بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در بستنی کاکائویی حاوی شیرین‌کننده استویا

گلناز اسحقی ماکویی[۱]، محمد حسین موثق[۲]*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
۲- دکتری تخصصی بهداشت مواد غذایی، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۰/۲۷)

چکیده

بستنی خوراکی بسیار معروفی است که در سراسر دنیا خواهان دارد. برخی ویژگی‌های بستنی این پیشنهاد را می‌دهد که این دسر پرطرفدار می‌تواندبه‌عنوان یک ماده غذایی پروبیوتیک فراسودمند عمل کند. در این مطالعه امکان تولید بستنی کاکائویی پروبیوتیک با استفاده از شیرین‌کننده طبیعی استویا بررسی شد. شیرین‌کننده استویا در مقادیر ۰، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ ٪ با شکر پایه فرمولاسیون بستنی در نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* جایگزین گردید و نمونه‌ها از نظر زنده‌مانی باکتری، اسیدیته، pHو ارزیابی حسی در سه تکرار در دوره‌های زمانی ۱، ۷ و ۱٤ روزه مورد آزمون قرار گرفتند. بیشترین تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های حاوی ۱۰٪ و ۵۰٪ به ترتیب حاوی ۰/۲۰log cfu/g ± ۹/٤۹ و ۰/۲۰ ± ۹/۱۹ بود. شمارش تعداد باکتری در تمامی نمونه‌ها بالاتر از میزان تعیین‌شده در طول دوره نگهداری بود. افزایش استویا در فرمولاسیون منجر به کاهش ویژگی‌های حسی نمونه‌ها شد.به نظر می رسد بستنی حاوی استویا می تواند به عنوان یک حامل برای باکتری های پروبیوتیک استفاده شود.

کلید واژگان: استویا، بستنی کاکائویی، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

* مسئول مکاتبات: movassagh2@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

۱- مقدمه

بستنی منبع خوبی از اسیدهای آمینه ضروری، پروتئین‌های شیر، ویتامین‌ها و مواد معدنی است و اجزای تشکیل‌دهنده آن به‌خوبی توسط بدن هضم و جذب می‌شوند[۱]. در سرتاسر جهان تمایل افراد برای استفاده از محصولات سودمند در حال افزایش است [۲]. استویا که نام علمی آن استویا ربائودیانا برتونی[1]می‌باشد، در آمریکای جنوبی رشد می‌کند، سالم و فاقد کالری بوده و به‌عنوان جایگزین طبیعی برای شکر و شیرین‌کننده‌های دیگر، از مدت‌ها قبل در بازار مصرف برخی کشورها مورد استفاده قرار می‌گیرد[۳]. یک گرم از پودر استویا برابر با دو قاشق شکر می‌باشد (یک قاشق شکر برابر است با ٤/٢ گرم) [٤].

ربائودیوزیدA[2] و استویوزید[3] دو استویول گلوکوزید[4] غالب یافت شده در استویا می‌باشند [۵]. با توجه به متابولیسم استویوزید و ربائودیازید A، آنزیم‌های گوارشی (آلفا آمیلاز، پپسین، پانکراتین) بر طبق شواهد مشاهده‌شده در مطالعات آزمایشگاهی قادر به تجزیه مواد فوق نیستند. با توجه به این‌که به میزان کم جذب می‌شوند، استویول گلوکوزیدها در فرم هیدرولیز نشده به قولون می‌رسند و در روده توسط فلور میکروبی به استویول تخمیر می‌شوند. بنابراین استویول گلیکوزیدهادارای خواص پری‌بیوتیکی هستند [۲].

نتایج مطالعات متعدد نشان‌دهنده این استکه مصرف مواد غذایی حاوی میکروارگانیسم‌های مفید که از آن‌ها تحت عنوان پروبیوتیک یاد می‌شود، کمک فراوانی به بقاء و نگهداری میکروب‌هایفلور روده و توازن میکروبی آن کرده و منجر به ارتقای سلامت فرد می‌گردد. در سال‌های اخیر باکتری‌های پروبیوتیک به انواع مواد غذایی افزوده می‌شوند که در این میان فرآورده‌های شیری نقش مهمی را برای حمل این باکتری‌ها ایفا می‌کنند. مصرف منظم تعداد مناسبی از باکتری‌های پروبیوتیک که «حداقل درمانی» نامیده می‌شود، برای مشاهده اثرات آن بر روی ارتقای سلامتی فردمصرف‌کننده ضرورت دارد. برای این منظور لازم است روزانه بیش از ۱۰۰ گرم ماده غذایی حاوی حداقل 10^7CFU/g باکتری پروبیوتیک مصرف شود. همچنین بررسی زنده ماندن این میکروارگانیسم‌ها در مدت نگهداری تا زمان مصرف موضوع بسیار مهمی است [٦]. بیشتر پروبیوتیک ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده انسان هستند[۷]. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[5]معروفترین باکتری است که به‌عنوان پروبیوتیک استفاده می‌شود و برخی از محققان کاربرد موفقیت‌آمیز آن را در بستنی گزارش نموده‌اند [۸].

در مطالعه‌ای که توسط هاشمی و همکاران انجام شده است بقای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *باسیلوس کواگولانس* بعد از انجماد و در طی ۹۰ روز نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در بستنی های پروبیوتیک و سین بیوتیک کم چرب مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج نشان داده است که تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی ۹۰ روز نگهداری در شرایط منجمد حد قابل قبولی داشت و بستنی پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان یک غذای فراسودمند را دارد[۸].

