



## بررسی اثر اینولین بر زنده‌مانی سویه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۱۷-۴ در بستنی عملگر و ارزیابی ویژگی‌های میکروبی و فیزیکوشیمیایی آن

حسین جوینده<sup>۱\*</sup>، بهروز عزیزاده بهبهانی<sup>۲</sup>، محمد نوشاد<sup>۲</sup>

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

### چکیده

### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۰/۰۳

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۸

کلمات کلیدی:

سین بیوتیک،

لاکتوباسیلوس فرمنتوم،

اینولین،

فراسودمند.

DOI: 10.52547/fsct.18.04.07

\* مسئول مکاتبات:

hosjooy@asnrukh.ac.ir

بستنی یک محصول غذایی منحصر به فرد است که محبوبیت زیادی در ایران و سراسر جهان دارد. پژوهش های فراوانی جهت تبدیل این ماده غذایی، به محصولی فراسودمند از طریق افزودن باکتری های پروبیوتیک، کاهش چربی، افزایش ماده خشک و بهبود خواص سلامتی بخشی صورت گرفته است. بستنی پروبیوتیک، حاوی سلول های میکروبی زنده است که از قابلیت خوبی برای توزیع پروبیوتیک ها در میان مصرف کنندگان برخوردار است. در این پژوهش بستنی سین بیوتیک حاوی سویه لاکتوباسیلوس فرمنتوم سویه ۴-۱۷ و اینولین در سطوح صفر، ۲/۵ و ۵ درصد تهیه شد. آزمون های میکروبی، اندازه گیری ماده خشک، افزایش حجم، تعیین pH و اسیدیته، تعیین سرعت ذوب و پارامترهای بافتی مورد بررسی قرار گرفت. بررسی رشد باکتری پروبیوتیک طی ۹۰ روز ماندگاری در نمونه های مختلف نشان داد که میزان زنده ماننی این سویه در حضور ۵ درصد اینولین حدود دو واحد لگاریتمی بیشتر از نمونه تولید شده با ۲/۵ درصد اینولین و حدود ۵ واحد لگاریتمی بیشتر از نمونه کنترل بود. محدوده pH بین ۶/۸ تا ۵/۸، اسیدیته ۱۹ تا ۲۵ درجه دورنیک، ماده خشک بین ۳۶/۱۴ تا ۶۱/۳ درصد و افزایش حجم نیز ۱۵/۸۵ تا ۳۴/۳۸ درصد بود. به دلیل افزایش ویسکوزیته ظاهری و کاهش سرعت ذوب (از ۱/۸۹ به ۰/۷۴ گرم بر دقیقه)، بهبود خواص بافتی (۵۵ درصد افزایش سختی، ۶۹ درصد کاهش چسبندگی و ۲۹ درصد افزایش انسجام) و همچنین افزایش مطلوبیت محصول طی ذخیره سازی در سطح اطمینان ۹۵ درصد، می توان از اینولین به عنوان یک جایگزین برای چربی و بهبود دهنده بافت با مطلوبیت مناسب در تهیه این محصول استفاده نمود.

## ۱- مقدمه

غذا نقش مهمی در سلامت انسان داشته و می‌تواند سبب پیشگیری از انواع بیماری‌ها شود. تمایل روز افزون برای داشتن زندگی سالم‌تر و جلوگیری از تحمیل هزینه‌های سنگین درمان، انسان را به سمت مصرف غذاهایی که علاوه بر خواص تغذیه‌ای پایه، دارای خواص سلامتی بخش نیز باشند، گرایش داده است. چنین ویژگی‌هایی را در گروه جدیدی از مواد غذایی تحت عنوان غذاهای فراسودمند می‌توان یافت [۱].

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف مقادیر مشخص ( $10^8$  CFU) از آن‌ها، آثار سلامتی‌بخشی بر میزبان خواهند داشت. در گذشته از پروبیوتیک‌ها به عنوان مواد ترشح شده به وسیله‌ی یک میکروارگانیسم که محرک رشد میکروارگانیسم دیگر می‌باشد، استفاده می‌شد. امروزه پروبیوتیک‌ها مکمل‌های میکروبی تعریف می‌شوند که با اصلاح تعادل فلور میکروبی روده اثر مثبتی در میزبان ایجاد می‌کنند. از آثار پروبیوتیک‌ها بر سلامتی انسان می‌توان به بهبود در قابلیت هضم شیر در افراد مبتلا به عدم تحمل لاکتوز، تنظیم سیستم ایمنی بدن، تولید ویتامین‌های گروه B، تولید پپتیدهای ضد میکروبی، افزایش ایمنی بدن و جلوگیری از سرطانی شدن سلول‌ها اشاره نمود [۲].

میکروارگانیسم‌هایی که عمدتاً به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند متعلق به خانواده باکتری‌های اسید لاکتیک و همچنین جنس بیفیدوباکتریوم<sup>۲</sup> می‌باشند. میکروارگانیسم‌های دیگری که کمتر به عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شوند شامل جنس‌های استرپتوکوکوس<sup>۳</sup>، لاکتوکوکوس<sup>۴</sup>، باسیلوس<sup>۵</sup> و ساکارومایسس<sup>۶</sup> می‌باشند. مقاومت به اسید و نمک صفراوی از مهمترین ویژگی‌های پروبیوتیک‌ها می‌باشد [۳]. پروبیوتیک به کار رفته در این پژوهش لاکتوباسیلوس فرمنتوم<sup>۷</sup> جدا شده از ترخینه می‌باشد که ویژگی‌های پروبیوتیکی آن قبلاً اثبات شده است [۲].

