بهینه سازی مقدار فیبر انگور و کیتوزان در ماست میوه‌ای پروبیوتیک با استفاده از سطح پاسخ

پریسا دیبازر[۱]، اصغر خسروشاهی اصل[۲*]، شهین زمردی[۳]

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه

۲- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- استادیار بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

(تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۷/۸)

چکیده

در این مطالعه تاثیر فیبر انگور و کیتوزان بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و خواص فیزیکوشیمیایی و حسی ماست میوه‌ای حاوی کیوی درطول زمان نگهداری با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار فیبر انگور در محدوده ۱/۲-۰ درصد، مقدار کیتوزان ۱-۰ درصد و زمان نگهداری ۲۱-۳ روز بود. نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که با افزایش مقدار کیتوزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس فرمنتوم بطور معنی‌داری کاهش، اما با افزایش مقدار فیبر افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). مقدار رطوبت و آب اندازی نمونه‌ها نیز با افزایش مقادیر فیبر انگور و کیتوزان بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). همچنین افزایش مقدار کیتوزان فقط موجب کاهش امتیاز رنگ شد اما افزایش مقدار فیبر علاوه برامتیاز رنگ، امتیاز طعم نمونه‌ها را نیز بطور معنی‌داری کاهش داد ($p<۰/۰۵$). در نهایت، میزان فیبر انگور ۰/۹ درصد، کیتوزان ۰/۱ درصد و زمان نگهداری ۱۲ روز به عنوان شرایط بهینه برای تولید ماست میوه‌ای پروبیوتیک حاوی کیوی تعیین گردید.

کلید واژه گان: کیتوزان، فیبر انگور، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، ماست میوه‌ای

* مسئول مکاتبات: a.khosrowshahi@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر کیفیت و سالم بودن مواد غذایی توجه مصرف کنندگان را به خود معطوف ساخته است. امروزه اکثر مصرف کنندگان نه تنها به سالم بودن غذا و ارزش تغذیه‌ای آن، بلکه به اثر سلامت بخشی آن نیز توجه دارند. چنین خصوصیاتی را در گروه جدیدی از غذاها تحت عنوان غذاهای عملگرا[1] میتوان یافت که حاوی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک هستند، که در اثر ترکیب این دو، محصول غذایی به نام سین‌بیوتیک تولید می‌شود [۱]. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای (به طور عمده *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریا*) هستند که اگر در مقادیر کافی مصرف شوند، خواص سلامت بخش در میزبان ایجاد می‌نمایند [۲]. *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* به عنوان یکی از مهم‌ترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک دارای اثرات سلامت بخشی مانند: بهبود هضم لاکتوز، بهبود تعادل میکروبی روده، افزایش ارزش تغذیه‌ای و بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها می‌باشد [۳- ٦]. با افزایش اطلاعات مصرف کنندگان در رابطه با اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها، تمایل برای مصرف ماست پروبیوتیک افزایش یافته است. برای انسان تعداد حداقل 10^6 سلول زنده پروبیوتیک در زمان مصرف جهت ایجاد اثرات مطلوب لازم است [۷]. مشکل موجود در رابطه با محصولات پروبیوتیک آن است که میکروارگانیسم‌های مفید اغلب نمی‌توانند در محصول غذایی به مدت طولانی زنده بمانند لذا استفاده از مواد پری‌بیوتیک که تحریک کننده‌ی رشد پروبیوتیک‌ها در روده می‌باشند، می‌توانند به ماندگاری بهتر آنها در طی نگهداری محصول کمک کنند. مطالعات زیادی در رابطه با افزودن پری‌بیوتیک‌ها به محصولات لبنی صورت گرفته است و گزارش کرده‌اند که اثر مثبتی هم در رشد باکتری‌های پروبیوتیک و هم ویژگی‌های حسی، رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی آنها دارد [۸].

از پری بیوتیک‌های مهم می توان به بعضی از صمغ‌ها از جمله کیتوزان اشاره کرد. کیتوزان پلیمر گلوکزآمین است که از استیل زدایی کیتین تهیه می شود. منبع عمده و تجاری کیتین، پوسته سخت پوستان از جمله خرچنگ، میگو، لابستر و آرتمیا است [۹]. از آنجاییکه پلیمر کیتوزان ترکیب زیست سازگار و غیر سمی بوده، در برابر آنزیم‌های گوارش انسان مقاوم است، لذا به عنوان یک منبع جدید فیبر رژیمی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰]. علاوه بر خاصیت ضد میکروبی کیتوزان، می‌توان به کاهش دهندگی کلسترول و گلوکز خون، قوام دهندگی و ایجاد بافت مناسب و خواص امولسیفایری آن اشاره کرد [۱۱].

فیبرها نیز از جمله ترکیبات پری بیوتیک هستند که عمدتا از دیواره سلولی میوه‌ها، سبزی‌ها و غلات تامین می‌شوند که شامل پلی ساکاریدها، الیگو ساکاریدها، لیگنین و مواد گیاهی هستند که از نظر فیزیولوژیکی سودمند می‌باشند [۱۳و۱۲]. سازمان بهداشت جهانی دریافت حداقل ۲۵ گرم فیبر غذایی را در روز توصیه می‌کند [۱٤]. در این میان تفاله انگور حاصل از صنعت آب میوه، منبع غنی از پلی فنل‌ها است تفاله انگور یکی از فرآورده های فرعی حاصل از استخراج آب انگور بوده و به طور طبیعی از ٦۰ درصد تفاله و ٤۰ درصد دانه تشکیل شده است. تفاله انگور سفید (بر اساس ماده خشک) دارای حدود ۱۷/۳ تا ۲۸ ٪ فیبر، ۵۵/۸- ۷۷/۵ ٪ قند محلول، ۲٦/۸-۲۱/٤ میلی گرم در گرم پلی فنل می‌باشد. بر این اساس پوست انگور سفید به عنوان مواد فیبری غنی از مواد فعال زیستی قابل استفاده می‌باشد [۱۵ و ۱٦]. مطالعات اپیدمیولوژیک مختلف ارتباط بین رژیم غذایی غنی از پلی فنل‌ها و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و انواع خاصی از سرطان را نشان داده‌اند [۱۷]. با توجه به اثرات مثبت فیبر انگور، افزایش آن به محصولاتی همچون ماست که مصرف بیشتری دارد، می‌تواند به کمبود فیبر در رژیم غذایی افراد کمک کند. تحقیقات چندی در خصوص کاربرد فیبرها در تهیه محصولات لبنی انجام شده است. براساس تحقیقات، افزایش فیبر موجب کاهش خواص حسی ماست می گردد. لذا با افزایش مارمالاد میوه، می‌توان خواص حسی محصول را بهبود بخشید. ماست‌های طعم‌دار با اضافه نمودن مارمالاد، کنسانتره میوه‌ها یا شربت‌های طعم‌دار بعد یا قبل از فرایند انکوباسیون به ماست، تهیه می‌شود. ترکیبات طعم دهنده قوام ماست را کاهش می‌دهد. از طرفی موجب افزایش ارزش تغذیه‌ای و تنوع محصولات در بازار می‌شود [۲۰]. دلو استفولو و همکاران (۲۰۰٤) و سیندرا و همکاران (۲۰۱۰) به ترتیب گزارش کردند که افزایش بیش از ۱/۳ گرم فیبر سیب و ۱ گرم فیبر پرتقال در ۱۰۰ میلی لیتر شیر، موجب کاهش امتیاز خواص حسی ماست گردید [۱۸ و ۱۹]. عاسیر و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند برخلاف تصورات عمومی مبنی بر ضد میکروبی بودن کیتوزان، این ترکیب بر رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* اثرات بازدارندگی کاملی از خود نشان نداد که

1. Functional Food

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

احتمالا در ژل‌های اسیدی به علت ایجاد کمپلکس کیتوزان-کازئین-گلبول‌های چربی، موقعیت‌های اتصالی با سطح میکروارگانیسم‌ها کاهش یافته و منجر به کاهش اندکی از رشد پروبیوتیک می‌شود [۲۱].

