مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی شیر کاکائو سین بیوتیک حاوی" اینولین، استویا و لاکتوباسیلوس پلانتاروم"

حانیه مؤیدی [۱]، سید ابراهیم حسینی [۲*] ، غلامحسن اسدی [۳]

۱- دانشجو کارشناسی ارشد مهندسی صنایع غذایی دانشگاه ازاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

۲- استاد گروه علوم صنایع غذایی،دانشگاه ازاد اسلامی ،واحد علوم وتحقیقات تهران، ایران

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ازاد اسلامی ،واحد علوم وتحقیقات تهران،ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱

کلمات کلیدی:

پروبیوتیک،

شیرکاکائو،

اینولین،

استویا،

لاکتوباسیلوس پلانتاروم

DOI: 10.22034/FSCT.20.141. 224

DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.141.14.2

* مسئول مکاتبات:

ebhoseini@gmail.com

چکیده

بیشترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باکتری‌های اسید لاکتیک هستند مانند *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوکوس لاکتیس*. اینولین ترکیبی قندی و غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک است و دارای خواص پری بیوتیکی است و به‌عنوان منبع کربن یا انرژی، به طور انتخابی سبب رشد و یا فعالیت پروبیوتیک‌ها می‌شود. شیر کاکائو جزو شیرهای طعم دار می باشد و در فرمولاسیون آن از مقادیر بالایی شکر استفاده می‌شود. در تحقیق حاضر از استویا به عنوان جایگزین شکر معمولی و از اینولین به عنوان پری بیوتیک در تولید شیرکاکائو سین بیوتیک به کمک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* استفاده شد و تعداد ۶ نمونه تهیه و کدگذاری گردید؛ نمونه‌ها شامل T1(۸% استویا)؛ T2: (4% استویا)؛ T3 : (8% اینولین+ 8% شکر)؛ T4: (4% اینولین +8% شکر)؛ T5: (4% استویا+4% اینولین)؛ T6: (8% شکر، نمونه شاهد) به ازا مقدار شیر مصرفی(۳ لیتر شیر) بود. طبق نتایج به دست آمده از تحقیق، نمونه های حاوی اینولین به ویژه نمونه T5 و T4 دارای پروبیوتیکهای زنده بیشتری پس از ۳ و ۷ روز نگهداری بودند. علاوه بر آن میزان pH و اسیدیته این نمونه ها نیز نسبت به سایر نمونه ها به ترتیب کمتر و بیشتر بود. بیشترین بریکس مربوط به نمونه T6(شاهد) بود و میزان ویسکوزیته نمونه T6 در روز اول نگهداری و نمونه T3 پس از ۷ روز نگهداری بیشتر از سایر نمونه ها بود. کمترین میزان رسوب گذاری نیز مربوط به نمونه های T3، T5 , T4 در روز اول و پس از مدت زمان نگهداری مورد بررسی بود. ارزیابی های حسی(عطرو طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی) نشان داد که نمونه ها از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار نبودند ولی نمونه T1 نسبت به سایر نمونه ها امتیاز کمتر و نمونه شاهد بیشترین امتیاز را داشت.

۱- مقدمه

غذاهایی که سبب بهبود و ارتقاء سطح سلامتی جامعه شده و مواد مغذی ضروری بدن را تامین می‌کند، غذاهای فراسودمند نامیده می‌شوند. در حال حاضر تمایل بسیار زیادی به مصرف مواد غذایی فراسودمند به وجود آمده است. در این میان موادغذایی و نوشیدنی‌های حاوی پروبیوتیک ها و ترکیبات پری‌بیوتیک از این نمونه‌ها هستند [۱] پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که در مقادیر کافی موجب ایجاد تعادل در فلور میکروبی میزبان می‌شوند، مطرح می‌باشند. اگرچه هنوز توافق کلی روی حداقل تعداد باکتریهای پروبیوتیک زنده در محصول نهایی وجود ندارد، ولی به طور کلی محدوده‌ی $۱۰^{۶}$-$۱۰^{۷}$ عدد پروبیوتیک در هر گرم را برای بروز اثرات سلامتی بخش ضروری دانسته‌اند [۲]

بیشترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باکتری‌های اسید لاکتیک هستند مانند لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و استرپتوکوکوس لاکتیس. تحقیقات نشان داده است که افزودن پروبیوتیک‌ها به غذا می‌تواند عملکردهای مفید زیادی برای سلامت مصرف کننده مانند کاهش کلسترول خون، بهبود عملکرد سیستم گوارشی، تقویت سیستم ایمنی و کاهش ابتلا به سرطان را داشته باشد [۳] باکتری‌های اسید لاکتیک اغلب بطور تجاری در تولید محصولات لبنی پروبیوتیک مورد استفاده واقع می‌شوند. پروبیوتیک‌ها معمولا به ماست و سایر محصولات تخمیری شیر افزوده می‌شوند. در سال‌های اخیر نیاز به مصرف محصولات پروبیوتیک لبنی رو به افزایش است و تولید محصولات پروبیوتیک در غالب نوشیدنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. این نوشیدنی‌ها سرشار از ترکیبات غذایی کاربردی شامل مواد معدنی، ویتامین ها، فیبر و آنتی اکسیدان می‌باشند [۴] در این مطالعه هدف بر آن است که نوشیدنی (شیرکاکائو) پروبیوتیکی تولیدی را با استویا و اینولین به عنوان یک ترکیب فراسودمند غنی نموده و تاثیر آن را بر خواص فیزیکو شیمیایی و حسی نوشیدنی مورد بررسی قرار دهیم.