مفهوم پری‌بیوتیک توسط گیسون و رابرفرود در سال ۱۹۹۵

ارائه گردید. این ترکیبات به عنوان ترکیبات غذایی غیرقابل هضم که با تحریک انتخابی رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در کولون، میزبان را به طور مفید تحت تأثیر قرار می‌دهند [۴]. در تعریفی دیگر، پری‌بیوتیک‌ها منابع غذایی کربوهیدراته غیرقابل هضم انتخابی هستند که رشد و تکثیر باکتری‌هایی مانند بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل را تحریک می‌کنند. از این رو می‌توانند به طور مستقیم سلامتی انسان را تحت تأثیر قرار دهند [۵]. پری‌بیوتیک‌ها الیگوساکاریدهایی هستند که از ترکیبی از الیگومرهای هگزوز با ظرفیت پلیمریزه شدن متغیر تشکیل شده‌اند. الیگوساکاریدها ممکن است به طور طبیعی در برخی مواد غذایی مانند میوه‌ها و سبزی‌ها وجود داشته باشند، یا اینکه با بیوستز قندهای طبیعی پلی‌ساکاریدها تولید شده و به دلیل خواص تغذیه‌ای به فرآورده‌های غذایی اضافه شوند. الیگوساکاریدهایی که در مواد غذایی وجود دارند از نظر ساختار شیمیایی متفاوت می‌باشند، به ویژه از نظر درجه پلیمریزاسیون (از ۲ تا ۲۰) و یا نوع هگزوز (گلیکوزیل، فروکتوزیل، گالاکتوزیل و زایلوزیل). از جمله الیگوساکاریدهای پری‌بیوتیکی می‌توان به فروکتو-الیگوساکاریدها، ترانس-گالاکتو-الیگوساکاریدها، گلوکو-الیگوساکاریدها، اینولین، لاکتولوز، لاکتوسوکوروز، مالتو-الیگوساکاریدها، لاکتیتول، پیرو دکسترین‌ها، الیگوساکاریدهای سویا، زایلو-الیگوساکاریدها اشاره نمود [۶]. در بین پری‌بیوتیک‌ها، اینولین دارای بیشترین وزن مولکولی بوده و از تعداد زیادی از واحدهای کربوهیدراتی تشکیل شده است. اینولین‌های گیاهی عموماً شامل ۲ تا ۱۴۰ واحد فروکتوز با درجه پلیمریزاسیون متفاوت می‌باشند. در حدود ۱۰ نوع الیگوساکارید غیر قابل هضم به طور تجارتي در دسترس می‌باشد که اغلب یافته‌های علمی از اینولین، فروکتو-الیگوساکاریدها و گالاکتو-الیگوساکاریدها حمایت می‌کنند. اصطلاح فروکتو-الیگوساکارید به عنوان یک نام عمومی برای تمامی الیگوساکاریدهای با جذب کم بوده که به طور اصلی از فروکتوز ساخته شده‌اند. اینولین و الیگوفروکتوز شکل‌های متداول فروکتو-الیگوساکارید هستند. اینولین پلی‌ساکاریدی است که با تحریک رشد پروبیوتیک‌ها و بدین ترتیب تولید اسید چرب کوتاه زنجیر و کاهش pH روده از فعالیت پاتوژن‌ها و جذب کلسترول جلوگیری کرده و موجب کاهش سرطان کولون و افزایش جذب کلسیم و

1. Colony forming unit
2. Bifidobacterium
3. Streptococcus
4. Lactococcus
5. Bacillus
6. Saccharomyces
7. Lactobacillus fermentum

منیزیوم می‌گردد. بنابراین اینولین یک ترکیب پری‌بیوتیک محسوب می‌شود [۷]. به علاوه، امروزه استفاده از اینولین به عنوان جایگزین چربی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. علت به‌کارگیری جایگزین‌های چربی نظیر اینولین [۸] و سایر ترکیبات نظیر پروتئین‌های با ارزش آب‌پنیر [۹] در فرمولاسیون مواد غذایی، تولید فراورده‌های کم‌چرب با همان ویژگی‌های حسی محصولات پرچرب است [۱۰].

بستنی سیستم پیچیده کف‌مانندی است که حباب‌های کوچک هوا در فاز پیوسته‌ای که تا حدی منجمد شده پراکنده می‌باشند. بستنی سین‌بیوتیک حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و ترکیبات پری‌بیوتیک است و می‌تواند اثرات مفیدی بر سلامتی انسان به ویژه کودکان که مصرف کنندگان اصلی این محصول هستند داشته باشد [۵]. در این پژوهش بستنی سین‌بیوتیک تهیه شد و ویژگی آن‌ها با گروه کنترل که بستنی معمولی بود، مورد مقایسه قرار گرفت. هدف از این پژوهش، بررسی اثر اینولین بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک و ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی بستنی سین‌بیوتیک بود.

## ۲- مواد و روش

### ۲-۱- بررسی ویژگی‌های پروبیوتیکی سویه

#### لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۱۷-۴

این سویه از ماده غذایی ترخینه جداسازی شد و با آزمون‌های بیوشیمیایی (رشد در دمای ۱۰ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، رشد در غلظت ۶/۵ درصد نمک، تولید کربن دی‌اکسید، رشد در pH های ۴/۹ و ۹/۹) و تخمیر کربوهیدرات تعیین جنس و سپس با استفاده از پرایمرهای عمومی 27FY و 1492R تعیین گونه و سویه شد. ویژگی‌های پروبیوتیکی که برای این سویه مورد بررسی قرار گرفت شامل مقاومت به اسید، مقاومت به نمک صفراوی، فعالیت ضد میکروبی، زنده‌مانی در شرایط زنده‌مانی اسید روده و معده، هیدروفوبیسیته و چسبندگی به سلول‌های Caco-2 بود [۲].

