



بهینه سازی زنده مانى لاکتوباسیلوس کازئى LAFIT-L26 و خصوصیات فیزیکیوشیمیایی ماست فراسودمند طعم دار قالبی حاوی شیر انگور

مینارضا ثیان^۱، صابرامیری^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی صبا، ارومیه، ایران
۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	در این پژوهش اثر افزودن شیر انگور و زمان نگهداری بر زنده مانى لاکتوباسیلوس کازئى و ویژگی های فیزیکیوشیمیایی، میکروبی و حسی ماست قالبی با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار شیر انگور در محدوده ۰-۵ درصد و زمان در محدوده ۱-۲۱ روز بود. نتایج تجزیه آماری داده ها نشان داد که با افزایش شیر انگور و گذشت مدت زمان نگهداری تعداد لاکتوباسیلوس کازئى به ترتیب افزایش و کاهش یافت ($p < 0/05$). با افزایش مقدار شیر انگور درصد رطوبت و اسیدیته کاهش و مقدار خاکستر، pH و آب اندازی افزایش یافت ($p < 0/05$). با گذشت زمان نگهداری در ماست مقدار pH نمونه ها کاهش و اسیدیته و آب اندازی افزایش یافت ($p < 0/05$). نتایج آزمون میکروبی نشان داد با افزایش شیر انگور و زمان نگهداری، تعداد کپک ها کاهش یافت ($p < 0/05$). با توجه به نتایج ارزیابی حسی نیز با افزایش مقدار شیر انگور امتیاز رنگ، طعم و بافت افزایش یافت ($p < 0/05$). بر اساس آزمایشات انجام شده شرایط بهینه برای تولید بیوماست، مقدار شیر انگور ۵ درصد و زمان نگهداری حدود ۷ روز تعیین گردید.
تاریخ دریافت: ۹۹/۰۷/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۱/۱۸	
کلمات کلیدی: بیوماست، شیر انگور، ویژگی های کیفی، لاکتوباسیلوس کازئى LAFIT-L26، زنده مانى.	
DOI: 10.52547/fsct.18.05.17	
* مسئول مکاتبات: St_sa.amiri@urmia.ac.ir	

۱- مقدمه

به طور کلی جمعیت میکروبی در دستگاه گوارش انسان با تغذیه خوب و سالم در ارتباط است. عواملی مانند استرس و رژیم غذایی نامناسب باعث تاثیر منفی بر میکروارگانیسم‌های روده‌ای و سلامت انسان می‌شوند. امروزه اکثر مصرف کنندگان علاوه بر سالم بودن غذا و ارزش تغذیه‌ای آن، به اثرات سلامت بخشی آن نیز توجه دارند. چنین خصوصیتی را در گروه جدیدی از غذاها تحت عنوان غذاهای عملگرا^۱ می‌توان یافت که حاوی ترکیبات زیست فعال مانند باکتری‌های پروبیوتیک هستند [۱]. در سال‌های اخیر، باکتری‌های پروبیوتیک به طور چشمگیری به عنوان مکمل در رژیم غذایی گنجانده شده است. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر در مقادیر کافی مصرف شوند برای میزبان تاثیر سودمندی دارند و به تعادل فلور میکروبی روده کمک می‌کنند. اثر بخشی غذاهای پروبیوتیک زمانی است که میکروارگانیسم‌های مذکور تا زمان مصرف مواد غذایی حامل، از بقای مناسبی برخوردار باشند و پس از هضم نیز با تحمل شرایط نامناسب معده و صفرا به روده برسند [۲]. در یک محصول پروبیوتیک حداقل تعداد پیشنهادی باکتری پروبیوتیک بیشتر از $10^6 - 10^7$ cfu/ml می‌باشد [۲]. از اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها می‌توان به بهبود هضم لاکتوز، بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها، جلوگیری از رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های بیماری زا، بهبود تعادل میکروبی روده و افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره کرد [۳].

شیره انگور از جمله طعم دهنده‌هایی است که می‌توان از آن در تولید انواع ماست‌های طعم‌دار استفاده کرد. این ترکیب از انگورهای سالم و رسیده درخت انگور (*Vitis vinifera*) به روش‌های فیزیکی و در دو نوع شیره انگور قرمز و شیره انگور سفید تولید می‌شود. این محصول حاوی مواد معدنی به ویژه کلسیم و آهن بوده و منبع غنی از منوساکاریدهای گلوکز و فروکتوز می‌باشد. ترکیبات آب انگور به جز فیبرها و روغن‌های هسته، تقریباً مشابه انگور است. شیره انگور حاوی اسید تارتاریک، مالیک، سیتریک و همچنین ویتامین‌های تیامین، اسکوربیک اسید، بیوتین، نیاسین، فولیک اسید و پانتوتیک اسید می‌باشد. امروزه شیره انگور تغلیظ شده به عنوان شیرین‌کننده محصولات غذایی کاربرد زیادی دارد، به طوریکه در تولید انواع مربا، ژله، ماست، کوکی و دیگر محصولات نانوایی می‌تواند به عنوان جایگزین شکر استفاده گردد [۴].

اکبری و همکاران (۱۳۹۸) پژوهشی را برای دستیابی به مقادیر بهینه شیره خرما در تولید ماست بدون چربی انجام دادند. آنها در ۵ تیمار ماست در ۳ تکرار از شیر کامل، شیر بدون چربی و افزودن شیرخرما با نسبت‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد حجمی به شیر بدون چربی تولید کردند. تیمارهای تولید شده ماست در طی ۲۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و بافتی (سختی، کشسانی، چسبندگی و پیوستگی) آن‌ها در روزهای اول، هشتم، پانزدهم و بیست و دوم انبارداری مورد آزمایش قرار گرفت. نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نشان داد که افزایش شیره‌خرما در تیمارهای ماست موجب کاهش در اسیدیته، ویسکوزیته و ظرفیت نگهداری آب و افزایش pH و آب‌اندازی شد. افزایش مقدار شیره خرما در تیمارهای ماست، ویژگی‌های حسی شامل ظاهر و رنگ، بافت و قوام و عطر و طعم کاهش یافت. افزایش مقدار شیره خرما موجب کاهش در پارامترهای سختی، پیوستگی و چسبندگی و افزایش در پارامتر کشسانی در تیمارهای ماست دارای شیره خرما شد. در مجموع، استفاده از ۵ درصد حجمی شیره‌خرما به جای چربی شیر در فرمولاسیون ماست، منجر به تولید بهترین تیمار ماست بدون چربی از نظر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، بافتی و حسی گردید [۵]. زمردی و همکاران (۱۳۹۴) تاثیر فیبر سیب و گندم در غلظت‌های مختلف آن بر قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و رئولوژیکی ماست سین بیوتیک در طول ۲۹ روز نگهداری در دمای 5 ± 1 درجه سانتی‌گراد را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه حاوی ۵٪ درصد فیبر به ترتیب با یک و ۰/۵ سیکل لگاریتمی کاهش و به ۶ و ۶/۸۵ سیکل لگاریتمی رسید. در حالی که نمونه حاوی ۱ درصد فیبر با ۰/۲۵ سیکل لگاریتمی افزایش از ۷/۳۳ به ۷/۶ سیکل لگاریتمی رسید. این افزایش در نمونه‌های حاوی فیبر گندم به طور غیر معنی‌داری بیشتر از فیبر سیب بوده است. همچنین با افزایش مقدار هر دو فیبر امتیاز رنگ و طعم نمونه‌های ماست به طور معنی‌داری کاهش یافت که این کاهش در تیمارهای حاوی فیبر سیب بیشتر بود. در کل بین تیمارهای حاوی فیبر، ماست حاوی نیم درصد فیبر گندم بهترین تیمار از نظر رنگ و طعم رادارا بودند و لذا استفاده از فیبر گندم با غلظت نیم درصد علاوه بر بهبود ویژگی‌های بافتی و شیمیایی ماست، رضایت مصرف کننده را نیز می‌تواند بدنبال داشته باشد [۶]. زاهدی و همکاران (۱۳۹۲) از طریق غنی سازی ماست با بتا فلاونوئید و روغن استخراجی

