بررسی اثر افزودن شیر ارزن بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5*، باکتری‌های آغازگر ماست و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست پروبیوتیک

سمیرا فرقانی[۱]، سیدهادی پیغمبردوست[۲*]، جواد حصاری[۲]، رضا رضایی مکرم[۳]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۲- استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز
۳- استادیار میکروبیولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۲/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۷/۲۲)

چکیده

استفاده از مواد غذایی به‌عنوان وسیله‌ای برای انتقال پروبیوتیک‌ها، چندین دهه است که موردتوجه دانشمندان صنایع غذایی قرار گرفته است. لازمه بروز آثار سلامتی‌بخش پروبیوتیک‌ها، بقای شمار بالای آن‌ها تا رسیدن به روده بزرگ است؛ بنابراین باید روش‌هایی برای حفظ پروبیوتیک‌ها اتخاذ گردد که یکی از این روش‌ها استفاده از مواد پری‌بیوتیک است. شیر ارزن علاوه بر دارا بودن ترکیبات مغذی، به دلیل دارا بودن فیبرهای محلول، نامحلول و نشاسته غیرقابل‌هضم، می‌تواند به‌عنوان پری‌بیوتیک عمل کند. هدف از این مطالعه بررسی خاصیت پری‌بیوتیکی شیر ارزن به‌عنوان غله مغذی در تولید ماست فراسودمند پروبیوتیک است. در این مطالعه، اثر جایگزینی شیر ارزن با شیر کم‌چرب (۲/۵٪) در ٤ سطح ۰، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) بر زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* و باکتری‌های آغازگر ماست (*لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماست در طی ۲۱ روز نگهداری بررسی گردید. نتایج نشان دادند که جایگزینی شیر ارزن باعث کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۵) pH و ویسکوزیته و افزایش اسیدیته و زنده‌مانی باکتری‌هایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* گردید. به‌طورکلی، در کلیه نمونه‌ها با گذشت زمان نگهداری، شمارش کلی باکتری‌های پروبیوتیک و آغازگر زنده و pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. از میان تیمارها، ماست حاوی ۱۰٪ شیر ارزن با توجه به مقبولیت حسی بالاتر آن، به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

کلید واژگان: ارزن، ماست پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5*، باکتری‌های آغازگر

*مسئول مکاتبات: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

۱- مقدمه

ماست معروف‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده شیر است که از تخمیر لاکتیکی آن توسط باکتری‌های آغازگر ماست (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*) تولید می‌شود [۱]. علت معروفیت و مصرف بالای ماست، ارزش تغذیه‌ای آن و اثرات سودمند باکتری‌های آغازگر (حفظ فلور میکروبی دستگاه گوارش) می‌باشد. در سال‌های اخیر محبوبیت ماست، با توجه به گنجاندن باکتری‌های پروبیوتیک در آن جهت افزایش ارزش تغذیه‌ای-فیزیولوژیکی، افزایش پیدا کرده است [۲]. در حال حاضر محصولات ماست به صورتی فرموله می‌شوند که حاوی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *بیفیدوباکتریوم* (شناخته شده به‌عنوان آغازگر AB) و آغازگرهای معمول ماست (*لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*) باشند. مطالعات نشان داده‌اند برخی از گونه‌های خاص *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و برخی گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* قادر به کاهش سطح کلسترول خون در روده‌اند که این مساله ارتباط مستقیم با کاهش بیماری‌های قلبی و عروقی دارد [۳]. برخی از این باکتری‌ها دارای خواص ضد میکروبی هستند [٤]، به طوری که نشان داده شده است که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، اثر مهارکنندگی در برابر بسیاری از باکتری‌های بیماری‌زای رایج موجود در مواد غذایی دارند. تعدادی از مطالعات صورت گرفته حاکی از کاهش عفونت-های روده‌ای در اثر مصرف شیر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌باشد [۳]. در این میان، گونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* نیز با دارا بودن ویژگی-هایی نظیر ایجاد تعادل در فلور میکروبی روده، افزایش ایمنی بدن و محافظت در برابر اسهال مسافرتی، نقش مهمی در سلامتی افراد دارد. اگرچه هنوز توافق کلی روی حداقل تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده در محصول نهایی وجود ندارد، ولی برخی محققان تعداد $۱۰^{٦}$، برخی $۱۰^{۷}$ و برخی حداقل $۱۰^{۸}$ CFU/ml را برای بروز اثرات سلامتی بخش ضروری می‌دانند که این تعداد بسته به جنس و نوع باکتری متغییر خواهد بود [۵].

زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محصولات تخمیری شیر تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله اسیدیته، pH، پراکسیدهیدروژن، دمای ذخیره‌سازی، مقدار اکسیژن، غلظت اسید لاکتیک و... قرار می‌گیرد [۸،۷،٦]. علاوه بر این، وجود نارسایی‌هایی حین عملیات تولید، نگهداری و توزیع فرآورده و همچنین عبور از شرایط نامطلوب دستگاه گوارش (محیط اسیدی معده و وجود نمک‌های صفراوی) ازجمله مواردی هستند که باکتری‌های پروبیوتیک باید در مقابل آن‌ها حفظ شوند. از آن‌جا که لازمه بروز آثار مثبت پروبیوتیک‌ها، بقای آن‌ها تا رسیدن به محل فعالیت آن‌ها (روده بزرگ) است؛ بنابراین باید روش‌هایی برای حفظ پروبیوتیک‌ها اتخاذ گردد، افزودن ریزمغذی‌ها (نظیر پپتیدها و اسیدهای آمینه که زمان تخمیر را کاهش داده و بقای پروبیوتیک‌ها را افزایش می-دهند) و پری‌بیوتیک‌ها ازجمله آن‌هاست [۵]. پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیرقابل‌هضمی هستند که با تحریک انتخابی رشد یا فعالیت تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده، اثرات مفیدی را در میزبان بر جای می‌گذارند [۹]. این ترکیبات به‌عنوان فاکتور دوم جهت کنترل فلور میکروبی روده بعد از پروبیوتیک‌ها در نظر گرفته می‌شوند [۱۰]. در میان غلات، ارزن (*pennisetum typoides*) به دلیل غنی بودن از پروتئین، پلی‌فنول‌ها، فیبر رژیمی و مواد معدنی به ویژه کلسیم، منحصربه فرد است [۱۱]. دانه‌ی ارزن منبع خوبی از اسیدهای آمینه ضروری به‌جز لیزین و ترئونین است ولی ازنظر متیونین و سیستئین نسبتاً غنی می‌باشد [۱۲،۱۳]. ارزن مرواریدی[1] غنی از نشاستهٔ مقاوم و فیبر محلول و نامحلول می‌باشد [۱٤]، بنابراین می‌تواند به عنوان منبع کربوهیدرات غیر قابل هضم مورد استفاده قرار گیرد که این ترکیبات علاوه بر مزایای فیزیولوژیکی، می‌توانند به صورت انتخابی رشد لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکترهای حاضر در روده را تحریک کنند و از این رو به عنوان پری‌بیوتیک عمل کنند [۱۵]. در خصوص استفاده از شیر ارزن به عنوان بستر پری-بیوتیک پژوهش‌های بسیار اندکی صورت گرفته است، به طوری که طی پژوهشی حسن و همکاران (۲۰۱۲) دانه‌های برنج و ارزن را با استفاده از آغازگر ABT-2 (*استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم BB-12*) جهت تولید نوشیدنی غله‌ای تخمیر کردند و تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در پایان فرایند تخمیر $٤/۳\times۱۰^{۹}$ CFU/ml بود [۱٦]. در رابطه با استفاده از

