤٪ پری بیوتیک اینولین (در تیمارهای دارای اینولین) اضافه گردید. فرآیند تخمیر به مدت ۸۰ دقیقه در دمای ۲۵ ̊C انجام گردید. نان باگت در دمای ٤ ̊C نگهداری وآزمون های میکروبی و شیمیایی چون پروتئین، اسیدیته، چربی، خاکستر، رطوبت، pH، فیبر خام، عدد فالینگ، عدد زلنی، زنده مانی باکتری پروبیوتیک، تاثیرات حضور و عدم حضور اینولین بر راندمان زنده مانی سویه ها پس از تخمیر، در طی۷،۳،۱ روز انجام شد. تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و رویه GLM (مدلهای خطی عمودی) بر ٦ تیمار با ۳ تکرار انجام شد. در طی تخمیر جمعیت پروبیوتیک تیمارها (10^8cfu/gr باکتری در هر۵گرم) به دلیل مصرف قند احیاکننده و مواد مغذی افزایش معنی داری داشت($p >$ ۰/۰۵). پس از اعمال حرارت، درصد زنده مانی کاهش معنی داری داشت($p<$۰/۰۵). pH افزایش معنی داری داشت($p>$۰/۰۵). چربی، رطوبت واسیدیته در طی نگهداری کاهش معنی داری داشت($p<$۰/۰۵). ارزیابی حسی تغییر معنی داری نداشت. نتایج نشان داد ، تیمار $A_1B_1C_1$ با (٪۲۵ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و٪۷۵ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و ٤٪ اینولین) و تراکم 10^7cfu/gr با بیشترین میزان زنده مانی سویه ها و تاثیر مثبت اینولین به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

کلید واژگان: نان سین بیوتیک، ریزپوشانی، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*، اینولین

*مسئول مکاتبات: m_hashemiravan@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۱- مقدمه

پروبیوتیک یک یا مخلوطی از چند میکروارگانیسم است که سبب تحریک رشد باکتری های مفید و کاهش فاکتورهای بیماریزا می شوند و معمولاً مکانیزم عمل آن ها متکی به زنده ماندن باکتری است[۱]. همچنین پروبیوتیک با بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات مفیدی برمیزبان اعمال می کنند[۲]. پروبیوتیک بدلیل تولید غلظت بالای اسیدلاکتیک و استیک و وجود اکسیژن و pH پایین زنده مانی کمی در محصولات لبنی دارند. این عوامل، منجر به تولید محصولات پروبیوتیکی با ویژگی های مختلف می شود، استفاده از پروبیوتیک در غلات می تواند جایگزین خوبی برای افراد با نیاز خاص باشد(افرادی که ناراحتی معده یا روده دارند، در رژیم غذایی این افراد که به نام رژیم غذایی برات[1]معروف است، بسیار کاربرد دارد) [۱]. غلات برخلاف فرآورده‌های لبنی، فاقد لاکتوز، ترکیبات حساسیت‌زا و کلسترول حیوانی بوده، همچنین در مقایسه با شیر دارای ویتامین های ضروری، فیبر رژیمی، مواد معدنی است. از فرآورده‌های پروبیوتیک بر پایه غلات، می توان به نان پروبیوتیکی اشاره کرد، که تولید آن، به دلیل اعمال حرارت پخت و اثرات کشندگی برسویه های پروبیوتیکی، گسترش چندانی نیافته است[۳].

براساس تعریف پروبیوتیک ها سه شرط لازم برای انتخاب آن ها عبارت است از: ۱- زنده بودن میکروارگانیسم ها در غذا و در طی رسیدن به دستگاه گوارش ۲-مصرف به اندازه پروبیوتیک ۳- ایجاد حداقل یک اثر مفید در ماده ی غذایی [٤].

