مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

مقایسه اثربخشی دو پری‌بیوتیک اینولین و آرد موز سبز بر زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* در ماست سین‌بیوتیک کم‌کالری

محمد مهدی جوکاری[۱]، درنوش جعفرپور[۲*]

۱ دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران

۲ استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۱۲

کلمات کلیدی:

لاکتوباسیلوس پلانتاروم،

باسیلوس کواگولانس،

ماست،

آرد موز سبز،

اینولین.

DOI: 10.52547/fsct.18.117.49

* مسئول مکاتبات:

d.jafarpour84@yahoo.com

چکیده

امروزه ماست به عنوان مهم‌ترین فرآورده لبنی پروبیوتیک در سرتاسر دنیا تولید و به بازار عرضه می‌گردد. ترکیب پری‌بیوتیک به همراه پروبیوتیک، سین‌بیوتیک نامیده می‌شود که اثرات سودمندتری بر سلامت میزبان می‌گذارد. هدف از این پژوهش مقایسه اثر اینولین و آرد موز سبز روی ویژگی‌های ماست سین‌بیوتیک در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال است. اینولین و آرد موز سبز در سطوح ۲٪ در ماست سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* مورد استفاده قرار گرفت و با ماست شاهد (پروبیوتیک) مقایسه شد. نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری اسیدیته کلیه تیمارها افزایش و مقدار pH کاهش یافت. افزودن اینولین و آرد موز سبز سبب افزایش اسیدیته و در نتیجه کاهش pH در نمونه‌های سین‌بیوتیک شده اما تفاوت معنی‌داری بین دو پری‌بیوتیک مورد استفاده مشاهده نشد. مقدار ماده خشک نیز در تیمارهای سین‌بیوتیک نسبت به تیمارهای شاهد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P<0/05$). حضور هر دو ترکیب پری‌بیوتیک تاثیر مثبتی روی قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست داشت که تاثیر اینولین روی بقاء باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر از آرد موز سبز بود اما در مورد *باسیلوس کواگولانس* تفاوت معنی‌داری بین دو پری‌بیوتیک مورد مطالعه مشاهده نشد. شمارش تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* بیشتر از حد توصیه شده ۶ Log cfu/g در تمامی نمونه‌های ماست سین‌بیوتیک در دوره نگهداری به مدت ۴ هفته بدست آمد. بقا و زنده‌مانی *باسیلوس کواگولانس* نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر بود. با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان گفت که آرد موز سبز خاصیت پری‌بیوتیکی داشته و در حفظ زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک موثر است، بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد که این ترکیب پتانسیل بالایی برای استفاده در غذاهای فراسودمند دارد.

۱- مقدمه

تمایل روزافزون برای داشتن زندگی با کیفیت بالاتر و جلوگیری از تحمیل هزینه‌های سنگین برای درمان بیماری‌ها، انسان را به سمت مصرف غذاهایی که علاوه بر خواص تغذیه‌ای پایه، دارای خواص سلامت بخش نیز باشند گرایش داده است. چنین خصوصیاتی را در گروه جدیدی از غذاها تحت عنوان غذاهای فراسودمند می‌توان پیدا کرد که محصولات حامل میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک و ترکیبات پری‌بیوتیک از این دسته می‌باشند. فرآورده‌های لبنی تخمیری بخش بزرگی از رژیم غذایی مردم جهان را تشکیل می‌دهد [۱]. ماست فرآورده تخمیری نیمه جامد می‌باشد، که به علت قابلیت هضم بالا و دسترسی‌پذیری زیستی پروتئین، کلسیم و انرژی آن به عنوان غذای سالم در نظر گرفته می‌شود [۲ و ۳]. محصولات لبنی از بهترین سوبستراها برای انتقال تعداد کافی از باکتری‌های پروبیوتیک به مصرف‌کننده در نظر گرفته می‌شوند [٤]. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقدارهای معین و زنده‌مانی در فرآورده و ناحیه‌ی گوارشی، سلامتی میزبان را بهبود می‌بخشند [٥]. باکتری‌های پروبیوتیک عموما فلور روده‌ای هستند که به علت فقدان آنزیم‌های پروتئولیتیک و شرکت ضعیف در ویژگی‌های حسی و رئولوژیکی فرآورده، به آرامی در شیر رشد کرده و زنده‌مانی را در طول نگهداری از دست می‌دهند [٦]. لاکتوباسیل‌ها، معروف‌ترین باکتری‌های مورد استفاده در لبنیات تخمیری هستند. این باکتری‌ها قادر به تبدیل قند لاکتوز و سایر کربوهیدرات‌ها به اسیدلاکتیک هستند و طعم ترش لبنیات تخمیر شده نظیر ماست به همین دلیل است. همچنین اسیدلاکتیک به عنوان یک نگهدارنده از فاسد شدن فرآورده‌های لبنی جلوگیری می‌کند.

پری‌بیوتیک‌ها اجزای غیرقابل هضم غذاهای عملگرا می‌باشند که تکثیر و فعالیت جمعیت باکتریایی مطلوب را در روده تحریک کرده و از تکثیر پاتوژن‌ها ممانعت می‌کنند [٥]. این ترکیبات ممکن است نقش حفاظت کننده‌ای بر روی باکتری‌های پروبیوتیک در طول دوره‌ی نگهداری و عبور از ناحیه‌ی گوارشی داشته باشند [۷]. ترکیب پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها و سینرژیست بین آن‌ها سین‌بیوتیک نامیده می‌شود [۸]. در غذاهای سین‌بیوتیک، افزودن پری‌بیوتیک موجب افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در غذا شده و ماندگاری غذا را افزایش می‌دهد [۹]. اینولین‌ها گروهی از پلی‌ساکاریدهای طبیعی هستند که توسط انواع زیادی از گیاهان تولید می‌شوند. اینولین توسط تعدادی از گیاهان به عنوان وسیله‌ای جهت ذخیره‌ی انرژی خصوصاً در ریشه‌ها و ساقه‌های زیرزمینی استفاده می‌گردد. اینولین می‌تواند در تولید فرآورده‌های گوشتی، لبنی و نانوایی به عنوان جایگزین بخشی از چربی به کار گرفته شود. کاربردهای بالقوه‌ی اینولین در فرآورده‌های لبنی شامل جایگزین مناسب شکر و چربی، بافت دهنده و بهبود دهنده‌ی احساس دهانی، خاصیت سینرژیستی با سایر شیرین کننده‌ها، پایدارکنندگی کف، عمل به عنوان فیبر غذایی و منبع پری‌بیوتیکی و بهبود خواص رئولوژیکی ماست و پنیر می‌باشد [۱۰]. آرد موز سبز یک منبع پیچیده کربوهیدرات است که از پوره موز سبز (موزهای نابالغ) تهیه می‌شود. آرد موز سبز به عنوان آرد بدون دانه است که طعم موز بسیار بسیار خفیف بوده و هیچ طعمی در زمانی که پخته می‌شود حس نمی‌شود. آرد موز سبز مقدار قند خون را متعادل می‌کند و مقدار فیبر بالای آن سبب کاهش وزن شده و کاملا مغذی است [۱۱]. آرد موز سبز حاوی نشاسته مقاوم (RS)[1] است. رفتار فیزیولوژیکی نشاسته مقاوم مثل فیبر است اما فیبر محلول، منفعت فیزیولوژیکی دارد. به علاوه نشاسته مقاوم در حالت هضم آهسته بسیار مفید بوده و می‌تواند به عنوان منبع آزاد کننده آهسته گلوکز مورد استفاده قرار گیرد. به طورکلی رفتار فیزیولوژیکی RS شبیه فیبر گوار است که منجر به کاهش pH کولون، حجیم کردن مدفوع، کاهش تحلیل رفتن سلول‌های اپیتلیال در روده بزرگ و کاهش کلسترول و تری‌گلیسرید در خون می‌شود. هم‌چنین RS باقی‌مانده (هضم نشده) توسط میکروفلورهای روده‌ای تخمیر و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر به ویژه استات، پروپیونات و بوتیرات تولید می‌کند. نشاسته مقاوم موجود در موز سبز با دارا بودن ویژگی‌های فوق مکانیسم بالقوه‌ای را در آزاد کردن گلوکز و کمک به افراد دیابتی به ویژه دیابت نوع دو محسوب می‌شود [۱۲].