اینولین ترکیبی قندی (از نوع الیگوساکارید) و غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک است که در بیش از ۳۰۰۰۰ گیاه مختلف یافت می‌شود [۵] اینولین ترکیبی محلول در آب بوده و حلالیت آن وابسته به دما است چنانکه حلالیت آن در دمای ۱۰ درجهٔ سلسیوس ۶ درصد، و در دمای ۹۰ درجهٔ سلسیوس ۳۵ درصد است [۶] اینولین پس از رسیدن به محیط روده به‌عنوان منبع کربن یا انرژی، به طور انتخابی سبب رشد و یا فعالیت پروبیوتیک‌ها (باکتری‌های مفید روده‌ای حاوی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم) می‌شود.[۵] پری‌بیوتیک‌ها، به‌عنوان افزودنی خوراکی با ارزش تغذیه‌ای بالا و همچنین به‌عنوان یک عامل افزایش فعالیت باکتری های مفید روده‌ای (بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس) محسوب می‌شوند [۷] کاهش سطح کلسترول خون، پیشگیری از یبوست و اسهال عفونی، و ... از موارد ذکر شده در مورد خواص سلامت‌بخش پری‌بیوتیک‌ها می‌باشد [۸]

گیاه استویا، نخستین بار در شمال پاراگوئه شناخته شد. این گیاه بومی نواحی شمال آمریکای جنوبی است و به طور وحشی در سرزمین‌های بلند مناطق مرزی بین برزیل و پاراگوئه (آمامبی) میروید و در آن مناطق به گیاه برگ عسلی معروف است. نتایج بررسی‌ها بیانگر آن است که گلیکوزیدهای دی ترپنی، ترکیباتی می‌باشند که بـه عنوان عامل اصلی ایجاد طعم بسیار شیرین در عصاره‌های گیـاه اسـتویا شـناخته شـده‌انـد، بـه طوریکـه میـزان شیرینی آن‌ها تا ۳۰۰ برابر شکر تخمین زده شده است. استویوزید، به عنـــوان یـک ترکیـب غالـب در عصـاره برگ‌های استویا ربادیانا شناسایی شده و ریبویوزید A عمده‌ترین ترکیب مطلـوب می‌باشـــد کـه موجـب قـــدرت شیرین کنندگی و

خصوصیات مزه ممتاز می‌گردد. استویا به دلیل دارا بودن فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، گزانتوفیل‌ها و هیدروکسی سینامیک اسیدها خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را نشان می‌دهند [۹]

۲-مواد ها و روش ها

۲-۱-مواد اولیه

شیر گاو با چربی ۱.۲درصد مورد استفاده در این پژوهش از کارخانه پگاه تهران تهیه شد.باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم از نوع DVS به صورت خشک شده انجمادی ازشرکت کریستین هانسن و اینولین از شرکت فودکم و استویا از شرکت استویا ایران خریداری شد و محیط کشت های مورد استفاده برای ازمون میکروبی نیز از شرکت المانی Merk تهیه شد.مواد اولیه و میکروارگانیسم و محیط کشت های مورد استفاده در فرمولاسیون شیر کاکائو فراسودمند در جدول ۱ امده است

Table 1. Microorganism, culture medium and raw materials needed in the research

Company and country of manufacture	Raw material
Christian Hansen Denmark	lactobacillus plantarum
Merk. germany	MRS[1] broth
Merk. germany	MRS agar
Foodcom.china	Inulin
Stevira,iran	Stevia
Farmand,iran	Cocoa powder
Fooding,china	Caraginan
Melody, United Arab Emirates	Vanilla
Golha.iran	Salt

1 -Man rogosa sharp agar

۲-۲-آماده سازی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

باکتری لاکتوباسیلوس پلانتارم از شرکت کریستین هانسن دانمارک خریداری شد. بسته‌های حاوی باکتری با دقت در شرایط استریل باز و پس از فعال‌سازی، در کرایوتیوپ‌های مخصوص در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد. در هر مرحله، یک گرانول از باکتری در ۱۰۰ میلی لیتر محیط MRS براث، به صورت یکنواخت مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری گردید. سپس یک میلی‌لیتر از کشت حاصل دوباره به ۹ میلی‌لیتر محیط کشت تازه اضافه و در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. در ادامه سوسپانسیون باکتری توسط روش سانتریفیوژ در ۴۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید، رسوب حاصله از سانتریفیوژ جداسازی و در دو مرحله با محلول ۰/۱ درصد آب پپتونه شسته و رسوب باکتری در آب پپتونه ۰/۱ درصد حل گردید، سپس جذب نوری باکتری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین شد. همزمان با تعیین جذب نوری با دستگاه اسپکتروفتومتر، شمارش باکتریایی به روش شمارش صفحه‌ای سطحی انجام گردد [۱]

۲-۳-تهیه شیرکاکائو فراسودمند

در فرمولاسیون شیر کاکائوی فراسودمند از اینولین به عنوان پری بیوتیک و استویا به عنوان جایگزین شکر(۰، ۴ و ۸ درصد) استفاده شد. در شیر کاکائوی شاهد ۲۴۰ گرم شکر(در ازا ۳ لیتر شیر)، برای شیرین شدن شیر و طعم مطلوب استفاده گردید. در نتیجه، جایگزین‌های شکر معادل ۲۴۰ گرم شکر در نظر گرفته شد؛ که به نسبت‌های مختلف با توجه به میزان شیرین کنندگی به فرمولاسیون اضافه گردید. به تمامی تیمارها ۸ درصد پودر کاکائو، ۰/۰۲ درصد