از دلایل بکارگیری سویه های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* می توان به ویژگی های منحصر به فرد این میکروارگانیسم ها در حفظ تعادل میکروفلور روده ای انسان وبهبود اختلالات گوارشی سندرم روده تحریک پذیر(کولیت)، توانایی بقاء در برابر استرس های سیستم گوارشی و... اشاره کرد[۵]. از روش های افزایش بقای پروبیوتیک ها در برابر تنش محیط، درون پوشانی ویا ریزپوشانی کردن می باشد[٦]. درون پوشانی کردن تکنیکی است که ترکیبات فعال (جامد، مایع، گاز) را درون یک سری مواد پوششی یا حامل به دام می اندازد. که محتویات درون کپسول با یک سرعت کنترل شده و با تحریک خاص در طی یک زمان مشخص آزاد می شوند[٤]. رها سازی کنترل شده در غلات تکنیکی نسبتاً جدید می باشد و هدف از آن حفظ ویژگی های زیستی ترکیب در طول پروسه تولید و همچنین در زمان نگهداری است[۷]. تاکنون تحقیقات بسیاری در رابطه با افزودن سویه های پروبیوتیکی به نان صورت گرفته که به علت وجود فرآیند پخت زنده مانی سویه ها کاهش چشم گیری داشته است، از جمله این تحقیقات، تحقیق گنجوری و همکاران (۱۳۹۱) غنی‌سازی نان‌های حجیم با باسیلوس‌های بالقوه پروبیوتیکی بررسی نمودند و به این نتیجه رسیدند که میزان زنده مانی سویه ها قبل و پس از پخت کاهش معنی داری داشته است، از این رو، جهت افزایش راندمان زنده مانی به بررسی درون پوشانی کردن سویه های پروبیوتیک و تاثیر حضور پری بیوتیک ها پرداختیم[۸]. پری بیوتیک ها ترکیبات غذایی غیرقابل هضم هستند که به طور انتخابی، سبب تحریک رشد و فعالیت باکتری های روده بزرگ شده وسبب بهبود سلامت میزبان می شوند[۹]. از سویی دیگر باکتری های پری بیوتیک ها، به عنوان افزودنی خوراکی مفید با اثرمثبت بر فعالیت باکتری های مفید روده ای(*بیفیدوباکتریوم* و *لاکتوباسیلوس)* محسوب می شوند [۱۰]. از جمله پری بیوتیک های مفید می توان به اینولین اشاره کرد. اینولین از شناخته شده ترین ترکیبات غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک است و به دلیل فعالیت های پری بیوتیکی به عنوان اجزای غذایی عملگرا محسوب می شود و در بیش از ۳۰۰۰۰ گیاه مختلف یافت می شود. ازمنابع اصلی اینولین مورد استفاده در صنعت غذا می توان به سیب زمینی شیرین و ریشه کاسنی اشاره کرد [۹].

با توجه به نحوه فعالیت پروبیوتیک و پری بیوتیک، اصطلاح سین بیوتیک مطرح می گردد. سین بیوتیک ترکیب سینرژیستی پروبیوتیک و پری بیوتیک می باشد که خصوصیت پری بیوتیکی و پروبیوتیکی را به طور مساوی در اختیار دارند. اخیراً ثابت شده است که مصرف محصولات سین بیوتیکی متشکل از اینولین به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک و شیر تخمیر شده حاصل از باکتری بیفیدوباکتریوم می تواند محتوای باکتری های بیفیدوس روده بزرگ را نسبت به حالتی که هر یک از این ترکیبات به طور جداگانه مصرف شوند را افزایش می دهد [۹]. هدف از این تحقیق تولید نان سین بیوتیک با استفاده از اینولین به عنوان پری بیوتیک و بررسی اثرگذاری تکنولوژی ریز پوشانی بر افزایش بقاء *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* در طول زمان نگهداری می باشد.

1. BRAT (شامل موز، سیب، برنج و نان)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

مواد اولیه ای مورد استفاده در این تحقیق عبارت اند از: سویه های درون پوشانی شده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* با درصد های ۲۵٪ و ۷۵٪ و اینولین ٤٪ و مواد مورد استفاده در تولید نان حجیم سین بیوتیک عبارت است از : آرد، مخمر، نمک، شکر، روغن هیدروژنه و آب استفاده گردید[۱۳].

۲-۲- روش

۲-۲-۱- آماده سازی سویه جهت تلقیح

آماده سازی کشت پروبیوتیکی سویه های باکتریایی درون پوشانی (آلژینات کلسیم) *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (PTCC 1643) و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* (PTCC 1631) از انستیتوپاستور ایران دریافت و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از دریافت وفعال سازی در۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت ام آر اس براث[۲] با توجه به اطلاعات روی قوطی به کمک کارشناس آزمایشگاه تهیه گردید[۳].

لوله کشت در انکوباتور ۳۷ c° در داخل جار بی هوازی[۳] به مدت۳ روز قرار گرفت. سپس از هر لوله چند قطره داخل یک بطری شیشه ای کوچک ریخته شد. یک قطره از محتوای هر لوله کشت نیز در سطح محیط جامد ام آر اس درون پلیت کشت شد و در انکوباتور با دمای ۳۷ c° ، ٤٨ ساعت در داخل جار بی هوازی قرار گرفت تا کلنی ها ظاهرشوند. از کلنی ها لام تهیه شد، رنگ آمیزی گرم و تست کاتالاز انجام شد، باسیل های گرم مثبت مؤید حضور باکتری های لاکتیک بودند[۱۲].