فاکتورهایی وجود دارد که نشان می‌دهد بستنی و دسرهای منجمد قابلیت بالایی دارند که به‌عنوان یک حامل غذایی برای باکتری‌های پروبیوتیک عمل کنند. اول‌ازهمه، بستنی خود به‌عنوان یک محصول غذایی بسیار مفید موردتوجه قرار می‌گیرد. بستنی شامل مقدار فراوانی مواد مغذی نظیر چربی شیر، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها، مواد معدنی می‌باشد. همچنین، بستنی به‌راحتیمی‌تواند توسط مواد متفاوتی، رنگی و یا طعمی گردد. بنابراین، اگر مواد عمل‌گرا، رنگ یا طعم غیرقابل‌قبول داشته باشند، به‌راحتیمی‌توان از طریق افزودن رنگ یا طعم‌دهنده‌ها مجاز نظیر پودر کاکائو آن را پوشش داد [۹].همچنین امروزه استفاده از مواد غذایی با کالری بالا منجر به بروز مشکلاتی از نظیر افزایش وزن و بیماری های غیرواگیردار نظیر افزایش فشار خون و بیماری دیابت در افراد می گردد. هدف از این مطالعه بررسی زنده‌مانی*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در بستنی کاکائویی حاوی شیرین‌کننده استویا و تولید بستنی پروبیوتیک کم‌کالری می‌باشد.

1. *Stevia rebaudiana bertoni*
2. Rebaudioside A
3. Stevioside
4. Steviol glycosides
5. *Lactobacillus acidophilus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

-شیر خام گاو

- شکر (گلستان تهران)

-کربوکسی متیل سلولز

- پودر کاکائو (فرمند)

- پودر قند استویوزید ۹۵ درصد (شرکت استویا پک –تهران)

- باکتری *بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیر گونه لاکتیس* (BB12) شرکت هانسن دانمارک

- باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA5) شرکت هانسن دانمارک

۲-۲- انتخاب باکتری پروبیوتیک

در این پژوهش سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LA5) به صورت تک سویه، خالص و خشک شده انجمادی خریداری شده از شرکت هانسن (CHR- Hansen) مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۳- معادل‌سازی شکر و استویوزید در فرمولاسیون

با توجه به اینکه هر هزار کیلوگرم برگ خشک‌شده استویا حاوی ۷۰-۶۰ کیلوگرم استویوزید است و آن‌همازنظر شیرینی معادل ۲۱۰۰۰ کیلوگرم شکر می‌باشد. بنابراین ۱ کیلوگرم شکر با ۰/۰۰۲۸۵ کیلوگرم استویوزید معادل‌سازی شده بود.

۲-۳-۱- فرمولاسیون سطح ۰ ٪ (نمونه کنترل)

برای فرمولاسیون ۱۰۰۰ گرم از نمونه بستنی ۷۵۰ گرم شیر، ۲٤٤ گرم شکر، ٤ گرم کاکائو، ۳ گرم کربوکسی متیل سلولز استفاده شده بود.

۲-۳-۲- فرمولاسیون سطح ۱۰ ٪

برای فرمولاسیون این نمونه بستنی، تمام موارد مشابه نمونه کنترل بود و تنها تفاوت در مقدار شکر و استویوزید بود که ۲٤/٤ گرم شکر حذف شده بود و معادل ۰/۰٦۹ گرم استویوزید جایگزین شده بود.

۲-۳-۳- فرمولاسیون سطح ۲۵ ٪

برای فرمولاسیون این نمونه بستنی، تمام موارد مشابه نمونه کنترل بود و تنها تفاوت در مقدار شکر و استویوزید بود که ٦۱ گرم شکر حذف شده بود و معادل ۰/۱۷۳ گرم استویوزید جایگزین شده بود.

۲-۳-٤- فرمولاسیون سطح ۵۰ ٪

برای فرمولاسیون این نمونه بستنی، تمام موارد مشابه نمونه کنترل بود و تنها تفاوت در مقدار شکر و استویوزید بود که ۱۲۲ گرم شکر حذف شده بود و معادل ۰/۳٤۷ گرم استویوزید جایگزین شده بود.

۲-٤- تولید بستنی

به‌منظور تولید بستنی ابتدا شیر تا دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گرادحرارت داده شد و سپس کربوکسی متیل سلولز با پودر کاکائو ، شکر و پودر استویا در ٤ سطح جایگزینی ۰، ۱۰، ۲۵ و ۵۰ ٪ مخلوط و به‌آرامی به شیر اضافه شد.سپس مخلوط حاصل تا دمای ٤۲ درجه سانتی‌گراد خنک شد. مقدار ۰/۱۵ گرم از باکتری لیوفیلیزه که حاوی ۱۳/۱٤logCFU/gباکتری در هر گرم بود به ۲۰ میلی‌لیتر شیر خنک شده افزوده شد و به ازای هر ۲۰۰ گرم بستنی ٤ میلی‌لیتر از شیر حاوی باکتری به مخلوط بستنی اضافه شد. قبل از انتقال مایع بستنی به دستگاه بستنی‌ساز، مخلوط به مدتدو ساعتدر یخچال با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.سپس مایع بستنی در دستگاه بستنی‌ساز ریخته شد و به مدت ۲۰ تا ۲۵ دقیقه مخلوط شد. بعد از تهیه بستنی، بستنی در ظروف پلاستیکی توزیع وبسته‌بندیگردید. نمونه‌ها برای طی نمودن مرحله سخت شدن در فریزر با دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و آزمون ارزیابی حسی، تعیین میزانpH، اسیدیته و تعداد باکتری*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*در روزهای ۱، ۷ و ۱٤ نگهداری بر روی نمونه‌ها انجام شد[۱۰].