کاراگینان، ۰/۰۰۱ درصد وانیل و ۰/۰۲۵ درصد نمک اضافه گردید. به منظور تهیه تیمارها، ابتدا شیر تهیه شده در حمام آب گرم تا دمای ۵۰-۶۰ درجه سلسیوس و مدت ۱۵ دقیقه گرم شد در ادامه صمغ کاراگینان به شیر گرم اضافه گردید. در ادامه مقدار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم (پروبیوتیک)* همراه پودر کاکائو در تمامی تیمارها یکسان درنظر گرفته شد و به نمونه‌های مورد نظر اضافه گردید. تیمارهای مورد مطالعه توسط هم زن، همگن و یکنواخت شد و سپس در حمام آب گرم با دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه تحت فرآیند پاستور قرار گرفت. در پایان شیر کاکائو تهیه شده در ظروف استریل بسته بندی و برای انجام آزمون‌های مورد نظر در یخچال نگهداری شد. مدت زمان نگهداری ۷ روز خواهد بود که در روز های ۱، ۳ و ۷ روز نمونه‌ها مورد آزمون قرار گرفت [۳] تعداد و نوع تیمارهای تولید شده و مورد بررسی در جدول ۲ آمده است.

Table 2. The number and type of treatments produced in the research

Sugar (%)	Inulin (%)	Stevia (%)	sample
0	0	%8	T1
0	0	%4	T2
%8	%8	0	T3
%8	%4	0	T4
0	%4	%4	T5
%8	0	0	(Control)T6

۴-۲-آزمون‌های شیر کاکائو سین بیوتیک

۱-۴-۲-بررسی میزان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها

برای شمارش سلول‌های زنده از روش پورپلیت استفاده شد. نمونه‌ها با محلول سرم استریل رقیق شده (10^{-8} – 10^{-1}) و در محیط کشت MRS Agar کشت داده و در انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس برای ۴۸ ساعت انکوبه گردید. کلنی‌های مشخص شده توسط کلنی کانتر شمارش و به شکل cfu/ml گزارش گردید.[۱۰]

۲-۴-۲-اندازه گیری pH

برای تعیین pH، بعد از کالیبره کردن دستگاه pH متر توسط بافر استاندارد ۴ و ۷، الکترود pH متر مستقیما در داخل نمونه‌ها قرار گرفت و pH آن قرائت شد[۱۱] .

تصویر pH متر در شکل۱ نشان داده شده است.

Fiqure1.pH metet

۳-۴-۲اندازه‌گیری اسیدیته

جهت اندازه گیری اسیدیته نمونه های شیرکاکائو، به ۵ گرم از نمونه، مقدار ۲۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه و سپس در مجاورت شناسگر فنل فتالئین، با محلول سود ۰/۱ نرمال، تا ایجاد رنگ صورتی کم رنگ پایدار (به مدت ۳۰ ثانیه)، تیتر شد. اسیدیته بر حسب درصد درجه درونیک بیان گردید [۱۲]

۴-۴-۲-تعیین بریکس

جهت تعیین بریکس نمونه ها، پس از تعیین نمودن رفراکتومتر با آب مقطر، چند قطره از نمونه با دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی منشور رفراکتومتر قرار گرفت. پس از حذف پراکندگی نوری و ایجاد دو بخش مساوی روشن و تاریک در صفحه نمایانگر، غلظت مواد جامد محلول در آب بر حسب بریکس قرائت شد. نتیجه بر حسب گرم در صد گرم نمونه بیان گردید.شکل ۲ تصویر رفرکتومتر را نشان می‌دهد.

Figure2. refractometer

۵-۴-۲-ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه های تولیدی با استفاده از ویسکومتر اندازه گیری شد. برای این منظور همه نمونه‌های شیرکاکائو، در دمای ۲۵ درجه سلسیوس تحت سرعت برشی ۵۰ l/s قرار گرفت و ویسکوزیته آن ها اندازه گیری شد. میزان ویسکوزیته به دست آمده بر اساس میلی پاسکال ثانیه (mPa.S) بیان شد[۱۳و۱۴و۱۵].شکل ۳ تصویر ویسکومتر را نشان می دهد.

Figure3.viscomete

۶-۴-۲-اندازه گیری رسوب

جهت اندازه گیری میزان رسوب، مقدار ۲۰ گرم از نمونه در لوله های سانتریفیوژ توزین و در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شد، و با سرعت ۵۶۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سلسیوس، سانتریفیوژ گردید، سپس قسمت محلول جدا و بخش ته نشین شده در لوله های آزمایش ابتدا در آون با دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۶ ساعت خشک و نهایتا بعد از سرد شدن در دسیکاتور توزین گردید. نتایج بر حسب گرم رسوب در صد گرم نوشیدنی شیری فراسودمند گزارش شد [۱۶]

شکل ۴ سانتریفوژ مورد استفاده را نشان می‌دهد.