توسط پی پت روی سطح هر پلیت مقدار ۵ میلی لیتر آب پپتونه ۱٪ استریل ریخته شد. بوسیله پشت یک قاشق کوچک استریل کلنی ها با آب پپتونه بصورت سوسپانسیون درآمد و سپس سوسپانسیون داخل یک لوله استریل ۱۰ میلی لیتری منتقل شد. لوله در سانتریفیوژ با دور ۱۵۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت و به رسوب باکتریایی درون لوله، ۲۰ میلی لیتر محلول ٤٪ اینولین در آب مقطر (استریل) اضافه شد. با ورتکس کردن لوله، رسوب با محلول اینولین مخلوط گردید و از هر لوله حاوی سوسپانسیون با انجام کشت تعداد جرم زنده باکتری لاکتیک در هر سوسپانسیون تعیین گردید. از هر سوسپانسیون ۰,۱ میلی لیتر برداشته شد و در ۱۰ میلی لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شد. دوباره ۰,۱ میلی لیتر از لوله دوم برداشته شد و در ۱۰ میلی لیتر بافر سیترات ریخته شد. به این ترتیب رقت10^{-8} از هر یک از سوسپانسیون های اولیه تهیه شد. از این رقت به مقدار ۰,۱ میلی لیتر برداشته و در سطح دو پلیت حاوی محیط کشت ام آر اس آگار[٤] (حاوی ال-سیستئین) پخش گردید. پلیت ها در ۳۷ c° درون جار بی هوازی بمدت ٤٨ ساعت قرار گرفت. کلنی ها شمارش شد و با توجه به ضریب رقت تعداد باکتری در هر میلی لیتر سوسپانسیون ها تعیین گردید. از این سوسپانسیون به خمیر نان باگت به مقادیر درج شده در جدول(۵) اضافه شد[۱۳].

۲-۲-۲ تهیه خمیر باگت

مخلوط ۲۰۰۰ گرم آرد به همراه ٤٠ گرم پودر مخمر نانوایی با اضافه کردن ۲۰ گرم نمک،۲۰ گرم روغن، ۵۰ گرم شکر و ۱۳۰۰ گرم آب تهیه شد[٦].

خمیر به قطعات کوچکتر تقسیم شد. با توجه به وزن قطعات مقدار لازم از سوسپانسیون های باکتریایی طبق جدول تهیه نمونه ها اضافه گردید. به این ترتیب در هر گرم خمیر 10^{7}-10^{8} باکتری (مجموع دو نوع باکتری) اضافه گردید. خمیرها به مدت ۸۰ دقیقه در دمای محیط قرار گرفتند تا مراحل رسیدن را طی کنند[۱۲].

۲-۲-۳- پخت نان

خمیرها درون فر چرخان با دمای ۱۸۰ c° به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند. نان ها پس از ۷ دقیقه برش داده شده و پس از سرد شدن در انکوباتور مرطوب ٦٠c° بمدت ۲۵ دقیقه قرار گرفتند[۳].

۲-۳- آزمون ها

۲-۳-۱- شمارش باکتریهای خمیر

از روش رقت سازی دهگانی و روش کشت پورپلیت[۵] استفاده شده است . ۰/۱ میلی لیتر از رقت تهیه شده در سطح محیط کشت محیط ام آر اس آگار ، بی اف ام[٦] و ای ام بی در دمای ۳۷c° به مدت ٤٨ ساعت و اس دی ای در دمای ۲۵ c° بمدت یک هفته قرار گرفت [٦].

2. MRS Broth
3. model merck Ss-tm-01
4. Mrs agar
5. SPC
6. BFM

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

۲-۳-۲- شمارش باکتری های نان

از هر نوع نان، بلافاصله پس از سرد شدن جهت ارزیابی ماندگاری و... نان، در روزهای ۱، ۳ و ۷ پس از پخت، مقدار ۵ گرم (سه مرتبه تکرار) مطابق جدول شماره (۵) در شرایط آسپتیک برداشته شد و با ۹ میلی لیتر بافر سیترات مخلوط و توسط دستگاه ورتکس یکنواخت شد. ۰/۱ گرم از هر نمونه از سوسپانسیون نمونه های نان در سطح محیط کشت های مورد نظر کشت شد[٦].

رابطه (۱) تعداد کلنی در هرمیلی لیتر(cfu/gr) = تعداد کلنی × عکس فاکتور رقت

۲-۳-۳- اندازه گیری خواص شیمیایی

۲-۳-۳- ۱- اندازه گیری pH و رطوبت

برای اندازه گیری pH از دستگاه pH متر استفاده شد[٦].

رطوبت نان، با اندازه گیری (اختلاف) وزن قبل و پس از خشک شدن بدست آمد [٦].