۲-۵- pH

اندازه‌گیریpH توسط دستگاه pHمتر (مدل HORIBA) انجام گرفت. بدین ترتیب که نمونه بستنی را داخل یک بشر

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

ریخته شد. الکترود pH متر را پس از کالیبراسیون و تنظیم دمای نمونه در ۲۰ درجه سلسیوس ، داخل آن قرار داده شد و pH آن یادداشت گردید [۱۱].

۲-۶- اسیدیته

برای اندازه‌گیری اسیدیته نمونه‌ها از روش پتانسیومتری استفاده شد [۱۲ و ۱۳]. در یک بشر حدود ۰/۰۱ ± ۱۰ گرم از آزمایه توزین و به آن حدود ۱۰ میلی‌لیتر آب افزوده و مخلوط شد. الکترود pH متر در داخل محلول پراکنده قرار داده شد. از محلول هیدروکسید سدیم، در حین هم زدن برای عیارسنجی محتوای بشر استفاده شد تا pH آن در ۰/۰۱ ± ۸/۳۰ به مدت‌زمان ۵-٤ ثانیه ثابت باقی ماند. حجم محلول هیدروکسید سدیم مصرفی برحسبمیلی‌لیتر، با دقت کمینه ۰/۰۵ میلی‌لیتر، ثبت شد.

$$\text{اسیدیته} = \frac{V \times 10}{m}$$

V حجم هیدروکسید سدیم برحسبمیلی‌لیتراستفاده‌شده برای عیارسنجی و m وزن آزمونه برحسب گرم می‌باشد. نتایج آزمون تا دو رقم اعشاری بیان شد [۱۳].

۲-۷- ارزیابی حسی نمونه‌ها

ارزیابی حسی بستنی ازنظر وضع ظاهری، بافت و شکل، طعم (بو و مزه) و ویژگی‌های آب شدن انجام گرفت.

جهت آزمون‌های حسی از ده نفر ارزیاب (۵ زن و ۵ مرد) با سنین مختلف استفاده شد. قبل از شروع کار ارزیاب‌های انتخابی تحت آموزش‌های اولیه قرار گرفتند. در این آزمون، نمونه‌های بستنی منجمد شده بر اساس چهار ویژگی رنگ و شکل ظاهری، بافت، عطروطعم و شیرینی در پنج سطح (خیلی خوب، خوب، قابل‌قبول، ضعیف، غیرقابل‌قبول) ارزیابی شدند. امتیاز معادل برای خیلی خوب (۵)، خوب (٤)، قابل‌قبول (۳)، ضعیف (۲) و غیرقابل‌قبول (۱) در نظر گرفته شد [١٤].

۲-۸- آنالیز میکروبی نمونه‌ها

برای بررسی میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از محیط کشت De Man, Rogosa and Sharpe Agar استفاده شد [۱۵].به‌منظورشمارش باکتری، رقت‌های سریال ده برابر از نمونه‌ها تهیه گردید و سپس در محیط کشت MRS Agar به‌صورتپورپلیت کشت انجام شد و پلیت ها در داخل جار بی‌هوازی به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. پلیت حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی به‌عنوان پلیت قابل‌شمارش در نظر گرفته شد.[۱۵].

۲-۹- روش تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

آزمایش بر پایه طرح بلوک کاملاً تصادفی[6] با ٤ تیمار (۱۰٪، ۲۵٪، ۵۰٪ و نمونه کنترل) در ۳ تکرار در ۳ دوره زمانی یک، ۷ و ١٤ روزه اجرا شد. تجزیه آماری بر طبق طرح پیشنهادی با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 (2000) تجزیه‌وتحلیل شد و مقایسه میانگین تیمارهای مختلف با آزمون توکی در سطح P<۰/۰۵ انجام شد.نمودارهابه‌وسیلهنرم‌افزاراکسل رسم گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- pH، اسیدیته و زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

نتایج حاصل از جایگزینی استویا بر ویژگی‌های محصول در جدول‌های مقایسه میانگین شماره ۱ و ۲ ارایه شده است.با توجه به جدول ۱ بین گروه‌های تیماری ازنظر اسیدیته وزنده‌مانی باکتری اختلاف معنی‌دار وجود داشت و ازنظر pH اختلاف معنی‌دارنبود. بین زمان‌های مختلف ارزیابی ازنظر میزان pH اختلاف معنی‌دارمشاهده گردید ولی ازنظر میزان اسیدیته وزنده‌مانی باکتری اختلاف معنی‌داربود(P<۰/۰۵).