لذا در این مطالعه هدف ارزیابی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در ماست میوه‌ای با ترکیبی از فیبر انگور و کیتوزان و ارزیابی برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و میکروبی محصول نهایی است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

شیر کامل (با ماده خشک ۱۲/۵٪، اسیدیته بر حسب اسید لاکتیک ۰/۱٤٪، چربی ۳ ٪، پروتئین ۳/۱۷٪، دانسیته ۱/۰۳۰ و ٦/۷۳ =pH) از یک دامداری صنعتی واقع در روستای گباران ارومیه تهیه شد. استارتر YC-X11 حاوی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه‌ی *بولگاریکوس* (کریستن هانسن دانمارک)، باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1744) از مرکز کلکسیون قارچ‌ها و باکتری‌های صنعتی ایران، محیط کشت‌های MRS[1] آگار، MRS براث، DRBC[2] و DG18[3] از شرکت مرک آلمان، صمغ کیتوزان از شرکت Sigma-Aldrich خریداری شدند. تجهیزات مورد استفاده نیز شامل: انکوباتور و آون (ممرت آلمان)، ترازوی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم (رادواگ لهستان)، pH متر (یوتک سنگاپور)، سانتریفوژ ژربر (آلمان)، لاکتودانسیتومتر(چین)، رفراکتومتر (آتاگو ژاپن)، دستگاه پمپ خلا (Rocker تایوان)، کوره الکتریکی (اکسایتون ایران)، سانتریفوژ یخچال‌دار (اپیندروف آلمان) بودند.

۲-۲-روش‌ها

۲-۲-۱-روش تهیه فیبر انگور

تفاله انگور از شرکت سیب تاک ارومیه تهیه گردید. ابتدا تفاله در آب داغ ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه شستشو داده شد و پس از آبکش کردن، در دمای ٦۵ درجه سانتی‌گراد تا رطوبت حداکثر ۵ درصد خشک گردید و سپس آسیاب شد. برای بدست آوردن فیبر با اندازه مشخص و یکسان، پودر حاصل ابتدا از الک با مش ۸۰ و سپس از الک با مش ۱۰۰ عبور داده شد. اندازه ذرات پودر فیبر بین ۱۱۷ تا ۱٤۹ میکرون بود [۲۲].

ویژگی‌های فیبر از جمله میزان رطوبت (از طریق خشک کردن در آون ۲±۱۰۳ درجه سانتی‌گراد)، خاکستر (توسط سوزاندن در کوره در دمای۵±۵۵۰ درجه سانتی‌گراد) تعیین گردید [۲۳]. برای تعیین اسیدیته (بر حسب اسید تارتاریک) و pH، مقدار ۱۸ گرم از فیبر به ۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و مدت یک ساعت در حمام آب ٤۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از صاف کردن، pH توسط pH متر تعیین شد [۲۳]. برای اندازه‌گیری میزان فیبر، نمونه آسیاب شده در محلول جوشان اسید سولفوریک (هضم اسیدی) و سپس در محلول جوشان سدیم هیدروکسید (هضم قلیایی) قرار داده شد. باقیمانده را با صاف کردن و شستن جدا نموده و سپس سوزانده شد تا خاکستر به جا بماند. درصد خاکستر باقی مانده، نشان دهنده درصد فیبرخام است [۲۵ و۲٦]. برای تعیین ظرفیت نگهداری آب، به ۵ گرم از فیبر، ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید، پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط، بمدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۲۵۰۰ سانتریفوژ شد. سپس سرم جدا و رسوب باقی مانده توزین شد و برحسب گرم آب بر گرم فیبر انگور محاسبه گردید [۲٦]. برای شمارش کپک، مخمر و شمارش کلی پس از تهیه سری رقت‌ها توسط آب پپتون ۰/۱ درصد استریل به ترتیب از محیط کشت‌های DG18 و PCA[4] استفاده گردید. ویژگی های فیزیکوشیمیایی فیبر انگور عبارت از رطوبت ۳/۸٪، خاکستر ٤/۰۷٪، اسیدیته بر حسب اسید تارتاریک ۱/۳۲٪، فیبر خام ۱۳/٤٪، ظرفیت نگهداری آب (WHC) ۲/۷۷ گرم آب در گرم فیبر انگور و آلودگی کلی میکربی و مخمر آن به ترتیب ۲/۹۹ و ۱/۳۹ واحد کلنی در گرم بود. ضمنا هیچ گونه کپک در آن مشاهده نشد.

ویژگی‌های میوه و مارمالاد کیوی از جمله pH (با استفاده از pH متر)، بریکس (به روش رفراکتومتری)، درصد ساکارز (به روش لین-آینون) و اسیدیته (بر حسب اسید سیتریک) توسط تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال به روش پتانسیومتری تا pH=۸/۳ تعیین گردید [۲۳]. ویژگی‌های پوره و مارمالاد کیوی به ترتیب عبارت از بریکس ۱۵/۸ و ٦٦/۵ درصد، اسیدیته بر حسب اسید

1. De Man, Rogosa, Sharpe (MRS)
2. Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)
3. Dichloran 18% Glycerol (DG)
4. Plate Count Agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

سیتریک ۱/۵۱ و ۰/۷۶۵ ٪، pH برابر ۳/۳۷۵ و ۳/۳۵۳ و مقدار ساکارز مارمالا کیوی ۲۸٪ بود.

۲-۲-۲-آماده کردن باکتری پروبیوتیک

آمپول خشک شده انجمادی لیوفیلیزه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در شرایط استریل شکسته شد و محتوی آن به لوله آزمایش دارای مقدار ۱۰ میلی لیتر محیط کشت MRS مایع استریل منتقل گردید و مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس به ارلن حاوی ۹۵ میلی‌لیتر از محیط کشت فوق منتقل شد و تحت شرایط ذکر شده انکوبه گردید. این عمل ۲ تا ۳ بار تکرار شد تا تعداد باکتری‌ها به مقدار لازم برسد. سپس سلولهای میکروبی توسط سانتریفوژ یخچالدار با دور ۱۵۰۰g و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه برداشت شد. باکتری‌های برداشت شده دو بار با آب پپتون ۰/۱ درصد استریل شستشو داده شدند [۲۷].

۲-۲-۳-روش طرح آزمایشی و تیمارهای آماری

در این تحقیق، از روش سطح پاسخ[1] و از طرح مرکب مرکز وجه[2] استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل مقدار فیبر انگور، غلظت کیتوزان و زمان نگهداری در ۳ سطح بود. نمایش طراحی آزمون‌ها در جدول ۱ آمده است. تعداد نمونه‌های آزمایشی ۲۰ عدد بود که در این میان ٦ آزمون تکرار در نقطه مرکزی بود که از این نقاط برای تعیین خطای آزمایش استفاده شد. داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.2 مدلسازی شد و شکل‌های سه بعدی این طرح (منحنی‌های سطح پاسخ) جهت بررسی رابطه میان پاسخ و متغیرهای مستقل رسم شد. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_{21} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{33}X_{23} + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3$$

که در آن Y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1، β_2 و β_3 اثرات خطی، β_{11}، β_{22} و β_{33} اثر مربعات و β_{12}، β_{13} و β_{23} اثر متقابل می‌باشد.