ارزیابی حسی توسط ارزیابی اثر۵ تیمار بر روی ویژگی های نان شامل: بافت، طعم و مزه، عطرو بو، بیاتی و رنگ، توسط ۹ ارزیاب ثابت و متخصص در زمینه ی صنایع غذایی انجام شد و ارزیاب ها از کمترین اهمیت تا بیشترین اهمیت امتیاز ۱ تا ۹ دادند . در مرحله بعدی ، مجموع امتیازات نمونه ها و همچنین اختلافات هر یک از آنها در مورد هر ویژگی ذکر شده در سطح ۵ درصد مقایسه گردید[٦] .

برای تحلیل واریانس نتایج از نرم افزارSPSS و رویه GLM (مدلهای خطی عمودی) استفاده گردید[٦] .

۳- نتایج

۳-۱- شمارش زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بعد از یک هفته نگهداری در دمای ٤ ˚c

با توجه به نتایج نمودار خطی (۱) سینتیک و جدول شماره (٦) شمارش زنده مانی سویه ی *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* در طی مدت زمان نگهداری برای تیمار ها یکسان نبوده است وبیشترین میزان زنده مانی در طول مدت تخمیر و در روز اول در نمونه های دارای پری بیوتیک مشاهده شد و کمترین میزان زنده مانی در روز هفتم در نمونه های فاقد پری بیوتیک مشاهده شده است، همچنین زنده مانی سویه های در طی نگهداری کاهش معنی داری داشته است($p < ۰/۰۵$).

Table 1 Comparing the average main effect of counting Lactobacillus acidophilus on the concentration of bacteria (SD± Mean)

Concentration of the *Lactobacillus acidophilus* strain log(*cfu/gr*)	**Storage time** (*Days*)
$3.708\times10^{6}\pm2.06\times10^{6\ a}$	1
$2.230\times10^{6}\pm1.23\times10^{6\ ab}$	3
$1.561\times10^{6}\pm1.25\times10^{6\ b}$	7

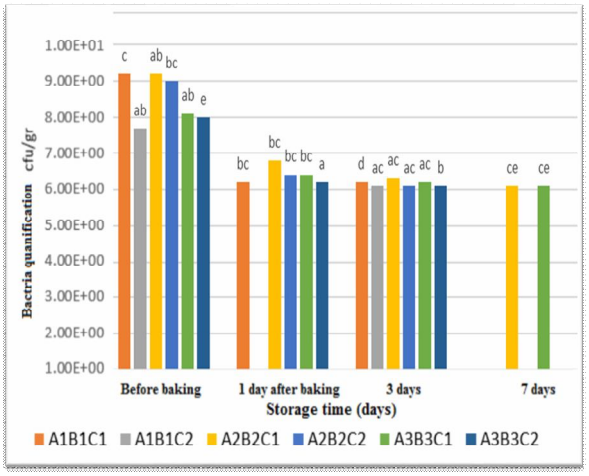

Fig 1 Kinetics of *Lactobacillus acidophilus* strain survival during storage.

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

۳-۲- شمارش زنده مانی *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* بعد از یک هفته نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی گراد

با توجه به نتایج نمودار خطی (۲) سینتیک و جدول شماره (٦) شمارش زنده مانی سویه ی *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

طی مدت زمان نگهداری برای تیمار ها یکسان نبوده است و بیشترین میزان زنده مانی در طول مدت تخمیر و در روز اول در نمونه های دارای پری بیوتیک مشاهده شد و کمترین میزان زنده مانی در روز سوم و هفتم در نمونه های فاقد پری بیوتیک مشاهده شده است، همچنین زنده مانی سویه های در طی نگهداری کاهش معنی داری داشته است($p < ۰/۰۵$).

Table 2 Compare the mean of the main effect of counting *Bifidiobacterium animalis* bacteria on the density of bacteria presence (SD+/- Mean)

Density of the strain of *Bifidiobacterium animalis* bacteria *log* (*cfu/gr*)	**Preservation time** (Day)
$4.800 \times 10^6 + 3.00 \times 10^6$ [a]	1
$3.525 \times 10^6 + 1.00 \times 10^6$ [ab]	3
$2.222 \times 10^6 + 1.00 \times 10^6$ [b]	7

Fig 2 Kinetics of *Bifidobacterium animalis* strain survival during storage

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

۳-۳- نتایج شیمیایی بدست آمده بعد از یک هفته نگهداری در دمای ٤ c°

با توجه به نتایج نمودار خطی (۳و٤) سینتیک ارزیابی شیمیایی تیمارها، همانطور که انتظار می رفت میزان pH نمونه ها افزایش معنی داری داشته ($p < ۰/۰۵$). ومابقی فاکتور ها چون رطوبت و... کاهش معنی داری مشاهده شد ($p < ۰/۰۵$).