مطالعات نشان داده است که از جمله روش‌های حفاظتی پروبیوتیک‌ها استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیک می‌باشد [۱۰و۱۳]. در تحقیقی ترکیبات پری‌بیوتیکی شامل لاکتولوز، اینولین و الیگوفروکتوز به صورت منفرد و مخلوط‌های دوتایی و سه

1. Resistant starch

تایی مورد استفاده قرار گرفتند و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *کازئی* برای تهیه ماست پروبیوتیک استفاده شد. نتایج نشان داد که نمونه ماست محتوی لاکتولوز –اینولین، بیشترین تعداد باکتری پروبیوتیک زنده را در پایان دوره نگهداری داشته است و نقش موثر و مثبت ترکیبات پری‌بیوتیک در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک ثابت شد [۱۴]. تاثیر افزودن الیگوفروکتوز و اینولین بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم انیمالیس* در بستنی کم‌چرب مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که الیگوفروکتوز به‌طور معنی‌داری زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را بهبود می‌بخشد [۱۵]. تا کنون تاثیر آرد موز سبز به عنوان پری‌بیوتیک در فرآورده‌های تخمیری مورد بررسی قرار نگرفته است، لذا هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر پری‌بیوتیکی آرد موز سبز و مقایسه آن با پری‌بیوتیک اینولین بوده و اثربخشی آن‌ها بر زنده‌مانی دو پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* در ماست سین‌بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

برای تهیه ماست، شیر پاستوریزه کم‌چرب (۱/۵ درصد چربی) از کارخانه‌ی پانل فسا تهیه شد. اینولین مورد آزمایش از نوع بلند زنجیر بود. هر دو پری‌بیوتیک مورد استفاده (اینولین و آرد موز سبز) از شرکت بهین آزما خریداری شدند. کلیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد استفاده از شرکت مرک آلمان با درجه خلوص تجزیه‌ای تهیه شدند.

۲-۲- فعالسازی باکتری‌ها

باکتری لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی خریداری شد. برای فعالسازی آن، ابتدا مقدار ml ۱ از ویال لیوفریز شده در شرایط استریل در داخل ml ۲۵۰محیط کشت مایع MRS[1] Broth کشت داده و سپس محیط کشت داده شده در دمای ۳۷ °C به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. سپس برای افزایش درجه خلوص و نیز تهیه باکتری با قدرت تکثیر بالا از محیط کشتی که حاوی باکتری رشد کرده است (محیط کشت کاملا کدر شده است)، کشت خطی در محیط کشت MRS Agar در شرایط استریل تهیه کرده و نمونه‌های کشت شده نیز به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت کلنی‌های رشد کرده به رنگ سفید مایل به کرم ظاهر می‌شوند که این کلنی‌ها حاوی باکتری هستند. با استفاده از حل کردن این کلنی‌ها در سرم فیزیولوژیک استریل و اندازه‌گیری طول موج با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر، غلظت نیم مک فارلند تهیه شد.

باکتری *باسیلوس کواگولانس* از شرکت پردیس رشد مهرگان خریداری شد. پودر باکتری *باسیلوس کواگولانس* به میزان 10^9 CFU/g مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳- آماده‌سازی نمونه‌ها

به شیرکم‌چرب (۱/۵ درصد چربی) پودرآرد موز سبز (۲٪) و اینولین (۲٪) اضافه شد و هر کدام از تیمارها در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شدند. سپس دما را کاهش داده (۴۵-۴۲ درجه سلسیوس) و عمل تلقیح استارتر انجام شد. علاوه بر افزودن استارتر، دو پروبیوتیک نیز مورد استفاده قرار گرفت. پودر باکتری *باسیلوس کواگولانس* به میزان 10^9 CFU/g و باکتری لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* به میزان 10^9 CFU/ml به شیر اضافه شدند. پس از تلقیح استارتر و پروبیوتیک، عملیات گرمخانه گذاری تا تشکیل لخته مناسب و رسیدن به pH موردنظر (حداکثر۴/۶) صورت گرفت.

سپس درظرف‌های استریل بسته‌بندی شده و به مدت تقریبا ۱ ماه جهت آزمایشات مورد نظر در دمای ۴درجه سانتی‌گراد نگهداری و در فواصل زمانی ۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز پس از تولید، آزمایشات مورد نظر انجام شد.

۲-۴- اندازه‌گیری خصوصیات میکروبی و شیمیایی

۲-۴-۱- شمارش باکتری‌های لاکتیک اسید[2]

نمونه‌برداری تقریبا از عمق وسطی ظرف ماست با قاشق استریل بعد از کنار زدن رویه چربی انجام شد و در ظرف‌های استریل قرار داده شد و بر اساس روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۳۲۵ کشت انجام شد [۱۶]. بدین ترتیب که بعد از به هم زدن نمونه‌های ماست در ظرف استریل مربوطه، با پیپت استریل یک سی سی برداشته و در لوله آزمایش مدرج

1. DE MAN, ROGOSA and SHARPE

2. Lactic acid bacteria (LAB)

پلاستیکی درپیچ دار ریخته شد. ۹ سی سی سرم استریل به آن اضافه و رقیق سازی متوالی [1]به نسبت ۱ به ۱۰ تا رقت 10^{-6} صورت پذیرفت. ۱۰۰۰ میکرولیتر از رقت‌های 10^{-5} و 10^{-6} هر نمونه با سمپلر استریل برداشته و به محیط MRS آگار مذاب در پلیت اضافه شده و به صورت آمیخته[2] کشت داده شد. و پلیت‌ها در شرایط جار بی‌هوازی در انکوباتر با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند [۱۷].

۲-٤-۲- شمارش *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

جهت شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، رقت‌های تهیه شده از نمونه در محیط کشت اختصاصی MRS-vancomycine agar کشت داده شد. بدین صورت که ۲ میلی‌لیتر از محلول ونکوماسین (۰/۵ mg/ml) به ۱ لیتر از محیط کشت MRS آگار مذاب درست قبل از کشت اضافه شد. سپس پلیت‌ها به مدت ٤٨ ساعت در دمای ۳۷ درجه گرمخانه‌گذاری شدند و بعد از آن کلنی‌ها شمارش شدند [۱۸].

۲-٤-۳- شمارش *باسیلوس کواگولانس*

به منظور شمارش باکتری پروبیوتیک *باسیلوس کواگولانس* در نمونه از روش تهیه رقیق سازی متوالی در محلول نرمال سیلین (۰/۹ درصد نمک) و کشت پورپلیت استفاده شد. شمارش باکتری پروبیوتیک *باسیلوس کواگولانس* در محیط کشت NYSM آگار با pH =7 تحت شرایط هوازی، در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و پس از ٢٤ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام شد. ترکیب محیط NYSM agar شامل گلوگز (۱۰ گرم در لیتر)، پپتون از کازئین (۵ گرم در لیتر)، کلرید سدیم (۵ گرم در لیتر)، عصاره مخمر (۰/۵ گرم در لیتر)، عصاره بیف (۳ گرم در لیتر)، کلرید منیزیم (۰/۲ گرم در لیتر)، کلرید کلسیم (۰/۱ گرم در لیتر) و کلرید منگنز (۰/۰۱ گرم در لیتر) بود که در آزمایشگاه با مخلوط کردن ترکیبات فوق ساخته شد. تمام مواد مذکور بجز گلوگز به اندازه لازم توزین و با هم مخلوط شده و با آب مقطر به حجم رسانده و توسط دستگاه اتوکلاو ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سترون شد. با هدف جلوگیری از واکنش میلارد، گلوگز به طور جداگانه سترون گردید و پس از اتمام سترونسازی به بقیه محیط افزوده شد [۱۹].

۲-٤-٤- اندازه‌گیری pH

تراکم یون‌های هیدروژن یونیزه موجود در نمونه، مشخص‌کننده pHآن است. اندازه‌گیری pH با وارد کردن مستقیم الکترود دستگاه pH متر به داخل بافت ماست همگن شده مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ صورت گرفت [۲۰].