Figure 4. Centrifuge

۷-۴-۲-ارزیابی‌های حسی

نمونه‌های نوشیدنی لبنی پروبیوتیک که به طور تصادفی رمزگذاری شدند توسط یک گروه حسی ۱۰ نفره پذیرش و مورد ارزیابی قرار گرفتند. پیش از ارزیابی از افراد خواسته شد تا پرسش نامه‌ای که حاوی سوال‌هایی در مورد جنس، سن و دفعه‌های مصرف نوشیدنی لبنی پروبیوتیک (عدم مصرف، کمتر از یک مرتبه در ماه، ۴-۵ مرتبه در ماه و بیش از ۶ مرتبه در ماه) بودند را پر کنند ارزیاب‌هایی که میزان مصرف نوشیدنی لبنی پروبیوتیک ۲-۴ ماه مرتبه در ماه یا کمتر باشد از تحلیل داده‌ها کنار گذاشته شدند. نوشیدنی لبنی پروبیوتیک از دیدگاه رنگ، طعم، عطر و پذیرش کلی براساس مقیاس هدونیک ۵ امتیازی (یک =نامطلوب ترین، ۵= مطلوب ترین) مورد ارزیابی قرار گرفت. مقداری از نوشیدنی لبنی پروبیوتیک با اندازه‌ی استاندارد در داخل ظرف‌های پلاستیکی غیر قابل نفوذ به هوا قرار داده شد تا پیش از ارزیابی، به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق به تعادل برسند. ارزیاب‌ها برای شست و شوی دهان در بین نمونه‌ها از آب مقطر در دمای محیط استفاده می کنند [۱۷]

۵-۲-تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از روش واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و مقایسه تفاوت‌های معنا داری بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون تعقیبی چند دامنه‌ای دانکن سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ انجام گردید.

۳-نتیجه و بحث

۱-۳-بررسی زنده مانی باکتریهای پروبیوتیک

Table 3 The survival rate of probiotic bacteria in 1, 3 and 7 days after production

Survival of probiotics (cfu/ml) - 7th day	Survival of probiotics (cfu/ml) - third day	Survival of probiotics (cfu/ml) -first day	Sample
$0.90 \times 107 \pm 0.01^{aA}$	$0.96 \times 107 \pm 0.02^{aB}$	$2.3 \times 107 \pm 0.01^{aC}$	T1
$0.92 \times 107 \pm 0.01^{aA}$	$0.96 \times 107 \pm 0.02^{aB}$	$2.3 \times 107 \pm 0.01^{aC}$	T2
$0.91 \times 107 \pm 0.01^{aA}$	$1.6 \times 107 \pm 0.01^{dB}$	$2.4 \times 107 \pm 0.01^{bC}$	T3
$0.95 \times 107 \pm 0.01^{bA}$	$1.4 \times 107 \pm 0.01^{bB}$	$2.4 \times 107 \pm 0.01^{bC}$	T4
$0.95 \times 107 \pm 0.01^{bA}$	$1.5 \times 107 \pm 0.02^{cB}$	$2.4 \times 107 \pm 0.01^{bC}$	T5
$0.91 \times 107 \pm 0.01^{aA}$	$1.6 \times 107 \pm 0.02^{dB}$	$2.3 \times 107 \pm 0.01^{aC}$	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample).

با توجه به جدول۳ بین میانگین میزان زنده مانی پروبیوتیک(لاکتوباسیلوس پلانتاریوم) در روز اول تولید، در نمونه شاهد و نمونه های T1 و T2 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($P>0.05$). اما بین نمونه شاهد و نمونه های T3 و T4 و T5 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار

است(P<0.05). در روز سوم میزان زنده مانی پروبیوتیک‌ها در نمونه شاهد و نمونه T3 اختلاف معنادار وجود ندارد و این دو نمونه در روز سوم بیشترین میزان پروبیوتیک را نشان دادند. بین میانگین میزان زنده مانی پروبیوتیکها در نمونه T1 و T2 از نظر آماری اختلاف معنادار وجود ندارد(P>0.05) ولی بین نمونه های T4 و T5 این اختلاف معنادار است(P>0.05). در روز هفتم تولید نمونه‌های شیرکاکائو، بین میانگین میزان زنده مانی پروبیوتیکها در نمونه شاهد و نمونه T1، T2 و T3 و همچنین بین نمونه های T4 و T5 اختلاف معنادار وجود ندارد(P>0.05).با توجه به فاکتور زمان در تمامی نمونه های مورد بررسی بیشترین میزان زنده مانی پروبیوتیکها مربوط به روز اول تولید و کمترین آنها مربوط به روز هفتم بود. بین میانگین میزان زنده مانی پروبیوتیکها در هر ۳ زمان مورد بررسی در تمامی نمونه ها اختلاف در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنادار می باشد(P<0.05) و با گذشت زمان میزان زنده مانی کاهش می یابد.

۲-۳-بررسی pH

Table 4, pH rate of the samples in 1, 3 and 7 days after production

The seventh day	The third day	The first day	Sample
6.20 ± 0.02^{aA}	6.62 ± 0.01^{dB}	6.8 ± 0.01^{bC}	T1
6.20 ± 0.01^{aA}	6.64 ± 0.01^{cB}	6.8 ± 0.01^{bC}	T2
6.18 ± 0.02^{aA}	6.60 ± 0.01^{bB}	6.7 ± 0.01^{aC}	T3
6.18 ± 0.02^{aA}	6.60 ± 0.02^{bB}	6.8 ± 0.01^{bC}	T4
6.19 ± 0.01^{aA}	6.57 ± 0.01^{aB}	6.7 ± 0.01^{aC}	T5
6.20 ± 0.02^{aA}	6.69 ± 0.02^{dB}	6.8 ± 0.01^{bC}	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample)