Table 3 Compare the mean of the main effect of PH on the density of bacteria presence (SD± Mean)

Effect of pH	**Storage time** (Day)
5.3250 ± 0.32509 [a]	1
5.4017 ± 0.15643 [ab]	3
5.4983 ± 0.26361 [ab]	7

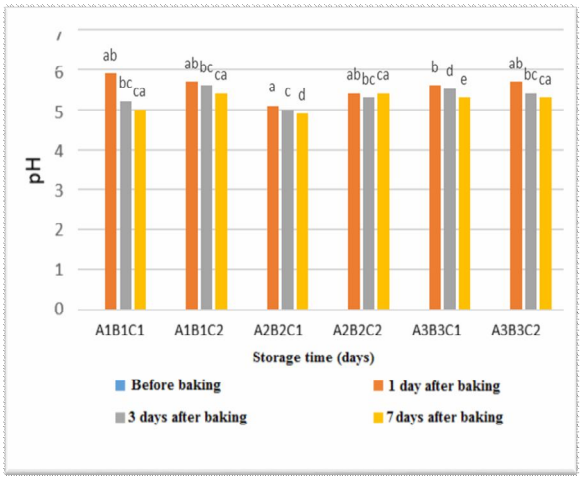

Fig 3 Kinethics of pH changes during storage

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

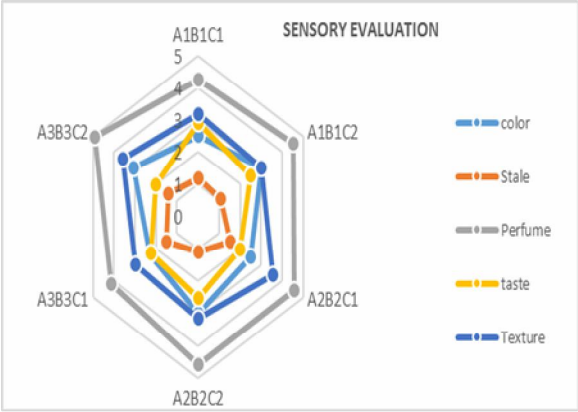

Fig 5 Kinetics of Sensory evaluation survival during storage
($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

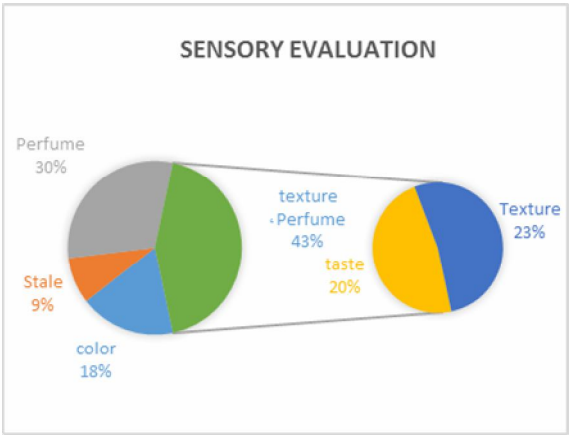

Fig 6 Kinetics of Sensory evaluation survival during storage

همانگونه که مشاهده می گردد. ارزیابی حسی نان در طی نگهداری تغییر معنی داری نداشته است ($p > ۰/۰۵$).
مشخصات تیمار های متغییر مورد بررسی و ارزیابی در جدول ۵ آمده است.

Table 4 Comparign the average main effect of moisture content on the concentration of bacteria (SD±Mean)

Density of humidity	**Storage time** (Day)
24.4167± 4.05549[b]	7
27.6667± 3.62650[a]	3
29.0417±4.47679 [ab]	1

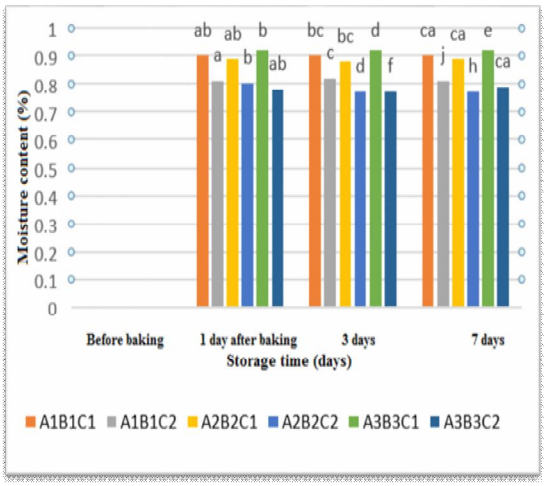

Fig 4 Kinetics of moisture changes during storage

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

با توجه به نتایج نمودار خطی (۵و۶) سینتیک ارزیابی حسی نان در طی نگهداری نتایج نشان می دهند که روند تغییرات حسی نان در طی مدت زمان نگهداری پس از تخمیر برای تیمارها یکسان بوده است. ۶ نوع نان توسط ۹ نفر به مصرف رسید. تفاوت حسی توسط افراد بین انواع نان از نظر مزه و بافت گزارش نشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