6. Completely Randomized Design

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

Table 1 Average comparison of Stevia and storage periods (days) in pH, acidity and viability of *L. acidophilus*

Stevia	pH	Acidity	Viability of LA5 (LogCFU/g)
100% Sugar	6.73	1.17^{bc}	7.43^{b}
90% sugar, 10% Stevia	6.74	1.10^{c}	8.45^{a}
75% sugar, 25% Stevia	6.78	1.21^{ab}	8.60^{a}
50% sugar, 50% Stevia	6.79	1.26^{a}	8.13^{a}
SEM	0.0228	0.0226	0.189
P_{value}	0.22	0.0064	0.0098
storage periods (days)			
1	6.78	1.01^{b}	7.83^{b}
7	6.76	1.25^{a}	8.09^{b}
14	6.74	1.29^{a}	8.54^{a}
SEM	0.009	0.020	0.104
P_{value}	0.158	0.0001	0.0007

Averages that have a common code do not have a significant difference($P \leq 0.05$)

Table 2 Comparison of the average interaction effect (Stevia × days) on pH, acidity and viability of *L. acidophilus*

Combined treatment (Stevia × days)		pH	Acidity	Viability of LA5 (LogCFU/g)
100% Sugar	1	6.78	0.95	7.49^{de}
90% sugar, 10% Stevia	1	6.76	0.98	7.50^{de}
75% sugar, 25% Stevia	1	6.82	1.07	8.70^{ab}
50% sugar, 50% Stevia	1	6.78	1.04	7.62^{cd}
100% Sugar	7	6.72	1.22	7.47^{de}
90% sugar, 10% Stevia	7	6.73	1.17	8.37^{bc}
75% sugar, 25% Stevia	7	6.75	1.28	8.94^{ab}
50% sugar, 50% Stevia	7	6.82	1.35	7.59^{cde}
100% Sugar	14	6.68	1.33	7.32^{e}
90% sugar, 10% Stevia	14	6.74	1.16	9.49^{a}
75% sugar, 25% Stevia	14	6.77	1.27	8.17^{bcd}
50% sugar, 50% Stevia	14	6.78	1.39	9.19^{a}
SEM		0.0216	0.04	0.208
P_{value}		0.179	0.186	0.0001

Averages that have a common code do not have a significant difference. ($P \leq 0.05$)

با توجه به جدول ۲ اثر متقابل سطوح مختلف استویا در طول زمان نگهداری برای هر دو صفات میزانpH و اسیدیته معنی‌دار نبود، که نشان می‌دهد اثر سطوح مختلف استویا در زمان‌های مختلف یکسان بود. ولی اثر متقابل سطوح استویا در طول زمان نگهداری بر روی زنده‌مانی باکتری دارای اختلاف معنی‌داربود که نشان می‌دهد اثر سطوح استویا در زمان‌های مختلف یکسان نبود.

۳-۲- ویژگی‌های حسی

نتایج حاصل از جایگزینی استویا بر ویژگی‌های حسی نمونه‌های بستنی حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

جدول‌های مقایسه میانگین ۳ و ٤ ارایه شده است.بین سطوح استویا در همه ویژگی‌های حسی به‌غیراز بافت و احساس دهانی اختلاف معنی‌دارنبوده و در این ویژگی اختلاف معنی‌داربود. بین زمان‌های مختلف ارزیابی نیز در کلیه ویژگی‌های حسی به‌غیراز ظاهر و رنگ اختلاف معنی‌دار نبوده و در این ویژگی اختلاف معنی‌داربود.

Table 3 Average comparison of Stevia and storage periods (days) in the sensory characteristics of samples

Stevia	Flavor & Aroma	Sweetness	Appearance & Colour	Texture
100% Sugar	4.05	4.50	3.45	4.55[a]
90% sugar, 10% Stevia	3.80	4.55	3.40	3.50[c]
75% sugar, 25% Stevia	3.95	4.30	3.30	3.85[b]
50% sugar, 50% Stevia	3.70	4.25	3.30	3.70[bc]
SEM	0.146	0.227	0.161	0.103
P_{value}	0.347	0.383	0.883	0.0001
storage periods (days)				
7	3.975	4.45	3.52[a]	3.87
14	3.775	4.35	3.20[b]	3.92
SEM	0.0785	0.0776	0.067	0.10
P_{value}	0.080	0.369	0.0015	0.7266

Averages that have a common code do not have a significant difference. ($P \leq 0.05$)

Table 4 Comparison of the average interaction effect (Stevia × days) in the sensory characteristics of samples

Combined treatment (Stevia × days)		Flavor & Aroma	Sweetness	Appearance & Colour	Texture
100% Sugar	7	4.20	4.60	3.60	4.70[a]
90% sugar, 10% Stevia	7	3.80	4.60	3.70	3.80[bc]
75% sugar, 25% Stevia	7	4.10	4.30	3.50	3.40[cd]
50% sugar, 50% Stevia	7	3.80	4.30	3.30	3.60[cd]
100% Sugar	14	3.90	4.40	3.30	4.40[a]
90% sugar, 10% Stevia	14	3.80	4.50	3.10	3.20[d]
75% sugar, 25% Stevia	14	3.80	4.30	3.10	4.30[ab]
50% sugar, 50% Stevia	14	3.60	4.20	3.30	3.80[bc]
SEM		0.157	0.155	0.134	0.20
P_{value}		0.7506	0.9367	0.1754	0.0038

Averages that have a common code do not have a significant difference. ($P \leq 0.05$)

اثر متقابل سطوح مختلف استویا در زمان برای ویژگی بافت بستنیمعنی‌داربود که نشان می‌دهد اثر سطوح مختلف استویا در طول زمان نگهداری یکسان نبود ولی اثر متقابل در صفات عطروطعم، شیرینی و ظاهر و رنگ غیر معنی‌دار بود.

بیشترین تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روز چهاردهم در سطوح استویای ۱۰٪ و ۵۰٪ به ترتیب۹/٤۹ ±۰/۲۰ LogCFU/g و ±۰/۲۰ LogCFU/g ۹/۱۹ بود. تعداد باکتری در تیمارهای فوق با سایر سطوح تیماری اختلاف معنی‌دار نشان داد (جدول ۲).