۲-۲-٤-روش تهیه ماست

ابتدا ماده خشک شیر با افزودن ۲ درصد شیر خشک بدون چربی (شرکت گلشاد مشهد) تنظیم گردید. سپس پودر فیبر و کیتوزان مطابق طرح آزمایشی (جدول ۱) اضافه شد. مخلوط در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد، به‌مدت ۱۵ دقیقه در حال هم زدن آرام، در حمام آب گرم پاستوریزه شد. سپس تا دمای ٤۳ درجه سانتی‌گراد سرد و آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1744) اضافه و مخلوط گردید. نمونه‌ها تا حصول pH معادل ٤/٦ در گرمخانه با دمای ٤۳ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. نهایتا به نمونه‌های ماست حاصله ۲۰ درصد وزنی/وزنی مارمالاد کیوی اضافه گردیده و به آرامی هم زده شد و در لیوان‌های استریل پر گردید و بمدت ۲۱ روز در یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول ۱ طراحی آزمون‌ها براساس مدل طرح مرکب مرکز وجه (CCF) با سه متغیر (فیبر انگور، کیتوزان و زمان نگهداری)

شماره	فیبر انگور (٪)	کیتوزان (٪)	زمان (روز)
۱	۰	۰	۳
۲	۰	۰	۲۱
۳	۱/۲	۰	۳
٤	۱/۲	۰	۲۱
۵	۰	۱	۳
٦	۰	۱	۲۱
۷	۱/۲	۱	۳
۸	۱/۲	۱	۲۱
۹	۰/٦	۰	۱۲
۱۰	۰/٦	۱	۱۲
۱۱	۰	۰/۵	۱۲
۱۲	۱/۲	۰/۵	۱۲
۱۳	۰/٦	۰/۵	۳
۱٤	۰/٦	۰/۵	۲۱
۱۵	۰/٦	۰/۵	۱۲
۱٦	۰/٦	۰/۵	۱۲
۱۷	۰/٦	۰/۵	۱۲
۱۸	۰/٦	۰/۵	۱۲
۱۹	۰/٦	۰/۵	۱۲
۲۰	۰/٦	۰/۵	۱۲

1. Response Surface Methodology (RSM)
2. Face Centered Design (FCD)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

۲-۲-۵- روش‌های آزمایش نمونه‌های ماست

برای شمارش *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* از محیط کشت MRS آگار، بصورت کشت پورپلیت استفاده شد. کشت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت به‌صورت هوازی انکوبه گردید [۲۸]. برای شمارش کپک و مخمر نیز از محیط کشت DRBC، بصورت کشت سطحی استفاده شد. کشت‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بمدت ۳ تا ۵ روز انکوبه گردید [۲۹]. رطوبت ماست به روش خشک کردن همراه با شن آزمایشگاهی در آون معمولی در دمای ۲±۱۰۳ درجه سانتی‌گراد، pH با استفاده از pH متر، چربی به روش ژربر تعیین شد [۲۳]. برای اندازه‌گیری میزان آب اندازی[1] نیز مقدار ۳۰ گرم از نمونه‌ها در لوله‌های مخصوص توزین و در سانتریفوژ یخچال‌دار با دور ۲۲۲g در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. سرم جدا شده از نمونه توزین شد [۳۰]. مقدار آب اندازی به صورت درصد نسبت وزن فاز مایع شفاف جدا شده بر وزن اولیه نمونه ماست محاسبه گردید [۳۱]. آزمون ارزیابی حسی، توسط ۱۵ داوطلب انجام شد و برای ارزیابی طعم و رنگ از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای (پنج: مطلوب‌ترین، یک: نامطلوب‌ترین) استفاده شد. میانگین امتیاز طعم و رنگ محاسبه شد و با استفاده از طرح RSM تجزیه و تحلیل گردید.

۳-نتایج و بحث

خلاصه نتایج تجزیه واریانس زنده‌مانی پروبیوتیک و خواص فیزیکی شیمیایی نمونه‌های ماست میوه‌ای در جدول ۲ آورده شده است.

۳-۱-تغییرات جمعیت لاکتوباسیلوس فرمنتوم

یکی از فاکتورهای بسیار مهم در فرآورده‌های پروبیوتیکی حفظ تعداد پروبیوتیک در طول نگهداری محصول می‌باشد. با توجه به آنالیز داده‌ها مدل نهایی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها به صورت معادله زیر تعیین شد.

$$\text{Probiotic} = ۸/۳۵۹۷ - ۳/۹٦٤٥A - ۰/٤٤۷B + ۰/۰۱٤۷C + ۰/۷۵۸۱A^2 - ۲/۵۰۸AB \ ۰/۱۲٦۱AC + ۰/۲۲۱B^2 + ۰/۱٤٦۷BC - ۰/۰۰۵٦C^2$$

A، B و C به ترتیب نشانگر مقدار کیتوزان، مقدار فیبر انگور و زمان نگهداری می‌باشند. با توجه به جدول ۲ مدل فوق از لحاظ آماری معنی‌دار (α = ۰/۰۱) بوده و دارای عدم برازش[2] غیر معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده بالا می‌باشد ، لذا می‌توان برای پیش بینی تعداد پروبیوتیک از آن استفاده کرد.

نتایج تجزیه آماری داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که در ماست میوه‌ای تاثیر خطی مقدار کیتوزان و زمان نگهداری، تاثیر متقابل فیبر و زمان نگهداری، تاثیر متقابل کیتوزان و فیبر، تاثیر متقابل کیتوزان و زمان نگهداری و همچنین اثر مربعی زمان نگهداری معنی دار بود ($p<۰/۰۵$).

همانطور که در شکل ۱ (الف) مشاهده می‌شود، افزایش کیتوزان زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1744) را بطور معنی‌داری کاهش داد ($p<۰/۰۵$). کیتوزان به دلیل داشتن بار مثبت می‌تواند با ترکیبات غشاء سلولی میکروبی شامل ترکیبات فسفولیپیدی و پلی ساکاریدی که دارای بار منفی هستند، واکنش دهد و موجب تخریب غشاء سلولی و تغییر در نفوذ پذیری آن شده و منجر به از دست رفتن ترکیبات داخل سلولی گردد. کیتوزان همچنین می‌تواند به عنوان یک ترکیب شلاته کننده، با فلزات کم مقدار کمپلکس داده و مانع رشد میکروب‌ها شود [۱۵، ۳۲ و ۳۳].

1. Syneresis

2. Lack of fit

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

جدول ۲ خلاصه نتایج تجزیه واریانس زنده‌مانی پروبیوتیک و خواص فیزیکی شیمیایی نمونه‌های ماست میوه‌ای