1. Pearl millet

شیر ارزن به عنوان پری‌بیوتیک در تولید محصولات لبنی تاکنون پژوهشی صورت نگرفته است اما در پژوهشی مشابه، محمدی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که با افزودن شیر سویا به ماست به دلیل الیگوساکاریدها و ترکیبات پری-بیوتیک شیر سویا، قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها افزایش می-یابد [۱۷]. همچنین نتایج یگانه‌زاد و همکاران (۲۰۰۹)، نشان داد جایگزینی شیر سویا با شیر، منجر به افزایش بقا و زنده-مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* در ماست می‌شود [۵]. جایگزینی شیر یولاف با شیر گاو، در محصول غذایی تخمیر شده به وسیله‌ی آغازگر تجاری ABT-1، باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس T20* و *بیفیدوباکتریوم* همراه با افزایش محتوای بتاگلوکان محصول، زنده‌مانی باکتری‌های اسیدلاکتیک را به $۱۰^{۹}$ CFU/ml افزایش داد [۱۸].

با توجه به غنی بودن دانهٔ ارزن ازنظر فیبرهای محلول، غیر محلول، نشاسته مقاوم، ریزمغذی‌ها و فراوان بودن دانه ارزن و همچنین قیمت مناسب آن، می‌توان از آن به‌عنوان پری‌بیوتیک در تولید محصولات سین‌بیوتیک استفاده کرد. از این رو هدف از انجام این مطالعه تعیین قابلیت شیر ارزن به-عنوان پری‌بیوتیک جدید در تقویت رشد باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* همراه با بررسی زنده-مانی باکتری‌های آغازگر در نمونه‌های ماست حاوی شیر ارزن می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

شیر کم‌چرب (۲/۵٪) از شرکت پگاه تبریز تهیه گردید. آغازگر ماست حاوی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و آغازگر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* از شرکت کریستین هانسن (دانمارک) خریداری شد. دانه‌های کامل ارزن مرواریدی از بازار خریداری شدند. کلیه مواد آزمایشگاهی و محیط‌های کشت لازم برای انجام آزمون‌ها از شرکت مرک آلمان خریداری گردید.

Table 1 Chemical properties of the used milk to produce yogurt samples

Chemical properties	Amount
pH	6.69±0.03
Acidity (°D)	16.50±0.01
Dry matter (%)	11.80±0.03
Non-fat dry matter (%)	9.35±0.03
Protein (%)	3.20±0.08
Fat (%)	2.45±0.03
Carbohydrate (%)	4.66±0.21
Total fiber (%)	0.00±0.00

۲-۲- روش تهیه شیر ارزن

روند تولید شیر ارزن در شکل ۱ نشان داده شده است:

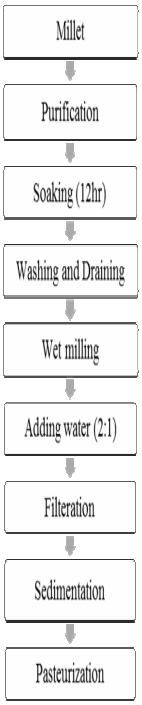

Fig 1 Preparation of millet milk [16]

مایع حاصل پس از پاستوریزاسیون در دمای ۸۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه به‌عنوان شیر ارزن مورد استفاده قرار گرفت [۱۶].

Table 2 Chemical properties of millet milk

Chemical properties	Amount
pH	6.37±0.02
Acidity (°D)	62.50±2.22
Dry matter (%)	11.00±0.03
Fat (%)	2.02±0.04
Carbohydrate (%)	6.70±0.08
Total fiber (%)	0.97±0.14

۲-۳- روش تهیه ماست حاوی شیر ارزن

مخلوطی از شیر و شیر ارزن پاستوریزه شده با سطوح جایگزینی ۰، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد (حجمی/ حجمی) آماده شد. مخلوط مذکور تا دمای ^{o}C ۴۳- ۴۲ گرم شده و با آغازگر ماست آماده‌سازی شده طبق دستورالعمل شرکت سازنده تلقیح گردید سپس آغازگر فعال‌شده پروبیوتیک به میزان ۱ درصد (حجمی/حجمی) تلقیح شد. مخلوط حاصل در ظروف پلی‌اتیلنی ۱۰۰ گرمی ریخته شده و پس از درب بندی تا رسیدن به اسیدیته مناسب در دمای ^{o}C ۴۵-۳۵ در گرمخانه قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به سرعت تا دمای ^{o}C ٤ سرد شده و به مدت ۲۱ روز در این دما نگهداری شدند.

۲-٤- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری pH: اندازه‌گیری pH با وارد کردن مستقیم الکترود دستگاه pH متر(مدل ۷٤٤، ساخت شرکت METROHM سوئیس) به داخل بافت ماست همگن شده مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ صورت گرفت [۱۹].

اندازه‌گیری اسیدیته: اندازه‌گیری اسیدیته به روش دورنیک با استفاده از سود ۱/۹نرمال انجام شد [۲۰].

ویسکوزیته: اندازه‌گیری ویسکوزیته با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد[1] (مدل DVII+Pro، ساخت آمریکا) و اسپیندل[2] شمارهٔ ٦٤ و در سرعت rpm ۲۰ و مدت زمان ٤۰ ثانیه انجام گرفت [۲۱].

