



### بهینه سازی فرمولاسیون لوکوم پروبیوتیک بر پایه شیره انگور

الهه امینی<sup>۱</sup>، رضا کاراژیان<sup>۲\*</sup>، نجمه گرد نوشهری<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی جهاددانشگاهی کاشمر، کاشمر، ایران.

۲- استادیار، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی صنعتی میکروارگانیسم ها، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، جهاددانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

#### چکیده

#### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۰۸

کلمات کلیدی:

لوکوم،

پروبیوتیک،

شیره انگور،

بهینه سازی فرمولاسیون.

لوکوم ماده غذایی است که از شکر و نشاسته تشکیل شده است و به عنوان یک میان وعده برای مصرف کننده تنوع ایجاد می کند. از شکر به عنوان شیرین کننده در تولید لوکوم استفاده می شود. شیره انگور حاوی مقادیر بالایی قند، مواد معدنی، ویتامین، اسیدهای آلی و آنتی اکسیدان ها است، بنابراین می توان از شیره انگور به عنوان شیرین کننده جایگزین شکر استفاده کرد. در این مطالعه با استفاده از نرم افزار **Design Expert** سطوح مختلفی برای نشاسته، شکر و شیره انگور تعیین گردید و ۱۶ تیمار برای متغیرهای مستقل انتخاب شد که شامل ۱۰-۱۵ درصد نشاسته، ۷-۳۵ درصد شکر و ۱/۵ - ۳۵ درصد شیره انگور بود. آزمون-های مورد بررسی شامل pH، فعالیت آبی، سفتی، سختی و نیروی چسبندگی بافت و ارزیابی حسی بود. بعد از انتخاب نمونه بهینه میزان بقای باکتری پروبیوتیک باسیلوس کواگولانس در چهارده روز بررسی شد. بررسی نتایج نشان داد که برای کلیه فاکتورهای مورد بررسی از مدل خطی استفاده شود به طوری که برای pH میزان شیره انگور و شکر معنی دار شد. تغییرات شیره انگور و نشاسته میزان فعالیت آبی تغییر معنی دار داشت. همچنین تغییرات درصد نشاسته، شکر و شیره انگور، باعث تغییرات معنی داری در فاکتور  $L^*$  شد و شدت روشنایی کاهش یافت و فاکتورهای  $a^*$  و  $b^*$  افزایش یافت. نیروی چسبندگی و سفتی بافت برای متغیرهای مستقل نشان دهنده تناسب بین مدل انتخابی بوده است و افزایش میزان شیره انگور، سفتی و چسبندگی بافت نمونه های لوکوم افزایش معنی داری در سطح مورد بررسی داشت. زنده مانی باکتری پروبیوتیک در طی ۱۴ روز کاهش معنی داری داشت. ارزیابی حسی نمونه ها نشان داد که اختلاف معنی داری بین نمونه ها مشاهده شد و امتیاز کلی در حدود ۴/۱ محاسبه شد.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.67

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.13.0

\* مسئول مکاتبات:

reza\_karazhyan2002@yahoo.com

## ۱- مقدمه

فلور روده انسان حاوی انواع مختلفی از باکتری‌ها است. دسته‌ای از این باکتری‌ها که به باکتری‌های پروبیوتیک معروف هستند، علاوه بر کمک به گوارش، مولکول‌های پیچیده و ترکیباتی مانند ویتامین‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف را تولید می‌کنند که برای بدن مفید می‌باشد [۱].

کلمه پروبیوتیک کلمه‌ای است که از زبان یونانی گرفته شده است و به معنی برای زندگی می‌باشد. تعریف کامل واژه پروبیوتیک عبارتست از فرآورده‌ای حاوی میکروارگانیسم‌های زنده و مشخص در تعداد کافی که فلور میکروبی را از طریق جایگیری یا کولونیزاسیون در بخشی از بدن میزبان تغییر داده و بدین ترتیب باعث اعمال اثرات مفید بر سلامتی میزان می‌شود [۲]. FAO و WHO پروبیوتیک را این گونه تعریف می‌کنند، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مصرف آنها به مقدار کافی سبب نمایان شدن اثرات سلامت‌بخش در بدن می‌شود [۳ و ۴]. به منظور ایجاد اثرات سلامت بخش بر بدن میزبان لازم است که تعداد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در محصول غذایی حامل تا حد معینی بالا باشد.  $10^6$  cfu/ml تا  $10^9$  cfu/ml پروبیوتیک‌ها بر تعادل باکتری‌های مفید و مضر روده تأثیر می‌گذارند و این تعادل را به نفع افزایش جمعیت باکتری‌های مفید تغییر می‌دهند، در واقع پروبیوتیک‌ها از همین طریق، اثرات سلامتی بخش خود را در بدن انسان انجام می‌دهند [۵ و ۶].

شیره انگور طبیعی که عصاره تغلیظ شده انگور می‌باشد و تمام خواص آن را در خود دارد، حاوی ویتامین‌های A, B, C, D و املاحی مانند آهن، منیزیم، منگنز، کلر، ید، آرسنیک، فسفر و سیلیس است. همچنین دارای مقدار زیادی تانن می‌باشد. این محصول حاوی مواد معدنی به ویژه کلسیم و آهن بوده و منبع غنی از مونوساکاریدهای گلوکز و فروکتوز می‌باشد. ترکیبات آب انگور به جز فیبرها و روغن‌های هسته، تقریباً مشابه انگور است. آب انگور حاوی اسید تارتاریک، مالیک، سیتریک و همچنین ویتامین‌های تیامین، آسکوربیک اسید، بیوتین، نیاسین، فولیک اسید و پانتوتنیک اسید می‌باشد [۷]. شیره انگور به دلیل داشتن مقدار بالای مونوساکاریدهای قابل هضم، سریع در بدن جذب می‌شود. به همین جهت برای کسانی که بر اثر یک بیماری

طولانی یا عمل جراحی ضعیف شده اند بسیار مفید است. همچنین نقش مهمی در تغذیه گروه‌های سنی مختلف به خصوص کودکان و ورزشکاران دارد [۸]. لوکوم ماده غذایی است که اساساً از شکر و نشاسته تشکیل شده است. در ابتدا از عسل به عنوان شیرین کننده و از آرد و آب را برای تولید لوکوم مورد استفاده قرار می‌دادند. سپس شکر جایگزین عسل شد و برای تولید لوکوم از شکر استفاده شد و امروزه برای تولید لوکوم از شکر و نشاسته (به جای آرد) استفاده می‌شود. مهم‌ترین پارامتر کیفی لوکوم ساختار فیزیکی آن مانند نرمی، کشسانی و سفتی آن است [۹ و ۱۰].