### ۲-۲- تولید بستنی سین‌بیوتیک

بستنی سین‌بیوتیک حاوی باکتری پروبیوتیک سویه لاکتوباسیلوس فرمنتوم ۱۷-۴ و نیز افزودن اینولین در درصدهای صفر، ۲/۵ و ۵ درصد تولید گردید. زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ویژگی‌های میکروبی آن طی ۹۰ روز نگهداری در

دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. برای فرمولاسیون بستنی از شیر پاستوریزه، خامه سنگین (۴۰٪ چربی)، شیر خشک، شکر، پایدارکننده و امولسیون‌کننده (پالساگارد<sup>۱</sup>)، طعم‌دهنده (وانیلین) و اینولین در درصدهای مختلف استفاده شد. در ابتدا شیر و خامه وارد تانک فرمولاسیون شده و به آرامی حرارت داده شد. وقتی که دما به ۵۰ درجه سانتی‌گراد رسید، شیر خشک بدون چربی و پالساگارد با نصف شکر به آن اضافه شد و در حالی که به وسیله همزن (GermanySunny, Model SM-) به مدت ۳ دقیقه کاملاً مخلوط شده، مواد طعم‌دهنده افزوده شده و سپس مخلوط بستنی در یک هموژنایزر (Turrax T25D IKA, GermanyUltra) همگن شده و در دمای ۶۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزاسیون صورت گرفت. سپس تا دمای ۳۰ تا ۴۰ درجه سانتی‌گراد به منظور افزودن باکتری پروبیوتیک خنک و به مدت ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری و سپس ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد تا فرآیند رسیدن مخلوط انجام پذیرد. در نهایت به دستگاه بستنی‌ساز غیرمداوم (ICK5000, Delonghi, Italy) وارد و به مدت ۲۰ دقیقه توسط دستگاه هم‌زده شد تا آمیخته تبدیل به بستنی شود. بستنی تولیدی در ظروف مخصوص تقسیم و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۱۱ و ۱۲].

### ۲-۳- آزمون میکروبی

به منظور ارزیابی ماندگاری پروبیوتیک‌ها در محصول، به فاصله هر ۱۰ روز از محصول نمونه‌برداری، کشت و شمارش شد. این عمل به مدت ۳ ماه (۹۰ روز) صورت گرفت. جهت کشت و شمارش میکروبی از محیط MRS آگار (کیولب، کانادا) استفاده شد [۱۳].

### ۲-۴- اندازه‌گیری ماده خشک

برای اندازه‌گیری ماده خشک ابتدا دما به ۲۵ درجه سانتی‌گراد رسانده شد و نمونه‌ها کاملاً همگن گردید و ظروف مخصوص نمونه که از قبل به مدت ۳۰ دقیقه در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد خشک شده بودند توزین شدند. ۲ تا ۳ گرم از هر نمونه به ظروف اضافه شد. سپس ظروف در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ ساعت قرار داده شدند و پس از سرد کردن در دسیکاتور و توزین، ماده خشک محاسبه شد [۱۴].

1. Palsgaard

## ۲-۵- آماده سازی میکروارگانیزم

ابتدا سویه مورد نظر بر محیط کشت MRS agar انتقال و کشت خطی داده شد و انکوباسیون به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. پس از تشکیل تک کلنی، به محیط کشت MRSbroth، داخل لوله فالكون‌های مخصوص سانتریفیوژ انتقال داده شد و مجدد انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. عمل سانتریفیوژ کردن با دور ۶۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد صورت‌پذیرفت. این عمل دوتا سه بار شست و شو با سیلین استریل صورت گرفت و بعد از آماده سازی مواد اولیه به بستنی افزوده شد [۱۳].

## ۲-۶- اندازه‌گیری pH

pH نمونه‌ها با استفاده از دستگاه pH متر SH 2004 اندازه‌گیری شد.

## ۲-۷- اندازه‌گیری اسیدیته

۱۰ میلی‌لیتر از نمونه، قبل از انجماد برداشته و در حضور فنل فتالین<sup>۱</sup> با سود ۱/۹ نرمال تا ظهور رنگ صورتی تیترا گردید. میزان اسیدیته برحسب درجه دورنیک مطابق با معادله زیر، محاسبه شد [۱۵].

میلی‌لیتر سود مصرفی  $\times 100 =$  اسیدیته (برحسب دورنیک)

## ۲-۸- اندازه‌گیری میزان افزایش حجم

برای اندازه‌گیری مقدار افزایش حجم بستنی از طبق روش استاندارد ملی ایران شماره ۲۴۵۰-۱۳۸۷ روش وزنی استفاده شد. به این شکل که هر ۵ دقیقه یک بار از دستگاه بستنی‌ساز نمونه‌گیری و توزین شده و بر حسب معادله زیر محاسبه گردید.

= افزایش حجم

$\times 100 =$  (وزن نمونه بعد از انجماد - وزن نمونه قبل از انجماد)

وزن نمونه بعد از انجماد

## ۲-۹- تعیین سرعت ذوب

سرعت ذوب با توزین ۵۰ گرم بستنی منجمد و قراردادن آن بر یک توری ۲ میلی‌متری روی ظرفی با اندازه مشخص، محاسبه شد. پس از مدت ۳۰ دقیقه وزن مایع ذوب شده برحسب درصدی از وزن اولیه به عنوان سرعت ذوب شدن اندازه‌گیری

شد [۱۱].