منابع متغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		زنده مانی ل. فرمانتوم (Logcfu/g)	رطوبت (٪)	pH	آب اندازی (٪)	امتیاز طعم	امتیاز رنگ
میزان کیتوزان (A)	۱	۲۵/۵۶۸۰**	۳٤/٤٤۷۳**	۰/٤۵۷۱**	۳۱/۷۹۰۸**	۰/۰٦٤ ns	۰/٤۸٤*
مقدار فیبر انگور (B)	۱	۰/۳۸۰۲ns	۱۰/۸۵۷٦**	۰/۰۰٦۰ ns	۰/۱۱۰۲۵ ns	۱/٤٤٤**	۳/۲٤۹**
زمان نگهداری (C)	۱	٤/۰۹٦ns	*۰/۷۷۲۸	۰/۰۱۵۹*	۳۹/۳٦۲۵**	۰/۱۹٦ ns	۰/۷۸٤**
A^2	۱	۰/۰۹۸۸ns	۰/۱٦۱٤ns	۰/۰۰۰۲۳ns	۱/۱٦۱۸ ns	۰/۱٦۵٦ ns	۰/۰۱٤۵٤ ns
AB	۱	٤/۵۳۰۰۵**	۰/۰۷۸۰ns	۰/۰۰۳۷ ns	۱۲/٤۷۵۰*	۰/۰۰۱۲۵ ns	۰/۰۰۵ ns
AC	۱	۲/۵۷٦٤**	۰/٤۸۵۱ ns	۰/۰۱۰۰۸ns	۹/۳۹٦۱*	۰/۰٦۱۲ ns	۰/۰۰ ns
B^2	۱	۰/۰۱۷٤ns	۱/٤۵٦۳ns	۰/۰۰۰۰۱ ns	۰/۲۰۰٤ ns	۰/۳٤۵٦*	۰/۰٤۱٤ ns
BC	۱	۵/۰۲٤٤**	۰/٦٦۷۰ ns	۰/۰۰۰۰۷ns	۰/۱۹۰۱ ns	۰/۰۳۱۲۵ ns	۲/٤۷E-۳۲ ns
C^2	۱	۰/۵۷۰٤*	۲/۲٦۵۹ ns	۰/۰۲۱٤*	۰/۹۰۹۲ ns	۰/۳۲۸۱*	۰/۰۸۲۰٤ ns
مدل	۹	٤/۳۸۳۹**	٦/۵۸٦۵**	۰/۰۵۸۷**	۱۱/۲۷۹**	۰/۲۸٦۲**	۰/۵۵۸۷**
خطی	۳	۸/۹۰۷**	۱٦/٤٦۷**	۰/۱۵۹٦**	۲۳/۷۵٤**	۰/۵٦۸**	۱/۵۰۵٦**
درجه دوم	۳	۰/۲۰۱۱ns	۲/۸۸۲٤ ns	۰/۰۱۱۸٦*	۲/۷۸۵۷ ns	۰/۲۵۹۳*	۰/۱٦۹۰۱ ns
خطا	۱۰	۰/۱۰۵٦	۰/۸٦۵۱	۰/۰۰۳۰۱	۱/۸۵۰۳	۰/۰٤۳٦	۰/۰۵٦۰٤
عدم برازش	۵	۰/۰۹۵ns	۱/۲۲۱۳ ns	۰/۰۰۲٤۲ ns	۲/۹۱٤٦ ns	۰/۰۵٦۵ ns	۰/۰۹۳٤ ns
Pure Error	۵	۰/۱۱٦۳	۰/۵۰۸۹	۰/۰۰۳۵	۰/۷۸۵۹	۰/۰۳۰٦	۰/۰۱۸٦٦
R^2	–	٪۹۷/۳۹	٪۸۷/۲٦	٪۹٤/٦۱	٪۸٤/۵۸	٪۸۵/۵۲	٪۸۹/۹۷
R^2_{adj}	–	٪۹۵/۰٤	٪۷۵/۸۰	٪۸۹/۷٦	٪۷۰/۷۱	٪۷۲/٤۹	٪۸۰/۹۵
ضریب پراکندگی	–	۵/۲٤٦۷	۱۰/۳۳٤۳	۱/۲۱۹٦	۱/۲۷۰۸	٤/۸٤۲۱	٦/۳۰٤٦۳

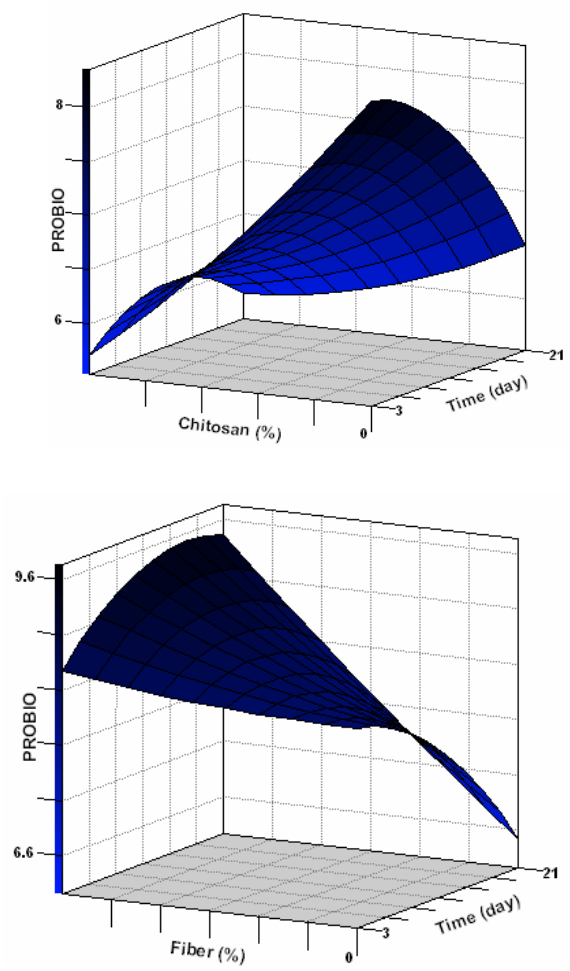
*معنی دار در سطح ۰/۰۵، **معنی دار در سطح ۰/۰۱ و ns غیر معنی دار

این نتایج با نتایج حاصل از تحقیقات عاسیر و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت ندارد. آنها گزارش کردند که در نمونه‌های پنیر، کیتوزان اثرات بازدارندگی کاملی بر رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نداشت. علت آن را نیز ایجاد کمپلکس کیتوزان-کازئین-گلبول‌های چربی در محیط‌های اسیدی دانستند که موجب کاهش موقعیت‌های اتصالی کیتوزان با سطح میکروارگانیسم‌ها می‌گردد [۲۱]. تسای و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند افزایش کیتوزان به شیر خام موجب کاهش رشد گونه‌های *سالمونلا* و *استافیلوکوکوس* شد [۳٤]. برزگر و همکاران (۱۳۸۷) نیز در سس مایونز بیان کردند کیتوزان اثر ضدمیکروبی کاملی بر رشد سالمونلا انتریدیس و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از خود نشان داد [۳۵]. این نتایج با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

همچنین نتایج حاصل نشان داد که با افزایش مقدار فیبر زنده‌مانی پروبیوتیک بطور معنی داری در طول نگهداری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). بطوریکه تعداد *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در نمونه‌های حاوی حدود ۱/۲ درصد فیبر در پایان دوره نگهداری (۲۱ روز) تقریبا حدود ۹/۲ سیکل لگاریتمی حفظ گردید (شکل ۱ ب). دلیل آن را می‌توان به وجود ترکیبات پری‌بیوتیک در فیبر انگور نسبت داد که موجب تحریک رشد و فعالیت *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* شده وزنده‌مانی آن را افزایش داده است. زیرا با توجه به بررسی‌های انجام شده، فیبر انگور دارای ٦/۹۳٪ پروتئین، ۵/۷۷٪ خاکستر و ۳۸/۳۳٪ لیگنین بوده و کربوهیدرات‌های عمده آن نیز

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

گالاکتوز (۱/۰٪)، آرابینوز (۰/۸۳٪)، مانوز (۳/۸٪)، رامنوز (۱/۰۹٪)، گلوکز (۱۱/۳٤٪) و زایلوز (۱/۰۳٪) است (۳٦).



شکل ۱ کانتور پلات تاثیر کیتوزان (الف) و فیبر انگور (ب) بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در طول نگهداری

همچنین سندرا و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که افزایش فیبر مرکبات به شیرهای تخمیری غنی شده با پروبیوتیک، قابلیت زیستی و رشد آنها را افزایش می‌دهد. آنها ادعا کردند که شاید دلیل افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تبدیل سریع لاکتوز به اسید لاکتیک، تاثیر متقابل اجزای شیر (بطور عمده پروتئین‌ها)، تثبیت شبکه پروتئینی و جلوگیری از انتقال آب آزاد باشد [۳۷].