در این راستا استفاده از ترکیباتی نظیر شیره انگور در مواد غذایی، به عنوان یک طعم‌دهنده می‌تواند پاسخی به نیاز مصرف کنندگان باشد که از جمله در فرآورده‌های آردی به کار می‌رود. از جمله مطالعاتی که در زمینه‌ی افزودن شیره انگور به فرمولاسیون مواد غذایی انجام شده است می‌توان به مطالعه علیلو و همکاران (۱۴۰۰) که به بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی شیر طعم-دار پروبیوتیک با استفاده از باسیلوس کوآگولانس و شیره انگور به روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی پرداخته‌اند و بیان داشتند غلظت‌های مختلف شیره انگور و مدت زمان نگهداری بر pH، اسیدیته قابل تیتراسیون، ماده خشک، چربی و زنده‌مانی میکروارگانیسم باسیلوس کوآگولانس شیر طعم‌دار پروبیوتیک معنی‌دار بوده است. شرایط بهینه در این پژوهش مقدار یک درصد شیره انگور و مدت زمان نگهداری دو روز به دست آمده است [۱۱].

محصولی و همکاران (۱۳۹۹) در بررسی امکان استفاده از شیره انگور به جای شکر در تولید دسر لبنی بیان داشتند که افزایش غلظت شیره انگور در نمونه‌های دسر باعث افزایش معنی‌دار میزان اسیدیته، شاخص‌های رنگی a و b، درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد و کاهش معنی‌دار ساکارز، چربی، pH و شاخص L\* گردیده است [۱۲].

کاواک و همکارانش (۲۰۱۸) با هدف بررسی تغییرات در خصوصیات کیفی لوکوم تحت تأثیر غلظت‌های مختلف پوره گیلاس بیان داشتند که نمونه‌ها ثابت میکروبیولوژیکی خود را در حین ذخیره‌سازی حفظ کردند. علاوه بر این پوره گیلاس منجر به کاهش مقادیر L\* و میزان سفتی بافت شد و همچنین طعم میوه

فرمولاسیون پایه لوکوم شامل: نشاسته ذرت ۱۵ گرم، شکر ۳۵ گرم، آب ۱۰۰ میلی لیتر و پودر ژلاتین ۲ گرم می باشد به طوری که که ابتدا دو سوم از آب با شکر مخلوط و حرارت داده شد. سپس ژلاتین حل شده در آب بصورت بن ماری (محلول شفاف)، به شربت اضافه گردید. آب باقی مانده به نشاسته اضافه شده و مخلوطی به نام شیر نشاسته یا خمیر نشاسته بدست آمد و کم کم خمیر نشاسته به شربت در حال جوش اضافه شد و مرتب به مدت ۶۰-۴۵ دقیقه هم زده شد تا یکنواخت و شفاف شود. پس از آماده شدن، لوکوم را در قالب های مخصوص ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق سرد شد. سپس لوکوم به ابعاد دلخواه ۱.۵ در ۲.۵ یا ۳ در ۳ برش زده شد و برای جلوگیری از چسبیدن قطعات لوکوم، در مخلوطی که حاوی دو سوم پودر شکر و یک سوم پودر نشاسته ذرت است، قرار داده شد و در ظرف های مخصوص چیده و در جای خشک و خنک نگهداری شد [۱۵ و ۱۶]. به منظور بهینه سازی شرایط فرایند، متغیرهای مستقل (A درصد نشاسته)، (B درصد شکر) و (C درصد شیره انگور) در سه سطح (جدول ۱) انتخاب شدند. بر اساس نرم افزار دیزاین اکسپرت، ۱۶ آزمایش برای به دست آوردن نقطه بهینه ارائه کرد (جدول ۲). در این جدول فاکتورها و سطوح اندازه گیری آنها نیز بیان شده است.

به عنوان یک ویژگی حسی مطلوب در تجزیه و تحلیل حسی در نظر گرفته شد [۱۳]. هدف از این تحقیق جایگزینی شیره انگور با شکر، در فرمولاسیون لوکوم پروبیوتیک می باشد. بررسی زنده ماننی باکتری باسیلوس کوآگولانس در مدت ۱۴ روز انجام شد و نتایج نشان داد که با گذشت زمان، میزان زنده ماننی باکتری کاهش می یابد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۱-۲- مواد مورد استفاده

مواد مورد استفاده در این مطالعه شامل نشاسته ذرت و پودر ژلاتین از لوازم قنادی موجود در سطح شهر مشهد، شکر از کارخانه قند شیروان، شیره انگور از بازار محلی شهرستان کاشمر، باکتری پروبیوتیک باسیلوس کوآگولانس IBRC-M ۱۰۸۰۷ به صورت لیوفلیزه، از شرکت تک ژن زیست تهران، قرص رینگر از شرکت سیگما آلد ریج آمریکا، محیط کشت MRS آگار از شرکت بیوسن سوئیس، محیط کشت برات از شرکت کیولب انگلستان خریداری شد.

### ۲-۲- روش ها

#### ۱-۲-۲- روش تهیه لوکوم

Table 1 Independent variables and their measurement levels

Sample code and level			Factor	Independent variables
-1	0	+1		
15		10	A	Starch (g)
34.78		0.794	B	Sugar(g)
35		1.87	C	Grape juice (g)

Table 2 Experiments provided by the software using the RSM scheme

Run	C: Syrup	B: Suger	A: Starch	Run	C: Syrup	B: Suger	A: Starch
1	32.761	7.239	10	9	18.715	16.285	15
2	1.876	33.124	15	10	32.761	7.239	10
3	25.969	12.781	11.25	11	22.281	17.719	10
4	18.715	16.285	15	12	10.391	29.481	10.128
5	14.099	23.495	12.407	13	5.214	34.786	10
6	35	0.794	14.206	14	1.876	33.124	15
7	35	0.794	14.206	15	18.157	20.522	11.321
8	6.526	28.474	15	16	5.214	34.786	10

**۲-۲-۲-۲-آزمون‌های شیمیایی****۱-۲-۲-۲-تعیین pH**

آزمون PH توسط PH متر metrohm ساخت کشور سوئیس، مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷ انجام گرفت [۱۶].