## ۲-۱۰- اندازه‌گیری پارامترهای بافتی

بافت بستنی بعد از ۳ روز نگهداری در ۲۰-درجه سانتی‌گراد، به وسیله دستگاه بررسی بافت مورد آزمون قرار گرفت. این دستگاه مجهز به یک پروب استوانه‌ای استیل با قطر ۶۵ میلی‌متر و ارتفاع ۴۰ میلی‌متر بود. پروب دستگاه دوبار با سرعت ۱ میلی‌متر در ثانیه و تا ۵۰ درصد ارتفاع پروب به نمونه مورد آزمایش وارد و نتایج توسط نرم‌افزار دستگاه ثبت شد. داده‌های مورد استفاده از بررسی بافت بستنی در این پژوهش شامل سختی<sup>۲</sup>، چسبندگی<sup>۳</sup> و انسجام بود. سطح بیش‌ترین نیروی منفی طی برگشت پروب به عنوان چسبندگی و بیشترین نیروی فشاری طی نفوذ، به عنوان سختی در نظر گرفته شد [۱۶ و ۱۷].

## ۲-۱۱- طرح آماری

آزمایش در قالب طرح فاکتوریل کاملاً تصادفی انجام شد. آنالیز واریانس و آزمون دانکن برای تجزیه و تحلیل داده‌ها در سطح ۵ درصد به کار برده شد. جهت آنالیز داده‌ها از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ استفاده شد.

## ۳- نتایج و بحث

نتایج آزمون‌های پروبیوتیکی نشان داد باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم توانایی زنده‌مانی در pH پایین و شرایط نمک صفراوی را دارا بود. همچنین درصد هیدروفوبیسیته آن ۴۳ و میزان چسبندگی آن به سلول‌های سرطانی Caco-2 ۸/۵ درصد محاسبه شد [۲]. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بستنی‌های تولید شده در شکل ۱، نشان داده شده است. استفاده از اینولین باعث افزایش معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در ماده خشک‌بستنی شده و نمونه‌های حاوی ۵ درصد اینولین، افزایش حجم و سرعت ذوب بالاتری نشان داد. افزایش ماده خشک در اثر افزایش اینولین مربوط به ویژگی آبدوستی و افزایش جذب آب در بستنی می‌باشد. قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های بستنی حاوی ۵ درصد اینولین به صورت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بالاتر از نمونه‌های حاوی ۲/۵ درصد و فاقد آن بود. در این نمونه‌ها تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در روز اول

2. Hardness  
3. Adhesiveness

1. Phenolphthalein

اینولین از لحاظ ویژگی‌های شیمیایی امتیازات بالاتری را کسب کرد. اینولین به دلیل ایجاد شبکه منسجم و کاهش سطح بلورهای یخ موجب تقویت حفره های هوا شده و افزایش حجم را به دنبال دارد وجود حفره های هوا در بستنی موجب بهبود احساس دهانی می‌شود [۱۸-۲۰].

پس از تولید و پس از گذشت ۹۰ روز در شکل ۲، مشخص شده است. تغییر معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در میزان افزایش حجم، سرعت ذوب، pH و اسیدیته نمونه‌های بستنی طی نگهداری به مدت ۹۰ روز مشاهده نشد. نمونه بستنی تولید شده با ۵ درصد اینولین از لحاظ ویژگی‌های فیزیکی و نمونه تولید شده بدون

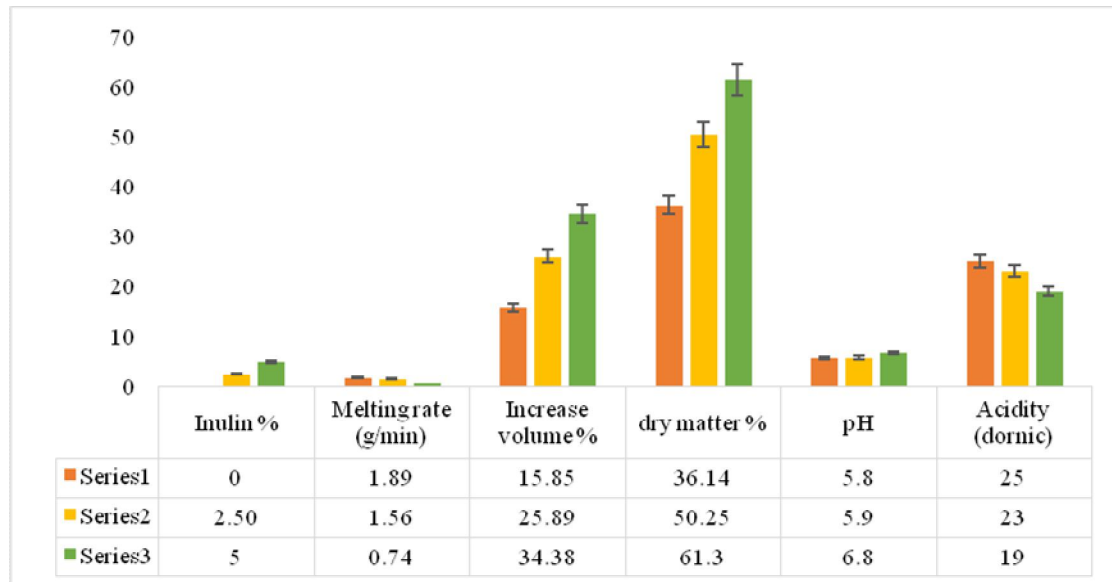


Fig 1 Physicochemical properties of probiotic ice cream with inulin.