۲-٤-۵- اندازه‌گیری اسیدیته

اندازه‌گیری اسیدیته مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره‌ی ۲۸۵۲، انجام گرفت [۲۰]. طبق این روش نمونه به آرامی هم زده و نمونه به میزان لازم در یک بشر قرار داده شد. مقدار ۹ گرم از نمونه در یک بشر مناسب وزن و هم وزن آزمونه به آن آب مقطر عاری از دی‌اکسیدکربن افزوده شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فنل فتالئین به آن افزوده و با هیدروکسیدسدیم ۰/۱ نرمال عیارسنجی گردید. این عمل تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ که حداقل به مدت ۵ ثانیه پایدار بماند ادامه یافت.

۲-٤-٦- درصد ماده خشک

ابتدا پلیتی را به مدت ۱ ساعت در آون ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده تا به وزن ثابت برسد. سپس آن را در دسیکاتور سرد کرده و با ترازو وزن شد. حدود ۵ گرم نمونه در آن وزن و مجددا داخل آون ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. بعد از سرد کردن در داخل دسیکاتور آن را وزن نمونه نموده و از فرمول زیر درصد ماده خشک آن محاسبه شد [۲۱].

$$\text{ماده خشک (٪)} = \frac{\text{وزن پلیت خالی - وزن نهایی نمونه همراه با پلیت}}{\text{وزن نمونه}} \times ۱۰۰$$

۲-۵- تجزیه وتحلیل آماری

پژوهش در قالب طرح کاملا تصادفی و با ۳ تکرار انجام شد. داده‌های بدست آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ثبت و مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور بررسی روند تغییرات جمعیت باکتریایی در تیمارهای مربوطه از رویه تجزیه واریانس (ANOVA) برای آزمون‌های تکرار شونده استفاده شد و با آزمون تی اختلاف بین بقای میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. تغییرات پارامترهای شیمیایی در تیمارهای مختلف با استفاده از رویه تجزیه واریانس یک‌طرفه بررسی شد. در مواردی که اثر معنی‌داری بین تیمارها وجود داشت، میانگین‌ها با آزمون دانکن (Duncan's test) مقایسه شد.

1. Serial dilution
2. Pour plate

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه‌گیری pH و اسیدیته

نتایج اندازه‌گیری میزان اسیدیته و pH در نمونه‌های ماست سین‌بیوتیک غنی شده با اینولین و آرد موز سبز در مقایسه با نمونه شاهد (ماست پروبیوتیک) در طول زمان نگهداری در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود به‌طور کلی اسیدیته ماست از روز اول تا ۲۸ ام هم در نمونه‌های شاهد پروبیوتیک و هم در نمونه‌های سین‌بیوتیک افزایش و متناسب با آن میزان pH کاهش می‌یابد. در مدت زمان ثابت نگهداری، اضافه شدن پری‌بیوتیک‌ها منجر به افزایش اسیدیته و کاهش pH در نمونه‌های ماست شد. با اضافه کردن اینولین، میزان اسیدیته ماست پس از ٤ هفته نگهداری در یخچال به ترتیب به ۱/۲۵ و ۱/۲۳ (درصد اسید لاکتیک) در ماست‌های سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* رسید و نسبت به نمونه شاهد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* با مقدار اسیدیته به ترتیب ۱/۱۱ و ۱/۱۲ (درصد اسید لاکتیک) اختلاف معنی‌دار داشتند ($P<۰/۰۵$). به‌علاوه، هیچ اختلاف معنی‌داری بین اینولین و آرد موز سبز در مورد اسیدیته و pH نمونه‌ها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). بر اساس استاندارد ملی ایران، میزان pH ماست نباید از ٤/٦ بالاتر و مقدار اسید لاکتیک آزاد موجود در ماست نباید از ۰/۷ درصد کمتر باشد [۲۱]. مطابق داده‌های بدست آمده هم مقادیر اسیدیته و هم pH در محدوده استاندارد بوده و قابل قبول است. در ۷ روز ابتدایی دوره نگهداری، سرعت افت pH حداکثر بوده است که به دلیل وجود ترکیبات مغذی در محیط و در نتیجه تولید اسید لاکتیک است و همچنین فعالیت بیشتر باکتری‌های ماست می‌باشد. روند تغییرات در ۷ روز آخر دوره نگهداری سیر نزولی داشته است، که علت آن کاهش مواد مغذی و ترکیبات پری‌بیوتیکی محیط، و در نتیجه آن کند شدن رشد سلولی باکتری‌ها می‌باشد.

همگام با کاهش این ترکیبات، روند افت pH و افزایش اسیدیته قابل تیتر نیز کند گردیده است. با فعالیت باکتری‌های استارتر و پروبیوتیک ماست، اسید از لاکتوز موجود در ماست تولید شده که منجر به کاهش pH در حین نگهداری ماست می‌شود. کاهش بیشتر pH و به طبع آن افزایش بیشتر اسیدیته در تیمارهای سین‌بیوتیک به دلیل مصرف پری‌بیوتیک‌ها توسط باکتری‌های پروبیوتیک و تولید بیشتر اسید لاکتیک می‌باشد. نوع و میزان اسید تولید شده، بر رشد گونه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک اثر می‌گذارد [۷]. افزایش میزان اسید در طول مدت زمان ذخیره‌سازی و نگهداری فرآورده به دلیل بیش اسیدسازی[1] در اثر فعالیت آنزیم بتاگالاکتوزیداز در دماهای یخچالی می‌باشد. بنا بر مطالعات انجام شده توسط Mortazaviyan و همکاران (۲۰۰٦)، pH نمونه‌های ماست طی نگه‌داری در یخچال، کاهش و اسیدیته افزایش می‌یابد که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۲]. به طور مشابه، Tayebi Moghaddam و Ehsani (۲۰۲۰)، نیز کاهش pH و افزایش اسیدیته را در نمونه‌های ماست سین‌بیوتیک حاوی اینولین مشاهده کردند [۲۳]. علاوه بر آن، Akin و همکاران (۲۰۰۷)، گزارش کردند که با افزایش اینولین در بستنی، اسیدیته نیز به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد [۲٤]. افزودن اینولین در نمونه و به دنبال آن تشکیل حالت ژلی سبب تاخیر در غیرفعال شدن استارترها هنگام نگهداری در یخچال و بنابراین افزایش اسیدیته و کاهش pH می‌شود. با این وجود، Guggisberg و همکاران (۲۰۰۹)، با افزودن اینولین به ماست کم‌چرب بیان کردند که اینولین تاثیر معنی‌داری بر pH ندارد اما به طور قابل‌توجهی روی بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی و ارگانولپتیکی محصول نهایی موثر است [۲۵]. همچنین پری‌بیوتیک‌ها باعث کنترل فرآیند پس اسیدسازی پروبیوتیک‌ها می‌شوند و از اسیدیته‌ی بیش از حد جلوگیری می‌کنند [۲٦].