اسپیگل و همکاران (۲۰۰٤) گزارش نمودند که وجود پری‌بیوتیک‌های انتخابی موجب بهبود فعالیت متابولیکی و زنده‌مانی گونه‌های *لاکتوباسیلوس* گردید [۳۸]. کاپلا و همکاران نشان دادند هنگامی که پری‌بیوتیک رافتیلوز به نسبت ۱/۵ درصد وزنی – حجمی به ماست اضافه می‌گردد قابلیت زیستی *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم* در طول ٤ هفته نگهداری در ٤ درجه سانتی گراد ۱/٤ سیکل لگاریتمی افزایش می‌یابد [۳۹]. دونکور و همکاران نشان دادند که افزایش اینولین به ماست موجب افزایش رشد *لاکتوباسیلوس کازیی* در طول ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد گردید (٤۰). نتایج حاصل از این تحقیقات، با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

۳-۲- شمارش کپک و مخمر

کیتوزان بطور غیر معنی داری باعث کاهش کپک و مخمر شد ($p<۰/۰۵$). مطالعه‌ای در مورد امکان استفاده از کیتوزان محلول در آب (۰/۰۳٪) برای به حداقل رساندن فساد میکروبی (باکتریایی و مخمر) در شیر فرآوری شده صورت گرفته بود که نتیجه آن مهار کامل رشد میکروبی در شیر با طعم موز حاوی کیتوزان در مقابل شیر کنترل بود [٤۱]. همچنین با افزایش فیبر انگور ابتدا تعداد کپک و مخمرها افزایش و سپس کاهش یافت اما این تغییرات معنی دار نبود ($p<۰/۰۵$). با توجه به اینکه مدل فوق از لحاظ آماری غیرمعنی‌دار و عدم برازش معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده پایین است (جدول ۳) نمی‌توان برای پیش بینی از آن استفاده کرد.

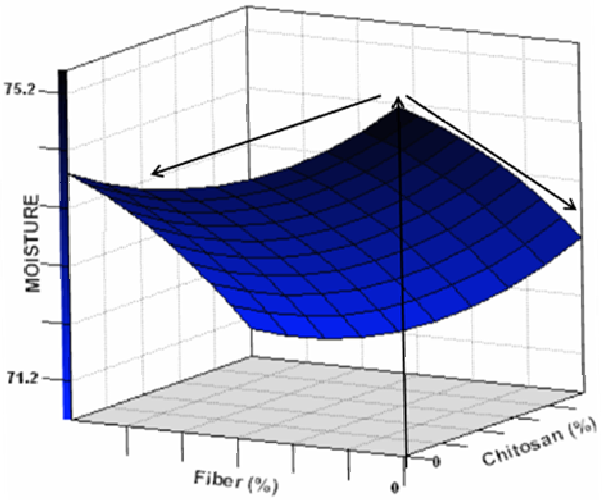
۳-۳- بررسی خواص کیفی ماست میوه‌ای

با توجه به جدول ۳، تاثیر مقدار فیبر انگور و کیتوزان بر درصد رطوبت معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). با افزایش میزان فیبر انگور و کیتوزان، درصد رطوبت بطور معنی داری کاهش یافت (شکل ۲). دلیل کاهش رطوبت را می‌توان به خاصیت آبگیری یا جذب آب توسط کیتوزان و فیبر انگور نسبت داد. هیدروکلوئیدها از جمله کیتوزان جاذب آب هستند و آب را در خود نگه می‌دارند. پیروتی و همکاران (۱۳۹۲) نیز نشان دادند که افزایش فیبر گندم و کاراگینان موجب کاهش معنی دار رطوبت دوغ پروبیوتیک گردید [٤۲]. زمردی [٤۳] در ماست میوه‌ای حاوی فیبر گندم و عظیمی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

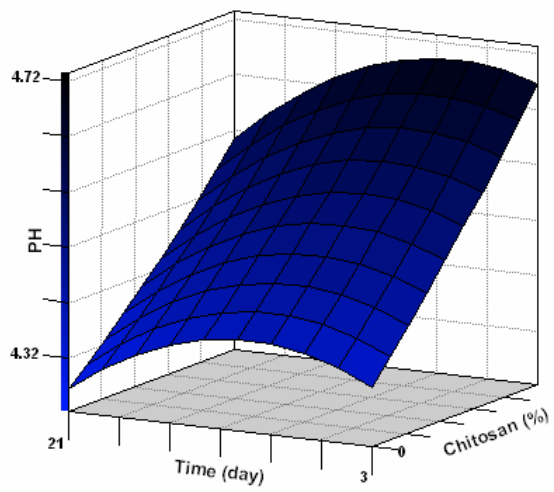
و همکاران [٤٤] در ماست میوه‌ای حاوی فیبر پرتقال نشان دادند که با افزایش مقدار فیبر، درصد رطوبت بطور معنی داری کاهش یافت. نتایج این تحقیقات با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

با توجه به شکل ۳ با افزایش مقدار کیتوزان pH نمونه‌ها بطور معنی داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). علت آن شاید به دلیل خاصیت ضد میکربی کیتوزان باشد که منجر به کاهش رشد میکروب‌های تولید کننده اسید شده و pH افزایش یافته است. لی و همکاران در سال ۲۰۰۱ نیز نتایج مشابهی را در شیر موز حاوی کیتوزان گزارش کرده‌اند [٤١]. اما افزایش فیبر انگور تاثیر معنی داری بر مقدار pH نمونه‌ها نداشت که با نتایج فرناندز – گارسیا و مک گریگر (۱۹۹۷) و زمردی [٤] مطابقت دارد. آنها نیز نشان دادند استفاده از فیبر جو و گندم تاثیر معنی داری بر مقدار pH نمونه‌های ماست نداشت. علت آن ممکن است به دلیل خاصیت بافری فیبرها باشد که مانع تغییرات pH شده است [٤٣].



شکل ۲ پاسخ سطحی اثر کیتوزان و فیبر انگور بر درصد رطوبت ماست میوه‌ای

با توجه به اینکه مدل نهایی رطوبت و pH از لحاظ آماری معنی‌دار ($\alpha = ۰/۰۱$)، عدم برازش غیر معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده بالا است (جدول ۲)، لذا مدل نهایی بدست آمده کارآمد بوده و قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند.



شکل ۳ پاسخ سطحی اثر کیتوزان و مدت نگهداری بر تغییرات pH در ماست میوه‌ای

مدل پیش بینی شده زیر برای رطوبت و pH بر اساس پردازش داده ها بدست آمد:

$$Moisture = ۷۸/۹۶ - ۳/۲۰۲A - ٤/٦۳۹٥B - ۰/۳۹۹٥C - ۰/۹٦۹\ A^2 - ۰/۳۲۹۱AB + ۰/۰٥٤۷AC + ۲/۰۲۱٤\ B^2 + ۰/۰٥۳٤BC + ۰/۰۱۱۲C^2$$

$$pH = ٤/۱۸۱۹ + ۰/٤٤۱۸A + ۰/۰۰٥٤B + ۰/۰۲٥۳C + ۰/۰۳٦۹\ A^2 + ۰/۰۷۲٥AB - ۰/۰۰۷۸AC - ۰/۰۰٦۳B^2 + ۰/۰۰۰٥BC - ۰/۰۰۱C^2$$

در معادلات بالا A، B و C به ترتیب نشانگر مقدار کیتوزان، مقدار فیبر انگور و زمان نگهداری می‌باشند.