**۲-۲-۲-۲-فعالیت آبی**

اندازه گیری فعالیت آبی لوکوم با استفاده از دستگاه Novasina Sprint (مدل ۵۰۰ ساخت سوئیس) در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد.

**۲-۲-۳-آزمون بافت سنجی**

این آزمون با استفاده از دستگاه بافت سنج مدل LLOYD TA plus, instruments ساخت کشور انگلستان بررسی و با روش خمش دو مرحله‌ای در دمای اتاق (۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد) انجام شد. ابتدا نمونه‌های لوکوم به شکل مکعب در ابعاد ۲۰ میلی متر با استفاده از دستگاه فشرده سازی تحت صفحه فشار با قطر ۳۵ میلی متر قرار گرفت. نیروی اعمال شده براساس سختی محصول ۵۰ نیوتن و سرعت حرکت پروب ۶۰ میلی متر بر دقیقه تعیین گردید و تا ۳۰ درصد فشرده سازی استفاده شده است. عمق نفوذ پروب ۱۵ میلی‌متر تعیین گردید [۹].

**۲-۲-۴-ویژگی‌های رنگ سنجی توسط هانترلب**

در این مطالعه با استفاده از دستگاه هانترلب مدل Hunter Lab-025-9000 از طریق تعیین فاکتورهای روشنایی/تاریکی (L\*)، قرمزی/سبزی (a\*) و زردی/آبی (b\*) میزان رنگ نمونه‌ها اندازه گیری شد. از هر نمونه به میزان لازم روی عدسی دستگاه قرار گرفته و فاکتورهای مربوطه محاسبه گردید.

**۲-۳-روش تهیه نمونه بهینه و اضافه کردن****باکتری باسیلوس کوآگولانس**

پس از تهیه نمونه لوکوم با درصدهای مختلف مواد اولیه بر طبق جدول، و انجام آزمایشات، و بررسی نتایج نمونه بهینه لوکوم انتخاب گردید تا سویه باکتری پروبیوتیک به آن اضافه گردد و طی بازه زمانی ۱۴ روزه زنده‌مانی باکتری باسیلوس کوآگولانس بررسی گردید.

**۲-۳-۱-فعال سازی باکتری پروبیوتیک**

مقدار نیم گرم از پودر باکتریایی در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت MRS آگار (مرک آلمان) تلقیح و تا رسیدن به فاز لگاریتمی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پس از آن که کشت‌های مذکور به فاز لگاریتمی رشد خود رسیدند، جهت جداسازی سلول ها ۲ بار با دور ۵۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. در نهایت شستشوی سوسپانسیون باکتریایی با محلول رینگر انجام شد [۱۸].

**۲-۳-۲-شمارش باکتری باسیلوس کوآگولانس**

برای بررسی زنده ماننی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کوآگولانس ۱۰ گرم نمونه لوکوم به ۹۰ میلی لیتر محلول استریل رینگر اضافه و به مدت ۲ دقیقه با سرعت ۲۰۰rpm توسط استومکر هموژن گردید تا رقت ۰/۱ به دست آید. در ادامه رقت‌های سریال در محلول سرم فیزیولوژی تهیه گردید. از رقت‌های تهیه شده در داخل پلیت کشت داده شد. برای شمارش کلی باکتری‌های لاکتوباسیلوس کوآگولانس از محیط کشت MRS آگار، به پلیت‌ها اضافه شد. پلیت‌ها در شرایط هوای در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرم‌خانه گذاری شد. کشت‌ها در دو هفته (در روزهای صفر، ۷ و ۱۴) تکرار گردید و شمارش کلنی‌ها با دستگاه کلنی کانتر انجام شد و ثبت گردید [۱۹].

**۲-۴-ارزیابی حسی**

با استفاده از روش هدونیک و با در نظر گرفتن شاخص‌هایی همچون رنگ، طعم و مزه، سفتی، چسبندگی و پذیرش کلی انجام شد. آزمون در مقیاس امتیازدهی (۱ تا ۵ که عدد بزرگتر نشان دهنده مطلوب بودن محصول است) برای هر شاخص توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده صورت گرفت و برای هر ۱۰ ارزیاب میانگین گیری شد و با نرم افزار آنالیز شد [۱۷].

**۲-۵-تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها**

با استفاده از نرم افزار Expert Design ورژن ۷ روش سطح پاسخ RSM (Response Surface Methodology) انتخاب و طرح ترکیب مرکزی با سطح احتمال ۵ درصد با میزان آلفای برابر ۱ با ۴ نقطه مرکزی برای آن برگزیده شد و سپس با توجه به درصدهای به دست آمده از آزمون‌های تولید اولیه، حد بالا و پایین متغیرها محاسبه گردید. کلیه

با توجه به جدول آنالیز واریانس داده های مربوط به نمونه های لوکوم (جدول ۳)، می توان دریافت که فزودن نشاسته و جایگزینی شیره انگور با شکر، بر تغییرات pH در سطح مورد بررسی معنا دار شد ( $p < 0.05$ ). با توجه به ضریب تبیین محاسبه شده برای برازش مدل مورد بررسی ( $R^2$ ) می توان دریافت که مدل پیشنهادی بسیار قوی و موثر بر تغییرات pH بسیار قوی بوده است ( $p < 0.05$ ). تغییر در میزان انگور و شکر تاثیر بسیار بالایی بر تغییرات pH داشت اما نشاسته تاثیر کمتری داشت. احتمالاً دلیل موثر بودن شیره انگور بر کاهش معنی دار pH لوکوم به ترکیبات اسیدی موجود در شیره بویژه اسید تارتاریک و اسید مالیک (اسیدهای آلی) بستگی دارد؛ چرا که ترکیبات آلی فوق باعث کاهش pH شیره انگور افزوده شده به نمونه های لوکوم گردیده است.