۲-۵- آزمون‌های میکروبی

شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* و باکتری‌های آغازگر: با انتقال ۱ میلی‌لیتر از نمونه همگن شده، به لوله حاوی ۹ میلی‌لیتر محلول رینگر، محلول رقت 10^{-1} (۱٪ حجمی- حجمی) تهیه شد. سپس ۱ میلی‌لیتر از آن به لوله دیگر حاوی ۹ میلی‌لیتر اضافه شد تا محلول 10^{-2} تهیه شود و بدین ترتیب رقت‌های بعدی به‌دست آمد. برای شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* از روش کشت آمیخته و محیط کشت MRS- بایل آگار اسیدی استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-1} -10^{-11} تهیه شده به صورت جداگانه برداشته به پتری‌های استریل افزوده و محیط کشت استریل و خنک شده به پتری ریخته در سطح افقی مخلوط شد. سپس در دمای ^{o}C ۳۷ به مدت ۷۲ ساعت در داخل جار بی‌هوازی و در حضور گازپک نوع A گرمخانه‌گذاری شد [۲۲]. برای شمارش باکتری‌های آغازگر نیز از روش کشت آمیخته استفاده شد. مطابق با روش ذکر شده ۱ میلی‌لیتر از رقت‌های 10^{-1}-10^{-11} به داخل پتری‌های استریل افزوده و محیط‌های کشت مربوط به هر باکتری اضافه و به صورت افقی مخلوط شد. برای باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* از محیط کشت M17 آگار، با شرایط انکوباسیون ٤۸ ساعت در ^{o}C ۳۷ و برای باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*، محیط کشت MRS آگار، با شرایط انکوباسیون ۷۲ ساعت در ^{o}C ۳۷ استفاده و پتری‌ها تحت شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند [۲۳].

شمارش کپک و مخمر و کلی‌فرم: شمارش کپک و مخمر به روش کشت سطحی و به وسیله محیط کشت YGC صورت گرفت. ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر از محیط کشت مورد نظر به هر پتری استریل شده افزوده شد، پس از جامد شدن محیط کشت مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول‌های 10^{-6}-10^{-1} توسط سمپلر به محیط کشت منتقل شد و به وسیله اسپریدر پخش شد. پس از خشک شدن پتری‌ها تحت دمای ^{o}C۲۵ به مدت ۵-۳ روز در گرمخانه قرار گرفتند. برای شمارش کلی‌فرم نیز مشابه با آن‌چه ذکر شد از روش کشت سطحی و محیط کشت VRBA استفاده شد و سپس پتری‌های خشک شده به مدت ۲٤ ساعت در دمای ^{o}C ۳۷ گرمخانه‌گذاری شدند [۲٤].

۲-٦- ارزیابی حسی

مطابق با جدول اداره استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به شماره ٦۹۵، ارزیابی حسی نمونه‌های ماست، به کمک ۱۰ ارزیاب آموزش دیده، به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای، در سطوح ارزیابی صفر تا چهار (۰ = غیرقابل‌مصرف یا خیلی ضعیف، ۱ = غیرقابل‌قبول یا ضعیف، ۲ = قابل‌قبول یا متوسط، ۳ = رضایت‌بخش یا خوب و ٤ = بسیار رضایت‌بخش یا خیلی خوب) و در روزهای ۰، ۷، ۱٤ و ۲۱ از دوره نگهداری، انجام گرفت [۲۵].

۲-۷- طرح آماری

این مطالعه به صورت طرح کاملاً تصادفی در قالب آزمون فاکتوریل بوده و با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱٦,۰ تجزیه تحلیل شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند

1. Brookfield
2. Spindle

دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ استفاده گردید. تمامی نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- pH و اسیدیته

شکل ۲ تغییرات pH و شکل ۳ تغییرات اسیدیته نمونه‌های ماست را، طی ۲۱ روز نگهداری نشان می‌دهد. مطابق با شکل ۲ و ۳ با گذشت زمان، به طور معنی‌داری pH نمونه-های ماست کاهش و اسیدیته افزایش پیدا کرد، این تغییر به دلیل فعالیت آغازگرهای ماست و باکتری‌های پروبیوتیک بوده که با تخمیر کربوهیدرات، تولید اسید کرده، ترکیبات قابل هضم برای باکتری‌های پروبیوتیک و آغازگر سریع‌تر تجزیه شده و تولید استات و لاکتات افزایش می‌یابد [۲۶]. نتایج راجیو و نجندرا (۱۹۹۷) نیز نشان دهنده روند نزولی pH ماست با گذشت زمان بود [۸]. مطابق با نتایج به‌دست‌آمده pH و اسیدیته اولیه نمونه‌ها دارای تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($P<0/05$). در طی تمام زمان‌های مورد بررسی، بیشترین pH و کمترین اسیدیته مربوط به ماست حاوی ۱۰٪ شیر ارزن بود. با افزایش درصد شیر ارزن pH نمونه‌ها کاهش و اسیدیته افزایش پیدا کرد، به طوری که در تمام مدت ۲۱ روز نگهداری، کمترین pH را ماست ۲۰٪ شیر ارزن و بیشترین اسیدیته را ماست‌های ۱۵ و ۲۰ درصد شیر ارزن، نشان دادند. بر اساس نتایج حاصل با افزایش درصد شیر ارزن (پری‌بیوتیک) در نمونه‌ها، محیط برای رشد باکتری‌ها مناسب شده و زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* افزایش می‌یابد (جداول ۳ و ۵) که با تولید مقادیر بالاتر اسیدلاکتیک منجر به کاهش بیشتر pH و افزایش اسیدیته می‌گردد. نتایج لاجوردی و همکاران (۲۰۱۵)، نشان دهنده کاهش pH با افزایش درصد پری‌بیوتیک افزوده‌شده و کاهش مقدار چربی ماست سین‌بیوتیک بود [۲۷]. بر اساس نتایج یگانه‌زاد و همکاران (۲۰۰۹)، با افزایش درصد شیر سویای افزوده شده به ماست به دلیل وجود تعداد زیاد باکتری‌های زنده در ماست حاوی شیر سویای بالاتر و درنتیجه تولید سریع اسیدلاکتیک در طی نگهداری pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت که در تطابق با نتایج حاصل از این پژوهش می‌باشد [۵]. مطابق با نتایج راجیو و نجندرا (۱۹۹۷) با افزایش مقدار اسید آمینه‌های آزاد و درصد سیستئین ماست افت pH به دلیل افزایش زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک، افزایش می‌یابد [۸].