1. Functional

اندازی ماده طعم دهنده بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک پژوهش کمی صورت گرفته است. با توجه به اهمیت توسعه فرمولاسیون جدید محصولات لبنی عملگرا، هدف از این مطالعه تعیین شرایط بهینه برای تولید ماست قالبی طعم دار فراسودمند با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی LAFTI-L26 و شیره انگورو همچنین بررسی خواص کیفی آنمی‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد استفاده

شیر تازه گاو از مرکز جمع آوری شیر در ارومیه خریداری شد (جدول ۱). شیره انگور از بازار سنتی ارومیه خریداری شد و سپس در یک ظرف شیشه‌ای استریل در یخچال نگهداری گردید. مشخصات شیره انگور در جدول ۱ آورده شده است. شیر خشک بدون چربی از شرکت صنایع غذایی گلشاد مشهد (شیدر) تهیه شد. استارتر تجاری ماست حاوی گونه‌های استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و همچنین باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی LAFTI-L26 تولیدی شرکت DSM استرالیا از شرکت آنزیم‌های صنعتی خریداری گردید. پیتون واتر، محیط کشت MRS Agar و محیط کشت سابروکستروز آگار تولیدی شرکت مرک آلمان بودند.

Table 1 Characteristics of raw milk and grape syrup

Characteristics	Raw milk	Grape syrup
pH	6.60±0.01	5.05±0.01
Acidity (%)	0.16±0.01	0.28±0.01
Fat content (%)	3.50±0.01	-
Moisture (%)	89.78±0.02	-
Brix (°B)	-	78.41±0.21
Density (g/cm ³)	1.030±0.003	-

۲-۲- تهیه بیوماست قالبی

ابتدا شیر تا دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد گرم و میزان ماده خشک آن با افزودن ۲ درصد شیر خشک بدون چربی تنظیم شد. شیر در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه شد. سپس تا دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد سرد و استارترهای ماست و لاکتوباسیلوس کازئی (بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده آن) اضافه و مخلوط گردید. در نهایت طبق طرح آزمایشی شیره انگور به نمونه‌های ماست افزوده شد و پس از مخلوط کردن در ظروف استریل پُر و دربندی گردید. سپس در

از پوست پرتقال و بررسی قابلیت زنده ماننی باکتری‌های آغازگر در ماست تولیدی در طی زمان نگهداری ۱۱ روزه به این نتیجه رسیدند که افزایش میزان روغن اثر منفی بر رشد باکتری‌های آغازگر ماست، استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس داشت از طرفی اسیدیته کاهش و pH افزایش یافت [۷]. عظیمی محله و همکاران (۱۳۹۱) تاثیر افزودن فیبر پرتقال بر ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی، رئولوژیکی و حسی ماست توت فرنگی با استفاده از روش سطح پاسخ بررسی کردند. مقدار فیبر در محدوده ۰-۱/۲ درصد و زمان نگهداری در محدوده ۳-۹ روز بود. نتایج تجزیه آماری نشان داد با افزایش مقدار فیبر، ماده خشک و ویسکوزیته به طور معنی داری افزایش و آب اندازی کاهش پیدا کرد، در حالی که تاثیر آن بر اسیدیته و pH نمونه‌ها معنی دار نبود [۸]. کوشش (۱۳۹۲) تاثیر افزودن آب انار در مقادیر ۱۳ و ۱۷ درصد بر ماست قالبی و همزده را مورد بررسی قرار داد. نتایج این تحقیق نشان داد که افزودن آب انار موجب افزایش میزان آب اندازی، اسیدیته، پارامتر قرمزی، میزان ترکیبات فنولی، میزان محتوای فلاونوئیدی شد، اما موجب کاهش در pH، پارامتر روشنایی و زردی گردید. طی دوره نگهداری نیز آب اندازی، اسیدیته، پارامتر روشنایی و میزان محتوای فلاونوئیدی افزایش در حالی که میزان ترکیبات فنولی، pH، پارامتر زردی و قرمزی کاهش یافت. همچنین افزودن آب انار موجب کاهش معنی دار در میزان زنده‌مانی بیفیدوباکتر انیمالیس زیرگونه لاکتیس-BB-12 شد [۹].

نکته حائز اهمیت در تولید فرآورده‌های پروبیوتیک آن است که امکان بقای تعداد زیادی از پروبیوتیک‌ها در طی نگهداری وجود داشته باشد [۱۰ و ۱۱]. مطالعات زیادی در رابطه با افزودن پروبیوتیک‌ها به محصولات لبنی صورت گرفته است و گزارش کرده‌اند که اثر مثبتی هم در رشد باکتری‌های پروبیوتیک و هم ویژگی‌های حسی، رئولوژیکی و فیزیکی‌شیمیایی آنها دارد. با توجه به خصوصیات شگفت‌انگیز انگور که به عنوان یک پری بیوتیک طبیعی نقش ایفا می‌کند، غنی سازی مواد غذایی یکی از مهم ترین فرایندها برای بهبود کیفیت مواد مغذی است. با توجه به نرخ مصرف بالای محصولات لبنی مانند ماست، غنی سازی این محصولات در کاهش و یا جلوگیری از بیماری‌های مرتبط با کمبودهای تغذیه ای موثر واقع می‌شود [۱۲-۱۴]. در رابطه با تولید و فرمولاسیون ماست پروبیوتیک، مطالعه‌های زیادی شده است ولی در مورد تولید ماست سین‌بیوتیک به ویژه نوع طعم دار و اثرات آب

۲-۸- آب اندازی

برای این آزمون، ابتدا نمونه‌های ماست به خوبی هم زده و یکنواخت شدند. سپس ۲۵ گرم ماست روی کاغذ صافی واتمن شماره ۴۳ داخل قیف شیشه ای ریخته شده و به مدت ۲ ساعت در یخچال با ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شدند. در نهایت وزن مایع جمع شده در ظرف شیشه ای از وزن ظرف شیشه ای خالی کسر شده و نتایج با استفاده از رابطه زیر به صورت درصد بیان شدند [۶].

$$\text{Syneresis (\%)} = (V_1/V_2) \times 100$$

V1: حجم آب شده و V2: حجم اولیه نمونه برحسب میلی لیتر

۲-۹- شمارش کپک‌ها

برای شمارش تعداد کپک‌ها از روش کشت سطحی و محیط کشت ساپرووددکستروز آگار استفاده گردید. از رقت های ۰/۱ و ۰/۰۱ به سطح پلیت‌ها اضافه شده و پس از همزدن با میله L شکل استریل، پلیت‌ها به مدت ۳ تا ۵ روز در شرایط هوایی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید [۷].