1. Post acidification

Table 1 Effect of inulin and green banana flour on pH changes of yogurt samples during 4 weeks of refrigeration

Treatment	Storage time (day)				
	1	7	14	21	28
Control L.p.	4.42 ± 0.01^{aA}	4.43 ± 0.00^{aB}	4.28 ± 0.00^{bC}	4.23 ± 0.01^{bD}	4.19 ± 0.05^{aE}
Inuline +L.p.	4.41 ± 0.00^{aA}	4.19 ± 0.05^{aB}	4.14 ± 0.01^{aC}	4.09 ± 0.06^{aD}	4.03 ± 0.00^{aE}
Banana flour +L.p.	4.40 ± 0.02^{aA}	4.22 ± 0.00^{aB}	4.16 ± 0.02^{aC}	4.11 ± 0.02^{aD}	4.05 ± 0.03^{aE}
Control B.c.	4.42 ± 0.00^{aA}	4.36 ± 0.03^{aB}	4.29 ± 0.08^{aC}	4.23 ± 0.00^{aD}	4.17 ± 0.01^{aE}
Inuline +B.c.	4.42 ± 0.01^{aA}	4.18 ± 0.01^{aB}	4.13 ± 0.03^{aC}	4.07 ± 0.05^{aD}	4.01 ± 0.06^{aE}
Banana flour +B.c.	4.41 ± 0.03^{aA}	4.21 ± 0.07^{aB}	4.15 ± 0.05^{aC}	4.10 ± 0.03^{aD}	4.04 ± 0.04^{aE}

Values shown indicate mean of three independent readings ± SD. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different treatments. Different uppercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different storage times. L.p.: *Lactobacillus plantarum*, B.c.: *Bacillus coagulans*

Table 2 Effect of inulin and green banana flour on changes in acidity (% lactic acid) of yogurt samples during 4 weeks of refrigeration

Treatment	Storage time (day)				
	1	7	14	21	28
Control L.p.	0.94 ± 0.01^{aA}	1.00 ± 0.06^{bB}	1.04 ± 0.08^{bC}	1.08 ± 0.09^{bD}	1.11 ± 0.08^{bE}
Inuline + L.p.	0.92 ± 0.03^{aA}	1.09 ± 0.11^{aB}	1.14 ± 0.04^{aC}	1.20 ± 0.04^{aD}	1.25 ± 0.10^{aE}
Banana flour + L.p.	0.91 ± 0.10^{aA}	1.10 ± 0.05^{aB}	1.16 ± 0.09^{aC}	1.22 ± 0.06^{aD}	1.27 ± 0.06^{aE}
Control B.c.	0.94 ± 0.02^{aA}	1.01 ± 0.08^{bB}	1.05 ± 0.06^{bC}	1.09 ± 0.10^{bD}	1.12 ± 0.05^{bE}
Inuline + B.c.	0.93 ± 0.01^{aA}	1.08 ± 0.03^{aB}	1.14 ± 0.05^{aC}	1.19 ± 0.08^{aD}	1.23 ± 0.04^{aE}
Banana flour +B.c.	0.92 ± 0.04^{aA}	1.11 ± 0.09^{aB}	1.16 ± 0.10^{aC}	1.21 ± 0.05^{aD}	1.26 ± 0.09^{aE}

Values shown indicate mean of three independent readings ± SD. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different treatments. Different uppercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different storage times. L.p.: *Lactobacillus plantarum*, B.c.: *Bacillus coagulans*

۳-۲- اندازه‌گیری درصد ماده خشک

مقادیر درصد ماده خشک تیمارهای مختلف در جدول ۳، آورده شده است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد افزودن پری‌بیوتیک اثر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک نمونه‌ها داشته و باعث افزایش ماده خشک نسبت به نمونه شاهد (بدون پری‌بیوتیک) شده است (P<۰/۰۵). هم‌چنین تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای سین‌بیوتیک از نظر درصد ماده خشک مشاهده نشد (P>۰/۰۵). Mehmood و همکاران (۲۰۰۸)، افزایش ماده خشک را در اثر افزودن اینولین به ماست گزارش کردند و اظهار داشتند که با افزودن اینولین، ماده خشک افزایش یافته و سبب تحریک فعالیت متابولیکی باکتری‌های استارتر شده که منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته محصول می‌شود که در این میان بسته به نوع ترکیب افزوده شده و میزان مناسب بودن آن برای مصرف باکتری‌های استارتر، میزان این تغییرات متفاوت خواهد بود [۲۷]. بالاتر بودن مقدار ماده خشک نمونه‌های ماست باعث بهبود بافت محصول شده و میزان آب‌اندازی را کاهش می‌دهد [۲۸]. ماده خشک ماست به‌طور مستقیم بر ویژگی سختی ماست تأثیرگذار است و با آن رابطه مستقیم دارد [۲۹]. Nekoueian در بررسی خود عنوان کرد که با افزایش درصد آرد موز سبز در ماست سین‌بیوتیک میزان ماده خشک نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد اما با گذشت زمان نگهداری تفاوت معنی‌داری در ماده خشک تیمارها وجود نداشت [۳۰].

Table 3 Effect of inulin and green banana flour on changes in dry matter (%) of yogurt samples during 4 weeks of refrigeration

Treatment	Storage time (day)				
	1	7	14	21	28
Control L.p.	13.34 ± 0.06^{bA}	13.35 ± 0.04^{bA}	13.32 ± 0.02^{bA}	13.34 ± 0.04^{bA}	13.38 ± 0.05^{bA}
Inuline +L.p.	13.58 ± 0.06^{aA}	13.54 ± 0.03^{aA}	13.57 ± 0.04^{aA}	13.56 ± 0.07^{aA}	13.55 ± 0.01^{aA}
Banana flour +L.p.	13.5 ± 50.02^{aA}	13.56 ± 0.02^{aA}	13.54 ± 0.01^{aA}	13.55 ± 0.03^{aA}	13.56 ± 0.04^{aA}
Control B.c.	13.32 ± 0.05^{bA}	13.31 ± 0.06^{bA}	13.30 ± 0.03^{bA}	13.28 ± 0.02^{bA}	13.30 ± 0.02^{bA}
Inuline +B.c.	13.57 ± 0.01^{aA}	13.59 ± 0.01^{aA}	13.60 ± 0.06^{aA}	13.58 ± 0.04^{aA}	13.57 ± 0.07^{aA}
Banana flour +B.c.	13.59 ± 0.03^{aA}	13.58 ± 0.02^{aA}	13.59 ± 0.04^{aA}	13.40 ± 0.1^{aA}	13.57 ± 0.03^{aA}

Values shown indicate mean of three independent readings ± SD. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of $P<0.05$ between different treatments. Different uppercase letters indicate a significant difference at the level of $P<0.05$ between different storage times. L.p.: *Lactobacillus plantarum*, B.c.: *Bacillus coagulans*

۳-۳- شمارش باکتری‌های لاکتیک اسید

طبق نتایج بدست آمده از آزمایش بر روی نمونه‌ها و نیز بررسی تاثیر مدت زمان نگهداری می‌توان بیان داشت که با افزایش مدت زمان نگهداری، تعداد کل باکتری‌های لاکتیک اسید به طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P<۰/۰۵$) (جدول ٤). در روز اول نگهداری بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد اما بعد از ۷ روز نگهداری کمترین میزان باکتری لاکتیک اسید مربوط به تیمار شاهد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با ۸/۷۲ Log cfu/g بود و بین دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). با گذشت زمان نگهداری بین دیگر تیمارها نیز اختلاف معنی‌دار پدیدار شد به نحوی که در هفته چهارم نگهداری کمترین تعداد باکتری لاکتیک اسید در نمونه شاهد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با ٦/٨٢ Log cfu/g و بیشترین تعداد در نمونه‌های سین‌بیوتیک *باسیلوس کواگولانس* حاوی اینولین و آرد موز سبز به ترتیب با ۷/۸۵ و ۷/۸۰ Log cfu/g مشاهده شد. با توجه به داده‌های بدست آمده می‌توان گفت حضور پری‌بیوتیک‌ها در ماست اثر محافظت‌کنندگی داشته و باعث بهبود زنده‌مانی باکتری‌های لاکتیک اسید شده است [۳۱]. هم‌چنین تعداد بیشتر LAB در تیمارهای حاوی باکتری *باسیلوس کواگولانس* را می‌توان به ویژگی تولید اسپور توسط این باکتری نسبت داد. اسپور باکتری‌ها مقاومت مشخصی را به انواع شرایط سخت مثل pH پایین دارد و این مسئله می‌تواند دلیلی برای قابلیت زنده‌مانی بیشتر *باسیلوس کواگولانس* نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (باکتری غیراسپورزا) در طی نگهداری ماست باشد [۱۵]. کاهش pH در طول زمان نگهداری از عوامل مهم و تاثیرگذار بر کاهش تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید به شمار می‌آید. افت pH و همچنین سرعت کاهش آن، بر بقای باکتری‌های لاکتیک اسید و نیز پروبیوتیک‌ها موثر می‌باشند. سرعت بالای تشکیل اسید در فرآورده تخمیری، می‌تواند منجر به کاهش pH در داخل سلول باکتری پروبیوتیکی شده و به طور معنی‌داری بقای آن را کاهش دهد [۳۲]. کاهش pH و افزایش اسیدیته موجب اکسیداسیون ترکیبات سلولی شده و در نهایت مرگ سلول باکتری را سبب می‌شود [۳۳]. اثرات ضد میکروبی پراکسید هیدروژن تولید شده توسط برخی از لاکتوباسیل‌ها و تاثیر آن بر بقای پروبیوتیک‌ها توسط Martin و همکاران (۲۰۱۱)گزارش شده است [٣٤]. Donkor و همکاران (٢٠٠٦)، گزارش کردند که کاهش pH محیط و تجمع اسیدهای آلی طی زمان نگهداری از عوامل موثر بر کاهش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست می‌باشند [۳۵]. هم‌چنین، Sarrela و همکاران(۲۰۰۰)، ضمن تحقیق بر روی ماست پروبیوتیک، گزارش کردند که اسیدیته فراورده نه تنها در شرایط برون زیست (در فرآورده) بر قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها اثر منفی دارد، بلکه در شرایط درون زیست نیز مرگ آن‌ها را افزایش می‌دهد [٣٦]، زیرا وقتی فرآورده تخمیری به معده می‌رسد pH پایین معده موجب افزایش مقدار اسید لاکتیک تفکیک نشده می‌شود. البته، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها علاوه بر pH و اسیدیته تحت تاثیر عواملی مانند پتانسیل اکسیداسیون و احیاء نیز می‌باشد [۳۵].