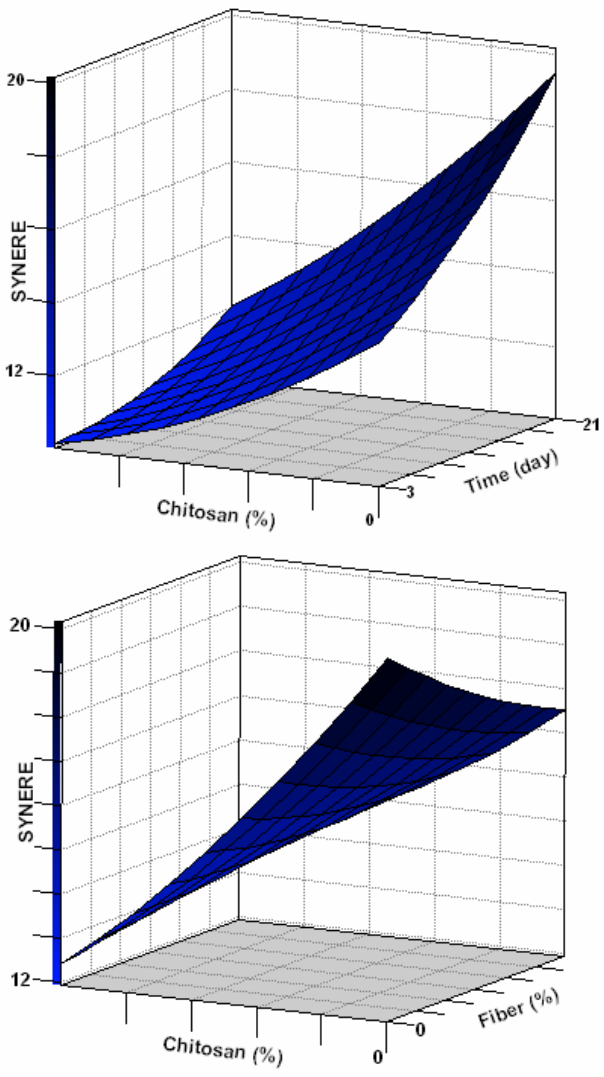
۳-٤-آب اندازی

آب اندازی از جمله فاکتورهایی است که مستقیما کیفیت ماست را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همانطوریکه از شکل ٤ مشخص است میزان آب اندازی با افزایش مقدار فیبر انگور و کیتوزان بطور معنی داری کاهش و با گذشت زمان نگهداری بطور معنی داری افزایش یافت ($p<۰/۰٥$).

فیبرها به دلیل خاصیت اتصال به مولکول‌های آب و تداخل با اجزای شیر به ویژه پروتئین‌ها و در نتیجه پایداری شبکه پروتئین‌ها می‌تواند از حرکت آزادانه آب جلوگیری کرده و منجر به کاهش آب اندازی گردند [٤٥]. هیدروکلوئیدها یا صمغ‌ها نیز با افزایش گرانروی ظاهری در اثر برهم کنش‌های کلوئیدی از نوع

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

ممانعت فضایی (steric) و دفع الکترواستاتیک، سبب پایداری سامانه‌های تخمیری می‌شوند.



شکل ٤ تاثیر متقابل کیتوزان و فیبر انگور بر درصد آب اندازی در طول زمان نگهداری

اتصالات صمغ‌ها به شکل تنها و یا بصورت اتصال یافته با پروتئین‌ها، منجر به تشکیل شبکه سه بعدی شده و با دام انداختن ذرات پروتئینی و فیبر در این شبکه، باعث پایداری محصول می‌شوند (٤٦). افزایش آب اندازی در ماست در طول زمان نگهداری معمولا به دلیل تجدید ساختمانی شدید شبکه کازئین است که با خروج آب پنیر همراه است (٤٧). تغییرات pH نیز در این امر موثر است. با کاهش pH در اواخر دوره نگهداری، منافذ درشت‌تری در شبکه پروتئینی دیده شده که به احتمال زیاد این امر به خاطر بالا بودن پتانسیل زتای بالاتر میسل‌های کازئین در pH های پایین می‌باشد. وجود این حفرات درشت به جدا شدن راحت‌تر آب از شبکه نیز کمک می‌کند [٤٤]. زمردی و عظیمی نیز نشان دادند که ماست حاوی فیبر گندم و پرتقال آب اندازی کمتری نسبت به نمونه کنترل داشتند [٤٤ و ٤٣]. بلکر و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند استفاده از اینولین موجب کاهش آب اندازی در ماست و سایر شیرهای تخمیری می‌گردد [٤٨].

مدل فوق از لحاظ آماری معنی‌دار بوده، دارای عدم برازش غیر معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده بالا می‌باشد (جدول ۲) که نشان دهنده‌ی رضایت بخشی و کارآمدی مدل فوق می‌باشد، درنتیجه می‌تواند در مراحل بعدی پیشگویی و بهینه سازی به عنوان یک شاخص مورد استفاده قرار گیرد. معادله پیش بینی شده زیر برای سینرزیس بر اساس پردازش داده‌ها بدست آمد که در آن A، B و C به ترتیب نشانگر مقدار کیتوزان، مقدار فیبر انگور و زمان نگهداری می‌باشند.

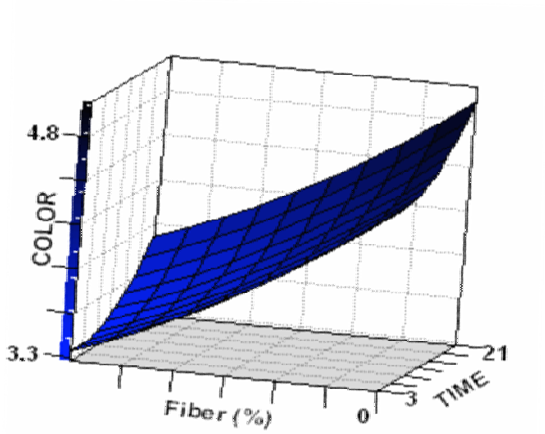
$$\text{Syneresis} = ۱۳/۳۳۸٦ - ۵/۷۷۳۵A - ۳/۰٤۸B + ۰/۱۷٦C + ۲/٦A^2 + ٤/۱٦۲۵AB - ۰/۲٤۱AC + ۰/۷۵B^2 - ۰/۰۰۹BC + ۰/۰۰۷C^2$$

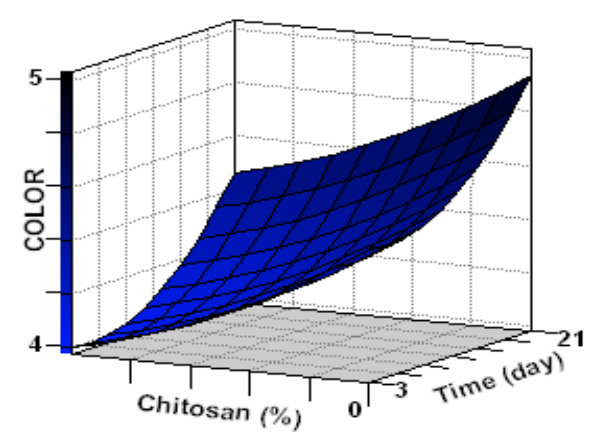
۳-۵-ارزیابی حسی

خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش یا رد بسیاری از فرآورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آنهاست. همانطوریکه در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش میزان فیبر و کیتوزان امتیاز رنگ بطور معنی داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) که کاهش امتیاز رنگ در اثر استفاده از فیبر بیشتر بود.

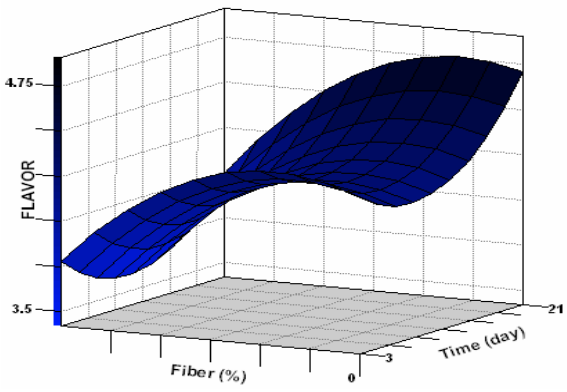
دلیل آنرا می‌توان به تیره بودن رنگ فیبر انگور و شیری بودن رنگ کیتوزان نسبت داد که موجب تغییر رنگ ماست شده است. همچنین با افزایش فیبرانگور امتیاز طعم بطور معنی داری کاهش یافت (شکل ٦).

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]





شکل ۵ منحنی پاسخ سطحی اثر فیبر و کیتوزان بر طعم ماست میوه ای در طول نگهداری



شکل ٦ منحنی پاسخ سطحی تاثیر فیبر انگور بر امتیاز طعم ماست میوه ای در طول نگهداری

دلو استافلو و همکاران (۲۰۰٤) نشان دادند که افزایش ۱/۳ درصد فیبر به ماست تاثیری در خواص حسی آن نداشت اما افزایش بیشتر از این مقدار موجب کاهش معنی دار خواص حسی ماست گردید [۱۸]. سندرا و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که افزایش میزان بیشتر فیبر موجب کاهش خواص حسی نمونه‌های ماست معمولی توسط مصرف کننده می‌گردد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۱۹].