۲-۱۰- ارزیابی حسی

قوام، رنگ و طعم نمونه های ماست توسط گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف کننده و روش هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. از هر تیمار تعداد ۱۵ نمونه یکسان تهیه و همراه با فرم مخصوصی که دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه ای بود به داوران داده شد تا با توجه به ذائقه خود فرم‌ها را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت مطلوب و امتیاز یک برای کیفیت نامطلوب اختصاص داده شد. داوران برای شستشوی دهان خود بین نمونه‌ها از آب معدنی استفاده کردند. در بین فرم‌های تکمیل شده شامل ارزیابی کلی مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی درآورده شد و مطابق طرح آزمایشی آنالیز گردید [۱۵].

۲-۱۱- طرح آزمایشی و آنالیز آماری

در این تحقیق، از روش سطح پاسخ (RSM) و از طرح مرکب مرکز چهره-محور^۳ (CCF) استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل شیره انگور و زمان نگهداری در ۳ سطح می‌باشد. سطوح متغیرها و طراحی آزمون‌ها در جدول ۲ آمده است. مطابق جدول ۲ تعداد نمونه های آزمایش برابر ۱۳ عدد بود که در این میان ۵ آزمون تکرار در نقطه مرکزی بود و از این نقاط

گرمخانه با دمای ۴۳ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت تا pH به ۴/۶ برسد [۶].

۲-۳- شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

برای این منظور از روش پورپلیت استفاده شد. جهت تهیه رقت ۰/۱، مقدار ۵ گرم از نمونه ماست به ۴۵ میلی‌لیتر آبپتون ۰/۱ درصد استریل افزوده شد. سری بعدی رقت‌ها با افزودن یک میلی‌لیتر از هر رقت به ۹ میلی‌لیتر آبپتون ۰/۱ درصد استریل تهیه گردید. برای شمارش لاکتوباسیلوس کازئی از محیط کشت MRS آگار حاوی ۴ درصد نمک صفراوی استفاده شد. پس گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت، تعداد کلنی‌ها در هر پلیت شمارش شد [۳].

۲-۴- اندازه گیری میزان رطوبت

برای تعیین رطوبت مقدار ۵ تا ۱۰ گرم نمونه با دقت یک دهم میلی گرم در ظرف مخصوص رطوبت که قبلاً به وزن ثابت رسیده بود توزین شد و به آون با دمای 103 ± 2 درجه سانتی‌گراد منتقل گردید و تا حصول وزن ثابت خشک شد. سپس از روی اختلاف وزن قبل و بعد از خشک‌کردن، درصد رطوبت محاسبه گردید [۶].

۲-۵- خاکستر

برای این منظور، حدود ۵ گرم نمونه در بوتله چینی که قبلاً با استفاده از کوره الکتریکی در دمای 550 ± 5 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شده و به وزن ثابت رسیده بود ریخته شده و سپس به مدت ۵ الی ۶ ساعت در دمای 550 ± 5 درجه سانتی-گراد حرارت داده شد. سپس از روی اختلاف وزن قبل و بعد، درصد خاکستر محاسبه گردید [۷].

۲-۶- pH

برای اندازه گیری pH نمونه‌ها، ابتدا دستگاه pH متر با بافرهای ۷ و ۴ کالیبره شد. سپس الکتروود pH متر مستقیماً در داخل نمونه‌های ماست قرار گرفت و pH قرائت گردید. قبل از اندازه گیری، نمونه‌ها به طور یکنواخت هم زده شدند [۸].

۲-۷- اسیدیته

برای این منظور، حدود ۱۰ گرم از نمونه ماست در بشر توزین شد و با مقدار ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق شد. سپس با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا pH ۸/۳ تیترو گردید. درصد اسیدیته قابل تیتراسیون برحسب اسید لاکتیک محاسبه شد [۹].

$$\text{Acidity (\%)} = (N \times 0.009 \times 1000) / V$$

N: حجم سود مصرفی (میلی لیتر) و V: حجم نمونه ماست (۱۰ میلی لیتر)

2. Response Surface Method (RSM)

3. Face-Centered Central Composite (CCF)

در این فرمول Y پاسخ پیش بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1 و β_2 اثرات خطی، β_{11} و β_{22} اثر مربعات و β_{12} اثر متقابل می باشد.

برای تعیین خطای آزمایش استفاده شد. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{12} X_1 X_2$$

Table 2 Matrix of Experiments based on the central composite design (face centered) with two variables and the microbial and physicochemical properties of functional flavored set yogurt

Run	F 1 A:Grape syrup (%)	F 2 B:Storage time (Day)	R 1 N L. casei (Log CFU/g)	R 2 Moisture (%)	R 3 Ash (%)	R 4 pH	R 5 Acidity (%)	R 6 Syneresis (%)	R 7 Mold (CFU/g)	R 8 Color	R 9 Flavor	R 10 Texture
1	2.5	11	6.1	87.59	2.99	4.5	0.75	39	10	5	5	5
2	5	21	5.2	85.92	3.71	4.3	0.77	33.5	40	4	2	3
3	2.5	11	6.3	87.59	2.99	4.5	0.75	39	10	5	5	5
4	2.5	1	6.5	87.5	2.73	4.6	0.73	38.4	0	5	5	5
5	2.5	21	5.1	87.99	2.99	4.2	0.81	39.8	40	4	3	4
6	0	1	6	89.63	1.49	4.5	0.75	44	0	4	4	4
7	2.5	11	6	87.59	2.99	4.5	0.75	39	10	5	5	5
8	5	1	7	85.19	3.49	4.7	0.71	31.5	0	5	5	5
9	2.5	11	6.2	87.59	2.99	4.5	0.75	39	10	5	5	5
10	2.5	11	6.1	87.59	2.99	4.5	0.75	39	10	5	5	5
11	0	11	5.8	89.79	1.53	4.4	0.77	46	10	4	4	4
12	5	11	5.4	85.32	3.59	4.6	0.72	32.1	10	4	4	5
13	0	21	5	89.85	1.59	4.1	0.85	48	20	4	3	3

F: Factor, R: Response

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تاثیر تیمارها بر زنده مانی لاکتوباسیلوس

کازئی

نتایج نشان داد که تاثیر زمان نگهداری بر میزان لاکتوباسیلوس کازئی معنی دار بود ($p < 0.05$). کانتور پلات تغییرات لاکتوباسیلوس کازئی در شکل ۱ آورده شده است. R^2 (ضریب تبیین) و R^2_{Adj} (ضریب تبیین اصلاح شده) بالاتر از ۷۰ درصد و همچنین عدم برازش^۴ غیر معنی دار نشان دهنده این است که داده‌های آزمایش با مدل به خوبی تطبیق داشته و مدل دارای اهمیت بالایی است. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود میزان ضریب تبیین به دست آمده تایید کننده مناسب بودن معادله پیشگویی به دست آمده در پیشگویی پاسخها می باشد. همانطوریکه از شکل ۱ مشاهده می‌شود تعداد لاکتوباسیلوس کازئی با افزایش میزان شیره انگور، افزایش و با گذشت زمان کاهش مییابد. بیشتر مطالعات حاکی از پایین بودن زنده مانی پروبیوتیکها در ماست با گذشت زمان