باتوجه به جدول ۴در روز اول تولید، بین میانگین pH نمونه های شیرکاکائو T5 و T3 و همچنین بین نمونه های شیرکاکائو T1، T2، T4 و T6 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد(P>0.05). اما این اختلاف بین نمونه های T3 و T5 با سایر نمونه ها از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد معنادار است(P<0.05). در روز سوم نگهداری نمونه ها، نمونه T5 دارای کمترین میزان pH و نمونه شاهد، دارای بیشترین میزان pH است. همچنین بین میزان میانگین pH نمونه شاهد با سایر نمونه ها اختلاف معنادار است(p<0.05). در روز هفتم نگهداری بین میانگین pH نمونه ها از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد(p>0.05). با توجه به مدت زمان نگهداری نمونه های شیرکاکائو تولیدی، بین میانگین pH نمونه ها در سه زمان مورد بررسی از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود دارد (p<0.05) و در روز هفتم نگهداری نسبت به روز اول و سوم، pH نمونه ها کمتر می باشد در واقع با گذشت زمان نگهداری، میزان pH کاهش می یابد.

۳-۳-بررسی اسیدیته

Table5. Acidity rate of samples in 1, 3 and 7 days after production

The seventh day	The third day	The first day	Sample
0.180 ± 0.002^{aC}	0.154 ± 0.001^{aB}	0.135 ± 0.001^{aA}	T1
0.180 ± 0.000^{aC}	0.154 ± 0.002^{aB}	0.135 ± 0.001^{aA}	T2
0.207 ± 0.002^{cC}	0.155 ± 0.003^{aB}	0.135 ± 0.002^{aA}	T3
0.207 ± 0.001^{cC}	0.153 ± 0.001^{aB}	0.135 ± 0.00^{aA}	T4
0.190 ± 0.003^{bC}	0.153 ± 0.001^{aB}	0.136 ± 0.001^{aA}	T5
0.180 ± 0.001^{aC}	0.152 ± 0.002^{aB}	0.136 ± 0.001^{aA}	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample).

باتوجه به جدول ۵ در روز اول تولید و روز سوم نگهداری بین میانگین اسیدیته نمونه های شیرکاکائو از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($P>0.05$). اما این اختلاف بین نمونه های T3 و T5 با سایر نمونه ها از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد معنادار است($P<0.05$). در روز هفتم نگهداری بین میانگین اسیدیته نمونه های شاهد و نمونه T1 و T2 و همچنین بین نمونه های T3 و T4 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($p>0.05$). اما بین نمونه های شاهد T1 و T2 با نمونه های T3 وT4 و نمونه T5 در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود دارد($P<0.05$). در روز هفتم نگهداری بیشترین اسیدیته مربوط به نمونه های T3 و T4 و کمترین اسیدیته مربوط به نمونه های T1 و T2 می باشد.

با توجه به مدت زمان نگهداری نمونه های شیرکاکائو تولیدی، بین میانگین اسیدیته نمونه ها در سه زمان مورد بررسی از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود دارد ($p<0.05$) و در روز هفتم نگهداری نسبت به روز اول و سوم، اسیدیته نمونه ها بیشتر می باشد در واقع با گذشت زمان نگهداری، میزان اسیدیته افزایش می یابد.

۴-۳-بررسی بریکس

Table 6, Brix rate of the samples in 1-3-7 days after production

The seventh day	The third day	The first day	Sample
15.20 ± 0.15^{bB}	15.40 ± 0.05^{bC}	11.30 ± 0.05^{bA}	T1
14.20 ± 0.1^{aB}	14.80 ± 0.1^{aC}	11.15 ± 0.05^{aA}	T2
21.70 ± 0.01^{eC}	20.70 ± 0.05^{eB}	18.60 ± 0.1^{eA}	T3
21.14 ± 0.01^{dC}	19.60 ± 0.05^{dB}	17.10 ± 0.1^{cA}	T4
20.10 ± 0.1^{cC}	19.30 ± 0.1^{cB}	18.7 ± 0.05^{eA}	T5
21.80 ± 0.1^{eC}	20.60 ± 0.05^{eB}	18.30 ± 0.05^{dA}	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample).

باتوجه به جدول ۶ در روز اول تولید، بین میانگین بریکس نمونه های شیرکاکائو از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود دارد($P<0.05$). اما این اختلاف بین نمونه های T3 و T5 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد معنادار نیست($P>0.05$). بیشترین میزان بریکس در روز اول تولید مربوط به نمونه T5 و کمترین میزان بریکس مربوط به نمونه T2 می‌باشد. در روز سوم نگهداری نمونه ها، بین میانگین بریکس نمونه های شیرکاکائو از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود دارد($P<0.05$). نمونه T2 دارای کمترین میزان بریکس و نمونه T3، دارای بیشترین میزان بریکس است. همچنین بین میزان میانگین بریکس نمونه شاهد با نمونه T3 اختلاف معنادار وجود ندارد($p>0.05$). در روز هفتم نگهداری بین میانگین بریکس نمونه ها به جز نمونه شاهد و T3 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود دارد($p<0.05$).

با توجه به مدت زمان نگهداری نمونه های شیرکاکائو تولیدی، بین میانگین بریکس نمونه ها در سه زمان مورد بررسی از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود دارد ($p<0.05$) و در روز هفتم نگهداری نسبت به روز اول و سوم، بریکس نمونه ها بیشتر می باشد به جز نمونه های T1 و T2 که بیشترین میزان بریکس را در روز سوم نگهداری دارند. در واقع در اکثر نمونه های شیرکاکائو تولیدی، با گذشت زمان نگهداری، میزان بریکس افزایش می یابد.