همچنین با افزایش زمان نگهداری امتیاز رنگ نمونه‌ها بطور معنی داری افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). علت آن ممکن است به دلیل کاهش ترکیبات فنولی در اثر آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز، لاکتاز و پراکسیداز و فعالیت باکتری‌های لاکتیکی ماست در طول نگهداری باشد [۵۱]، که از بین رفتن شدت رنگ، از نظر ارزیابان فاکتور مثبت تلقی شده است.

مدل‌های فوق از لحاظ آماری معنی‌دار بوده دارای عدم برازش غیر معنی‌دار و ضریب تبیین اصلاح شده بالاتر از ۷۰ می‌باشد (جدول ۲)، درنتیجه می‌توان برای پیش بینی مقدار رنگ و طعم از آن استفاده کرد.

$$Color = ٤/٥١٥١ - ۰/۷۸۱A - ۱/٤۰۱B - ۰/۰۲C + ۰/۲۹۰۹A^2 + ۰/۰۸۳۳AB - ۲/۸۷E\text{-}۱٦AC + ۰/۳٤۰۹B^2 - ۳/٦E\text{-}۱۷BC + ۰/۰۰۲۱C^2$$

$$Flavor = ٤/٤٥۲۷ - ۰/۹۳۳٤A + ۰/٦٦٦٥B - ۰/۰۷۰۱C + ۰/۹۸۱۸ A^2 + ۰/۰٤۱٦AB - ۰/۰۱۹٤AC - ۰/۹۸٤۸B^2 - ۰/۰۱۱٥BC + ۰/۰۰٤۲C^2$$

A، B و C به ترتیب نشانگر مقدار کیتوزان، مقدار فیبر انگور و زمان نگهداری می‌باشند.

۳-٦-بهینه سازی

با توجه به تحلیل نمودارها و این نکته که شرایط بهینه برای یک پاسخ، ممکن است برای پاسخ دیگری نامساعد باشد بایستی شرایطی را معرفی کرد که تا حد امکان تمامی پاسخ‌ها را به نحو رضایت بخشی بهینه نماید. برای این منظور کانتورپلات‌های مختلف بر روی هم قرار گرفته شد و منطقه‌ای که مشخصات تمامی پاسخ‌ها را برآورد کند، به عنوان منطقه بهینه معرفی می‌گردد. مبنای بهینه سازی، به حداقل رساندن آب اندازی و ماکزیمم کردن مقادیر فیبر، کیتوزان و زمان نگهداری می‌باشد. به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

طوری که تعداد پروبیوتیک در حد قابل قبول برای اثرات سلامتی (۸-۷ سیکل لگاریتمی) و امتیاز حسی نیز در حد قابل قبول باشد. لذا شرایط بهینه برای تولید ماست پروبیوتیک میوه‌ای، مقدار فیبر انگور ۰/۹ درصد، مقدار کیتوزان ۰/۱ درصد و زمان نگهداری ۱۲ روز تعیین گردید. در این شرایط تعداد *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1744)، ۸/۷۱ سیکل لگاریتمی، رطوبت ۷۳/۵۸٪، pH=٤/٣٦، آب اندازی ۱۳/۸۵ ٪ و امتیاز طعم و رنگ به ترتیب ۳/۸ و ۳/۵۳ از ۵ بود.

٤- نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از این بررسی، افزایش میزان کیتوزان زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، رطوبت، آب اندازی و رنگ را بطور معنی‌داری کاهش داد ولی بر میزان طعم اثر معنی داری نداشت. همچنین افزایش مقدار فیبر موجب افزایش زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، کاهش رطوبت و آب اندازی گردید. با وجود کاهش خواص حسی با افزایش فیبر، امتیاز این ارزیابی در فرم طراحی شده برای تست پانل در محدوده خوب و قابل قبول قرار داشت. با توجه به مدل تجربی بدست آمده توسط روش سطح پاسخ، ارتباط بین متغیرهای مورد مطالعه یعنی فیبر انگور، کیتوزان و زمان نگهداری مناسب تشخیص داده شد. لذا می‌توان از فیبر انگور به مقدار ۰/۹ درصد و کیتوزان به مقدار ۰/۱ درصد با ۱۲ روز نگهداری در تهیه ماست میوه‌ای پروبیوتیک حاوی کیوی استفاده کرد.

۵- منابع

[1] Holzapfel, W. H. & Schillinger, U., 2002, Introduction to pre and probiotics, Food Research International, 35, 109–116.

[2] FAO/WHO, 2003, Probiotics in Food. Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation, vol. 85. FAO/WHO, Rome-Italy.

[3] Shahidi, F. & Mendosa, A. F., 2008, A perception to survival of Bifidobacterium spp. in bioyoghurt, simulated gastric juice & bile solution, World Applied Sciences Journal, 3 (1), 40-44.

[4] Rasdhari, M., Parekh, T., Dave, N., Patel, V. & Subhash, R., 2008, Evaluation of various physic-chemical Properties of Hibiscus safdariffa & L. casei incorporated probiotic yogurt, Pakistan Journal of Biological Sciences, 11 (17), 2101-2108.

[5] Majeed, M. & Prakash, L., 2007, Probiotics for health & wellbeing, Sabinsa Corporation, 1-12.

[6] Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M. & Shahidi, F., 2007, Studying microbial, physicochemical & sensory properties of directly concentration probiotic yogurt, African Journal of Agricultural Research, 2 (8), 366-369.

[7] Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., Savani, L., 2002, Survival of *lactobacillus johnsonii* La 1 and influence of its addition in retail- manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentration, International Dairy Journal, 12, 201-208.

[8] Gonzalez, N.J., Adhikari, K., Sancho-Madriz, M.F., 2011, Sensory characteristics of peach-flavored yogurt drinks containing prebiotics and synbiotics, LWT – Food Sci. Technology, 44, 158–163.

[9] Shahidi, F., Arachchi, J.K.V. and Jeon, Y.J., 1999, Food applications of chitin and chitosans, Trends in Food Science and Technology, 10, 37–51.

[10] Muzzarelli, R. A. A., Terbojevich, M., & Cosani, A., 1996, Unspecific activities of lipases and amylases on chitosans, In R. A. A. Muzzarelli (Ed.). Chitin enzymology (Vol. 2, pp. 69). Grottammare, Italy: Atec.

[11] Rodriguez, M.S., Montero, M., Dello Staffolo, M., Bevilacqua, A. and Albertengo, A., 2008, Chitosan influence on glucose and calcium availability from yogurt, In vitro comparative study with plants fibre. Carbohydrate Polymers, 74, 797 –801.

[12] Selvendran, R. R., 1984, The plant cell wall as a source of dietary fiber: chemistry and structure, American Journal of Clinical Nutrition, 39, 320-337.

[13] Theander, O., Westerlund, E., Aman, P. & Graham, H., 1989, Plant cell walls and monogastric diets. Anim, Food Science and Technology, 23, 205-225.

[14] Labell, F., 1990, Designer food in cancer prevention, Food Process, 51, 23–32.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

[15] Pinelo, M., Arnous, A. and Meyer, A.S., 2006, Upgrading of grape skins: Significance of plant cell-wall structural components and extraction techniques for phenol release,. Trends. Food. Sci. Tech. 17, 579 – 90

[16] Deng, Q., Penner, M. H., & Zhao, Y., 2011, Chemical composition of dietary fiber and 29 polyphenols of five different varieties of wine grape pomace skins, Food Research 30 International, 44(9), 2712-2720.