می‌باشد [۱۶و۱۵]. این محققین بالا بودن میزان اسیدیته و پایین بودن نسبی pH ماست را علت اصلی کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری می‌دانند [۱۷]. در بررسی حاضر تعداد لاکتوباسیلوس کازئی در طول تهیه و نگهداری ماست کاهش یافت که در تطابق با نتایج این محققان است. در حالیکه Kailasapathy و چین (۲۰۰۰) در خصوص لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس گزارش کردند در پایان دوره نگهداری در ماست تعداد این پروبیوتیکها بالاتر از حد قابل قبول بود [۱۶]. Donkor و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که گونه‌های لاکتوباسیل از جمله لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی پایداری سلولی خوبی در حفظ زنده مانی خودشان در طول ۳۸ روز نگهداری در ماست نشان دادند که با نتایج این بررسی مطابقت ندارد. علت این اختلاف شاید مربوط به نوع ماست مورد استفاده باشد [۱۸]. مطالعات اخیر گزارش کرده اند که یکی از فاکتورهای مهم در کاهش قابلیت زیستی سلولی، کاهش pH در طی نگهداری محصول و انباشته شدن اسیدهای آلی که نتیجتاً باعث تخمیر خواهد شد [۱۹].

4. Lake of fit

Arjmand (۲۰۱۱) گزارش کرد که افزایش کنسانتره آب انار تاثیر معنی داری بر جمعیت استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس نداشت اما تعداد پروبیوتیکها (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم BB12) بطور معنی داری کاهش یافت [۲۴].

۲-۳- تاثیر تیمارها بر رطوبت

قسمت اعظم ترکیبات مواد غذایی را آب تشکیل می‌دهد. رطوبت نشان دهنده میزان آب موجود در مواد غذایی است که به راحتی توسط فشار و یا حرارت خارج می‌شود [۲۵]. با توجه به نتایج تاثیر شیره انگور و اثر متقابل آن با مدت زمان نگهداری بر میزان رطوبت معنی دار است ($p < 0.05$). شکل ۲ تاثیر متغیرها را بر مقدار رطوبت ماست نشان می‌دهد. همانطور که از شکل مشخص است با افزایش مقدار شیره انگور درصد رطوبت کاهش یافت. دلیل آن بالا بودن مواد جامد محلول شیره انگور می‌باشد. حسینین و همکاران (۲۰۱۴) نیز نتایج مشابهی را گزارش کردند. آب میوه جات حاوی ۸۴/۴ درصد آب، مقدار قابل توجهی مواد جامد محلول، قندهای احیا کننده، آنتوسیانین، ترکیبات فنولی، اسیدآسکوربیک، پروتئین و آنتی اکسیدان می‌باشد [۲۱]. R^2 (ضریب تبیین) و R^2_{Adj} (ضریب تبیین اصلاح شده) بالاتر از ۷۰ درصد نشان دهنده این است که داده های آزمایش با مدل به خوبی تطبیق داشته و مدل دارای اهمیت بالایی است. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود میزان ضریب تبیین به دست آمده تایید کننده مناسب بودن معادله پیشگویی به دست آمده در پیشگویی پاسخها می‌باشد.

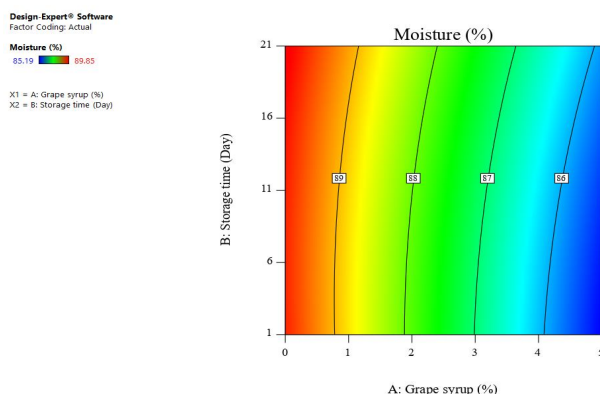


Fig 2 Contour plot the effect of variables on moisture content of functional flavored set yogurt

۳-۳- تاثیر تیمارها بر خاکستر

با توجه به نتایج، تاثیر شیره انگور، مدت زمان نگهداری و اثر

دلیل دیگر کاهش تعداد پروبیوتیک با افزایش عصاره آب میوه می‌تواند مربوط به بالا بودن ترکیبات فنلی آب انار باشد، زیرا ترکیبات فنلی موجب کاهش زنده‌مانی پروبیوتیکها می‌شوند. نالکایکیل و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که زنده مانی پروبیوتیکها به وجود بعضی پارامترهای آب اندازی و آنتی گونیستی بستگی دارد که در این خصوص ترکیبات فنلی نقش معنی داری بازی می‌کنند که pH اثر تعیین کننده دارد. پروتئینها و فیبرها، پروبیوتیکها را از محیط اسیدی حفاظت کرده در حالیکه ترکیبات فنلی موجب کاهش زنده‌مانی پروبیوتیکها می‌شوند [۲۰]. آب انار تازه حاوی مقدار قابل توجهی آنتوسیانین، ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدان می‌باشد. ترکیبات فنلی آب انار در حدود ۲۲۳۹/۲ - ۲۵۰۰ میلی گرم اسید گالیک در لیتر گزارش شده است [۲۱]. کوشش (۱۳۹۲) نیز گزارش کردند که افزودن آب انار به ماست قالبی و همزده موجب کاهش معنی دار در میزان زنده‌مانی بیفیدوباکتر انیمالیس زیرگونه لاکتیس BB12 شد که نتایج این بررسی را تایید می‌کند [۹]. در تحقیقی که توسط موسوی و همکاران (۲۰۱۱) با افزودن پروبیوتیکها به آب انار انجام شد، مشخص شد استفاده از لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در آمیوه‌های خیلی اسیدی مانند آب انار توصیه نمی‌شود. با اینحال، قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی (نگهداری یخچالی در زمان محدود) در آب انار نسبت به سایر سویه‌ها موفقیت آمیزتر بوده است [۲۲].

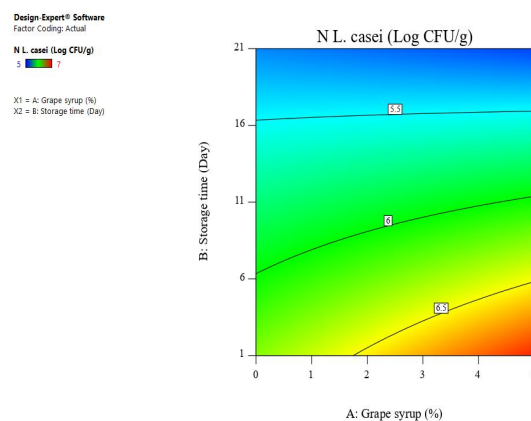


Fig 1 Contour plot the effect of variables on viability of *L casei* in functional flavored set yogurt

دینگ و شه (۲۰۰۹) نشان دادند که لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول نگهداری آب انار به مدت ۴ هفته از بین رفتند. نتایج حاصل از تحقیق حاضر با این تحقیقات مطابقت دارد [۲۳].