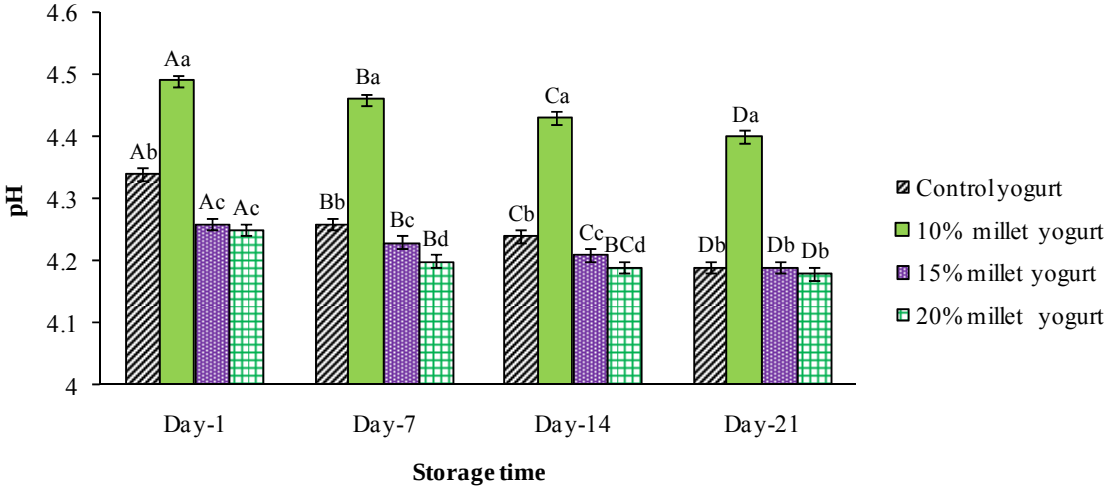

Fig 2 pH changes during the storage time

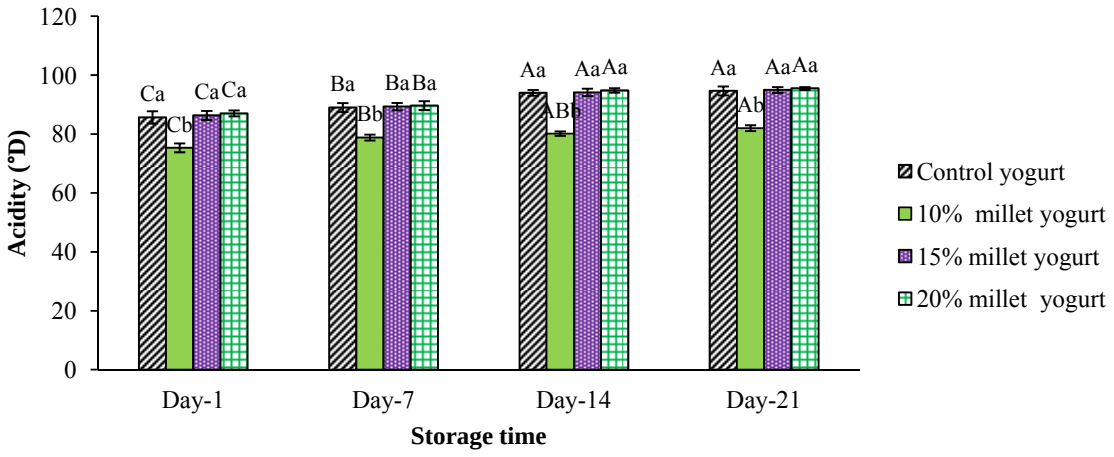

Fig 3 Acidity changes during the storage time (°D)

۳-۲- ویسکوزیته

شکل ٤ تغییرات ویسکوزیته نمونه‌ها را در روز ۱ نگهداری نشان می‌دهد. مطابق شکل ٤ اثر نوع تیمار روی تغییرات ویسکوزیته معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). ماست شاهد بالاترین ویسکوزیته را داشت و ماست‌های حاوی شیر ارزن ویسکوزیته کمتری نسبت به ماست شاهد نشان دادند. ویسکوزیته نمونه‌های حاوی شیر ارزن با افزایش درصد شیر ارزن افزوده شده کاهش پیدا کرد به‌طوری که ماست ارزن ۲۰٪ کمترین ویسکوزیته را داشت. به طور کلی پس از تلقیح آغازگرها در شیر برای تولید ماست، شبکه ژل مانند ایجاد می‌شود. این شبکه شامل میکروارگانیسم‌های لاکتیکی، پلی-ساکاریدها و پروتئین‌ها می‌باشد و ویسکوزیته ماست با استحکام این شبکه ارتباط مستقیمی دارد [۲۸]. از جمله عوامل کاهش استحکام شبکه ژلی ماست کاهش ماده خشک است و با توجه به اینکه ماده خشک شیر ارزن (۱۱٪) کمتر از شیر (۱۱/۸۰٪) بود لذا ماست‌های تهیه شده از شیر ارزن با درصد بالاتر ویسکوزیته کمتری نشان دادند. علاوه بر کاهش درصد ماده خشک، جایگزینی پروتئین غیر کازئینی ارزن به جای پروتئین کازئینی شیر و سست شدن شبکه ژل کازئینی، می‌تواند منجر به کاهش ویسکوزیته در نمونه‌های حاوی شیر ارزن گردد. همچنین مسعود و همکاران (۲۰۱٤) بیان کردند، با افزایش اسیدیته و به دنبال آن، افزایش آب اندازی نمونه‌های ماست، شبکه ژل سست شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد [۲۸]، که مطابق با یافته‌های حاصل از این پژوهش می‌باشد.

۳-۳- بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5*

جدول ۳ تغییرات تعداد کلنی‌های باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* را در نمونه‌های ماست، طی مدت زمان ۲۱ روز نگهداری نشان می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها حاکی از معنی‌دار بودن اثر نوع تیمار و مدت زمان نگهداری روی شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* بود (P<۰/۰۵). نتایج نشان داد شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* زنده در تمام نمونه‌های ماست با گذشت زمان روند کاهشی داشته و در نمونه شاهد این کاهش بیشتر بود، به طوری که تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* آن در روز ۲۱ ام به log ٤/۷۷ CFU/ml رسید.