Table 4 Effect of inulin and green banana flour on the viability of total lactic acid bacteria (Log cfu/g) in yogurt samples during 4 weeks of refrigeration

Treatment	Storage time (day)					
	1	7	14	21	28	Reduction cycle
Control L.p.	9.09 ± 0.11^{aA}	8.72 ± 0.21^{bB}	8.32 ± 0.19^{cB}	7.62 ± 0.21^{eC}	6.82 ± 0.23^{eD}	2.27
Inuline +L.p.	$9.090.08^{aA}$	9.04 ± 0.15^{aA}	8.64 ± 0.21^{aB}	7.94 ± 0.12^{cC}	7.29 ± 0.19^{cD}	1.80
Banana flour +L.p.	9.09 ± 0.02^{aA}	8.98 ± 0.30^{aA}	8.58 ± 0.36^{bB}	7.84 ± 0.35^{dC}	7.14 ± 0.31^{dD}	1.95
Control B.c.	9.09 ± 0.10^{aA}	9.09 ± 0.10^{aA}	8.69 ± 0.17^{aB}	8.16 ± 0.17^{bC}	7.74 ± 0.18^{bD}	1.35
Inuline +B.c.	9.08 ± 0.31^{aA}	9.09 ± 0.25^{aA}	8.69 ± 0.19^{aB}	8.29 ± 0.32^{aC}	7.85 ± 0.20^{aD}	1.23
Banana flour +B.c.	9.07 ± 0.21^{aA}	9.09 ± 0.14^{aA}	8.69 ± 0.20^{aB}	8.24 ± 0.09^{aC}	7.80 ± 0.15^{aD}	1.27

Values shown indicate mean of three independent readings ± SD. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different treatments. Different uppercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different storage times. L.p.: *Lactobacillus plantarum*, B.c.: *Bacillus coagulans*

۳-٤- شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

نتایج حاصل از شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ماست پروبیوتیک و سین‌بیوتیک حاوی اینولین و آرد موز سبز در شکل ۱، آورده شده است. همان طور که در شکل مشخص است تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ماست پروبیوتیک کمتر از ماست سین‌بیوتیک است (P<۰/۰۵). هم‌چنین بیشترین تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ماست حاوی اینولین مشاهده شد. از داده‌ها مشخص است که آرد موز سبز هم می‌تواند نقش پری‌بیوتیکی داشته باشد اما تاثیر آن کمتر از اینولین است. مطالعات متعددی افزایش بقای پروبیوتیک‌ها را به واسطه‌ی حضور اینولین به عنوان پری‌بیوتیک گزارش کرده اند [۷و۳۷و۳۸]. اما تاکنون تاثیر آرد موز سبز بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک گزارش نشده است که در این مطالعه به عنوان اولین بار به آن پرداخته شده است. حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی بدلیل تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها، از مهمترین دلایل بقای بیشتر باکتری‌هاست [۳۹]. ترکیب لاکتولوز-اینولین به عنوان تحریک رشد و بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* گزارش شده است [۱٤]. Nikbakht kashkouli و همکاران (۲۰۱۷)، ترکیب کتیرا و اینولین را به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیکی در تولید محصولات لبنی تخمیری عنوان کردند [۳۱]. در تحقیقی مشابه Golestani و همکاران (۲۰۱٦)، با بررسی اثر اینولین بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی سین‌بیوتیک تخمیری و غیر تخمیری گزارش دادند که قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های بستنی حاوی ۲ درصد اینولین بطور معنی‌داری بالاتر از نمونه‌های فاقد اینولین بود [٤۰]. هم‌چنین از نمودار مشخص است که اگرچه وجود پری‌بیوتیک های اینولین و آرد موز سبز باعث افزایش در شمارش *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* شده است اما با گذشت زمان جمعیت این پروبیوتیک کاهش پیدا می‌کند که دلیل آن را می‌توان به کاهش pH ماست در طول نگهداری و حساس بودن باکتری نسبت داد. به علاوه با توجه به نتایج کاهش pH در تیمارهای حاوی آرد موز سبز (بخش ۳-۱) و ماندگاری مطلوب *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در تیمار مذکور، پری‌بیوتیک بودن آرد موز سبز ثابت می‌شود.

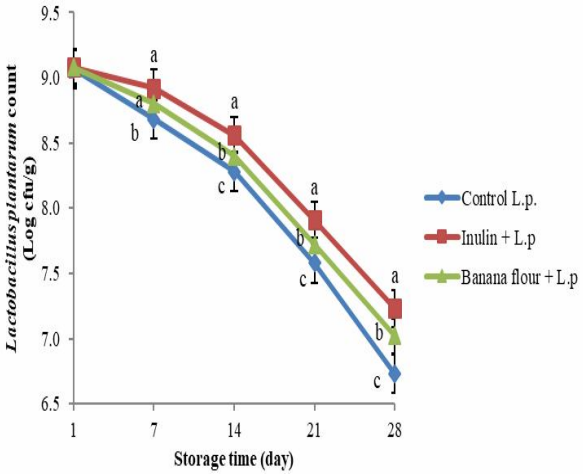

Fig 1 Effect of inulin and green banana flour on the viability of *Lactobacillus plantarum* (Log cfu/g) in yogurt samples during 4 weeks of refrigeration. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different treatments at a same storage time. L.p.: *Lactobacillus plantarum.*