[17] Llobera, A. & Canellas, J., 2007, Dietary fibre content and antioxidant activity of Manto Negro red grape (Vitis vinifera): pomace and stem, Food Chemistry, 101, 659–666.

[18] Dello Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M. & Bevilacqua, A., 2004, Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt, International Dairy Journal, 14(3), 263-268.

[19] Sendra, E., Kuri, V., Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., Navarro, C. & Perez-Alvarez, J. A., 2010, Viscoelas-tic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment, LWT - Food Science and Technology, 43, 708–714.

[20] Tarakçi, Z., 2010, Influence of Kiwi Marmalade on the Rheology Characteristics, Color Values and Sensorial Acceptability of Fruit Yogurt, Kafkas Univ Vet Fak Derg 16, 173-178.

[21] Ausar, S. F., Passalacqua, N., Castagna, L.F., Bianco, I.D. & Beltramo, D.M., 2002, Growth of milk fermentative bacteria in the presence of chitosan for potential use in cheese making, International Dairy Journal, 12, 899-906.

[22] Valiente, C., Arrigoni, E., Esteban, R.M., & Amado, R., 1995, Grape Pomace as a potential food fiber, Journal of Food Science 60 (4), 818–820.

[23] AOAC., 1997, Official Methods of Analysis, Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.

[24] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), 2006, Tea – Determination of crude fibre content, 1386. No, 3394

[25] Pearson, D., 1970, The chemical Analysis of food. 6th edition, page 53-62, 84-94, Churehill, London.

[26] Larraauri, J. A., Borroto, B., & Crespo, A. R., 1997, Water recycling in processing orange peel to a high dietary fiber powder, International Journal of food Science & technology, 32, 73-75.

[27] Sathyanarayanan, J., Kunthala, J. & Gurumurthy, K., 2011, Optimization of MRS media components using response surface methodology for the riboflavin production by *Lactobacillus fermentum* isolated from yoghurt sample, International Food Research Journal, 18, 149-158.

[28] De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M., E., 1960, A medium for the cultivation of Lactobacilli, J. Appl. Bacteriol, 23, 130–135.

[29] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI), 2008, Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds - Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. No, 10899-1.

[30] Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A.A., 2008, Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a b-glucan hydrocolloidal composite during storage, Food Hydrocolloids, 22, 1291-1297.

[31] Koegb, M.K. & Okennedy, B.T., 1998, Rheoligy of stirred yoghurt as affected by added milk fat protein and hydrocolloids, Journal of Food Science, 3,108 -110.

[32] Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K. & Dutta, J, 2009, Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications, Food Chemistry, 114, 1173–1182.

[33] No, H. K., 2007, Application of chitosan for improvement of quality and shelf life of foods: a review, Food Science, 72(5), 87-100.

[34] Tsai, G. J., Y. Z. Wu & W. H. Su., 2000, Antibacterial activity of chitooligosaccharide mixture prepared by cellulose digestion of shrimp chitosan and its application to milk preservation, J. Food Prot. 63, 747- 752.

[35] Barzegar, H., Karbasi, A., Jamalian, J. & Amin Lari, M., 2007, The study of the possibility using of chitosan as a natural perseveration in the mayonnaise, Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. 12, 361-370.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

[36] Zomorodi, Sh., 2005, Storage, proccessing and quality control of grape, Agricultural Research and education organization, 181-182.

[37] Sendra, E., Fayos, P., Lario, Y., Fernndez-Lpez, J., Sayas-Barber, E., &| Pérez-Alvarez, J.A., 2008, Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria, Food Microb. 25, 13–21.

[38] Spiegel, J.E., Rose, R., Karabell, P., Frankos, V.H. & Schmitt, D.F., 2004, Safety and benefits of fructooligosaccharides as food ingredients, Food Technology, 48, 61 –65.

[39] Capela, P., Hay, T. K. C. & Shah, N. P., 2006, Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt, Food Research International, 39, 203–211.

[40] 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.

[41] Ha, T.J. and Lee, S. H., 2001, Utilization of chitosan to improve the quality of processed milk, J. Korean Soc. Food Sci. Nut. 30, 630–634.

[42] Piroti, Z., Zomorodi, Sh., Khosrowshahi Asl, A. & Ahmadzadeh Ghavidel, R., 2013, The study of the effect of Hydrocolloids on rheological properties in doogh containing dill extract (Anethum graveolens) by using response surface methodology (RSM), 2nd National Conference on Food Science and Technology.

[43] Zomorodi, SH., 2013, Physicochemical, rheological and sensory properties of stirred fruit yoghurt fortified by wheat fiber, Journal of Food Research (Agricultural Science). 22 (4), 443-454.

[44] Azimi Mahalleh, A, Zomorodi, SH, Mohamadi Sani, A, & Ahmadzadeh Ghavidel, R., 2013, The study of the effect of orange fiber on physicochemical, rheological and sensory properties of fruit yogurt, Journal of Food Science and Technology, 5(1), 23-34.

[45] Tamime, A. Y., & Robinson, R. K., 2007, Tamime & Robinson. Yoghurt: Science & Technology (Third edition), Cambridge: Woodhead Publishing, 348-429.

[46] Kiani, H., Mousavi, M. E., Razavi, H. & Morris, E. R., 2010, Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. Food Hydrocolloids, 2(8), 744-754.

[47] Van Vliet, T., Lucey, J.A., Grolle, K. & Walstra, P., 1997, Rearrangements in acidinduced casein gels during and after gel formation. In: Dickinson, E., Bergenstahl, B. (Eds.), Food colloids: proteins, lipids and polysaccharides. Royal Society of Chemistry, Cambridge. Pp, 335–345.

[48] Blecker, C., Chevalier, J. P., Van Herck, J. C., Fougnies, C., Deroane, C. & Paquot, M., 2001, Inulin: Its pHysio-chemical properties and technological functionality. Recent Research Development in Agriculture and Food Chemistry, 5, 125–131.

[49] Dello Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M. & Bevilacqua, A., 2004, Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt, International Dairy Journal, 14(3), 263-268.

[50] Sendra, E., Kuri, V., Fernandez-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., Navarro, C. & Perez-Alvarez, J. A., 2010, Viscoelas-tic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment, LWT - Food Science and Technology, 43, 708–714.

[51] Patrick, P. M. and Kalidas, S., 2005, Phenolic antioxidant mobilization during yogurt production from soymilk using Kefir cultures, Process Biochemestry, 40. 1791–1797.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]

Optimization grape fiber and chitosan amounts in fruit yoghurt using response surface methodology (RSM)

Dibazar, P. [1], Khosrowshahi Asl, A. [2*], Zomorodi, Sh. [3]

1. MSc Student, Department of Food Science, Urmia University
2. Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. (09141418804),
3. Assistant Professor, Department of Engineering, Agricultural Research Center, West Azarbijan. Iran

(Received: 93/2/23 Accepted: 93/7/8)

In this study the effect of grape fiber and chitosan on *Lactobacillus Fermentum* viability, physicochemical and sensorial properties in yoghurt containing kiwi was investigated during storage, using response surface methodology (RSM). Amounts of grape fiber, chitosan and storage time were in the range of 0-1.2 %, 0-1 % and 3-21 day, respectively. The results indicated that with increasing the amount of chitosan, *Lactobacillus Fermentum* viability decreased, but it was increased by increasing grape fiber during storage significantly ($P<0.05$). Moisture and syneresis of samples reduced significantly by increasing the amounts of chitosan and fiber ($P<0.05$). According to sensory evaluation, increasing the amounts of chitosan caused decrease in color scores. Flavor scores decreased as grape fiber increased significantly ($P<0.05$). In conclusion, using 0.9 % grape fiber, 0.1 % chitosan, and 12 day storage were found as optimum conditions for producing probiotic kiwi fruit yogurt.

Keywords: Chitosan, Fruit yoghurt, Grape fiber, *Lactobacillus Fermentum.*

* Corresponding Author E-Mail Address: a.khosrowshahi@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-09-21]