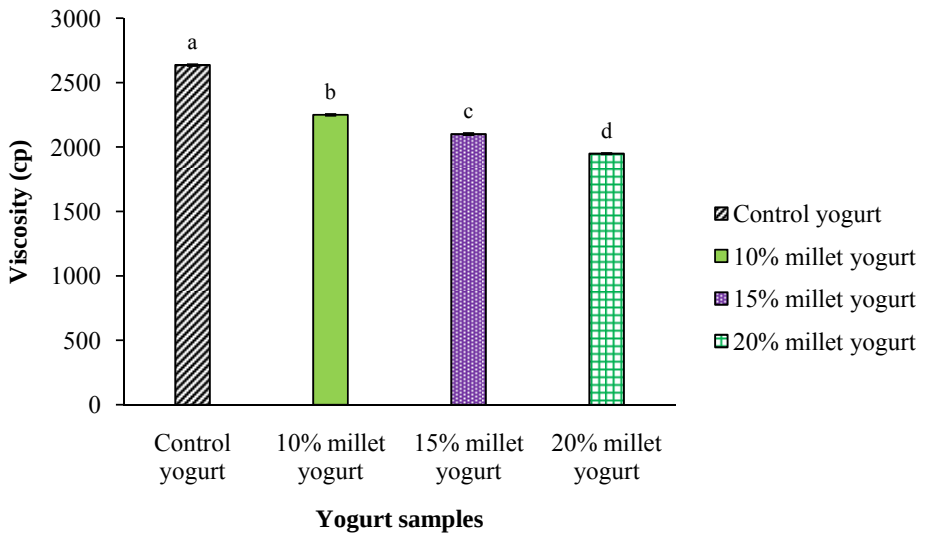

Fig 3 Viscosity of samples

بر اساس گزارش تمیم (۲۰۰۶)، تولید اسید در طی نگهداری می‌تواند منجر به کاهش تعداد باکتری‌های استارتر شود [۲۹]. نتایج چی‌وانگ و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان داد که بین کاهش تعداد سلول‌ها و pH همبستگی وجود دارد و کاهش pH عامل اصلی در کاهش تعداد سلول‌ها می‌باشد [۳۰].

بررسی نتایج نشان داد که در روز ۱ تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* زنده در نمونه حاوی ۱۰٪ شیر ارزن نسبت به سایر نمونه‌ها متفاوت بوده و کمترین تعداد (۸/٤٤ log CFU/ml) را داشت. به‌جز روز ۱، در تمامی زمان‌های مورد بررسی، کمترین تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* زنده در ماست شاهد مشاهده شد، در صورتی که تا پایان مدت نگهداری، زنده‌مانی باکتری‌ها در هر سه نمونه حاوی شیر ارزن، بالای $۱۰^{٦}$ CFU/ml بود که این تعداد تامین کننده اهداف درمانی محصولات غذایی پروبیوتیک است [۳۱]. در بین نمونه‌های حاوی شیر ارزن، شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5*، ماست ارزن ۱۵ و ۲۰ درصد تفاوت معنی‌دار باهم نداشتند (P>۰/۰۵) و بالاترین مقدار زنده‌مانی را داشتند.

با توجه به افزایش محتوای کربوهیدرات‌ها و فیبر کل (جدول ۲) و سایر ترکیبات مغذی در ماست‌های حاوی شیر ارزن، محیط مناسبی برای رشد و بقای باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* فراهم می‌شود به صورتی که علی‌رغم کاهش pH و افزایش اسیدیته با افزایش درصد شیر ارزن به ۱۵ و ۲۰ درصد، زندمانی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک نیز افزایش می‌یابد [۵]. نتایج حاصل از این پژوهش مطابق با یافته‌های محمدی و همکاران (۲۰۱۳) بود، آن‌ها علت افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را به دلیل حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی و کاهش فعالیت پروتئولیتیکی باکتری‌های آغازگر ماست دانستند [۱۷]. نتایج یگانه‌زاد و همکاران (۲۰۰۹) و یاسمنی فریمانی و همکاران (۲۰۰۹) نیز اثر مشابهی را در رابطه با جایگزینی شیر سویا بر روی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* نشان داد [۳۲،۵]. همچنین حسن و همکاران (۲۰۱۲)، تعداد باکتری‌های لاکتوباسیل زنده را در نوشیدنی شیر ارزن، CFU/ml $۱۰^{۹}$×٤/۳ گزارش دادند [۱٦].

Table 3 Total count *of Lactobacillus acidophilus LA-5* during the storage time (Log CFU/ml)

Microorganism	Samples	Days of storage			
		1	7	14	21
***Lactobacillus acidofilus LA-5* (log CFU/ml)**	Control yogurt	9.56 ± 0.06^{Aa}	6.38 ± 0.13^{Bc}	5.36 ± 0.06^{Cc}	4.77 ± 0.08^{Dd}
	10% millet yogurt	8.44 ± 0.09^{Ab}	7.33 ± 0.13^{Bb}	6.84 ± 0.10^{Cb}	6.06 ± 0.05^{Dc}
	15% millet yogurt	9.54 ± 0.13^{Aa}	8.76 ± 0.07^{Ba}	7.04 ± 0.10^{Ca}	6.54 ± 0.13^{Da}
	20% millet yogurt	9.56 ± 0.10^{Aa}	8.66 ± 0.03^{Ba}	7.18 ± 0.06^{Ca}	6.48 ± 0.04^{Da}

*A-D: Means with different superscripts in the same row differ significantly (P<0.05)
** a-d: Means with different superscripts in the same column differ significantly (P<0.05)

۳-٤- بررسی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

جدول ٤ تغییرات شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* تیمارهای مختلف ماست شیر ارزن و شاهد را در طی مدت زمان نگهداری ۲۱ روز نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که شمارش *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در طی مدت زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) کاهش پیدا کرد. علت این کاهش در زنده‌مانی باکتری‌ها، افزایش اسیدیته نمونه‌ها در طی نگهداری عنوان شده است [۳۰]. نتایج حاصل با یافته‌های راجیو و نجندرا (۱۹۹۷) مطابقت داشت [۸].