۳-۵- شمارش باکتری *باسیلوس کواگولانس*

شکل ۲، تاثیر اینولین و آرد موز سبز بر قابلیت زنده‌مانی *باسیلوس کواگولانس* را در نمونه‌های ماست در طول ٤ هفته نگهداری در یخچال نشان می‌دهد. با توجه به نمودار، در روز اول و هفتم پس از نگهداری ماست، اختلاف معنی‌داری بین سه تیمار مشاهده نشد (P>۰/۰۵) اما با گذشت زمان تعداد *باسیلوس کواگولانس* در نمونه پروبیوتیک نسبت به نمونه سین‌بیوتیک کاهش معنی‌داری داشته است (P<۰/۰۵)، به طوری که بعد از ٤ هفته نگهداری در یخچال، تعداد *باسیلوس کواگولانس* به ۷/٦۸ Log cfu/g در ماست شاهد پروبیوتیک و ۷/۸۳ و ۷/۷۸ Log cfu/g به ترتیب در ماست‌های سین‌بیوتیک حاوی اینولین و آرد موز سبز می‌رسد. باکتری *باسیلوس کواگولانس* به دلیل تولید اسپور از قابلیت زنده‌مانی بالایی برخوردار است. تولید محصول پروبیوتیکی، مستلزم پایداری باکتری‌های پروبیوتیک موجود در آن برای یک بازه زمانی مشخص است. استفاده از باکتری‌های اسپورزا در محصولات پروبیوتیکی از محاسن متعددی برخوردار است. از جمله این موارد می‌توان به مقاومت در شرایط خشکی، قابلیت تحمل pH پایین و درنتیجه افزایش احتمال عبور موفقیت‌آمیز از معده، اشاره نمود [٤۱]. به طوریکه مطالعات صورت گرفته در زمینه بکارگیری باکتری‌های پروبیوتیک اسپورزا (سویه‌های مختلف *باسیلوس کواگولانس*) در محصولات غذایی حاکی از زنده‌مانی بالای *باسیلوس کواگولانس* در آن‌ها می‌باشد [٤۲ و ٤۳]. به علاوه، با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه مشخص شده است که دو پری‌بیوتیک اینولین و آرد موز سبز موجب افزایش زنده‌مانی *باسیلوس کواگولانس* شده است اما تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها وجود ندارد (P>۰/۰۵). قابلیت زیستی و بقاء پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در درجه اول اهمیت قرار دارد. در فرآورده‌های لبنی تخمیری، فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، مواد مغذی موجود، نوع پری‌بیوتیک مورد استفاده از مهم‌ترین عوامل موثر بر بقاء پروبیوتیک‌ها می‌باشند [٤٤]. در تحقیق Aghajani و همکاران (۲۰۱٤)، نوع باکتری و نوع پری‌بیوتیک مورد استفاده را از مهم‌ترین عوامل زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها ذکر کردند [١٤]. البته کاهش تعداد باکتری *باسیلوس کواگولانس* در انتهای دوره نگهداری ماست نسبت به روز اول نیز می‌تواند ناشی از مرگ تدریجی سلول‌های آسیب‌دیده در زمان نگهداری باشد [۱۷].

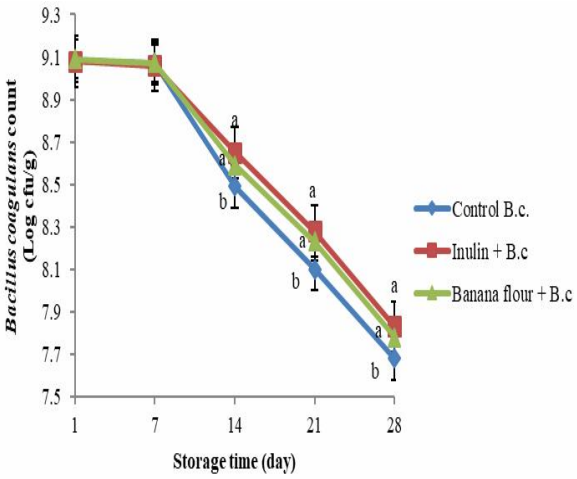

Fig 2 Effect of inulin and green banana flour on the viability of *Bacillus coagulans* (Log cfu/g) in yogurt samples during 4 weeks of refrigeration. Different lowercase letters indicate a significant difference at the level of P <0.05 between different treatments at a same storage time. B.c.: *Bacillus coagulans*

۳-٦- زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس*

میزان بقای دو پروبیوتیک مورد مطالعه در ماست‌های پروبیوتیک و سین‌بیوتیک در طول ۲۸ روز نگهداری در یخچال در جدول ۵، نشان داده شده است. هر دو پروبیوتیک در این مدت به طور قابل توجهی کاهش یافته‌اند به طوری که میزان بقای نهایی در ماست پروبیوتیک به ترتیب برای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس*، ۷٤/۲۰ درصد و ۸٤/۵۸ درصد بوده است. از نتایج مشخص است که اینولین و آرد موز سبز به عنوان پری‌بیوتیک در زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک تاثیر بسزایی داشته‌اند. به نحوی که در نمونه‌های سین‌بیوتیک نسبت به نمونه‌های پروبیوتیک تعداد پروبیوتیک‌ها بیشتر است. درصد زنده‌مانی باکتری *باسیلوس کواگولانس* نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر است. در مقایسه با دو پری-بیوتیک مورد استفاده می‌توان گفت که آرد موز سبز هم می-تواند به عنوان یک پری‌بیوتیک مطرح باشد. درصد زنده مانی *باسیلوس کواگولانس* در ماست سین‌بیوتیک حاوی اینولین و آرد موز سبز به ترتیب ۸٦/۲۳ ٪ و ۸۵/۵۹ ٪ و در مورد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به ترتیب ۷۹/٦۳ ٪ و ۷۷/۳۱ ٪ بدست آمد. باکتری *باسیلوس کواگولانس* به دلیل توانایی تولید اسپور،

نسبت به اسید، حرارت و فشار مقاوم بوده و این امر باعث می‌شود این باکتری به عنوان یک انتخاب مناسب برای استفاده در محصولات لبنی تخمیری در مقایسه با دیگر گونه‌ها برگزیده شود. با توجه به نتایج بدست آمده مشخص شد که میزان بقای آن نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر بوده و همین امر کاربرد آن را در محصولات تخمیری بیشتر می‌کند. مطالعات زیادی حاکی از بقا و زنده‌مانی بالای *باسیلوس کواگولانس* می‌باشند و بیان شده است که این باکتری می‌تواند در انواع محصولات اعم از محصولات لبنی تخمیری، غیر لبنی دارای pH پایین و محصولاتی که دارای فراورش حرارتی در حین تولید هستند، به کار رود [٤٥ و ٤٦]. اینولین به عنوان یک ترکیب پری‌بیوتیک به خصوص نوع بلند زنجیر آن به عنوان یک ترکیب قوام‌دهنده در فرآورده‌های غذایی خصوصا لبنی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در ضمن مشخص شده است که این ترکیب می‌تواند نقش جایگزینی چربی را در غذاهای کم‌چرب داشته باشد [٤٧]. بهبود زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های حاوی اینولین را می‌توان به خاصیت ژل‌دهندگی و نفوذ کمتر اکسیژن طی مرحله رساندن نسبت داد که باعث می‌شود آسیب کمتری به پروبیوتیک‌ها برسد. علاوه بر این اینولین می‌تواند مانند یک پایدارکننده عمل کند و با بهبود بافت محصول و ممانعت از رشد کریستال‌های یخ در طی دوره نگهداری، سبب جلوگیری از آسیب به دیواره سلولی پروبیوتیک‌ها و بنابراین مانع از افت قابل توجه آنها شود [۱۵]. آرد موز سبز یک منبع طبیعی و غنی از نشاسته مقاوم می‌باشد. اثبات شده است که در جلوگیری از التهاب روده [٤٨]. و تعدیل استرس اکسیداتیو در مدل‌های حیوانی مبتلا به کولیت روده بسیار موثر است [٤٩]. هم‌چنین اثرات ضد اسهالی آن در کودکان مشخص شده است [۵۰]. به علاوه این ترکیب می‌تواند به عنوان جایگزین گلوتن به طور فزاینده‌ای در محصولات غذایی مورد استفاده قرار گیرد و نیز در ثبات امولسیون‌ها موثر باشد [۵۱ و ۵۲ و ۵۳]. علاوه بر اثرات سلامت بخشی آرد موز سبز در طی این تحقیق مشخص شد که می‌تواند نقش پری‌بیوتیک نیز داشته باشد و در ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک موثر واقع شود.