۵-۳-بررسی ویسکوزیته

Tabel7, Viscosity of the samples in 1, 3 and 7 days after production

The seventh day	The third day	The first day	Sample
37.0 ± 0.2^{aA}	36.80 ± 0.3^{aA}	37.00 ± 0.4^{aA}	T1
37.00 ± 0.5^{aA}	37.00 ± 0.5^{aA}	36.80 ± 0.2^{aA}	T2
40.80 ± 0.2^{dB}	39.00 ± 0.2^{bA}	36.80 ± 0.2^{aA}	T3
40.0 ± 0.2^{cC}	38.6 ± 0.1^{bB}	37.00 ± 0.5^{aA}	T4
39.20 ± 0.2^{bC}	38.40 ± 0.2^{bB}	37.00 ± 0.5^{aA}	T5
39.80 ± 0.2^{cB}	39.00 ± 0.5^{bB}	38.00 ± 0.5^{bA}	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample).

باتوجه به جدول ۷ در روز اول تولید، بین میانگین ویسکوزیته نمونه های شیرکاکائو از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($P>0.05$). به غیر از نمونه T6 که از نظر میزان ویسکوزیته با سایر نمونه ها دارای اختلاف معنادار است($P<0.05$). بیشترین میزان ویسکوزیته در روز اول تولید مربوط به نمونه شاهد می‌باشد. در روز سوم نگهداری نمونه ها، بین میانگین ویسکوزیته نمونه های T1 و T2 و همچنین نمونه های T3، T4، T5 و T6 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($P>0.05$). نمونه T1 دارای کمترین میزان ,ویسکوزیته و نمونه T3 و شاهد دارای بیشترین میزان ویسکوزیته می باشند. در روز هفتم نگهداری بین میانگین ویسکوزیته اکثر نمونه ها به جز نمونه شاهد و T4 و نمونه های T1 و T2 از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود دارد($p<0.05$).

با توجه به مدت زمان نگهداری نمونه‌های شیرکاکائو تولیدی، بین میانگین ویسکوزیته نمونه‌ها بجز نمونه های T1 و T2 در سه زمان مورد بررسی از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود دارد ($p<0.05$) و در روز هفتم نگهداری نسبت به روز اول و سوم، ویسکوزیته در اکثر نمونه‌ها بیشتر می باشد.

۶-۳-بررسی رسوب(ته نشینی)

Table 8. The sedimentation rate of the samples in 1, 3 and 7 days after production

The seventh day	The third day	The first day	Sample
0.159 ± 0.002^{dA}	0.159 ± 0.001^{dA}	0.158 ± 0.002^{dA}	T1
0.154 ± 0.002^{cA}	0.152 ± 0.001^{cA}	0.152 ± 0.001^{cA}	T2
0.133 ± 0.001^{aA}	0.135 ± 0.001^{aA}	0.135 ± 0.002^{aA}	T3
0.135 ± 0.002^{aA}	0.135 ± 0.002^{aA}	0.135 ± 0.002^{aA}	T4
0.134 ± 0.002^{aA}	0.134 ± 0.001^{aA}	0.135 ± 0.002^{aA}	T5
0149 ± 0.002^{bA}	0.148 ± 0.002^{bA}	0.148 ± 0.002^{bA}	T6

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level.: T1 (%8 stevia); T2: (%4stevia); T3: (%8inulin + %8sugar); T4: (%4inulin + %8sugar); T5: (%4stevia+%4inulin); T6: (%8sugar, control sample).

باتوجه به جدول ۸ در روز اول تولید و روز سوم و هفتم نگهداری ، بین میانگین رسوب گذاری نمونه های T3، T4 و T5 شیرکاکائو از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵درصد اختلاف معنادار وجود ندارد($P>0.05$). این نمونه ها نسبت به سایر نمونه ها دارای میزان رسوب گذاری کمتری بودند. اما بین میانگین میزان رسوب این نمونه ها با نمونه های شاهد، T1 و T2 اختلاف معنادار است($P<0.05$). بیشترین میزان رسوب گذاری در روز اول تولید مربوط به نمونه T1 می‌باشد. با توجه به مدت زمان نگهداری نمونه‌های شیرکاکائو تولیدی، بین میانگین میزان رسوب گذاری نمونه‌ها در سه زمان مورد بررسی از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود ندارد ($p>0.05$).

۷-۳-ارزیابی حسی

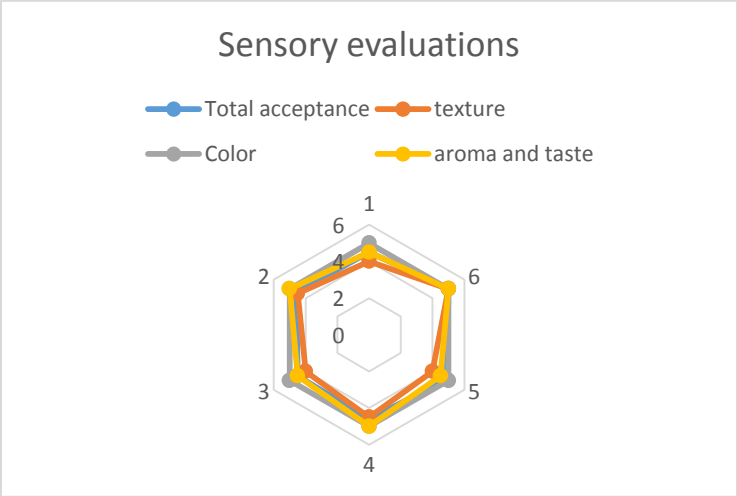

Figure6. Sensory evaluation results of cocoa milk samples

Different lowercase Latin letters in each column and different uppercase letters in each row indicate differences at the 95% significance level: T1 (8% stevia); T2: (4% stevia); T3: (8% inulin + 8% sugar); T4: (4% inulin + 8% sugar); T5: (4% stevia+4% inulin); T6: (8% sugar, control sample)