افزایش اسیدیته را می‌توان به فعالیت اسیدی سویه پروبیوتیک و استارتر تجاری نسبت داد. در طول نگهداری در تمام نمونه‌ها نیز به دلیل تولید اسید لاکتیک در ماست در اثر تخمیر لاکتوز توسط استارترها اسیدیته افزایش و pH کاهش یافت. زیرا لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس حتی در دمای یخچال نیز قادر به فعالیت هستند [۲۸-۳۲].

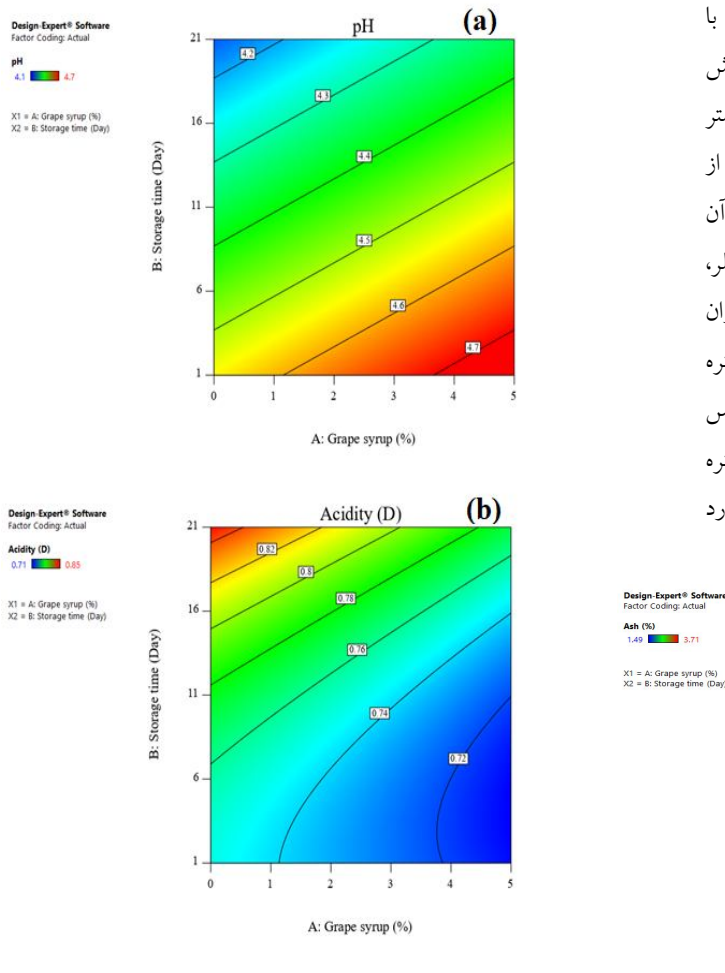


Fig 4 Contour plot the effect of variables on pH (a) and acidity (b) of functional flavored set yogurt

دیسای و همکاران (۲۰۰۴) گزارش کردند که بعضی از سویه‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قادر به تولید اسید استیک به عنوان محصول نهایی متابولیکی هستند که باعث افزایش اسیدیته که می‌شود [۳۳]. تمیم و رابینسون (۱۹۹۱) کاهش pH در طول مدت نگهداری را به فعالیت لاکتوباسیلوس بولگاریکوس نسبت داده‌اند [۳۴]. علت کاهش pH نمونه‌ها با گذشت زمان را، هیدرولیز لاکتوز به اسید لاکتیک به وسیله باکتری‌ها گزارش کرده‌اند. نتایج مشابهی توسط سایر محققان گزارش شده است [۳۵]. همچنین با افزایش شیره انگور اسیدیته کاهش و pH افزایش یافت. دلیل

متقابل آنها بر درصد خاکستر معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مدل نهایی دارای مقادیر ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالاتر از ۷۰ می‌باشد. بنابراین برای این ویژگی مدل مناسبی قابل پیشبینی بوده و بررسی این ویژگی قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی مورد آزمون را توجیه کند و در مراحل بعدی جهت پیشگویی و بهینه سازی بعنوان یک شاخص اصلی مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به شکل ۳ با افزایش شیره انگور مقدار خاکستر نمونه‌های ماست افزایش یافت. زیرا خاکستر شیره انگور در مقایسه با ماست بیشتر است. لانسکی و نیوتن (۲۰۰۷) گزارش کردند که آهن یکی از مواد معدنی غالب در آبمیوه‌ها است. سایر مواد معدنی آن شامل منیزیم، پتاسیم، روی، منگنز، کلسیم، کبالت، کروم، کبر، سدیم و مولیبدون و غیره می‌باشد [۲۶]. حسنین و همکاران (۲۰۱۴) نیز افزایش مقدار آهن و کلسیم را با افزایش کنسانتره انگور به ماست گزارش کردند [۲۱]. همچنین کاوس و کاوس (۲۰۱۶) افزایش خاکستر را در ماست در اثر افزایش کنسانتره آب انار گزارش نمودند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۲۷].

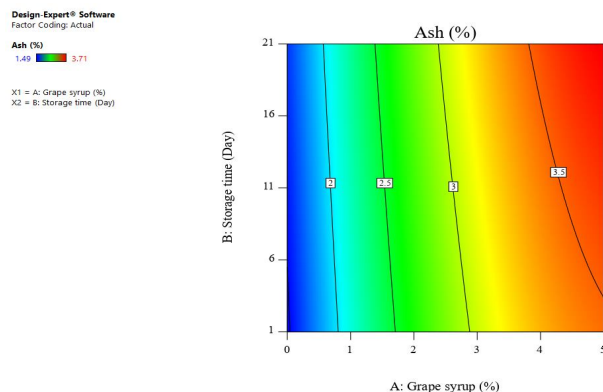


Fig 3 Contour plot the effect of variables on ash content of functional flavored set yogurt

۳-۴- تاثیر تیمارها بر pH و اسیدیته

با توجه به نتایج تاثیر شیره انگور، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل آنها بر pH و اسیدیته معنی‌دار بود ($p < 0.05$). مدل نهایی دارای ضریب تبیین، ضریب تبیین اصلاح شده بالاتر از ۷۰ می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که مدل نهایی بدست آمده، کار آمد بوده و قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی مورد آزمون را توجیه کند. همانطوریکه از شکل‌های ۴a و ۴b مشاهده می‌شود با گذشت زمان نگهداری در ماست مقدار pH نمونه‌ها کاهش و اسیدیته افزایش یافت. علت کاهش pH و

مدل نهایی در عدد F دارای سطح معنی داری بالایی می باشد. مدل نهایی دارای عدم برازش غیرمعنی دار، ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالا می باشد. نتایج نشان می دهد که مدل نهایی بدست آمده، کارآمد بوده و قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی های مورد آزمون را توجیه کند و حتی در مراحل بعدی پیشگویی و بهینه سازی بعنوان یک شاخص مورد استفاده قرار گیرد.