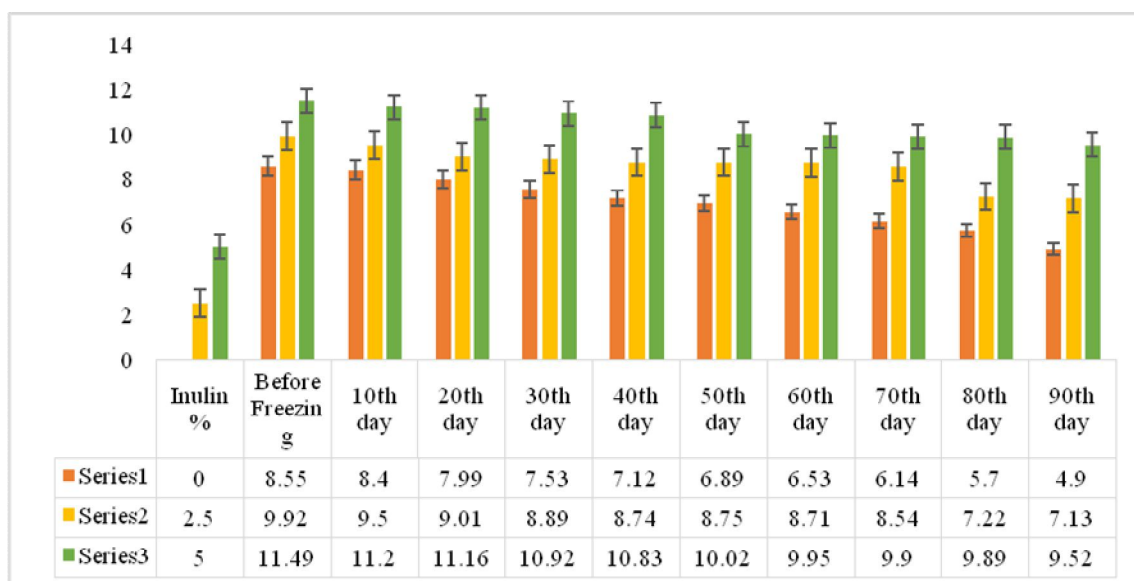


Fig 2 Bacterial count at different time (log colony forming unit/ml)

گوارشی و نیز شرایط تولید مانند دمای انجماد، pH اثر مخرب بر پروبیوتیک‌ها دارد. با این که بستنی حاوی مواد مغذی بوده ولی رشد باکتری پروبیوتیک و تولید اسید در طول دوره نگهداری آن کم ارزیابی شد که به علت کمبود اسیدهای آمینه

دی کریسیسیو و همکاران (۲۰۱۰)، نشان دادند که در بستنی‌های حاوی ترکیبات آبدوست به علت کاهش آزادی عمل مولکول‌ها سرعت ذوب بستنی کاهش پیدا می‌کند. در طول مراحل تولید، نگهداری و مصرف بستنی فراسودمند، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تحت تاثیر قرار می‌گیرد و سیستم

ضروری موجود و ضعف فعالیت پروتئولیتیکی<sup>۱</sup> آن می‌باشد [۲۱].

اکثر محصولات لبنی در محدوده اسیدی قرار دارند. همچنین پروبیوتیک‌ها به هنگام مصرف در ابتدا با شرایط اسیدی معده مواجه می‌شوند؛ بنابراین زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در شرایط اسیدی از اهمیت بیشتری نسبت به شرایط قلیایی برخوردار است. از سوی دیگر برخی از محصولات لبنی مثل بستنی در فرمولاسیون خود دارای مقادیر مختلفی شکر (ساکارز) هستند که زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیکی مورد استفاده در این محصولات ممکن است تحت تاثیر فشار اسمزی ناشی از ساکارز واقع شود. نتایج حاصل از بررسی تاثیر ساکارز بر زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نشان داد که بیشترین رشد مربوط به لاکتوباسیلوس‌ها در غلظت ۱۰ تا ۲۰ درصد بوده است. حضور برخی از قندهای احیا کننده قابلیت رشد و بقای پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد. نتایج به دست آمده از تحقیق سیواسانکری و همکاران (۲۰۱۹)، نشان داد که هرچند ساکارز، احیا کننده نیست با اینحال قابلیت رشد باکتری را افزایش می‌دهد [۲۲]. در مطالعه اسار و همکاران (۲۰۱۹)، نشان داده شد که استفاده از ترکیبات پلی‌ساکاریدی در بستنی پروبیوتیک به دلیل افزودن منبع کربن به آن موجب افزایش زنده‌مانی باکتری می‌گردد [۲۲]. به دلیل ایجاد شرایط گرمخانه گذاری در بستنی پروبیوتیک، زنده‌مانی سویه در بستنی به طور قابل قبولی باقی می‌ماند [۲۳ و ۲۴].