طبق نمودار ۱ بهترین نمونه از نظر عطروطعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی، نمونه شاهد می‌باشد. نمونه ۴ و سپس نمونه ۵ از نظر ویژگیهای حسی در مقام دوم و سوم و نمونه ۱و ۳ نیز در ویژگیهای حسی دارای کمترین امتیاز بودند . هر چند بین میانگین امتیازهای نمونه های شیر کاکائو با نمونه شاهد از نظر آماری در سطح اطمینان ۹۵ درصد اختلاف معنادار وجود نداشت($P<0.05$).

۴-نتیجه گیری

اینولین بر اساس خواص تغذیه ای تکنولوژیکی آن کاربرد زیادی در صنایع غذایی دارد. خواص فیبری و پری‌بیوتیک اینولین مهم می‌باشد، زیرا اثرات مثبت بر روده انسان دارد و سبب تغییر میکروفلور آن و افزایش بیفیدوباکتریها در همه سنین می‌شوند.

شیرین کننده ها را می توان به عنوان یک افزودنی به محصولات غذایی اضافه کرد که باعث ایجاد طعم شیرینی و مزه دهانی خاص در محصول می گردد و بر خواص حسی مثل دانسیته حجمی و تخلخل، خواص فیزیکی، شیمیایی، رئولوژیکی، مکانیکی، سفتی، قابلیت نرم کنندگی محصولات تاثیر می گذارد. هم چنین شیرین کننده ها بر فعالیت های حجم و ایجاد رنگ، تاثیرگذار بوده و افزایش ارزش غذایی ماده غذایی را نیز موجب می شود.

با توجه به نمونه های شیرکاکائو تولید شده شامل: T1(۸% استویا)؛ T2: (4% استویا)؛ T3 : (8% اینولین+ 8% شکر)؛ T4: (4% اینولین +8% شکر)؛ T5: (4% استویا+4% اینولین)؛ T6: (8% شکر، نمونه شاهد)

به ازا مقدار شیر مصرفی(۳ لیتر شیر) می توان نتایج کلی را بدین گونه بیان نمود:

۱- نمونه های حاوی اینولین به ویژه نمونه T5 و T4 دارای پروبیوتیکهای زنده بیشتری پس از ۳ و ۷ روز نگهداری بودند.

۲- میزان pH و اسیدیته نمونه های T4 و T5 نسبت به سایر نمونه ها به ترتیب کمتر و بیشتر بود.

۳- بیشترین بریکس مربوط به نمونه T6(شاهد) بود

۴- میزان ویسکوزیته نمونه T6 در روز اول نگهداری و نمونه T3 پس از ۷ روز نگهداری بیشتر از سایر نمونه ها بود.

۵- کمترین میزان رسوب گذاری نیز مربوط به نمونه های T3، T5 , T4 در روز اول و پس از مدت زمان نگهداری مورد بررسی بود.

۶- ارزیابی های حسی(عطرو طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی) نشان داد که نمونه ها از نظر آماری دارای اختلاف معنی دار نبودند ولی نمونه T1 نسبت به سایر نمونه ها امتیاز کمتر و نمونه شاهد بیشترین امتیاز را داشت.

۷- از اینولین به عنوان پری بیوتیک و از استویا به عنوان جایگزین شکر در تولید شیرکاکائوی سین بیوتیک می توان استفاده شد.

۵- منابع

[1] Parvarei, M. M., Fazeli, M. R., Mortazavian, A. M., Nezhad, S. S., Mortazavie, S. A., Golabchifar, A. A., & Khorshidiang, N. (2021). Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt. *Food Research International*, *140*(1), 110030.

[2]Parvarei, M. M., Khorshidian, N., Fazelic, M. R., Mortazavian, A. M., Nezhad, S. S., & Mortazavie, S. A. (2021). Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on physicochemical, chemometric and microstructural properties of yogurt. *LWT*, *144*(1), 111177.

[3] Alizadeh, A. (2022). Mango nectar as a substrate for L. Plantarum: effect of stevia and inulin on probiotic viability and physico-chemical properties of the synbiotic product. *Food Measure*, *15*(1), 4226-4232

[4] Wang, Z., Fan, J., Wang, J., Li, Y., Li Xiaob, D. D., & Wang. (2016). Protective effect of lycopene on high-fat diet-induced cognitive impairment in rats. *Neuroscience Letters* ,(۳)۶۲۷ , ۱۹۱-۱۸۵.

[5] Majzoobi, M., Mohammadi, M., Mesbahi, G., & Farahnaky, A. (2019). Feasibility study of sucrose and fat replacement using inulin and rebaudioside A in cake formulations. *Wiley*, *49*(5), 468-47.

[6]Wan, X., Guo, H., Liang, Y., Zhou, C., Liu, Z., Li, K., Wang, L. (2020). The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: A review. *Carbohydrate Polymers*, *246*(1), 116589.