Table 5 Variable treatments

Inulin	*Bifidobacterium animalis* (cfu/gr)	*Lactobacillus acidophilus* (cfu-gr)	Treatment	Row
٪4	٪ 75	٪ 25	$A_1B_1C_1$	1
–	٪ 75	٪ 25	$A_1B_1C_2$	2
٪4	٪ 25	٪ 75	$A_2B_2C_1$	3
–	٪ 25	٪ 75	$A_2B_2C_2$	4
٪4	٪ 50	٪ 50	$A_3B_3C_1$	5
–	٪ 50	٪ 50	$A_3B_3C_2$	6

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

نتایج شمارش باکتری ها در جدول (٦) آورده شده است.

Table 6 Counting the bacteria in a variety of bread samples immediately after baking and on days 1, 3 and 7

Non-lactic total bacteria (cfu/gr)			*Bifidobacterium animalis* (cfu/gr)			*Lactobacillus acidophilus* (cfu-gr)			Treatment
DAY 7	DAY 2	DAY 1	DAY 7	DAY 2	DAY 1	DAY 7	DAY 2	DAY 1	
۰	۰	3×10^6	۰	7×10^6	14×10^6	۰	2×10^6	2×10^6	**$A_1B_1C_1$**
۰	۰	۰	۰	1×10^6	3×10^6	۰	1×10^6	0×10^6	**$A_1B_1C_2$**
۰	۰	4×10^6	۰	1×10^6	2×10^6	1×10^6	3×10^6	8×10^6	**$A_2B_2C_1$**
۰	۰	1×10^6	۰	1×10^6	۰	۰	1×10^6	4×10^6	**$A_2B_2C_2$**
1×10^6	1×10^6	5×10^6	۰	4×10^6	8×10^6	1×10^6	2×10^6	4×10^6	**$A_3B_3C_1$**
۰	۰	3×10^6	۰	1×10^6	3×10^6	۰	1×10^6	2×10^6	**$A_3B_3C_2$**

* Three samples from Hernan were tested every day. The results listed in each row and column have an average of 3 replays.

($A_1B_1C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75, Inulin=%4) , ($A_1B_1C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%25, *Bifidobacterium animalis*=%75) , ($A_2B_2C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25, Inulin=%4) , ($A_2B_2C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%75, *Bifidobacterium animalis*=%25,) , ($A_3B_3C_1$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50, Inulin=%4) , ($A_3B_3C_2$): (*Lactobacillus acidophilus* =%50, *Bifidobacterium animalis*=%50)

٤-نتیجه گیری و بحث

٤-١- تغییرات زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس* درطول نگهداری

در فرآیند شمارش باکتری های زنده یک جریان هم جهت در بیات شدن نان و کم شده میزان باکتری های زنده وجود داشته، همچنین زنده مانی باکتری ها در حضور پری بیوتیک اینولین نشان دهنده ی تاثیر مثبت حضور پروبیوتیک در کنار پریبیوتیک در جهت افزایش راندمان زنده مانی باکتری ها است .

دربندی‌زاده و همکاران در سال (۱۳۹۲) بیان نمودند که فرآیند درون پوشانی تاثیر مثبتی در زنده نگهداشتن سویه های باکتری پروبیوتیکی داشته همچنین زنده مانی پروبیوتیک در طول پروسه پخت بسرعت کاهش یافت .

همچنین براساس نتایج Soukoulis و همکاران در سال (٢٠١٤) بیان نمودند ، که تغییرات فیزیکی و شرایط ماتریس پوسته ، ترکیب فیلم های خوراکی در نان در طول ذخیره سازی صورت می پذیرد و این تغییرات همواره با مهاجرت رطوبت از هسته به سطح نان و... همراه است .

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

نعمت شاهی و همکاران ، در سال (۱۳۹۳) بیان نمودند ، در ارزیابی تکنیک های کپسوله کردن پروبیوتیک ها ، متداولترین تکنیک فرآوردههای تخمیری انکپسوله کردن بوده زیرا این روش ها ارزان ،پرکاربرد، سریع و آسان با صرف زمان کم و قابلیت افزایش زنده مانی پروبیوتیک را در طی پروسه پخت افزایش می دهد.