بررسی های آماری و معنی دار بودن یا نبودن داده ها در سطح ۵ درصد انجام شد. اطلاعات ارائه شده در این بخش کمک می کند تا تاثیر میزان ماده اولیه را بر ویژگی های لوکوم های تولید شده مورد بررسی و تحلیل قرار داده تا بهترین روش و شرایط برای تولید لوکوم به دست آید.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱-آزمونهای شیمیایی

۳-۱-۱- بررسی لوکوم حاوی نشاسته و جایگزینی شکر با شیره انگور و تاثیر آن بر pH

**Table 3** Analysis of variance of independent variables (starch, sugar and grape juice) on pH changes

	p-value	F-value	Mean squares	df	Sum of squares	Source
significant	< 0.0001	128.4	0.424	9	2.2	Model
	< 0.0001	482.77	0.92	2	1.85	Liner Mixture
	0.12	3.15	0.006	1	0.006	AB
	0.13	2.97	0.005	1	0.005	AB
	0.001	33.10	0.063	1	0.06	BC
	0.13	3.05	10.005	1	0.005	ABC
	0.11	3.41	6.00	1	0.006	AB(A-B)
	0.145	2.79	0.005	1	0.005	AC(A-C)
	0.006	16.31	0.031	1	0.013	BC(B-C)
			0.0019	6	0.0114	Residual
	Not significant	0.388	0.892	0.0017	1	0.0017
			0.0019	5	0.0097	Pure error
				15	2.21	Cor total

$R^2 = 0.99$  and  $R^2$  (Adjusted) = 0.98

۳-۱-۲- بررسی لوکوم حاوی نشاسته و جایگزینی شکر

با شیره انگور و تاثیر آن بر aw

با توجه به اینکه طراحی آزمایشات از مدل D-Optimal Mixture بود در نتیجه میزان آب ورودی در همه آزمایشات ثابت و برابر با ۵۰ گرم بود. نتیجه تست aw نمونه های لوکوم نشان داد که این میزان در همه آزمایشات ثابت و حدود ۰/۹ می باشد.

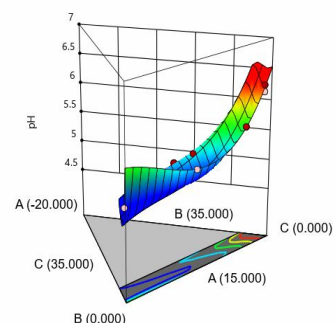
۳-۲- سختی بافت

با توجه به آنالیز آماری سطوح مختلف شیره انگور، شکر و نشاسته می توان بیان داشت که با افزایش میزان شیره انگور از ۵

Design-Expert® Software  
Component Coding: Actual  
Highs/Lows inverted by U,Pseudo coding

pH  
● Design points above predicted value  
○ Design points below predicted value  
5.12 6.28

X1 = A: Starch  
X2 = B: Sugar  
X3 = C: syrup



**Fig 1** Investigation of the effects of corn starch, sugar and grape juice on pH changes

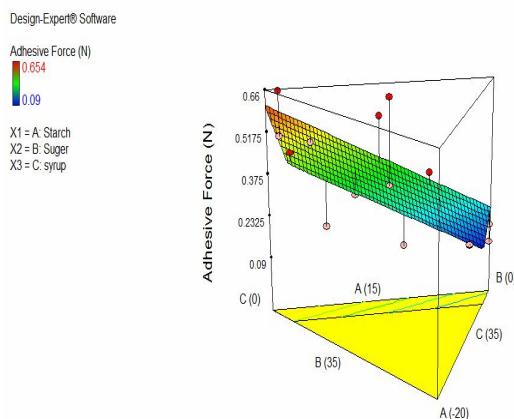
افزایش ناگهانی مقادیر سفتی بافت در درصدهای بالای شکر و شیره انگور نشان دهنده ایجاد برهمکنش بین عامل‌های مورد بررسی است [۱۱].

### ۳-۴- نیروی چسبندگی

در بررسی چسبندگی بافت نمونه‌های لوکوم می‌توان بیان داشت با افزایش شکر و شیره انگور از میزان چسبندگی کاسته شد اما با افزایش میزان نشاسته ذرت میزان نیرو چسبندگی افزایش یافت که احتمالاً به دلیل نیروهای قوی که بین گروه‌های عاملی موجود در نشاسته با سایر گروه‌های موجود برقرار شده است باشد. این افزایش می‌تواند به دلیل فرایند ژلاتیناسیون نشاسته طی فرایند حرارتی و جذب آب توسط ژلاتین باشد. بنابراین با افزایش مقدار این هیدروکلوئیدها در محصول، بافت محصول سفت‌تر می‌گردد. به علاوه، برهمکنش بین پروتئین‌های شیر و هیدروکلوئیدها هم می‌تواند بر چنین روندی تأثیرگذار باشد. که با نتایج الگاروانی و همکاران (۲۰۰۵)، هم-خوانی داشت [۱۹ و ۲۰].

با توجه به جدول آنالیز واریانس داده‌ها، مدل برداش یافته با مقدار  $p$  محاسبه شده برای متغیرهای مستقل نشاسته (A)، شکر (B) و شیره انگور (C)  $0.018$  محاسبه شد که نشان دهنده تناسب بین مدل انتخاب شده و داده‌های مورد بررسی بوده است ( $p < 0.05$ ) (معادله ۲).

$$\text{Adhesive Force} = 1.37 (A) + 0.278 (B) - 0.291 (C)$$



**Fig 3** Investigation of the effects of corn starch, sugar and grape juice on tissue adhesion

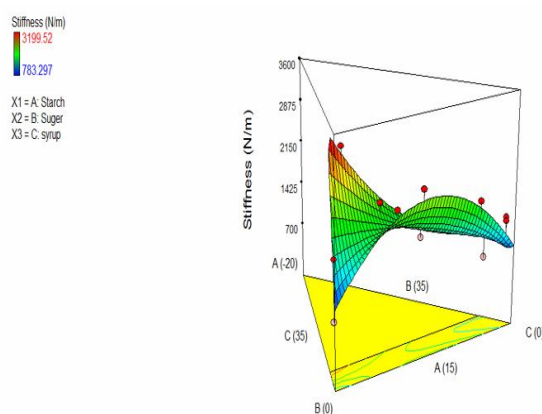
گرم تا ۳۵ گرم روند معناداری بر تغییرات بافت لوکوم مشاهده نگردید ( $p \geq 0.05$ ) به طوری که با تغییر در میزان شیره انگور و شکر تغییراتی در روند سفتی بافت دیده شده که در سطح مورد بررسی معنا دار نشد ( $p \geq 0.05$ ). نتایج این مطالعه با گزارشات محصولی و لشکری (۱۳۹۹) هم‌خوانی داشت [۱۲].