در مرحله انجماد بستنی به اندازه حجم مخلوط، هوا در محصول تزریق می‌شود. بنابراین ضریب انبساط بستنی معمولی در حدود ۱۰۰ درصد است و به عبارت دیگر حجم مخلوط در حین انجماد د و برابر می‌شود. در حدود ۲۱ درصد از هوا را گاز اکسیژن تشکیل می‌دهد، از سوی دیگر باکتری‌های پروبیوتیک اغلب متعلق به گروه بی‌هوازی تا بی‌هوازی اختیاری هستند و اکسیژن مولکولی بر این باکتری‌ها اثر سمی و کشنده دارد. استفاده از ترکیبات جاذب اکسیژن مثل اسید اسکوربیک و بسته‌بندی محصولات لبنی در ظروف غیر نفوذ پذیر نسبت به اکسیژن، از جمله راه‌های کاهش مقدار اکسیژن در این محصولات است. اسید اسکوربیک تاثیر چندانی در فرآورده لبنی ندارد ولی قادر به کاهش مقدار اکسیژن و pH بر پتانسیل اکسید و احیای آن می‌باشد. با کاهش مقدار اکسیژن

محلول، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها افزایش می‌یابد. پراکسید هیدروژن تولید شده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک نیز می‌تواند پتانسیل اکسید و احیای محصولات لبنی را کاهش دهد. این عمل با جذب اکسیژن آزاد و تبدیل پراکسید هیدروژن به آب همراه است. افزودن سیستین و ترکیبات حاوی گروه‌های تیول با کاهش پتانسیل اکسید و احیای محیط، رشد و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهند. اثر کشندگی اکسیژن بر باکتری‌های اسید لاکتیک، ممکن است یک اثر غیرمستقیم باشد. به این ترتیب که پراکسید هیدروژن در حضور اکسیژن به وسیله آنزیم فلاوو پروتئین اکسیداز<sup>۲</sup> موجود در باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌شود که یک متابولیت ثانویه کشنده محسوب می‌شود [۲۵ و ۲۶].

نتایج بررسی میزان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در دماهای مختلف نشان داد باکتری‌ها در دمای نزدیک انجماد با سرعت بیشتری نسبت به دمای پایین‌تر از انجماد از بین می‌روند. بیشترین مقاومت مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی در دمای چهار درجه سانتی‌گراد بود و به طور کلی لاکتوباسیل‌ها نسبت به باقی پروبیوتیک‌ها مقاومت دمایی بیشتری از خود نشان دادند [۲۷]. هاشمی و همکاران (۲۰۱۵)، میزان بقای لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس و باسیلوس کواگولانس<sup>۳</sup> را در بستنی‌های پروبیوتیک و سین بیوتیک طی ۳۰ روز نگهداری در دمای ۲۰- درجه مورد مطالعه قرار دادند و نتیجه‌گیری کردند که تعداد پروبیوتیک‌ها در تمامی نمونه‌ها حدود ۲ تا ۳ سیکل لگاریتمی بود [۲۸].

نتایج حاصل از اندازه‌گیری بافت بستنی در جدول ۱، آورده شده است. سختی، نیروی لازم برای فشردن یک محصول غذایی در بین دندان‌ها میباشد و به عنوان نیروی لازم برای برهم‌زدن شکل داده شده به غذا تعریف شده است. سختی بستنی می‌تواند تحت تاثیر چندین فاکتور قرار گیرد که عبارتند از: نقطه انجماد اولیه، مواد جامد کل، افزایش حجم (اورران<sup>۴</sup>)، و مقدار و نوع پایدار کننده [۲۹]. چسبندگی نیز کار لازم برای غلبه بر نیروهای جاذب بین سطح غذا و سطوح دیگر مثل زبان، دندان و کام می‌باشد و یا به عبارت دیگر کار لازم برای کشیدن غذا از سطوح می‌باشد که این موضوع بیشتر مربوط به ویژگی‌های سطحی بوده و روی اثر ترکیبی نیروهای چسبندگی

2. Flavoprotein oxidase

3. Bacillus coagulans

4. Overrun

1. Proteolytic

و هم چسب و همچنین به عوامل دیگری از جمله ویسکوزیته و ویسکوالاستیک بودن بستگی دارد. انسجام نیاز استحکام باندهای داخلی است که بدنه محصول را تشکیل می‌دهد و هرچه این مقدار بیشتر باشد انسجام محصول بیشتر است. با

توجه به اینکه انسجام نسبت کار انجام شده برای فشردن غذا در دوسیكل متوالی توسط دستگاه است، استفاده از اینولین در محصول باعث کاهش معنی دار چسبندگی و افزایش انسجام نسبت به گروه کنترل شد [۳۰ و ۳۱].

Table 1 Texture parameters of probiotic ice cream with inulin

Hardness (g)	Adhesion (MJ)	Cohesion	Inulin %
573	3.5	0.07	0
642	2.5	0.13	2.5
1273	1.1	2.1	5

استفاده از اینولین در بستنی‌های سین‌بیوتیک باعث افزایش معنی دار ( $p < 0.05$ ) هوادهی، ویسکوزیته و انسجام نسبت به گروه کنترل شد. همچنین به دلیل توانایی آن در اتصال با مولکول‌های آب و تشکیل ژل موجب بهبود بافت دهانی و کاهش نقطه انجماد می‌گردد. از مهمترین باکتری‌های پروبیوتیکی می‌توان به لاکتوباسیلوس فرمنتوم اشاره کرد. استفاده موفقیت آمیز لاکتوباسیلوس‌ها در بستنی توسط تعدادی از پژوهشگران گزارش شده است. پری‌بیوتیک‌ها مانند اینولین، الیگوساکاریدها سوبستراهای تخمیر هستند که اثرات مثبتی نیز در دستگاه گوارش دارند. بستنی قابلیت این را دارد که عامل رساندن پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها به روده باشد. از آن‌جا که شکر و روغن گیاهی مصرفی در بستنی می‌تواند در بروز چاقی و خطرات ناشی از آن برای مصرف کننده به‌خصوص کودکان نقش داشته باشد لذا با جایگزینی قسمتی از روغن گیاهی و شکر مصرفی با اینولین و می‌توان این ویژگی مضر را در محصول کاهش داد و از طرف دیگر با استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی می‌توان خواصی از جمله بهبود عملکرد سیستم گوارش، جلوگیری از سرطان کولون، افزایش سیستم ایمنی در صورت زنده ماندن به محصول اضافه کرد [۳۲-۳۴].