در طول مدت زمان نگهداری کمترین کاهش در زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* مربوط به ماست شاهد (۷/٦۲ log CFU/ml) و بیشترین میزان کاهش مربوط به ماست ارزن ۱۰٪ (٦/٥٥ log CFU/ml) بود.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که میان تیمارهای مختلف ماست ارزن و شاهد اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) در تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* طی روزهای مختلف نگهداری وجود دارد. به‌طوری که مشخص شد به‌جز روز ۱، در سایر زمان‌های مورد بررسی شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در ماست‌های شیر ارزن کمتر از ماست شاهد بود. علت این پدیده می‌تواند مربوط به وجود ترکیبات فنولیک موجود در شیر ارزن باشد که رشد باکتریهای *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* را کاهش می‌دهد [۲۹]. یافته‌های حاضر در تطابق با نتایج علیرضالو و همکاران (۱۳۹٤) بود [۳۳]. علیرغم پایین بودن شمارش *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در ماست‌های شیر ارزن نسبت به ماست شاهد، با افزایش درصد شیر ارزن، زنده‌مانی باکتری‌ها به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) افزایش یافت، این امر نشان دهنده اثر تامین کنندگی ترکیبات پری‌بیوتیکی شیر ارزن با افزایش درصد آن‌ها در ماست بر روی رشد و بقای *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* می‌باشد.

Table 4 Total count *of Lactobacillus bulgaricus* during the storage time (Log CFU/ml)

microorganism	Samples	Days of storage			
		1	7	14	21
***Lactobacillus bulgaricus* (log CFU/ml)**	Control yogurt	9.17 ± 0.02^{Ab}	9.01 ± 0.07^{Ba}	8.33 ± 0.09^{Ca}	7.62 ± 0.05^{Da}
	10% millet yogurt	9.57 ± 0.07^{Aa}	8.48 ± 0.03^{Bc}	7.27 ± 0.07^{Cc}	6.55 ± 0.06^{Dd}
	15% millet yogurt	9.43 ± 0.07^{Aa}	8.73 ± 0.06^{Bb}	7.43 ± 0.10^{Cc}	6.84 ± 0.09^{Dc}
	20% millet yogurt	9.56 ± 0.08^{Aa}	8.80 ± 0.03^{Bb}	8.03 ± 0.07^{Cb}	7.14 ± 0.09^{Db}

*A-D: Means with different superscripts in the same row differ significantly (P<0.05)
** a-d: Means with different superscripts in the same column differ significantly (P<0.05)

۳-٥- بررسی زنده‌مانی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

جدول ٥ تغییرات تعداد کلنی‌های باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* را در نمونه‌های ماست، طی مدت زمان ۲۱ روز نگهداری نشان می‌دهد. نتایج مقایسه میانگین نمونه‌های ماست حاکی از معنی‌دار بودن اثر نوع تیمار و مدت زمان نگهداری روی شمارش باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* بود (P<۰/۰۵). با توجه به جدول ٥ ملاحظه می‌شود که در روز ۱ تعداد باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در نمونه‌های مختلف باهم متفاوت بوده و کمترین تعداد مربوط به ماست شاهد (log CFU/ml ۹/۳۷) بود. تعداد باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* زنده در تمام نمونه‌ها با گذشت زمان، به دلیل تبدیل لاکتوز به اسیدلاکتیک توسط باکتری‌های آغازگر ماست و کاهش pH در طی نگهداری، با روندی کاهشی مواجه بوده و بیشترین میزان کاهش در ماست حاوی ۱۰٪ شیر ارزن مشاهده شد به صورتی که شمارش تعداد باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* آن به ۷/٤۱ log CFU/ml رسید و کمترین میزان کاهش در ماست ارزن ۲۰٪ (log CFU/ml ۸/۲۷) مشاهده شد. نتایج راجیو و نجندرا (۱۹۹۷) و چی‌وانگ و همکاران (۲۰۰۲) نیز نشان دهنده کاهش زنده‌مانی *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* با گذشت زمان، به دلیل کاهش pH بود [۳۰،۸]. جدول ٥ نشان

می‌دهد که با افزایش درصد شیر ارزن در نمونه‌های ماست میزان زنده‌مانی باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* نیز افزایش یافت که با نتایج حسن و همکاران (۲۰۱۲) سازگاری داشت [۱۶].

Table 5 Total count *of Streptococcus thermophilus* during the storage time (Log CFU/ml)

microorganism	Samples	Days of storage			
		1	7	14	21
***Streptococcus thermophilus* (log CFU/ml)**	Control yogurt	9.37 ± 0.05^{Ac}	9.19 ± 0.06^{Bc}	8.57 ± 0.06^{Cb}	7.89 ± 0.09^{Db}
	10% millet yogurt	10.32 ± 0.04^{Aab}	9.47 ± 0.06^{Bb}	8.78 ± 0.08^{Ca}	7.41 ± 0.03^{Dc}
	15% millet yogurt	10.27 ± 0.01^{Ab}	9.48 ± 0.01^{Bb}	8.74 ± 0.01^{Ca}	7.74 ± 0.01^{Db}
	20% millet yogurt	10.41 ± 0.08^{Aa}	9.75 ± 0.07^{Ba}	8.76 ± 0.007^{Ca}	8.27 ± 0.04^{Da}

*A-D: Means with different superscripts in the same row differ significantly (P<0.05)
** a-d: Means with different superscripts in the same column differ significantly (P<0.05)

۳-۶- شمارش کپک و مخمر و کلی‌فرم

نتایج شمارش کپک و مخمر و کلی‌فرم نمونه‌ها طی ۲۱ روز نگهداری نشان داد که تمامی محصولات عاری از کپک و مخمر و کلی‌فرم بودند که این امر حاکی از رعایت شرایط بهداشتی در طی تولید و نگهداری می‌باشد. همچنین عامل pH پایین ماست‌های تهیه شده با شیر ارزن می‌تواند از رشد کلی‌فرم‌ها جلوگیری کند. از طرفی مشخص شده است که اجزای دانه ارزن دارای فعالیت ضد میکروبی هستند. صالح و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند پروتئین استخراجی از ارزن مرواریدی، پروسو[1]، خودرو[2] و دم‌روباهی[3] از رشد *ریزوتونیا سولانی*، *میکروفومینا فازئولینا* و *فوزاریوم اکسیسپوروم* جلوگیری کردند که در این بین اثر مهارکنندگی ارزن مرواریدی بالاتر بود [۳۴]. ویسووانث و همکاران (۲۰۰۹)، نیز نشان دادند اسیدهای فنولیک حاصل از پوست دانهٔ ارزن انگشتی[4] اثر ضد میکروبی قوی‌تری علیه *باسیلوس سرئوس* و *آسپرژیلوس فلاووس* نسبت به آرد کامل آن دارند [۳۵].