### ۳-۳- سفتی بافت

در بررسی سفتی بافت الگوهای مشابهی مشاهده گردید و نرم افزار معادله خطی را برای این خصوصیت پیشنهاد کرد. همانطور که در معادله نشان داده شده است، درصد نشاسته، شیره انگور و شکر بر شاخص سفتی بافت لوکوم معنی دار بود ( $p < 0.05$ )، به عبارتی ارتباط معنی داری بین میزان سفتی و افزایش میزان شربت وجود دارد. به طوری که با کاهش میزان شربت، سفتی بافت لوکوم کاهش یافت. که نشان دهنده تناسب بین مدل انتخاب شده و داده‌های مورد بررسی بوده است (معادله ۱).

$$\text{Stiffness} = 93294.82 (A) + 13373.49 (B) + 22977.74 (C) - 1.72(AB) - 2.05(AC) - 42201.002(BC) + 1.741 (ABC)$$

نتایج نشان داد در کلیه سطوح شکر با افزایش میزان نشاسته ذرت و شیره انگور سفتی بافت نمونه‌های لوکوم افزایش یافت و همان طور که در بالا به آن اشاره شد با افزایش میزان شیره انگور، در سطوح مختلف شکر و نشاسته ذرت، سفتی بافت نمونه‌های لوکوم افزایش معناداری در سطح مورد بررسی داشت ( $p < 0.05$ ).



**Fig 2** Investigation of different levels of grape juice, sugar and corn starch on tissue firmness

### ۳-۵- بررسی زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک در لوکوم حاوی نشاسته و جایگزینی شکر با شیره انگور

یکی از مهمترین چالش‌های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبیوتیک پایین بودن قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار درون محصول غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارشی است. در سال اخیر توجه به گونه‌های باسیلوس به عنوان پروبیوتیک به علت سازگاری در شرایط نامساعد افزایش یافته است [۲۱].

تعداد پروبیوتیک مصرفی در طی دوره ۱۴ روزه مورد بررسی قرار گرفت. بررسی داده‌ها نشان داد مدت زمان نگهداری نمونه بهینه

بر زنده‌مانی باسیلوس کوآگولانس لوکوم پروبیوتیک اثر معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). کاهش میزان زنده‌مانی باکتری باسیلوس کوآگولانس را می‌توان به ترکیبات موجود در لوکوم نسبت داد. همان‌طور که می‌دانیم باکتری‌های پروبیوتیک، برای بقا و زنده‌مانی خود به منابع کربنی جهت تولید انرژی نیاز دارند که این نیاز را از مواد اطراف خود در یافت می‌کنند و از سوی دیگر یکی از عوامل مهم که بر بقای سویه‌های باکتری پروبیوتیک در مواد غذایی تاثیر می‌گذارد، pH است، به طوری که بقاء در pH های پایین، محدود است [۲۲]. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً دلیل کاهش باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه های لوکوم در طی ۱۴ روز نگهداری به کمبود مواد مغذی موجود در فرمولاسیون لوکوم و pH پایین نمونه که مربوط به استفاده از شیره انگور می‌باشد مربوط می‌شود.

**Table 3** Evaluation of survival count of *Lactobacillus coagulans* in the optimal Lukom sample

Time (day)	1	7	14
survival count	$8.05 \times 10^7 \pm 0.98^a$	$1.05 \times 10^7 \pm 0.21^a$	$9 \times 10^5 \pm 0.28^b$

±Standard deviation (a-c): Different uppercase letters with statistical differences in the studied level ( $p < 0.05$ ) related to the studied times

پذیرش محصول توسط مصرف کننده نقش بسزایی ایفا می‌کند. در واقع رنگ در مواد غذایی از رنگ‌های طبیعی موجود در ماده خام و یا ترکیبات رنگی تولید شده در حین فرایند حاصل می‌شود [۲۴].

نتایج نشان داد که با تغییرات درصد نشاسته، شکر و شیره انگور تغییرات محسوس در فاکتور  $L^*$  رخ داد؛ به طوری که با افزایش درصد شیره انگور از شدت روشنایی کاسته شد که می‌توان دلیل آن را به ترکیبات و خواص شیره انگور نسبت داد و از سوی دیگر حضور گروه های عاملی موجود در نشاسته و شکر می‌تواند در واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی شرکت کند و منجر به تغییر رنگ و به عبارتی کاهش میزان روشنایی، و افزایش قرمزی و زردی ( $a^*$  و  $b^*$ ) در نمونه‌ها گردند. این نتایج با نتایج عامری نسب و همکاران (۲۰۱۵) تطابق داشت به طوری که گزارش نمودند با افزایش غلظت قند خرما، پارامترهای رنگی ( $a^*$  و  $b^*$ ) ماست‌های تولیدی افزایش یافتند. در مطالعه دیگری، جرییدی و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که

مرحمتی‌زاده و همکاران (۲۰۱۲)، در مطالعه خود در مورد تاثیر میزان کنسانتره بر رشد و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*B. bifidum*) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (*L. acidophilus*) در تولید نوشیدنی‌های غذایی پروبیوتیک، به نتایج مشابه دست یافتند. آنها گزارش کردند اثر ضدباکتری و مهارکننده pH پایین برای بیفیدوباکتریوم بیفیدوم قوی‌تر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس است [۲۲].

در تحقیقی که جبالینتا و همکاران (۲۰۱۲) انجام دادند نتایج مشابه بود و مقاومت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط معده بیشتر از سایر گونه‌ها از جمله بیفیدوباکتریوم بیفیدوم گزارش شد [۲۳].

### ۳-۶- بررسی لوکوم حاوی نشاسته و جایگزینی شکر با شیره انگور و تاثیر آن بر رنگ

رنگ، یکی از ویژگی‌های ظاهری مواد غذایی است که درک کیفی مصرف کننده از محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد و در



افزودن شیره خرما به دسر لبنی منجر به افزایش پارامترهای رنگی محصول می‌گردد [۱۹].