سلامتی‌بخش و تغذیه‌ای خاص نیز باشند. یکی از انواع غذاهای سلامتی‌بخش، محصولات پروبیوتیک می‌باشند که به همین دلیل در سال‌های اخیر تلاش روز افزونی برای افزودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به مواد غذایی صورت گرفته است. با توجه به نتایج به دست آمده از تاثیر اینولین و باکتری لاکتوباسیلوس فرمنتوم بر خواص فیزیوشیمیایی و بافتی مناسب بستنی تولیدی و همچنین خواص سلامتی‌بخش محصول سین‌بیوتیک، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این محصول قابلیت تولید و استفاده به عنوان یک غذای فراسودمند را دارد و پیشنهاد می‌شود در مقیاس صنعتی نیز این تولید صورت گیرد.

## ۵- سپاسگزاری

مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۹۸۱/۵۰ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

## ۶- منابع

- [1] Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M., Yarmand, M., & Razavi, S. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111(1), 50-55.
- [2] Falah, F., Vasiee, A., Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Moradi, S., Mortazavi, S. A., & Roshanak, S. (2019). Evaluation of adherence and anti-infective properties of

## ۴- نتیجه‌گیری کلی

امروزه ویژگی‌های تغذیه‌ای و سلامتی‌بخش محصول مورد استفاده از فاکتورهای بسیار اساسی در پذیرش محصول از سوی مصرف کننده می‌باشد. از این رو متخصصان صنایع غذایی در پی تولید محصولات می‌باشند که علاوه بر ویژگی‌های حسی و ظاهری مطلوب، دارای خواص

- Optimization of the new formulation of ice cream with native Iranian seed gums (*Lepidium perfoliatum* and *Lepidium sativum*) using response surface methodology (RSM). *Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 196-208.
- [12] Tiwari, A., Sharma, H. K., Kumar, N., & Kaur, M. (2015). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of low - fat ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 68(3), 374-380.
- [13] Akin, M., Akin, M., & Kirmacı, 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.
- [14] Bahramparvar, M., Haddad Khodaparast, M.H., & Razavi, S. M. (2009). The effect of *Lallemantiaroyleana* (Balangu) seed, palmate - tuber salep and carboxymethylcellulose gums on the physicochemical and sensory properties of typical soft ice cream. *International Journal of Dairy Technology*, 62(4), 571-576.
- [15] BahramParvar, M., Tehrani, M. M., & Razavi, S. M. (2013). Effects of a novel stabilizer blend and presence of  $\kappa$ -carrageenan on some properties of vanilla ice cream during storage. *Food Bioscience*, 3, 10-18.
- [16] Bengoechea, C., López-Castejón, M. L., Marquez, S., Salinas, V., Puppo, C., & Guerrero, A. (2019). Gelation properties of calcium-inulin gels. *Food Hydrocolloids*, 97, 105239.
- [17] Jooyandeh, H. (2009). Effect of addition of fermented whey protein concentrate on texture of Iranian white cheese. *Journal Texture Studies*, 40, 497-510.
- [18] Schaller - Povolny, L., & Smith, D. (1999). Sensory attributes and storage life of reduced fat ice cream as related to inulin content. *Journal of Food Science*, 64(3), 555-559.
- [19] Champagne, C. P., Raymond, Y., Guertin, N., & Bélanger, G. (2015). Effects of storage conditions, microencapsulation and inclusion in chocolate particles on the stability of probiotic bacteria in ice cream. *International Dairy Journal*, 47, 109-117.
- [20] Cruz, A. G., Antunes, A. E., Sousa, A. L. O., Faria, J. A., & Saad, S. M. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food probiotic Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans. *Microbial Pathogenesis*, 131, 246-253.
- [3] Mosallaie, F., Jooyandeh, H., Hojjati, M. & Fazlara, A. (2020). Biological reduction of aflatoxin B1 in yogurt by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Food Science and Biotechnology*, 29(6), 793-803.
- [4] Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- [5] Akalın, A., & Erişir, D. (2008). Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low - fat probiotic ice cream. *Journal of Food Science*, 73(4), 184-188.
- [6] Xavier-Santos, D., Bedani, R., Perego, P., Converti, A., & Saad, S. M. I. (2019). *Lactobacillus acidophilus* La-5, fructo-oligosaccharides and inulin may improve sensory acceptance and texture profile of a synbiotic diet mousse. *LWT-Food Science and Technology*, 105, 329-335.
- [7] Akbari, M., Eskandari, M. H., Niakosari, M., & Bedeltavana, A. (2016). The effect of inulin on the physicochemical properties and sensory attributes of low-fat ice cream. *International Dairy Journal*, 57, 52-55.
- [8] Torabi, F., Jooyandeh, H., Noshad, M., & Barzegar, H. (2020). Texture, color and total acceptance of synbiotic ultrafiltrated white cheese treated with microbial transglutaminase enzyme during storage period. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 17(98), 135-145 (In Persian).
- [9] Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2017). Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of Dairy Science*, 100, 5206-5211.
- [10] Jooyandeh, H., Goudarzi, M., Rostamabadi, H., & Hojjati, M. (2017). Effect of Persian and almond gums as fat replacers on the physicochemical, rheological, and microstructural attributes of low- fat Iranian White cheese. *Food Science & Nutrition*, 5, 669-677.
- [11] Azari-Anpar, M., Tehrani, N. S., Aghajani, N., & Khomeiri, M. (2017).