۳-۷- ارزیابی حسی (پذیرش کلی)

بر اساس جدول ٦ اثر تیمار و مدت زمان نگهداری بر روی پذیرش حسی نمونه‌های ماست معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). در بین تیمارهای مورد بررسی، در روزهای ۱ و ۷ نگهداری، ماست ارزن ۲۰٪ کمترین پذیرش حسی را داشته و پذیرش ماست‌های شاهد، ارزن ۱۰٪ و ارزن ۱۵٪ تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند (P>۰/۰۵) و بالاترین امتیاز حسی را کسب کردند. در روزهای ١٤ و ۲۱ام نگهداری، بیشترین امتیاز حسی را ماست ارزن ۱۰٪ و کمترین امتیاز را ماست ارزن ۲۰٪ کسب نمودند. از جمله عوامل موثر بر پذیرش حسی ماست، اسیدیته و pH محصول است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که ماست‌های با اسیدیته‌ی بالاتر، پذیرش حسی پایین‌تری را داشته‌اند [۳٦] که این امر در مورد نمونه ماست ارزن ۲۰٪ صادق می‌باشد.

در طی مدت زمان نگهداری، به‌جز ماست ارزن ۱۰٪ که پذیرش کلی آن در تمام زمان‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌دار نداشت (P>۰/۰۵) و ثابت بود، پذیرش کلی نمونه شاهد و ماست‌های ارزن ۱۵ و ۲۰ درصد به طور معنی‌داری با گذشت زمان کاهش یافت (P<۰/۰۵). افزایش اسیدیته حاصل از فعالیت باکتری‌های ماست از عوامل موثر بر کاهش مطلوبیت حسی با گذشت زمان است.

1. Proso millet
2. Barnyard millet
3. Foxtail millet
4. Finger millet

Table 6 Sensory properties (total acceptance) of samples during storage time

Samples	Days of storage			
	1	7	14	21
Control yogurt	3.90±0.31^{Aa}	3.70 ±0.48 ^{Aa}	3.50 ±0.52 ^{Ab}	3.00 ±0.47 ^{Bb}
10% millet yogurt	4.00 ±0.00^{Aa}	3.90 ±0.31^{Aa}	4.00 ±0.00^{Aa}	3.80 ±0.42^{Aa}
15% millet yogurt	3.90 ±0.31^{Aa}	3.80 ±^{Aa} 0.42^{Aa}	3.10 ±0.31^{Bc}	2.70 ±0.67^{Bb}
20% millet yogurt	2.50 ±0.52^{Ab}	2.10 ±0.31 ^{ABb}	1.80 ±0.63 ^{BCd}	1.40 ±0.51^{Cc}

*A-D: Means with different superscripts in the same row differ significantly (P<0.05)
** a-d: Means with different superscripts in the same column differ significantly (P<0.05)

٤- نتیجه‌گیری

هرچند جایگزینی شیر ارزن با شیر منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته ماست‌های حاوی شیر ارزن شد اما به طور موثری زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* را افزایش داد، به‌طوری که تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5* زنده در پایان مدت زمان نگهداری ۲۱ روز در تیمارهای حاوی شیر ارزن بیشتر از ۱۰^{٦} CFU/ml بود در حالی که در ماست شاهد CFU/ml ۱۰^{٤} بود، بنابراین تمام ماست‌های حاوی شیر ارزن تا پایان مدت زمان نگهداری حداقل تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* زنده برای پروبیوتیک بودن محصول (۱۰^{٦}CFU/ml) طبق استاندارد FIL/IDF را دارا بودند. با توجه به اهمیت ارزیابی حسی در انتخاب یک فرمول بهینه، نمونه حاوی ۱۰٪ شیر ارزن که مقبولیت مصرف کننده را فراهم کرده و همچنین تامین کننده اهداف حداقل درمانی محصولات پروبیوتیک است، به عنوان بهترین فرمول انتخاب گردید. البته با افزودن ماده خشک، مواد پایدار کننده و طعم دهنده می‌توان از درصدهای بالاتر شیر ارزن در تهیه ماست پروبیوتیک استفاده کرد.

٥- منابع

[1] Hayaloglu, A. A., Karabulut, I., Alpaslan M. and Kelbaliyev, G. (2007). Mathematical modeling of drying characteristics of strainedyoghurt in a convective type tray-dryer. Journal of Food Engineering, 78: 109–117.

[2] Hamann, W. T. and Marth, E. H. (1984). Survival of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in commercial and experimental yogurts. Journal of Food Protection, 47: 781–786.

[3] Lourens-Hatting, A. and Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal, 11: 1-17.

[4] Hughes, D. B. and Hoover, D. G. (1991). Bifidobacteria: Their potential for use in American dairy products. Journal of Food Technology, 45: 74–83.

[5] Yeganehzad, S., Mazaheri Tehrani, M., Shahidi, F. and Zayerzadeh, A. (2009). Effect of soy milk on the viability of *Lactobacillus acidophilus* and physico-chemical and organoleptic characteristics of probiotic yogurt. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16(1): 165-173. (In Farsi)

[6] Lankaputhra, W. E. V. and Shah, N. P. (1995). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium spp*. in the presence of acid and bile salts. Cultured dairy products journal, 30: 2-7.

[7] Lankaputhra, W. E. V., Shah, N. P. and Britz, M. L. (1996). Survival of bitidobacteria during refrigerated storage in the presence of acid and hydrogen peroxide. Milchwissenschaft, 51: 65-70.

[8] Rajiv, I. and Negendra, P. Sh. (1997). Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurts Made from Commercial Starter Cultures. International Dairy Journal, 7: 31-41.

[9] Guarner, F. (2008). Probiotics and prebiotics. world Gastroenterology Organisation Practice Guideline, 1-22.

[10] Crittenden, R., Bird, A. R., Gopal, P., Henriksson, A., Lee, Y. K. and Playne, M. J. (2005). Probiotic research in Australia, new Zealand and the Asia – Pacific region. Journal of Current Pharmaceutical Design, 11: 37-53.

[11] Ahmadou, I., Gounga, M. and Gou-Wei, L. (2013). Millets: Nutritional composition, some health benefits and processing. Food Science and Nutrition, 25: 501-508.

[12] Mal, B., Padulosi, S. and Ravi, S. B. (2010). Minor millets in South Asia:

learnings from IFAD-NUS Project in India and Nepal, Maccarese, Rome, Italy: Bioversity International, & Chennai, India: M.S. Swaminathan Research Foundation.

[13] Singh, P. and Raghuvanshi, R. S. (2012). Finger millet for food and nutritional security. African Journal of Food Science, 6: 77–84.