در بررسی فاکتورهای  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  مربوط به لوکوم تحت شرایط طراحی شده توسط طرح RSM، نرم افزار معادلات ۴، ۵ و ۶ را پیشنهاد داد. مطابق معادله ۴، اثرات ساده مورد بررسی بر شاخص روشنایی لوکوم تولیدی معنی‌دار بود. در بررسی فاکتورهای  $a^*$  و  $b^*$  نرم افزار معادله ۵ و ۶ را پیشنهاد داد که در نمونه‌های مورد بررسی روند افزایشی را بدنبال داشت. با توجه به معادلات فوق و آنالیز واریانس حاصل از برازش داده ها می‌توان بیان کرد که مقدار  $p$  محاسبه شده برای میزان روشنایی، زردی و قرمزی متغیرهای مستقل نشاسته (A)، شکر (B) و شیره انگور (C)  $0.001$  محاسبه شد که نشان دهنده تناسب بین مدل انتخاب شده و داده های مورد بررسی بوده است ( $p < 0.05$ ). همچنین مقادیر ضریب تبیین ( $R^2$ ) برای میزان روشنایی، زردی و قرمزی نمونه‌های لوکوم به ترتیب  $0.78$ ،  $0.18$  و  $0.63$  و ضریب تبیین اصلاح شده ( $R^2_{adj}$ ) حاصله به ترتیب  $0.78$ ،  $0.15$  و  $0.63$  تعیین گردید که نشان دهنده مدل مناسب در برازش داده‌ها می‌باشد. قابل ذکر است که پایین بودن ضرایب مربوط به قرمزی نمونه‌ها به دلیل بازه‌ی تعیین رنگ در حیطه سبز تا قرمز که در محدوده  $+120$  تا  $-120$  متغیر است (کمسیون بین المللی روشنایی CIE).

معادله (۴)

$$L^* = 75.38(A) + 16.47(B) - 19.35(C)$$

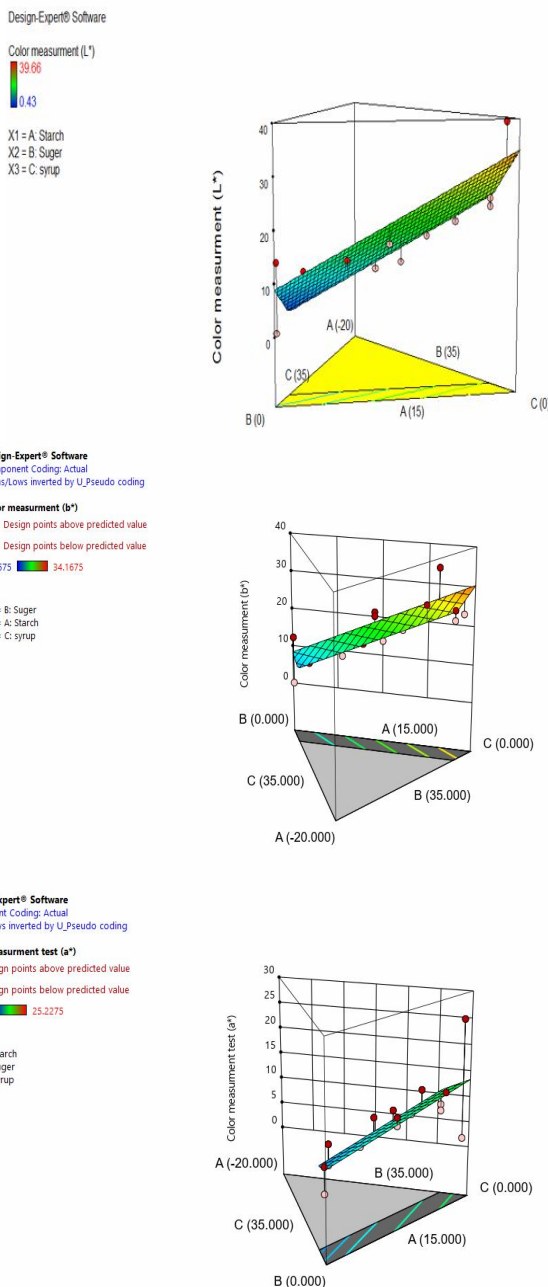
معادله (۵)

$$a^* = 24.62(A) + 8.42(B) - 0.16(C)$$

معادله (۶)

$$b^* = 24.77(A) + 25.1(B) - 6.14(C)$$

نتایج این مطالعه با گزارشات محصولی و لشکری (۱۳۹۹)، همخوانی داشت. آنها بیان داشتند که با افزایش درصد شیره انگور در دسر لبنی از میزان روشنایی نمونه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین روشنایی مربوط به نمونه شاهد یا نمونه فاقد شیره انگور بود و فاکتورهای  $a^*$  و  $b^*$  با افزایش میزان شیره انگور در نمونه‌های دسر افزایش معنی‌داری را نشان داده است ( $p < 0.05$ ); که با نتایج این مطالعه همخوانی داشت [۱۹].



**Fig 4** Investigation of the effects of corn starch, sugar and grape juice on a) brightness ( $L^*$ ), b) yellowness ( $b^*$ ) and c) redness ( $a^*$ ) of Lucom samples