- [28] Hashemi, M., Gheisari, H. R., & Shekarforoush, S. (2015). Preparation and evaluation of low - calorie functional ice cream containing inulin, lactulose and *Bifidobacterium lactis*. *International Journal of Dairy Technology*, 68(2), 183-189.
- [29] Karaca, O. B., Guven, M., Yasar, K., Kaya, S., & Kahyaoglu, T. (2009). The functional, rheological and sensory characteristics of ice creams with various fat replacers. *International Journal of Dairy Technology*, 62(1), 93-99.
- [30] Karazhiyan, H., Razavi, S. M., Phillips, G. O., Fang, Y., Al-Assaf, S., Nishinari, K., & Farhoosh, R. (2009). Rheological properties of *Lepidium sativum* seed extract as a function of concentration, temperature and time. *Food Hydrocolloids*, 23(8), 2062-2068.
- [31] Li, Y., Shabani, K. I., Qin, X., Yang, R., Jin, X., Ma, X., & Liu, X. (2019). Effects of cross-linked inulin with different polymerisation degrees on physicochemical and sensory properties of set-style yoghurt. *International Dairy Journal*, 94, 46-52.
- [32] Lomolino, G., Zannoni, S., Zabara, A., Da Lio, M., & De Iseppi, A. (2020). Ice recrystallisation and melting in ice cream with different proteins levels and subjected to thermal fluctuation. *International Dairy Journal*, 100, 104557.
- [33] Marhamatizadeh, M., Rezazadeh, S., Nezafat kazerooni, Z., & Jafari E. (2011). Production of probiotic traditional ice cream by *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* culture. *Journal of Veterinary Pathobiology*, 3(2), 37-43.
- [34] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., Falah, F. (2019). Inhibition of *Escherichia coli* adhesion to human intestinal Caco-2 cells by probiotic candidate *Lactobacillus plantarum* strain L15. *Microbial Pathogenesis*, 136, 103677.
- Research International*, 42(9), 1233-1239.
- [21] Di Criscio, T., Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E., & Panfili, G. (2010). Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. *Journal of Dairy Science*, 93(10), 4555-4564.
- [22] Sivasankari, R., Hemalatha, G., Amutha, S., Murugan, M., Vanniarajan, C., & Umamaheswari, T. (2019). Physical and sensory properties of ice cream as influenced by pulse protein concentrates. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 9(4), 322-328.
- [23] El-Assar, M. A., Abou-Dawood, S. A., Sakr, S. S., & Younis, N. M. (2019). Low-fat Processed Cheese Spread with Added Inulin: Its Physicochemical, Rheological and Sensory Characteristics. *International Journal of Dairy Science*, 14(1), 12-20.
- [24] El - Nagar, G., Clowes, G., Tudorică, C., Kuri, V., & Brennan, C. (2002). Rheological quality and stability of yog - ice cream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55(2), 89-93.
- [25] Farrokh, A., Ehsani, M., Moayednia, N., & Azizi Nezhad, R. (2019). The Viability of Probiotic Bacteria and Characteristics of Uncultured Cream Containing Inulin. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 9(1), 77-84.
- [26] Golestani, M., & Pourahmad, R. (2017). Comparison of three treatments (two fermented treatments and one nonfermented treatment) in production of synbiotic ice cream. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(2), e12839.
- [27] Hekmat, S., & McMahon, D. J. (1992). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science*, 75(6), 1415-1422.



## The effect of inulin on the viability of *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 in probiotic ice cream and evaluation of its microbial and physicochemical properties

Jooyandeh, H. <sup>1\*</sup>, Alizadeh Behbahani, B. <sup>2</sup>, Noshad, M. <sup>2</sup>

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2020/ 12/ 23 Accepted 2021/ 02/ 06</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Synbiotics, <i>Lactobacillus fermentum</i>, Inulin, Functional.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.18.04.07</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: hosjooy@asnrukh.ac.ir</p>	<p>Ice cream is a unique food product that is very popular in Iran and around the world. As a result of much research into converting this nutrient food into a useful product, the addition of probiotic bacteria, fat reduction, dry matter enhancement and improved health benefits have been done. Probiotics ice cream contains live microbial cells that are well-suited to the distribution of probiotics to consumers. In this study, prebiotic ice cream containing <i>Lactobacillus fermentum</i> strain 4-17 and inulin was prepared at 0, 2.5 and 5% levels. Microbial tests, dry matter measurement, volume increase, pH and acidity determination, melting rate and tissue parameters were evaluated. Evaluation of probiotic bacterial growth over 90 days of survival in different samples showed that the survival rate of this strain in the presence of 5% inulin was about two logarithmic units higher than that produced with 2.5% inulin and about 5 logarithmic units higher than the sample. It was in control. The pH range was 6.8-8.8, 19 to 25 degrees acidity, dry matter was 61.3 to 36.14% and volume increase was 34.38-15.85%. Also due to the increase in apparent viscosity and decrease in melting rate (from 1.89 to 0.74 g/min), improvement in tissue properties (55% increase in hardness, 69% decrease in adhesion and 29% increase in cohesion) as well as increased product desirability during storage. At 95% confidence level, inulin can be used as an alternative to fat and tissue optimizer.</p>