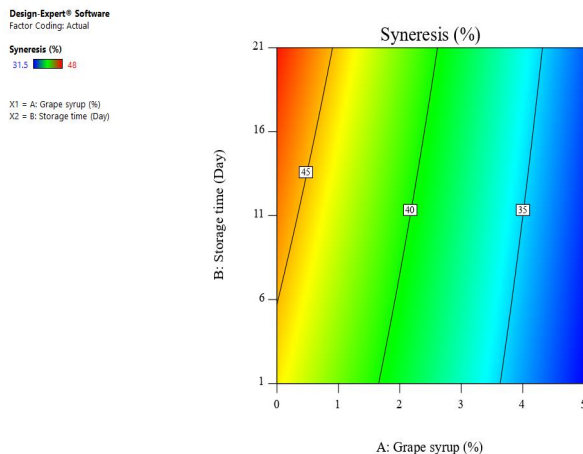


Fig 5 Contour plot the effect of variables on syneresis of functional flavored set yogurt

۶-۳- تاثیر تیمارها بر کپک ها

کپک زدگی سطح ماست یکی از معایبی است که در اثر عدم رعایت شرایط استریل در مراحل مختلف تولید ماست، بسته بندی نامناسب و ورود هوا به داخل بسته ایجاد می شود کپک ها در محیط اسیدی ماست می توانند رشد کنند و با کاهش اسیدیته زمینه را برای رشد مخمرها و باکتری ها مساعد سازند [۲۸]. تاثیر شیره انگور، زمان نگهداری و تاثیر متقابل تیمارها بر تعداد کپک ها در نمونه های ماست معنی دار بود ($p < 0.05$). چنانچه در جدول ۳ مشاهده می شود، ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالا و مطلوب می باشد. همانطوریکه از شکل ۶ مشاهده می شود تعداد کپک ها با افزایش شیره انگور کاهش با گذشت زمان نگهداری افزایش یافت. در واقع آبمیوه ها دارای فعالیت ضد قارچی می باشد. نتایج تحقیقات نشان می دهد زمانی که انار جهت غنی سازی ماست استفاده می شود دارای خاصیت ضد کپکی بیشتری است [۲۱]. الناگار و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که اثر ضد میکروبی آب انار بستگی به نوع رقم، ترکیبات فنلی، رنگدانه ها و اسید سیتریک موجود دارد [۳۸]. کیریلینکو و

این تغییرات مربوط به pH و اسیدیته شیره انگور است بطوریکه pH شیره انگور کمتر و اسیدیته آن بیشتر از ماست است. کوشش (۱۳۹۲) تاثیر افزودن کنسانتره انار بر ماست قالبی و همزه را مورد بررسی قرار داد. همچنین طی دوره نگهداری نیز اسیدیته، افزایش در حالی که کاهش یافت که نتایج این تحقیق را تایید می کند [۹]. افزایش اسیدیته و کاهش pH با افزایش کنسانتره انار به ماست در طول نگهداری توسط حسنین و همکاران (۲۰۱۴) و کاوس و کاوس (۲۰۱۶) گزارش شده است [۲۱ و ۲۷].

۳-۵- تاثیر تیمارها بر آب اندازی

نتایج نشان داد تاثیر مقدار شیره انگور، زمان نگهداری و اثر متقابل آنها بر میزان آب اندازی معنی دار است ($p < 0.05$). همانطوری که در شکل ۵ مشاهده می شود آب اندازی با افزایش شیره انگور و با گذشت زمان نگهداری به ترتیب کاهش و افزایش یافت. در طول نگهداری بافت ماست شلتر شده و آب متصل به پروتئین های آن آزاد می شود که تغییرات pH از حالت طبیعی نیز در این امر دخیل هستند و باعث دناتوره شدن ساختمان پروتئین ها می شوند [۲۸]. نتایج مشابهی نیز در ماست میوه ای محتوی مارمالاد میوه رسیده گل سرخ و پالپ خرما [۲۸ و ۲۹] و ماست حاوی پوره موز [۳۰] و ماست حاوی مارمالاد توت فرنگی [۳۴] گزارش شده است.

ثابت شده است که سرعت بالاتر اسیدی شدن، موجبات افزایش جداسازی آب سرم را به دنبال دارد [۳۶ و ۳۷]. لذا دلیل افزایش آب اندازی در اثر استفاده از شیره انگور را می توان به افزایش اسیدیته و کاهش pH نمونه ها نسبت داد. کاهش pH موجب تغییر فرم طبیعی پروتئین شده و در اثر دناتوره شدن پروتئین، آب متصل به آن آزاد شده و آب اندازی افزایش می یابد [۲۸]. افزایش آب اندازی در ماست با افزایش کنسانتره انار توسط حسنین و همکاران (۲۰۱۴) و کاوس و کاوس (۲۰۱۶) نیز گزارش شده است [۲۱ و ۲۸]. یکی از معایب عمده ماست آب اندازی می باشد که در واقع به ظهور سرم یا آب پنیر در سطح ماست اطلاق می شود. آب اندازی در ماست به دلیل چروکیدگی ساختار سه بعدی شبکه پروتئینی رخ می دهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین های آب پنیر و خروج آن از ماست می گردد. از دلایل اصلی آب اندازی می توان به نسبت بالای پروتئین آب پنیر به کازئین و ماده خشک پایین اشاره کرد [۳۶]. با توجه به آنالیز واریانس نتایج،

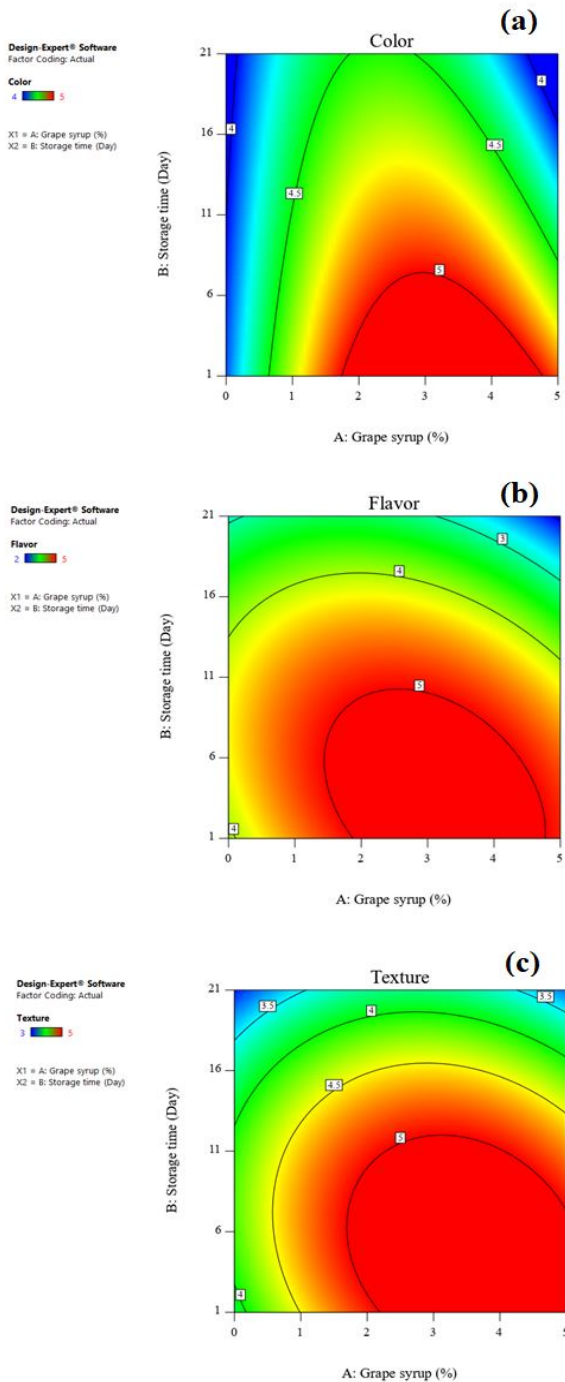


Fig 7 Contour plot the effect of variables on color (a), flavor (b), and texture (c) score of functional flavored set yogurt