Ribeiro Dias *et al.*,(2017) ، بیان نمودند ، در ارزیابی تاثیر درون پوشانی بر غذاهای بیولوژیکی ، پری بیوتیک تاثیر بسزایی در بهبود عملکرد پروبیوتیک ها در درون پوشانی داشته است. همچنین بیان کردند، جهت درک تاثیرات مثبت درون پوشانی بر زنده مانی سویه های پروبیوتیکی می توان تاثیرات زنده مانی را در حضور و عدم حضور پری بیوتیک در فرآورده ی نهایی در طی پروسه پخت و پس از آن ارزیابی کرد.

تحقیقات نشان می دهند اثرات سلامت بخش محصولات تخمیری عملگرا به دلیل وجود میکروارگانیسم ها، باکتری ها، مخمرها و عملکرد آنها در بدن میزبان می باشد از این رو فرآورده هایی بر پایه غلات قابلیت زیستی پروبیوتیکی شان بیشتر از فرآورده های لبنی است و از طرف دیگر در مقایسه با فرآورده های لبنی از خواص حسی مطلوبی برخورد است و از نقطه نظر برخی از مواد مغذی نظیر ویتامین ها، فیبرهای رژیمی و املاح غنی تر هستند [۸] .

در ارزیابی های صورت گرفته بروی تیمار ها پس از پخت طبق (جدول ٦) بیشترین میزان سویه های شمارش شده *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس* مربوط به تیمار $A_2B_2C_1$ (دارای پری بیوتیک اینولین) (۷۵٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۲۵٪ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*) و کمترین میزان شمارش شده مربوط به تیمار $A_2B_2C_2$ (فاقد پری بیوتیک اینولین) (۷۵٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۲۵٪ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*) است، همچنین بیشترین میزان سویه های شمارش شده *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* مربوط به تیمار $A_1B_1C_1$ (دارای پری بیوتیک اینولین) (۲۵٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۷۵٪ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*) و کمترین میزان شمارش شده مربوط به تیمار$A_2B_2C_2$ (فاقد پری بیوتیک اینولین) (۷۵٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۲۵٪ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس*) است. همچنین بررسی ها بیانگر تاثیر مثبت حضور اینولین بر زنده مانی سویه ها است .

در بررسی های شیمیایی میزان pH در کلیه تیمارها افزایش یافت ($p>۰/۰۵$). ولی فاکتور های چربی ، رطوبت و اسیدیته در طی نگهداری در کلیه تیمار ها کاهش یافت ($p<۰/۰۵$).

۵- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق مانند پروتئین، اسیدیته، چربی،خاکستر، رطوبت، pH ، فیبر خام، عدد فالینگ، عدد زلنی، زنده مانی باکتری پروبیوتیک، تاثیرات حضور و عدم حضور اینولین، بررسی آزمون های میکروبی و شیمیایی پس از تخمیر و نگهداری در دمایC° ٤ بررسی شد. سویه های درون پوشانی شده در دو سطح cfu/ml $۱۰^{۷}$-$۱۰^{٦}$ و با درصد های باکتری پروبیوتیک (*لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس*) ۲۵٪و ۷۵٪ در حضور و عدم حضور اینولین٤٪ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله شامل :

۱.دمای بهینه و رشد باکتری ها با قابلیت زیستی بالا، c° ۳۷ به مدت ۷۲ ساعت می باشد .

۲. در طی تخمیر باکتری های پروبیوتیک به دلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در نان افزایش یافت. این در حالی بود که مقدار pH تغییری نداشت ($p>۰/۰۵$)، مقدار چربی کاهش جزئی داشت ($p<۰/۰۵$) و بقیه موارد تغییری نداشتند ($p>۰/۰۵$).

۳. پس از اعمال فرآیند پخت نان، میزان زنده مانی، رطوبت، خاکستر، فیبرخام، پروتئین، اسیدیته چربی با کاهش جزئی همراه بود ($p<۰/۰۵$) .

٤. همچنین پس از اعمال فرآیند پخت pH با افزایش(تغییر معنی دار)همراه بود ($p>۰/۰۵$)

۵. میزان توصیه شده زنده مانی سویه های *لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس* از سوی سازمان غذا و دارو cfu/ml $۱۰^{۸}$-$۱۰^{٦}$ می باشد. پس از بررسی انجام شده، کمترین میزان زنده مانی سویه های میکروبی در تیمارهای فاقد اینولین و بیشترین میزان زنده مانی سویه های میکروبی در تیمارهای دارای اینولین مشاهده شده است و تیمار$A_1B_1C_1$ (۲۵٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۷۵٪ *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* و ٤٪ اینولین) با درنظر گرفتن تاثیر مثبت اینولین و شرایط نگهداری در دمایC° ٤ و تراکم باکتری cfu/ml $۱۰^{۷}$ به عنوان تیمار برتر شناخته شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

٦- منابع

[1] Mirdamadi- S.,(2011), Investigating the Effect of Probiotics on Intestinal Flora, the First National Symposium on Probiotic and Industrial Products, Iranian Scientific and Industrial Research Organization, Biotechnology Research Institute.