[14] Ragaee, S., Abdel-Aal, E. M. and Noaman, M. (2006). Antioxidant activity and nutrient composition of selected cereals for food use. Food Chemistry, 98: 32–38.

[15] Vasudha, S. and Mishra, H. N. (2013). Non dairy probiotic beverages. International Food research Journal, 20: 7-15.

[16] Hassan, A. A., Aly, M. M. and El-Hadidie, S. T. (2012). Production of cereal-based probiotic beverages. World Applied Sciences Journal, 19: 1367-1380.

[17] Mohammadi, R., Rouzitalab, A., Shahabbaspour, Z. and Mortazavian, A. M. (2013). Study of microbiological, biochemical and organoleptic properties in the probiotic soy yoghurt. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(5): 149-158. (In Farsi)

[18] Bekers, M., Marauska, M., Laukevics, J., Grube, M., Vigants, A., Karklina, D., Skudra, L. and Viesturs, U. (2001). Oats and fat-free milk based functional food product. Food Biotechnology, 15: 1-12.

[19] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2006). Milk and milk products-Determination of titrable acidity and value pH-Test method. ISIRI no 2852. 1st Revision, Karaj: ISIRI; (In Farsi).

[20] Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P. and Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stored frozen sheep's milk. Food Chemistry, 77: 413-420.

[21] Denin Djurdjevic, J., Macej, O. and Jovanovic, S. (2002). Viscosity of set- style yogurt as influenced by heat treatment of milk and added demineralized whey powder. Journal of Agricultural Science, 47: 45-56.

[22] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1992). Probiotic yogurt-Specifications and test methods. ISIRI no 11325. 1st Revision, Karaj: ISIRI; (In Farsi).

[23] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2004). Yogurt – Enumeration of characteristic microorganisms – Colony count technique at 37 degree C. ISIRI no 7714. 1st Revision, Karaj: ISIRI; (In Farsi).

[24] Marshal, R. T. (1992). Standard methods for the examination of dairy products. (16th ed). American public health Association.

[25] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2003). Yogurt-Specifications and test methods. ISIRI no 695. 4st Revision, Karaj: ISIRI; (In Farsi).

[26] Perrin, S., Fougnies, C., Grill, J. P., Jacobsm, H. and Schneiderm, F. (2002). Fermentation of chicory fructo-oligosaccharides in mixtures of different degrees of polymerization by three strains of *bifidobacteria*. Canadian Journal of Microbiology, 48: 759–63.

[27] Ladjevardi, Z. S., Yarmand, M. S., Emam-jome, Z. and Niasari-Naslaji, A. (2015). Study on the feasibility of functional synbiotic yoghurt producted from camel milk and oat β-glucan. Iranian Journal of Biosystem Engineering, 46(2): 105-116. (In Farsi)

[28] Masoud, R., Fadaie Noghani, V. and Khosravi-Darani, K. (2014). Effect of high pressure and homogenization process on physico-chemical properties of Low-fat probiotic yogurt. Iranian Journal of Food Science and Novel Technologies, 5(2): 39-48. (In Farsi)

[29] Tamime, A.Y. (2006). Fermented Milks. Blackwell Publishing. United Kingdom. Pp. 65-78.

[30] Chieh Wang, Y., Chui Yu, R. and Chun, C. C. (2002). Growth and survival of *bifidobacteria* and lactic acid bacteria during the fermentation and storage of cultured soymilk drinks. Food Microbiology, 19: 501-508.

[31] Kurmann, J. A. and Rasic, J. L. (1991). The health potential of products containing bifidobacteria. Pp. 117–158. In Robinson RK (ed). Therapeutic properties of fermented milks. Elsevier Applied Sciences, London.

[32] Yasamani Farimani, T., Khamiri, M. and Mazaheri Tehrani, M. (2009). Effect of soy milk on the survival of the *lactobacillus Acidophilus* bacteria during Probiotic yoghurt drink storage. Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 16: 423-429. (In Farsi)

[33] Alirezalu, K., Hessari, J., Sadegi, M. and Bek Mohammad pur, M. (2015). Study on production of colored functional yogurt enriched with blackberry and carrot extracts. Innovative Food Technologies, 10: 53-64. (In Farsi)

[34] Saleh, A. S. M., Zhang, Q., Chen, J. and Shen, Q. (2013). Millet Grains: Nutritional Quality, Processing, and Potential Health Benefits. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 12: 281-295.

[35] Viswanath, V., Urooj, A. and Malleshi, N. G. (2009). Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of finger millet polyphenols (*Eleusine coracana*). Food Chemistry, 114: 340–346.

[36] Speck, M. L. (1983). Evidence of value of live starter culture in yogurt. Journal of cultured dairy products, 18: 25.

Effect of adding millet milk on viability of *Lactobacillus acidophilus LA-5*, starter bacteria and some physicochemical characteristics of the probiotic yogurt

Forgani, S. [1], Peighambardoust, S. H. [2*], Hesari, J. [2], Rezai Mokarram, R. [3]

1. MSc graduated, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
2. Professor of Food Technology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz
3. Assistant Prof. of Food Microbiology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

(Received: 2016/05/15 Accepted:2017/10/14)

Using food for transferring the probiotic bacteria has been considered by food scientists for decades. To promote health benefits of probiotic bacteria they must be kept alive before they reach the large intestine. Therefore, methods for preserving probiotics should be adopted. Among different methods, application of prebiotics substances is consideredin many formulations. Millet milk, in addition to being nutritious, can be used as a prebiotic source because of its soluble and insoluble fibers and resistant starch. Thus, the aim of this study is to investigate the application of millet milk in the production of functional yogurt. In this study, the replacement of 0, 10, 15 and 20% (v/v) millet milk with low-fat milk (2.5%) was performed and its effect on the viability of *Lactobacillus acidophilus LA-5* and starter cultures bacteria *(Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) as well as the physicochemical properties of yogurt was investigated during 21 days of storage. The results showed that the replacement of millet milk caused a decrease in pH and viscosity, as well as acidity, but the viability of *Lactobacillus acidophilus LA-5* bacteria increased. Generally, in all samples, total count of probiotic bacteria and starter cultures and pH were reduced and acidity was increased upon storage. Among all treatments, yogurt containing 10% millet milk was selected as the best treatment because of its higher organoleptic acceptance.

Keywords: Millet, Probiotic yogurt, *Lactobacillus acidophilus LA-5*, Starter cultures

* Corresponding Author Email Address: peighambardoust@tabrizu.ac.ir