سالم و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه زنده‌مانی چند گونه پروبیوتیکی در بستنی نشان دادند که میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی ۱۲ هفته نگهداری به میزان ۲/۲۳ Log cfu/g کاهش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت ندارد[۱٦].حکمت و مک ماهون (۱۹۹۲) مشاهده نمودند که میزان این باکتری در طی ۱۷ هفته نگهداری نمونه‌های بستنی در ۲۹- درجه سانتی‌گراد کاهش داشته است، که مغایر با نتایج این مطالعه بود [۱۷].

روحی و همکاران در بررسی زنده‌مانی*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شیرکاکائو سین بیوتیک طی ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچالی مشاهده نمودند، که تا روز ١٤ نگهداری افزایش داشت، که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۱۸].این تفاوت‌هامی‌تواندبه علت تفاوت درفن‌آوری تولید، نوع ترکیبات، دمای مختلف نگهداری و اختلاف pHآمیخته‌ها باشد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

کمترین میزان باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روز چهاردهم در نمونه کنترل به تعداد LogCFU/g ۰/۲۰± ۷/۳۲ بود (جدول ۲) و در نمونه‌هایکنترل و ۲۵٪ استویا تعداد باکتری طی ۱٤ روز کاهش‌یافته بود.

همایونی و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی رشد زنده‌مانیباکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*[7]، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[8] و *بیفیدوباکتریوم لانگوم*[9] در شرایط مشابه بستنی نتیجه گرفتند که زنده‌مانیگونه‌های پروبیوتیک استفاده‌شده در بستنی ممکن است متأثر از فشار اسمزی وابسته به ساکارز باشدو پایداری به فشار اسمزی ساکارز، یک فاکتور وابسته به گونه باشد و باعث کاهش میزان باکتری در مدت نگه‌داری گردد.به نظر می‌رسد که مورد فوق با نتایج حاصل از نمونه کنترل این بررسی مطابقت دارد [۱۹].

هاشمی و همکاران (۲۰۱٤) در بررسی نشان دادند که پس از نگه‌دارینمونه‌های بستنی پروبیوتیک در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گرادتا ۳۰ روز تغییرمعنی‌داری در تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده نشد، درحالی‌که در مطالعه کنونی تعداد باکتری در ۱٤ روز نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد افزایش معنی‌داری نشان داد[۸].

طبق مطالعه عبقری و همکاران جمعیت اولیه باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی ۱۲ هفته نگه‌داری در ۱۹- درجه سانتی‌گراد کاهش داشت، که با نتایج حاصل مطابقت دارد [۱].

در تمامی نمونه‌ها در طی مدت ۱٤ روز نگهداری میزان زنده‌مانی*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشتر از مقدار توصیه‌شده logCFU/g۷بود و به نظر می‌رسد که با توجه به نتایج حاصل از فلاح (۲۰۱٤) و آقایی و همکاران (۲۰۱۵) اثر ضد باکتریایی استویا مرتبط با میزان مصرفی آن در فرآورده می‌باشد و برای بروز این ویژگی میزان استفاده از استویا اهمیت فراوانی دارد [۲۰ و ۲۱].

لاکتوباسیلوس ها دارای آنزیم‌های بتا-گالاکتوزیداز و یا بتا-فسفوگالاکتوزیداز هستند که باعث توانایی این میکروارگانیسم‌هادر استفاده از لاکتوز می‌شوند[۲۲]. بر اساس نتایج حاصل از مطالعه کونووا و همکاران (۲۰۱۳) مشاهده‌شده است که باکتری‌های لاکتوباسیل و بیفیدوباکتر ها قادر به مصرف ربائودیازید آ و استویول گلیکوزیدز از استویا ربائودیانا به‌عنوان منبع کربن می‌باشند[۵].

برخی از محصولات لبنی مثل بستنی در فرمولاسیون خود دارای مقادیر مختلفی شکر (ساکارز) هستند. زنده‌مانیگونه‌های پروبیوتیکی مورداستفاده در این محصولات ممکن است تحت تأثیر فشار اسمزی ناشی از ساکارز واقع شود [۲۳].

کوچوکچتین و همکاران (۲۰۱٦) در بررسی سه روش متفاوت برای بستنی پروبیوتیک نشان دادندکه زنده‌مانی*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در بستنی، در روش‌هایی که در آن مخلوط بستنی توسط این باکتری قبل از انجماد تخمیر می‌شد نسبت به روشی که عمل تخمیر صورت نمی‌گرفت، بعد از ۹۰ روز نگهداری بالاتر از حد توصیه‌شده بود [۲٤].

با توجه به جدول‌های ۱ و ۲ بین سطوح مختلف استویا و اثر متقابل سطوح استویا درطول زمان نگهداری از نظر pH اختلاف معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد که اثر سطوح مختلف استویا در زمان‌های مختلف یکسان بود.هاشمی و همکاران نشان دادند که pHبستنی‌های مختلف اختلاف معنی‌داری نداشتند که با نتایج مطالعه کنونی مطابقت داشت [۸].عبقری و همکاران (۱۳۸۷) نشان دادند که pH بستنی در مراحل رسیدن، انجماد و نگه‌داری، به‌طورمعنی‌داری تغییر نکرده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد [۱].