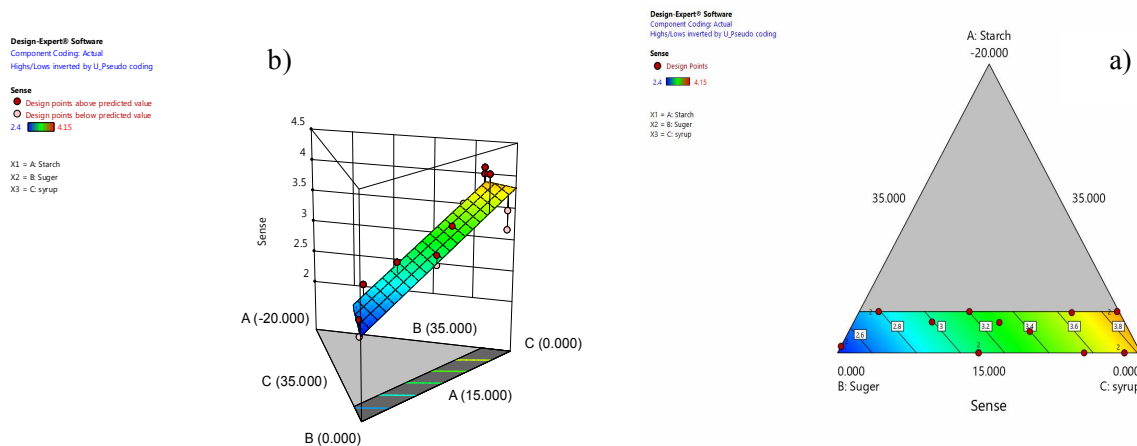
همچنین این نتایج با گزارشات گلی و محرابی (۱۳۹۷)، که بیان داشتند افزایش  $a^*$  و  $b^*$  به ترتیب مربوط به افزایش پارامترهای قرمزی و زردی نمونه‌ها است مربوط به سطوح بالای عسل خرما و نشاسته می‌باشد [۲۵].



## ۳-۷- ارزیابی حسی

با توجه به شکل (۵)، مشخص می‌شود که نشاسته ذرت و جایگزینی شکر با شیره انگور در نمونه لوکوم تاثیر معنی‌داری بر ویژگی حسی داشت ( $p < 0.05$ )، به طوری که میزان پذیرش هر سه متغیر بر روی فاکتورهای حسی در میزان ۳/۸ قرار داشت. به عبارتی سطح کانتور پلات در نمودار فوق در میزان ۳/۸ قرار داشت. به منظور تهیه مدلی که اثر متغیرهای مورد بررسی را بر روی فاکتور هدف توصیف کند، از معادله ۱ (معادله خطی) استفاده شد. در بررسی متغیرها بر فاکتور حسی نرم افزار مدل خطی را پیشنهاد کرد که نتایج آن به صورت معادله ۱ آمده است که نشان می‌دهد اثر درصد شیره انگور و شکر معنی‌دار بود. در شکل کانتور دو بعدی (شکل ۱ الف) تأثیر متقابل درصد نشاسته ذرت، شیره انگور و شکر بر فاکتور حسی رسم شده است این نمودار نشان می‌دهد با افزایش ذرت، شیره انگور و شکر ویژگی‌های حسی افزایش یافته است.

در شکل سطح پاسخ سه بعدی (شکل ۱ا) نیز مشاهده می‌شود که با افزایش متغیرهای فوق، ویژگی حسی افزایش می‌یابد. با توجه به متغیرهای فوق بر فاکتور حسی می‌توان دریافت که با افزایش شکر پذیرش ارزیاب‌ها از لحاظ کلیه فاکتورهای حسی بهتر بود و بیشتر مورد پسند و پذیرش قرار گرفت (به عبارتی نمونه شاهد بنظر ارزیاب‌ها نمونه مناسب بود). اما در نمونه‌های حاوی شیره انگور، نمونه ۱۳ یا نمونه حاوی ۵/۱۲۴ درصد شیره انگور و به همراه ۳۴/۷۸ درصد شکر در سطح ۱۰ درصد نشاسته ذرت بالاترین سطح را داشت و سپس نمونه‌های حاوی ۶/۵۲ درصد شیره انگور و به همراه ۲۸/۴۷ درصد شکر در سطح ۱۵ درصد نشاسته ذرت (نمونه ۸) و در نهایت نمونه حاوی ۵/۲۱۴ درصد شیره انگور و به همراه ۳۴/۷۸ درصد شکر در سطح ۱۰ درصد نشاسته ذرت (نمونه ۱۶) قرار داشت.



**Fig 5** Investigation of different levels of grape juice, sugar and corn starch on sensory properties a) 3D contour plot and b) 3D diagram

## ۴- نتیجه گیری کلی

نتایج پژوهش نشان داد که روش آماری سطح پاسخ روش خوب و قابل اطمینان برای انتخاب سطوح بهینه شرایط تولید لوکوم بر پایه شیره انگور است. کلیه فاکتورهای مورد بررسی شامل فعالیت آبی، pH، سفتی، سختی و نیروی انسجام بافت، فاکتورهای رنگ (میزان روشنایی، قرمزی و زردی)، ویژگی‌های حسی تحت تأثیر اثرات ساده و متقابل درصد نشاسته، شکر و

شیره انگور قرار گرفت. در بررسی بافت نمونه‌های لوکوم می‌توان بیان داشت ارتباط معنی‌داری بین میزان سفتی و افزایش میزان شربت می‌باشد. با کاهش میزان شربت، سفتی کاهش یافت و با افزایش میزان شربت از روشنایی کاسته و بر میزان قرمزی و زردی نمونه افزوده شد. نتایج میکروبی در نمونه بهینه نشان داد که ویژگی‌های میکروبی با گذر زمان کاهش یافت که این کاهش در حد مجاز بود.