[2] Pajooh-A .,(2012), The effect of adding inulin on the rheological properties of macaroni dough, the second national probiotic congress and supplemented foods.

[3] Naeimi- E .,(2013), The Effect of Inulin Addition and Microfillation on the Lactobacillus Casio Lactate Survival Rate during the Maintenance Period of Sinebiotic Ice Cream, Journal of Food Science and Technology, Vol. 40, 10, p. 12-18.

[4] Pimanfar-Sh.,(2008), Investigation of probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from cold pressed corn and rice bran and coating them with peri-biotype polymers in order to increase their stability. Isfahan University of Science and Technology (Basic Sciences), Vol. 36, No. 6, pp. 232-223.

[5] Pasrija –D .,(2015). Microencapsulation of green tea polyphenols and its effect on incorporated bread quality, Jornal of sciencedirect,8.289-296 .

[6] Mohammadi, Y.,(2014), Advantages of Using Milk Proteins as Covering in Prodifferent Disposer, The 2nd National Probiotic Conference and Supplemental Foods, Islamic Azad University of Shahriar.

[7] Noedust, B.,(2016) , Nanocapsulations of Green Tea Extract by Thin Film Layer and its Antioxidant and Antimicrobial properties, Journal of Food Hygiene, Quarterly Journal of Scientific Research Agriculture), Year 6, No. 2 (22), Pages 1-12.

[8]Ganjori, M.,(2012), Enrichment of Bulk Breads with Probiotic Potency Bacillus, Journal of Research in Biotechnology, Tarbiat Modares University, Volume 3, Issue 1, Pages 46-37.

[9] Paineau- D .,(2008) . Effects of seven potential probiotic strains on specific immune responses in healthy adults: a double-blind, randomized, controlled trial , Jornal of Epub,53:107-13.

[10] Ribeiro Dias –D.,(2017) Encapsulation as a tool for bioprocessing of functional foods, Jornal of Food science,13.31-37.

[11] Marbini- S ., (2013), A review of cereal-based probiotic processes, Journal of Industrial Flour and Food, Ninth Year, No. 70, p. 70.

[12] Ying- d., (2016). Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics, Jornal of Food science,12.112-12.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]

Study of Production possibility Of synbiotic baguette bread with Inulin and microencapsulated strains Of *Lactobacillus acidophilus* And *Bifidobacterium animalis*

Belish Mayahi, K. [1*], Hashemiravan, M. [2], Eshaghi, M. R. [3]

1. Masters student, Department of Biotechnology - Food, 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. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch , Islamic Azad University, Varamin - Iran

(Received: 2018/01/31 Accepted:2018/09/02)

Bread is the main food of the world, probiotics are living microorganisms. Which, if used sufficiently, causes the health effects of the host. Probiotic enrichment of bread increases the health of the community. Synbiotic bread was added to the microbial suspension, supplemented strains of probiotic bacteria (Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium animalis with a ratio of 25% and 75% and density of 10^8cfu / gr) and 4% of inulin perindicum (in inulin treatments). The fermentation process was carried out at 25°C for 80 minutes. Proteins such as protein, acidity, fat, ash, moisture, pH, crude fiber, Faling number, Zeleny number, probiotic bacterial viability, effects of presence and absence of inulin on time After fermentation during 7.31 days, microbial and chemical tests were performed at 4ºC. Data were analyzed using SPSS software and GLM (Vertical Linear Models), including 6 treatments with 3 replications. During fermentation, the probiotic population increased (10^8 cfu / gr bacteria per 5 g) increased significantly due to the use of reducing sugars and nutrients ($p > 0.05$). After applying heat, , there was a significant viability decreased ($p < 0.05$), Significant increase was observed in pH ($p > 0.05$), Fat, moisture and acidity were significantly decreased during storage($p < 0.05$). Significant changes were not observed in sensory evaluation. $A_1B_1C_1$ treatment (25% *Lactobacillus acidophilus* and 75% *bifidobacterium animalis* and 4% inulin) and 10^7 cfu / gr treatment were selected as superior treatment.

Key words: Synbiotic Bread, Microencapsulation, *Lactobacillusacidophilus, Bifidobacterium animalis* , Inulin

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

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-20]