[7] Beikzadeh, M., Peighambardoust, S. H., Beikzadeh, S., & Rad, A. H.-. (2020). Effect of Inulin, Oligofructose and Oligofructose - Enriched Inulin on Physicochemical, Staling, and Sensory Properties of Prebiotic Cake. *KUAT*

[8] Fuad, & Prabhasankar. (2010). Role of ingredients in pasta product quality: A Review on recent Development. *Critical Reviews in food science and nutrition, 50(8): 787-798.*

[9] Schiatti-Sisó, I. P., Quintana, S. E., & García-Zapateiro, L. A. (2022). Stevia (Stevia rebaudiana) as a common sugar substitute and its application in food matrices: an updated review. *J Food Sci Technol*, *11*(1), 24-40.

[10] Fan, Breidt, F., Price, & Pérez-Díaz. (2017). Survival and Growth of Probiotic Lactic Acid Bacteria in Refrigerated Pickle Products. Journal of Food Science, 82(1), 167-173.

[11] Nematollahia, A., Sohrabvandib, S., Mortazavian, A. M., & Jazaeri, S. (2016). Viability of pro`biotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. Electronic Journal of Biotechnology, 21(1), 49-53.

[12]Ruhi.M,Mohammadi.R,Sarlak.Z,Taslimi.A, Zabihzadeh and Mortazavian.A.M.015).Investigating the biochemical, microbiological and sensory characteristics of synbiotic cocoa milk. Journal of Nutritional Sciences and Food Industry of Iran, 10(2), 47-58.

[13]Salimian, S., Khosroshahi, A., & Zomorrodi, S. (2016). The Effect of Type and amount of Three Different Stabilizers on Stabiity, Rheological and Sensory Properties of Chocolate Milks. JOURNAL OF FOOD RESEARCH (UNIVERSITY OF TABRIZ), 22(2), 165-173.

[14] Zhu, Y., Bhandari, B. & Prakash, S. (2020)Relating the tribo-rheological properties of chocolate flavoured milk to temporal aspects of texture. International Dairy Journal, 110, 104-794

[15]Khorami, M., Hosseini P . &Motamedzadegan, A. (2013). The effect of basil seed gum on the stability, rheological behavior and particle size of whey protein isolate emulsions, Journal of Food Processing and Storage, 2, 91-114..

[16] Prakash, S., Huppertz, T., Karvchuk, O., & Deeth, H. (2010). Ultra-high-temperature processing of chocolate flavoured milk. Journal of Food Engineering, 96(1), 179-184.

[17] Razavizadeh, A. & Tabrizi, P. (2021). Characterization of fortified compound milk chocolate with microcapsulated chia seed oil. LWT- Food Science and Technology, 150, 111-993.

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the physicochemical and sensory properties of synbiotic cocoa milk containing "inulin, stevia and lactobacillus plantarum"

H.Moayedi[1] , E.Hosseini[2*] ,Gh.Assadi[3]

1-M.SC. M. Sc. Student of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2-Professor of the College of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3-Assistance prof of the Department of food science & and Technology science and research Branch ,Islamic Azad University,Tehran,Iran

ABSTRACT

Today, there is a great desire to consume superfoods. Among them, foods and drinks containing probiotics and prebiotic compounds are also important. Probiotics are known as live microorganisms that balance the host's microbial flora in sufficient quantities. Most probiotic microorganisms are lactic acid bacteria such as Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus acidophilus and Streptococcus lactis. Inulin is a sugar compound and is indigestible or with little digestibility and has prebiotic properties, and as a source of carbon or energy, it selectively causes the growth or activity of probiotics. Cocoa milk is one of the flavored milks and high amounts of sugar are used in its formulation. Using other sweeteners as a substitute can lower the amount of calories consumed by the consumer and prevent some diseases such as diabetes and obesity. Stevia is a di-terpene glycoside, which is 300 times sweeter than sugar. In this research, stevia was used as a substitute for regular sugar and inulin as a prebiotic in the production of synbiotic cocoa milk with Lactobacillus plantarum, and 6 samples were prepared and coded; Samples include T1 (%8 of stevia); T2: (%4 of stevia); T3: (%8 of inulin %8 of sugar); T4: (%4 of inulin + %8 of sugar); T5: (%4 of stevia + %4 of inulin); T6: (%8 of sugar, control sample) per amount of milk consumed (3 liters of milk). The viability of probiotics, pH, acidity, Brix, viscosity, sedimentation rate and sensory evaluations of the samples were investigated on the first, third and seventh day of production. According to the results obtained from the research, samples containing inulin, especially T5 and T4 samples, had more live probiotics after 3 and 7 days of storage. In addition, the pH and acidity of these samples were lower and higher than other samples, respectively. The highest Brix was related to sample T6 (control) and the viscosity of sample T6 on the first day of storage and sample T3 after 7 days of storage was higher than other samples. The lowest amount of sedimentation was related to samples T3, T4, T5 on the first day and after the storage period. Sensory evaluations (aroma, taste, color, texture and Total acceptance) showed that the samples did not have statistically significant differences, but the T1 sample had a lower score than the other samples and the control sample had the highest score.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/5/12
Accepted: 2023/8/23

Keywords:

probiotic,

cocoa milk,

inulin,

stevia,

lactobacillus plantarum

DOI: 10.22034/FSCT.20.141.224
DOR:20.1001.1.20088787.1402.20.141.14.2

*Corresponding Author E-Mail:
ebhoseini@yahoo.com