بین زمان‌های مختلف ارزیابی در میزانpHاختلاف معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۱). عبقری و همکاران (۱۳۸۷) در نتایج خود نشان دادند که میزانpH مخلوط بستنی با افزودن باکتری به‌طورمعنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش پیدا کرد، که با نتایج این بررسی مطابقت ندارد [۱].

۳-۵- ارزیابی تغییرات اسیدیته

نتایج نشان می‌دهد بین سطوح مختلف استویا و زمان‌های مختلف نگهداریازنظر اسیدیته اختلاف معنی‌دار وجود داشت (جدول ۱). اثر متقابل سطوح مختلف استویا در طول زمان نگهداری برای اسیدیته معنی‌دار نبود که نشان می‌دهد اثر تیمارها در زمان‌های مختلف یکسان بود (جدول ۲). اسیدیته در طول ۱٤ روز نگهداری افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲).عبقری و همکاران (۱۳۸۷) در نتایج خود نشان دادند که اسیدیته مخلوط بستنی با افزودن باکتری به‌طورمعنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش پیدا کرد، که با نتایج این بررسی مطابقت ندارد [۱].

7. *Lactobacillus casei*
8. *Bifidobacterium bifidum*
9. *Bifidobacterium longum*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

ویجایاگیتا و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که در بستنی پروبیوتیک تهیه‌شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*میزان اسیدیته به‌صورتمعنی‌داری افزایش‌یافته بود، که با نتایج حاصل مطابقت دارد [۲۵].ویسی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی میزان بقای باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در ماست‌های پروبیوتیک مشاهده نمودند که میزان اسیدیته، از ابتدا تا انتهای مطالعه به‌صورتمعنی‌داری افزایش یافت، که با بررسی حاضر مطابقت داشت [۲٦].به نظر می‌رسد با توجه به خصوصیات باکتری مورداستفاده افزایش اسیدیته در طول زمان نگهداری قابل توجیه باشد همچنین از طرف دیگر استویا خصوصیات ضد میکروبی نیز دارد که می‌تواند با افزایش مدت‌زمان نگهداری از افزایش تعداد باکتری جلوگیری نماید.

سطوح مختلف استویا بر روی ویژگی عطروطعمنمونه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت که با نتایج حاصل از اوزدمیر و همکاران (۲۰۱۵) که تولید بستنی با استفاده از شیرین‌کننده استویا را بررسی نمودند، مطابقت دارد [۲۷]. مقبولیت نمونه فاقد استویوزید ازنظرعطروطعم بیشتر از سایر نمونه‌ها با امتیاز ٤/۰۵ بود.غلامعلیزاده و صفری (۱۳۹۲) در نتایج خود نشان دادند که بیشترین مقبولیت ازنظرعطروطعم مربوط به نمونه حاوی ۵۰٪ استویا بود که با نتایج این بررسی مطابقت نداشت [۲۸].

ازنظر شیرینی بین نمونه‌ها با سطوح مختلف استویا اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید و بیشترین مقبولیت مربوط به نمونه ۲ با ۱۰٪ استویا بود (جدول ۳).در مطالعه ای،غلامعلیزاده و صفری نشان دادند که بین سه نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی ۲۵٪ و ۵۰٪ استویا تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، که با نتایج مطالعه کنونی همخوانی داشت[۲۸].

در هیچ‌یک از نمونه‌هاازنظر ظاهر و رنگ اختلاف معنی‌داری نبود (جدول ۳) که می‌توان گفت این ویژگی تنها متأثر از رنگ پودر کاکائو به‌کاررفته در فرمولاسیون بستنی بود که این نتایج با مشاهدات غلامعلیزاده و صفری (۱۳۹۲) مطابقت داشت[۲۸]. بیشترین مقبولیت در این ویژگی در نمونه کنترلبود (جدول ۳).

علیزاده و همکاران در بررسی تأثیر استویا بر ویژگی‌های بستنی مشاهده نمودند که مقدار متفاوت استویا و ساکارز منجر به تفاوت در رنگ محصولات نگردید که مطابق با نتایج مطالعه کنونیمی‌باشد[۲۹].

بین زمان‌های مختلف در این ویژگی اختلاف معنی‌داربود و بیشترین امتیاز مربوط به‌روز هفتم نمونه‌برداری بود (جدول ۳).

بین سطوح مختلف استویا در زمان ازنظر ویژگی بافت و احساس دهانی اختلاف معنی‌داری بود که نشان می‌دهد اثر سطوح مختلف استویا در زمان‌های مختلف یکسان نبود (جدول ٤).

نتایج ارزیابی حسی در مطالعه غلامعلیزاده و صفری نشان داد که تفاوت معنی‌دار در ویژگی بافت و احساس دهانی نمونه‌ها می‌تواند ناشی از کاهش ماده خشک کل در نمونه‌ها با کاهش مقدار شکر باشد که منجر به تضعیف بافت و احساس دهانی می‌شود، که با نتایج این مطالعه نیز مطابقت دارد و دلایل می تواند قابل تعمیم باشد[۲۸]. همچنین اختلاف معنی‌دارنمونه‌های حاوی ۱۰، ۲۵ و ۵۰ درصد استویا با نمونه کنترلمی‌تواند مربوط به خطای دستگاه بستنی‌ساز خانگی و کاهش کارایی مطلوب در عمل سرد کردن مخلوط بستنی در حین هم زدن از نمونه ۱ به نمونه ٤ باشد (جدول ٤). ویژگی‌های حسی تمامی نمونه‌ها در طی ١٤ روز نگهداری کاهش یافته بود.