Table 5 Survival percentage of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus coagulans* in yogurt samples during 4 weeks of refrigeration

Yogurt	Microorganism	Storage time (day)				
		1	7	14	21	28
Probiotic	*L. plantarum*	100	95.70	91.29	83.57	74.20
	B. coagulans	100	99.89	93.50	89.21	84.58
Synbiotic containing inulin	*L. plantarum*	100	98.24	94.27	87.11	79.63
	B. coagulans	100	99.78	95.26	91.19	86.23
Synbiotic containing green banana flour	*L. plantarum*	100	96.92	92.51	85.02	77.31
	B. coagulans	100	99.78	94.50	90.54	85.59

٤- نتیجه‌گیری

در این تحقیق تاثیر اینولین و آرد موز سبز به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک بر بقا و زنده‌مانی دو پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* در ماست کم‌چرب طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال بررسی و مقایسه گردید. نتایج نشان داد به طور کلی میزان اسیدیته در تمامی تیمارها با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت اما در مدت زمان ثابت نگهداری، اسیدیته تیمارهای سین‌بیوتیک بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک بود و اختلاف معنی‌داری بین دو پری‌بیوتیک مورد مطالعه مشاهده نشد. ماده خشک در نمونه‌های سین‌بیوتیک به طور معنی‌داری بیشتر از ماست‌های پروبیوتیک بود و با گذشت زمان نگهداری تغییر قابل توجهی در ماده خشک یافت نشد. همچنین مشخص شد در مقایسه با نمونه‌های شاهد، ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های حاوی اینولین و آرد موز سبز بهتر بود. در رابطه با ماندگاری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، اینولین نسبت به آرد موز سبز بهتر عمل کرد، در حالی که در مورد *باسیلوس کواگولانس* تفاوت معنی‌داری بین دو پری‌بیوتیک مورد استفاده مشاهده نشد که نشان می‌دهد بقا و ماندگاری پروبیوتیک‌ها به نوع گونه و نوع پری‌بیوتیک مصرفی بستگی دارد. به علاوه، نتایج نشان داد که بقا و زنده‌مانی *باسیلوس کواگولانس* نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر

است که می‌توان به توانایی تولید اسپور توسط *باسیلوس کواگولانس* نسبت داد. مواد غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها در حال حاضر به عنوان یکی از بهترین محصولات غذایی فراسودمند شناخته می‌شوند. مزایای سلامتی‌بخش آن‌ها به وسیله پری‌بیوتیک‌ها افزایش می‌یابد، زیرا یک پروبیوتیک واقعی بدون غذا (پری‌بیوتیک) در سیستم گوارشی قابلیت زنده‌مانی خوبی ندارد، این درحالی است که طبق گزارش FAOمحصول پروبیوتیک استاندارد، محصولی است که در لحظه مصرف حداقل 10^{7}-10^{6} CFU/g میکروارگانیسم زنده و فعال پروبیوتیک داشته باشد. بنابراین فاکتور کلیدی برای استفاده موثر از خواص پروبیوتیک‌ها، حفظ زنده‌مانی و فعالیت باکتری‌ها در طی دوره نگهداری ماده غذایی می‌باشد. طبق نتایج بدست آمده، تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *باسیلوس کواگولانس* در تمامی نمونه‌های ماست سین‌بیوتیک بالاتر از حد توصیه شده بود و تعداد پروبیوتیک در تیمارهای حاوی *باسیلوس کواگولانس* از همه بیشتر بود. هم‌چنین، در طی این تحقیق مشخص شد که آرد موز سبز خاصیت پری‌بیوتیکی دارد، بنابراین می‌توان از ترکیب آرد موز سبز و *باسیلوس کواگولانس* برای ایجاد غذاهای سین‌بیوتیک عملگرا با هدف بهبود سلامت روده استفاده کرد و به عنوان یک ترکیب موثر برای فرمولاسیون‌های غذایی در نظر گرفته شود.

۵- منابع

[1] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A. & Rahimi, J. (2008). Whey protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: Chemical, physical, and microstructural properties. Journal of Dairy Science, 91, 2545-2552.

[2] Shori, A. B. & Baba, A. S. (2011). Antioxidant activity and inhibition of key enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by Azadirachta indica-yogurt. Journal of Saudi Chemical Society, In press.

[3] Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A. A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of nonfat yogurt as affected by a β-glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids, 22(7), 1291 - 1297.

[4] Milanović, S. D., Carić, M. Đ., Đurić, M.S., Iličić, M. D. & Duraković, K. G. (2007). Physico-chemical properties of probiotic yoghurt produced with transglutaminase. APTEFF, 38, 45-52.

[5] Oliveira, R. P. S., Perego, P., Oliveira, M. N. & Converti, A. (2011). Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. Journal of Food Engineering, 107, 36-40.

[6] Marafon, A. P., Sumi, A., Alcântara, M. R., Tamime, A. T. & Oliveira, M. N. (2011). Optimization of the rheological properties of probiotic yoghurts supplemented with milk proteins. LWT-Food Science and Technology, 44, 511-519.

[7] Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T. & Shah, N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 17, 657-665.

[8] Burgain, J., Gaiani, C., Linder M. & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. Journal of Food Engineering, 104, 467-483.

[9] Aragon-Alegro, L. C., Alegro, J. H. A., Cardarelli, H. R., Chiu, M. C. & Saad, S. M. I. (2007). Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. LWT-Food Science and technology, 40(4), 669-675.

[10] Arcia, P. L., Costell, E. & Tárrega, A. (2010). Thickness suitability of prebiotic dairy desserts: Relationship with rheological properties. Food Research International, 43(10), 2409-2416.

[11] Tribess, T. B., Hernández-Uribe, J. P., Méndez-Montealvo, M. G. C., Menezes, E. W., Bello-Perez, L. A. & Tadini, C. C. (2009). Thermal properties and resistant starch content of green banana flour (*Musa cavendishii*) produced at different drying conditions. LWT-Food Science and Technology, 42(5), 1022-1025.

[12] Agama-Acevedo, E., Islas-Hernández, J. J., Pacheco-Vargas, G., Osorio-Díaz, P. & Bello-Pérez, L. A. (2012). Starch digestibility and glycemic index of cookies partially substituted with unripe banana flour. LWT-Food Science and Technology, 46(1), 177-182.

[13] Fadiheh, M.T., Najafi, M.N. & Sani, A.M. (2013). Evaluating survival of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic concentrated yogurt via response surface

method (RSM). Journal of Innovation in Food Science and Technology, *5*(2).
[14] Aghajani, A.S., Pourahmad, R. & Mahdavi, H.D. (2014). The effect of oligofructose, lactulose and Inulin mixture as prebiotic on physicochemical properties of synbiotic yogurt. Journal of Food Biosciences and Technology, 4(2), 33-40.
[15] Akalin, A.S. & Erisir, 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.
[16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Probiotic yogurt-Specifications and test methods. ISIRI no 11325. Karaj: ISIRI; 2018. [in Persian]
[17] Hashemi, M., Gheisari, H. & Shekarforoush, S. (2013). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bacillus coagulance* in probiotic and low-fat synbiotic ice-creams. Journal of Food Hygiene, 3(3 (11)), 57-65. [in Persian]
[18] Isa, J. K. & Razavi, S. H. (2017). Characterization of *Lactobacillus plantarum* as a potential probiotic in vitro and use of a dairy product (yogurt) as food carrier. Applied Food Biotechnology, 4(1), 11-18.
[19] Ziaei, S., Eskandari, M. H., Amani, E. & Shad, E. (2013). Production of low-fat probiotic yogurt using *Bacillus coagulans* and study of its physicochemical and microbial properties. 21st National Congress of Food Science and Technology of Iran. [in Persian]
[20] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products Determination of titrable acidity and value pH Test method. ISIRI no 2852. Karaj: ISIRI; 2007. [in Persian]
[21] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Yoghurt-Specifications and test methods. ISIRI no 695. Karaj: ISIRI; 2019. [in Persian]
[22] Mortazavian, A.M., Sohrabvandi, S. (2006). Probiotics and food probiotic products; based on dairy probiotic products. Eta, Tehran.
[23] Tayebi Moghaddam, S. & Ehsani, M. (2020). Comparison of the effect of extracted inulin from native chicory root with commercial inulin on the viability of probiotics and physicochemical, rheological and sensory properties of synbiotic yogurt. Iranian Journal of Food Science and Technology, 17(99), 91-110. [in persian]
[24] Akin, M. B., Akın, M. S. & Kırmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food chemistry, 104(1), 93-99.
[25] Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., Bütikofer, U. & Eberhard, P. (2009). Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. International Dairy Journal, 19(2), 107-115.
[26] Oliveira, R. P. S., Perego, P., Converti, A. & De Oliveira, M. N. (2009). Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. Journal of Food Engineering, 91, 133–139.
[27] Mehmood, S. T., Masud, T., Mahmood, T. & Maqsud, S. (2008). Effect of different additives from local source on the quality of yoghurt. Pakistan Journal of Nutrition, 7(5), 695-699.
[28] Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A. A. (2008). Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β-glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids, 22, 1291-1297.
[29] Jaros, C. (2002). Influence of the starter culture on the relationship between dry matter and physical properties of set-style yogurt. Milchwiss. Milk Science International, 57, 325-328.
[30] Nekoueian, M. (2020). Feasibility study of Production of synbiotic low calorie yoghurt by green banana flour and evaluation of physicochemical, textural and sensorial characteristics of it. M. Sc. Thesis
[31] Nikbakht kashkouli, T., Jooyande, H. & Tahmoozi Dideban, S. (2017). Evaluating physicochemical and microbial properties of synbiotic yogurt using Response surface methodology, Electronic Journal of Food Processing and Preservation, 9, 50-33.
[32] Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., Rastegar, H. & Mortazaei, G. R. (2010). Effects of dry matter standardization order on biochemical and microbiological characteristics of freshly made probiotic Doogh (Iranian fermented milk drink). Italian Journal of Food Science, 22(1).