برخی مطالعات نشان داده‌اند، که به کارگیری پری‌بیوتیک‌ها در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک، بهبود بافت آن را نتیجه می‌دهد؛ اگرچه به مرور زمان و با افزایش تولید اسید و کاهش معنی‌دار pH، ویژگی‌های حسی محصول نهایی کاهش می‌یابد [۴۳]. Ferna'ndez-Garci'a و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند، که افزایش فیبر به ماست موجب بهبود بافت و قوام

همکاران (۱۹۷۸) گزارش کردند که عصاره انار حاوی ترکیبات آنتی‌قارچی و آنتی‌ویروسی می‌باشد. این ترکیبات از رشد قارچ‌ها و ویروس‌ها جلوگیری کرده اما قادر به تاثیر بر زنده ماندن باکتری‌ها نیستند. بیشتر ترکیبات پلی‌فنلی مثل اسید آلژینیک، کاتشین‌ها و اسیدهای کلروژنیک و کافئیک فعالیت ضد جهش و ضد سرطان دارند [۳۹ و ۴۰].

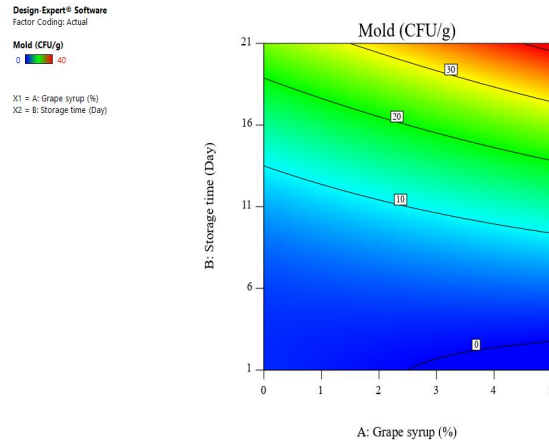


Fig 6 Contour plot the effect of variables on molds count in functional flavored set yogurt

۳-۷- تاثیر تیمارها بر خواص حسی

بر اساس نتایج تاثیر مقدار شیره انگور بر امتیاز رنگ، طعم و بافت و تاثیر زمان نگهداری فقط بر امتیاز بافت معنی‌دار بود ($p < 0.05$).

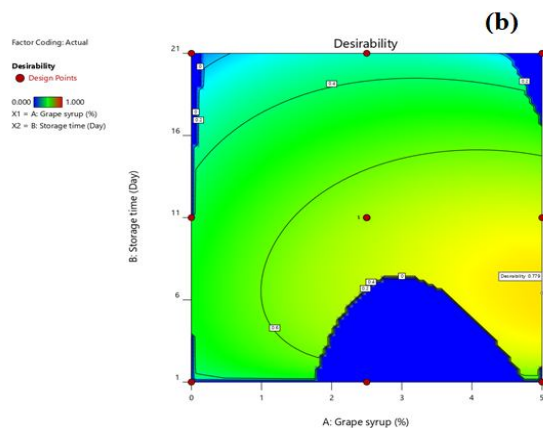
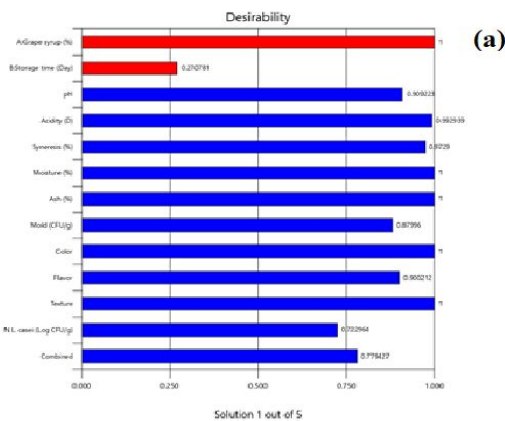
با توجه به شکل ۷ با افزایش مقدار شیره انگور امتیاز رنگ، طعم و بافت افزایش یافت. خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فرآورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آنها است. با توجه به اهمیت این خواص، بررسی و شناخت عوامل موثر بر آنها به منظور دستیابی به خواص حسی بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است. معادله‌های پیشگویی زیر با استفاده از برازش داده‌ها برای آنالیز حسی به دست آمد که در جدول ۳ نشان داده شده است. Staffolo و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند، که افزایش ۱/۳ درصد فیبر به ماست تأثیری در خواص حسی آن نداشت؛ اما افزایش بیشتر از این مقدار موجب کاهش معنی‌دار خواص حسی ماست گردید [۴۱]. Sendra و همکاران (۲۰۱۰) نیز نشان دادند، که افزایش فیبر موجب کاهش معنی‌دار خواص حسی ماست گردید، که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد [۴۲].

کاهش یافت [۴۴].

ماست شد؛ ولی کیفیت حسی آن کاهش یافت و با گذشت زمان نگهداری امتیاز رنگ، طعم و بافت به طور معنی داری

Table 3 The constructed models for qualitative properties of flavored set bio-yogurt

$R^2_{adjusted}$	R^2	Linear regression	Response(Y)
0.70	0.78	$5.90 + 0.13 \times A - 0.70 \times B - 0.20 \times AB$	<i>N. L. casei</i> (Log CFU/g)
0.99	0.99	$87.58 - 2.140 \times A + 0.24 \times B + 0.13 \times AB + 0.10 \times B^2$	Moisture (%)
0.99	0.99	$2.95 + 1.03 \times A + 0.097 \times B + 0.030 \times AB - 0.386 \times A^2$	Ash (%)
0.87	0.90	$4.450 + 0.100 \times A - 0.200 \times B + 0.001 \times AB$	pH
0.99	0.99	$0.749 - 0.028 \times A + 0.040 \times B - 0.010 \times AB + 0.021 \times B^2$	Acidity (%)
0.99	0.99	$39.100 - 6.817 \times A - 1.233 \times B - 0.499 \times AB$	Syneresis (%)
0.93	0.95	$10.00 + 3.33 \times A + 16.67 \times B + 5.00 \times AB + 6.67 \times B^2$	Mold (CFU/g)
0.72	0.81	$4.860 + 0.167 \times A - 0.333 \times B - 0.250 \times AB - 0.691 \times A^2$	Color
0.98	0.99	$4.930 + 0.001 \times A - 1.000 \times B - 0.500 \times AB - 0.759 \times A^2 - 0.759 \times B^2$	Flavor
0.95	0.97	$5.030 + 0.333 \times A - 0.667 \times B - 0.250 \times AB - 0.621 \times A^2 - 0.621 \times B^2$	Texture

**Fig 8** Bar graph (a) and contour plot (b) the desirability for optimization of functional flavored set yogurt**۳-۸- بهینه سازی عددی**

برای بهینه سازی از روش بهینه سازی عددی و کاربرد تابع مطلوبیت استفاده شد. مبنای بهینه سازی مقدار شیره انگور و زمان نگهداری در محدوده مورد مطالعه، به حداکثر رساندن زنده ماننی لاکتوباسیلوس کازئی و خواص حسی و به حداقل رساندن آب اندازی، رطوبت و میزان کپک بود. در شرایط بهینه، مقدار شیره انگور ۵ درصد و زمان نگهداری ۶/۵ روز تعیین گردید. در این شرایط تعداد لاکتوباسیلوس کازئی ۶/۴۵ سیکل لگاریتمی، رطوبت ۸۵/۲۹٪، خاکستر ۳/۵۰٪، آب اندازی ۳۱/۹۵٪، اسیدیته ۰/۷۱٪ و pH برابر ۴/۵ و امتیاز رنگ، طعم و قوام به ترتیب ۴/۶، ۴/۸ و ۵ بود. شایان ذکر میزان مطلوبیت کلی شرایط بهینه برابر ۰/۷۸ است که قابل قبول می باشد (شکل ۸).