در مطالعه آراندا و همکاران بر روی اثرات جایگزینی استویا با شکر بر روی ویژگی های حسی، نتایج نشان داد که اختلاف معنی دار در بین نمونه‌های مختلف از نظر میزان استویا بر روی ویژگی‌های حسی مشاهده نگردید[۳۰].

ویجایاگیتا و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه‌ای که انجام دادند نشان دادند که با افزایش درصد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از ۱ ٪ به ۲ ٪ در فرمولاسیون بستنی ویژگی‌های طعم، بافت و رنگ نمونه‌ها کاهش یافته بود، که با توجه به افزایش تعداد باکتری در این مطالعه طی مدت نگه‌داری با نتایج حاضر مطابقت دارد [۲۵].

سالم و همکاران (۲۰۰۵) طی یک تحقیق تولید بستنی پروبیوتیک با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، *لاکتوباسیلوس روتری*[10]، *لاکتوباسیلوس گازری*[11] و *لاکتوباسیلوس رامنوس*[12]طی ۱۲ هفته نگهداری در فریزر اظهار داشتند که تمام نمونه‌های بستنی امتیاز بالایی در ارزیابی ارگانولپتیک به دست آوردند و در تمام نمونه‌ها طعم پروبیوتیک مشخص گزارش نگردید[١٦].

بستنی می‌تواندبه‌عنوان حامل مناسب، باقابلیت ماندگاری طولانی، جهت حمل باکتری‌های سودمند موردنظر و رساندن آن به مصرف‌کننده استفاده شود. عواملی نظیر اسیدیته کم

10. *Lactobacillus reuteri*
11. *Lactobacillus gasseri*
12. *Lactobacillus rhamnosus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

بستنی، محتویات زیاد چربی و ماده جامد بدون چربی، حضور حباب‌های هوا که رشد کریستال‌های یخ را کنترل می‌کنند و حضور کازئین، ساکارز و لاکتوز در مخلوط بستنی که طی انجماد می‌توانند اثر حفاظتی بر روی باکتری‌ها داشته باشند، از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر بقای مطلوب باکتری‌ها محسوب می‌شوند[۱].

٤- نتیجه‌گیری

بستنی به دلیل داشتن ماده خشک بالا و pH خنثی، غذای مناسبی برای توزیع پروبیوتیک ها در بین مصرف‌کنندگان است. این مطالعه نشان داد که افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به مخلوط اولیه بستنی بلافاصله قبل از انجماد، روش مناسبی برای تولید بستنی پروبیوتیک می‌باشد و تغییرات محسوسی در ویژگی‌های حسی محصول در مقایسه با بستنی معمولی ایجاد نمی‌کند. درنهایتمی‌توان گفت که استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مخلوط بستنی کاکائویی حاوی استویا در جهت تولید بستنی پروبیوتیک با کالری کمتر امکان‌پذیرمی‌باشد. امید است در آینده تحقیقات تکمیلی با استفاده از گونه‌ها و سوش های دیگر باکتری‌های پروبیوتیک و همچنین سایر شیرین‌کننده‌هایکم‌کالری و یا پری بیوتیک ها انجام گیرد.

٥- تقدیر و تشکر

مقاله حاضر مستخرج از پایان نامه مقطع کارشناسی ارشد، رشته علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر می‌باشد. نویسندگان مقاله بر خود لازم می دانند که از مساعدت های آقای دکتر امیررضا احمدزاده جهت انجام آنالیزهای آماری و خانم مهندس افسانه صفری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

٦- منابع

[1] Abghari, A., Sheikh-Zeinaddin, M., Soleimanian-Zad, S., Dokhani, S., (2008), Survival of *Lactobacillus acidophilus* in a non-fermented ice cream. 18th National Congress on Food Technology, Mashhad, Iran.

[2] Otroshy, M., Mokhtari, A., (2014), Health benefits of Stevia. Esfahan, Nosooh, 9-24.

[3] Simonsohn, B., (1954), Stevia. Khatami, H., Tehran, Yarane Alavi, 9-23.

[4] Yogiraj R., Anantrao N., Pritam K., Sharddha S., (2014), Preparation of ice-cream using natural sweetener Stevia. Food Science Research Journal, 5(1): 30-33.

[5] Kunova, G., Rada, V., Vidaillac, A., Lisova, I., (2014), Utilization of steviol glycosides from *Stevia rebaudiana* (Bertoni) by Lactobacilli and Bifidobacteria in in vitro conditions. Folia Microbiol, 59(3): 251-255.

[6] Khosravi Darani, K., Koshaki, M., (2008), Probiotics in milk and Dairy product. Tehran, Marze Danesh.

[7] Bonyadi, F., Tukmechi, A., Mohebalian, H., (2014), An overview of probiotics and their role in managements of cancer. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 24 (122): 128-140.

[8] Hashemi, M., Geisari, H., Shekar Forosh, Sh., (2013), Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bacillus coagulance* in low fat probiotic and sinbiotic ice cream. 3 (3): 57-65.

[9] Lin, T., Gruen, I., (2012), Sensory analysis, instrumental analysis and consumers' acceptance toward multifunctional ice creams. A Dissertation presented to the Faculty of the Graduate School at the University of Missouri.

[10] Maghsoudi, S., (2011), The technology of ice cream produsing. Tehran, Elm Keshavarzi Iran, 111-113.

[11] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2006), Milk and milk products – determination of titrable acidity and value pH – test method. ISIRI 2852.