[33] Pan, X., Chen, F., Wu, T., Tang, H. & Zhao, Z. (2009). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. Food Control, 20(6), 598-602.

[34] Martin, F., Cachon, R., Pernin, K., De Coninck, J., Gervais, P., Guichard, E. & Cayot, N. (2011). Effect of oxidoreduction potential on aroma biosynthesis by lactic acid bacteria in nonfat yogurt. Journal of Dairy Science, 94(2), 614-622.

[35] Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T. & Shah, N. P. (2006). Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. International Dairy Journal, 16(10), 1181-1189.

[36] Sarrela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J. & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria in functional food. Journal of Biotechnology, 84, 197-205.

[37] Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M. & Kozioł, J. (2011). The influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio-yoghurt production. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 10(4).

[38] Oliveira, R. P. S., Oliveira, P. P. M. N. & Converti, A. (2012). Prebiotic effect of inulin on the growth and organic acid profile of *Bifidobacterium lactis* in coculture with *Streptococcus thermophiles*. Chemical Engineering Transactions, 27, 1-6.

[39] Yurqanlou, R. A., & Mehriar, L. (2019). The effect of adding inulin and galactole-oligosaccharide on the survival of *Lactobacillus casse* micro-cultures in apple-apricot juice. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 11(1).

[40] Golestani, M., Pourahmad, R. & Mahdavi Adeli, H. (2016). The effect of inulin on the viability of probiotic bacteria and the physical, chemical and sensory characteristics of fermented and non-fermented synbiotic ice cream. Journal of Food Technology and Nutrition, 13(3 (51)), 25-32.

[41] Adibpour, N., Hosseininezhad, M. & Pahlevanlo, A. (2019). Application of spore-forming probiotic Bacillus in the production of Nabat-A new functional sweetener. LWT - Food Science and Technology, 113, 108277.

[42] Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Natarajan, S., Sivakumar, A. & Ali, F. (2016). Evaluation of the stability of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 during processing and storage of functional foods. International Journal of Food Science &Technology, 51(4), 894-901.

[43] Majeed, M., Majeed, S., Nagabhushanam, K., Arumugam, S., Beede, K. & Ali, F. (2018). Evaluation of probiotic *Bacillus coagulans* MTCC 5856 viability after tea and coffee brewing and its growth in GIT hostile environment. Food Research International, 121, 497-505.

[44] Zacarchenco, P. B. & Massaguer-Roig, S. (2006). Properties of *Streptococcus thermophilus* fermented milk containing variable concentrations of *Bifidobacterium longum* and *Lactobacillus acidophilus*. Brazilian Journal of Microbiology, 37(3), 338-344.

[45] Rajabpour Nikoo, E., Mansouripour, S. & Hamedi, J. (2020). Feasibility study of producing and evaluation the quality properties of probiotic and synbiotic jelly containing *Bacillus coagulans*. Journal of Food Microbiology, 7(2), 34-43. [in persian]

[46] Ganjoori, M., Mehrabian, S. & Akhavan Sepahi, A. (2012) Enrichment breads, using of potential probiotic bacillus (*Bacillus coagulans*). Journal of Biotechnology. 3(1), 37-46. [in persian]

[47] Glibowski, P. & Kowalska, A. (2012). Rheological, texture and sensory properties of kefir with high performance and native inulin. Journal of Food Engineering, 111(2), 299– 304.

[48] Scarminio, V., Fruet, A. C., Witaicenis, A., Rall, V. L. D. i. & Stasi, L. C. (2012). Dietary intervention with green dwarf banana four (Musa sp. AAA) prevents intestinal inflammation in a trinitrobenzenesulfonic acid model of rat colitis. Nutrition Research, 32(3), 202–209.

[49] Almeida-Junior, L., Curimbaba, T., Chagas, A., Quaglio, A. & Di Stasi, L. (2017). Dietary intervention with green dwarf banana four (Musa sp. AAA) modulates oxidative stress and colonic SCFAs production in the TNBS model of intestinal inflammation. Journal of Functional Foods, 38, 497–504.

[50] Rabbani, G., Larson, C., Islam, R., Saha, U. & Kabir, A. (2010). Green banana-supplemented diet in the home management of acute and prolonged diarrhoea in children: a community-based trial in rural Bangladesh.

Tropical Medicine& International Health, 15(10), 1132–1139.

[51] Vogado, C. d. O., Leandro, E. d. S., Zandonadi, R. P. d. e., Alencar, E. R., Ginani, V. C., Nakano, E. Y., Habú, S. & Aguiar, P. A. (2018). Enrichment of probiotic fermented milk with green banana pulp: characterization microbiological. Nutrients, 10(4), 427.

[52] Dos Santos Alves, L. A. A., Lorenzo, J. M., Gonçalves, C. A. A., Dos Santos, B. A., Heck, R. T., Cichoski, A. J. & Campagnol, P. C. B. (2016). Production of healthier bologna type sausages using pork skin and green banana four as fat replacers. Meat Science, 121, 73–78.

[53] Yangılar, F. (2015). Effects of green banana flour on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. Food Technology and Biotechnology, 53(3), 315.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Comparison of the effectiveness of two prebiotics inulin and green banana flour on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus coagulans* in low-calorie synbiotic yogurt

Jokari, M. M.[1], Jafarpour, D.[2*]

1. M. Sc. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran
2. Assistant professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 04/ 27
Accepted 2021/ 07/ 03

Keywords:

Lactobacillus plantarum,
Bacillus coagulans,
Yogurt,
Green banana flour,
Inulin.

DOI: 10.52547/fsct.18.117.49

*Corresponding Author E-Mail:
d.jafarpour84@yahoo.com

ABSTRACT

Today, yogurt is produced as the most important probiotic dairy product worldwide and marketed. The combination of prebiotics with probiotics is called synbiotics, which have more beneficial effects on host health. This study was performed to compare the effect of inulin and green banana flour on the properties of synbiotic yogurt during 28 days of refrigerated storage. Inulin and green banana flour were used at 2% levels in synbiotic yogurt containing *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus coagulans* and compared with control (probiotic) yogurt. The results showed that with increasing storage time, the acidity of all treatments increased and the pH value decreased. Addition of inulin and green banana flour increased the acidity and decreased the pH in the synbiotic samples, but no significant difference was observed between the two prebiotics used. Dry matter content in synbiotic treatments was significantly higher than control treatments (P <0.05). The presence of both prebiotic compound had a positive effect on the survival capability of probiotic bacteria in yogurt. The effect of inulin on the survival of *L. plantarum* was greater than of green banana flour, but in treatment of *B. coagulans* there was no significant difference between the two prebiotics. Count of *L. plantarum* and *B. coagulans* was higher than the recommended limit of 6 Log cfu /g in all samples of synbiotic yogurt during storage for 4 weeks. Survival of *B. coagulans* were higher than *L. plantarum*. According to the results of this study, it can be said that green banana flour has pre-biotic properties and is effective in maintaining the survival of probiotic bacteria, so it can be concluded that this combination has a high potential for use in healthy foods.