## ۵- منابع

- (lokum), *Journal of Tourism and Gastronomy Studies* 4(1):42-52
- [10] Kaya, S., Ozkaleli, G. 2017. Thermal and textural changes of Turkish delight with storage relative humidity, *Journal of Food Science and Engineering*, 7, 186-191
- [11] Kazem Alilou, N., Amiri, S., Rezazadeh Bari, M., Dodange, S. 2021. Investigation of chemical and microbial properties of flavored probiotic milk using *Bacillus coagulans* and grape syrup, *Iranian Journal of Food Science and Technology, JFST*. 112 (18): 11-19
- [12] Mahsouli, L., Lashkari, H. 2019. The feasibility of producing dessert containing grape juice concentrate, and evaluation of its physicochemical, microbial and sensory properties, *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 16 (2): 301- 31
- [13] Kavak, D., Boztas, E. 2018. Quality characteristics of Turkish delight (lokum) as influenced by different concentrations of cornelian cherry pulp, *J Food Process Preserv*, e13656.
- [14] Batu, A., 2006, *Türk Lokumu Üretim Tekniği Ve Kalitesi*, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 2006 (1) 35-46.
- [15] Gonul, M., 1985, *Türk Lokumu Yapım Tekniği Uzerine Arastirmalar*, Baskı, Ege Muhendislik Fakultesi, Ders Kitapları Yayın, 8, Bornova, İzmir.
- [16] Iran Biscuit Institute for Standards and Industrial Research. 2018. Characteristics and test methods. National Standard of Iran. 37
- [17] Manickavasagan, A., Mathew, T. A., Al-Attabi, Z. H., Al-Zakwani, I. M. 2013. Dates as a substitute for added sugar in traditional foods- A case study with idli, *EJFA*, 25: 899-906.
- [18] Hassanzadazar, H., Ehsani, A., Mardani, K. 2014. Antibacterial activity of *Enterococcus faecium* derived from Koopeh cheese against *Listeria monocytogenes* in probiotic ultra-filtrated cheese, *Veterinary Research Forum*. 5 (3) 169 - 175
- [19] Jridi, M., Souissi, N., Ben Salem, M., Ayadi, M.A., Nasri, M., Azabou, S. 2015. Tunisian date (*Phoenix dactylifera* L.) byproduct: Characterization and potential effects on sensory, textural and antioxidant
- [1] Rolfe, R. D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *The Journal of nutrition*, 130(2), 396S-402S.
- [2] Scherezenmeir, J., De Verse, M. 2001. Probiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am J Clin Nutr*, 73(2): 361S-364S.
- [3] Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. 2019. Exopolysaccharides production by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12: optimization of fermentation variables and characterization of structure and bioactivities. *International journal of biological macromolecules*, 123, 752-765.
- [4] Maleki, O., Khaledabad, M. A., Amiri, S., ASL, A. K., & Makouie, S. 2020. Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 in whey protein isolate-crystalline nanocellulose-inulin composite enhanced gastrointestinal survivability, *LWT*, 109224.
- [5] Amiri, S., Rezayi Mokarram, R., Sowti Khiabani, M., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh, M. 2019. Production of bacteriocin in batch fermentation of dairy effluents by *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12. *FSCT* 2019, 16(90): 163-175
- [6] Ranadheera, C. S., Vidanarachchi, J. K., Rocha, R. S., Cruz, A. G., & Ajlouni, S. 2017. Probiotic delivery through fermentation: dairy vs. non-dairy beverages, *Fermentation*, 3(4), 67.
- [7] Öztürk, B. A., & Öner, M. D. 1999. Production and evaluation of yogurt with concentrated grape juice. *Journal of Food Science*, 64(3), 530-532
- [8] Hatami Kia, M., Mohammadi Thani, A., Zomordi, S.H. 2013. The effect of different clarifying materials on physicochemical and microbial properties of grape juice, *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 1(5), p 35-45.
- [9] Batu, A., Arslan, A., Eroglu, A. 2016. Effects of black grape syrup on texture, color and sensory qualities of value added Turkish delight

- [23] Jayalalitha, V., Balasundaram, B., & Palanidorai, R. 2012. In vitro assessment of microencapsulated probiotic beads. *International Journal of Agriculture: Research and Review* 2(1), 1-6.
- [24] Koc, Banu. 2010. Spray drying of yogurt: Optimization of process conditions for improving viability and other quality attributes. *Drying Technol*, 28: 495-507.
- [25] Mehrabi, Z., Goli, M. 2018. of Dairy Dessert Based on Formulation of Date Syrup, Corn Starch and Gelatin Using Response Surface Methodology (RSM), *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 125, 13 (3) :115-125.
- properties of dairy desserts. *Food Chem*, 188: 8-15.
- [20] El-Nagga, E.A., El-Tawab, Y.A.A. 2012. Compositional characteristics of date syrup extracted by different methods in some fermented dairy products. *Annals of Agricultural Science*, 57(1): 29–36.
- [21] Mattila-Sandholm, T., & Salminen, S. 1998. Up-to-date on probiotics in Europe. *Gastroenterology International*, 11(suppl 1), 8-16.
- [22] Hosseini Marhamatizadeh, M., Ehsandoost, E., Gholami, P., Moshiri, H., & Nazemi, M. 2012. Effect of permeate on growth and survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* for production of probiotic nutritive beverages. *World Applied Sciences Journal*, 18(10), 1389-1393.



## Optimization of probiotic Lukom formulation based on grape juice

Amini, E. <sup>1</sup>, Karazhyan, R. <sup>2\*</sup>, Gord Noshahri, N. <sup>2</sup>

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, ACECR Kashmar Higher Education Institute, Kashmar, Iran.

2. Assistant Professor, Department of industrial microbial biotechnology, Iranian Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Mashhad, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><b>Article History:</b></p> <p>Received 2021/ 10/ 19 Accepted 2022/ 02/ 27</p> <hr/> <p><b>Keywords:</b></p> <p>Lukom, Probiotics, Grape juice, Formulation optimization.</p> <hr/> <p><b>DOI:</b> 10.52547/fsct.19.124.67 <b>DOR:</b> 20.1001.1.20088787.1401.19.124.13.0</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: reza_karazhyan2002@yahoo.com</p>	<p>Lukom is a sort of food that is mainly composed of sugar and starch and, it creates variety in the consumer basket as a snack. Sugar is used as a sweetener in the production of lukom. Grape juice contains high amounts of natural sugars, minerals, vitamins, organic acids and antioxidants, so grape juice can be used as a sweetener as a sugar alternative. In this study, different levels for starch, sugar and grape juice were determined using Design Expert software. For this purpose, 16 treatments were selected using the software for independent variables, including 10-15% starch, 7-35% sugar and 1.5 - 35% was grape juice. The tests included pH, water activity, stiffness, hardness and adhesion force of the tissue and sensory evaluation. After selecting the optimal sample, the survival rate of probiotic <i>Bacillus coagulans</i> in a fourteen-day period was assessed. The results showed that a linear model was used for all the studied factors so that the amount of grape juice and sugar was significant for pH. Grape juice and starch also had a greater effect on water activity. Also, changes in the percentage of starch, sugar and grape juice caused significant changes in L* factor. The adhesion force and texture stiffness for the independent variables showed the fit between the selected model and the increase in grape juice, stiffness and adhesion of the texture of Lukom samples had a significant increase in the study area. The number of probiotics consumed during the 14-day period was significantly reduced. In the sensory evaluation of the samples, a significant difference was observed between the produced samples and the overall score was calculated to be about 4.1.</p>