[12] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2008), Ice cream – specifications and test methods. ISIRI 2450.

[13] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2013), Fermented milks – determination of titrable acidity – potentiometric method. ISIRI 5222.

[14] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (1998), Ice cream- Sensory evaluation method. ISIRI 4937.

[15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran, (2007), Milk products – Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium – Colony-count technique at 37°C. ISIRI 9616.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

[16] Salem, M.M.E., Fathi, F.A., Awa, R.A., (2005), Production of Probiotic Ice cream. Polish Journal of Food Nutritional Sciences, 14/55(3): 267–271.

[17] Hekmat, SH., 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.

[18] Rouhi, M., Mohammadi, R., Sarlak, Z., Taslimi, A., Zabihzadeh, M., Mortazavian, AM., (2015), Study on the biochemical, microbiological and sensory characteristics of symbiotic chocolate milk. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 10(2): 47-58.

[19] Homayouni, A., Ehsani, M.R., Azizi, A., Razavi, S.H., Yarmand, M.S., (2008), Growth and survival of some probiotic strains in simulated Ice cream conditions. Journal of Applied Sciences, 8 (2): 379-382.

[20] Fallah Shojaee, M., (2013) Antioxidant and antimicrobial properties of leaf extract of *Stevia rebaudiana* Bertoni and it's effect on dairy desserts, M.Sc.Thesis University of Agricultural sciences, Gorgan.

[21] Agaei Hosein-abadi, F., Mohammadi Sichani, M., Karbasizadeh, V., Mofid, M., (2014), Effect of Stevioside and *Stevia rebaudiana*on growth of *Streptococcus mutans*. Academic Journal of Lorestan University of Medical Sciences, 16 (1): 72-79.

[22]Premi, L., Sandine, W., Elliker, P., (1972), Lacto-hydrolyzing enzymes of Lactobacillus species. Journal of Applied Microbiology. 24 (1): 51-57.

[23] Ashrafi Yorganlo, R., Ehsani, A., Javanmard, N., Hasanpour Tasoji, N., (2015), Investigation of the Factors Influencing Probiotc Survival in Ice cream. Booklet summary of international conference on advanced research in agricultural and environmental sciences, Malaysia, Institute of Saramad Hamayesh Karin.

[24] Kucukcetin, A., Ayse Asci, A., Comak Gocer, E.M., Muammer, D., Atamer, Z., Hinrichs, J., (2016), Viability of *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 incorporated into ice cream using three different methods. Dairy Science and Technology, 96(4), 477-487.

[25]Vijayageetha, V., Khursheed Begum, Sk., Kotilinga Reddy, Y., (2011), Thechnology and Quality attributes of Porobiotic of Ice cream. Tamilnadu Journal of Veterinary & Animal Sciences, 7 (6) 299-302.

[26] Veisy, M., Vakili, M., Jarrahzadeh, M., Delaviz, A., Hordani, A., Mohammadi, F., (2013), Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in probiotic Yogurt. Journal of Medical Science Jondi Shapour, 13 (3): 364-357.

[27] Ozdemir, C., Arslaner, A., Ozdemir, S., Allahyari, M., (2015), The production of ice cream using stevia as a sweetener. Journal of Food Science and Technology, 52(11): 7545-7548.

[28] Gholamalizadeh, F., Safari, A., (2015), Evaluation of replacement sweetener Stevia on physicochemical and organoleptic properties of traditional ice cream. M.Sc thesis on Agricultural – Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shabestar.

[29] Alizadeh, M., Azizi-Lalabadi, M., Kheirouri S., (2014), Impact of Using Stevia on Physicochemical, Sensory, Rheology and Glycemic Index of Soft Ice Cream. Food and Nutrition Sciences, 5(4): 390-396.

[30] Aranda-Gonzalez, I., Perera-Pacheco, M., Barbosa-Martín, E., Betancur-Ancona, D., (2016), Replacing sugar with *S. rebaudiana* extracts on the physicochemical and sensory properties of strawberry ice cream. Ciencia Rural, 46(4): 604-609.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]

Viability of *Lactobacillus acidophilus* in the cocoa ice cream containing sweetener Stevia

Eshaghi Makouei, G. [1], Movassagh, M. H. [2*]

1. MSc Student in Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Hygiene and Food Quality Control, Faculty of Food Science And Technology, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

(Received: 2017/09/21 Accepted:2018/01/17)

Ice cream is a very popular meal and is demanded all over the world. Some ice cream attributes suggest that this popular dessert can act as a functional probiotic food. This study; evaluated the possibility of producing probiotic cocoa ice cream, using Stevia as a natural sweetener. Stevia was replaced with 0, 10, 25 and 50% sugar-based ice cream formulations in samples containing *Lactobacillus acidophilus*, and the samples were tested for bacterial viability, acidity, pH and sensory evaluation in three replications in storage period of 1, 7 and 14 days. The highest count of *Lactobacillus acidophilus* in 10% and 50% samples contained 9.49 ±0.20 and 9.19 ±0.20 log CFU/g, respectively. The bacteria count in all samples was higher than the amount determined during the storage period. Increasing the amount of Stevia in the formulation resulted to a decrease in the sensory properties of the samples.Ice cream containing stevia seems to be used as a carrier for probiotic bacteria.

Keywords: Stevia,Cocoa ice cream, Probiotic,*Lactobacillus acidophilus*

* Corresponding Author E-Mail Address: movassagh2@yahoo.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-06-10]