۴- نتیجه گیری کلی

قابلیت زنده ماندن و ثبات پروبیوتیک‌ها هم در بازار و هم در طول فرآیند چالش بزرگی برای تولید کنندگان صنعتی محصولات پروبیوتیک می‌باشد. با توجه به مدل تجربی به دست آمده توسط روش سطح پاسخ ارتباط بین متغیرهای مورد مطالعه مناسب تشخیص داده شد. با توجه به نتایج تجزیه آماری داده‌ها، با افزایش مقدار شیره انگور و با گذشت زمان نگهداری تعداد لاکتوباسیلوس کازئی به ترتیب افزایش و کاهش یافت، ولی در شرایط بهینه در مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان ($10^6 - 10^7$ cfu/g) بود. همچنین افزایش مقدار شیره انگور موجب کاهش درصد رطوبت، اسیدیته و آب اندازی و همچنین افزایش pH، مقدار خاکستر و زنده مانی باکتری پروبیوتیک در نمونه‌ها شد. با گذشت زمان نگهداری نیز مقدار pH نمونه‌ها افزایش و اسیدیته، آب اندازی و تعداد کپک‌ها افزایش یافت. نتایج ارزیابی حسی نیز نشان داد که با افزایش مقدار شیره انگور امتیاز رنگ، طعم و بافت افزایش یافت. بر اساس آزمایشات انجام شده شرایط بهینه برای تولید ماست، مقدار شیره انگور ۵ درصد و زمان نگهداری حدود ۷ روز تعیین گردید. در این شرایط تعداد لاکتوباسیلوس کازئی $6/45$ سیکل لگاریتمی، رطوبت $85/29$ ٪، خاکستر $3/50$ ٪، آب اندازی $31/95$ ٪، اسیدیته $0/71$ ٪ و pH برابر $4/5$ و امتیاز رنگ، طعم و قوام به ترتیب $4/6$ ، $4/8$ و 5 بود. با توجه به نتایج، استفاده از شیره انگور در تولید ماست پروبیوتیک توصیه می‌شود. در بازارهایی که رقابت زیادی میان کالاهای در حال فروش شرکت‌های گوناگون وجود دارد، تولید ماست پروبیوتیک با خواص کیفی مطلوب نوعی فرصت مناسب به شمار می‌رود. تولید این فرآورده در عین حال در بردارنده مزایای اقتصادی برای کشور صادر کننده نیز است.

۵- منابع

- Bari, M., & Alizadeh, M. (2019). Development of the antioxidant activity in cheese whey and milk permeate using *Lactobacillus acidophilus* LA5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12. *Food Science and Technology*, 16(91), 65-79. [In Farsi]
- [3] Abotalebi Kohne Shahri, R., & Ilkhanipour, M. (2019). Viability and efficacy of *Lactobacillus casei* LAFTI-L26 as adjunct starter in red Dutch cheese. *Food Science and Technology*, 15(83), 387-398. [In Farsi]
- [4] Farahnaky, A., Mardani, M., Mesbahi, G., Majzoubi, M., & Golmakani, M. T. (2018). Some Physicochemical Properties of Date Syrup, Conc entrate, and Liquid Sugar in Comparison with Sucrose Solutio ns.
- [5] Akbar, R., Soltani, M., Moslehi Shad, M. (1398). The effect of using date juice on the quality characteristics of nonfat yogurt, *Food Industry Research*, 29 (4), 201-215. [In Farsi]
- [6] Zomorodi, S., & Aberun, N. (2015). Increase the survival of *Lactobacillus acidophilus* and improved quality properties of senbiotic yogurt using apple and wheat fibers. *Food Science and Technology*, 12(48), 203-214.
- [7] Zahedi, H. Fadavi Noghani, V., & Khalfi, L. 2014. Evaluation of viability of initiator bacteria in yogurt enriched with flavonoids and oil extracted from orange peel. *Journal of Food Processing and Preservation*. 114-97. 6. [In Farsi]
- [8] Azimi Mahalla, A. Zumradi, S., Mohammadsani, A. & Ahmadzadeh Ghavidel, R. 2012. Investigation of the effect of orange fiber on physicochemical, rheological and sensory properties of strawberry fruit yogurt by response surface methodology. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*. 39-23. 1. [In Farsi]
- [9] Koushesh, S. (1392) Preparation of fruit yogurt from pomegranate juice and evaluation of some of its physicochemical and sensory properties. Graduated from Shiraz University, Faculty of Agriculture and Natural Resources. [In Farsi]
- [10] Rezazadeh-Bari, M., Najafi-Darmian, Y., Alizadeh, M., & Amiri, S. (2019). Numerical optimization of probiotic Ayran production based on whey containing transglutaminase and Aloe vera gel. *Journal of food science and technology*, 56(7), 3502-3512.
- [1] Amiri, S., 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. *Food Science and Technology*, 16(90), 163-175. [In Farsi]
- [2] Amiri, S., Sowti Khiabani, M., Rezazadeh

- 907.
- [20] Nualkaekul, S., Salmeron, I., & Charalampopoulos, D. (2011). Investigation of the factors influencing the survival of *Bifidobacterium longum* in model acidic solutions and fruit juices. *Food Chemistry*, 129(3), 1037-1044.
- [21] Hassanein, A. M., Yousef, E. T. A., & El-Shazly, H. A. M. (2014). Effect of concentrated pomegranate on probiotic yoghurt. *World Applied Sciences Journal*, 30(5), 567-574.
- [22] Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Kiani, H. (2011). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(1), 123-128.
- [23] Ding, W. K., & Shah, N. P. (2009). Effect of various encapsulating materials on the stability of probiotic bacteria. *Journal of Food Science*, 74(2), M100-M107.
- [24] Arjmand, A. (2011). Antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenols and their stability in probiotic yoghurt.
- [25] Clifford, M., Gibson, G., Hu, H., & Rodig-Penman, A. (2009). *U.S. Patent Application No. 10/598,760*.
- [26] Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica granatum* (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. *Journal of ethnopharmacology*, 109(2), 177-206.
- [27] Kavas, N., & Kavas, G. (2016). Functional Probiotic Yoghurt Production with Pomegranate (*Punica granatum* L.) Juice Concentrate Fortification. *Journal of Scientific Research and Reports*, 1-10.
- [28] Tarakci, Z. (2010). Influence of kiwi marmalade on the rheology characteristics, color values and sensorial acceptability of fruit yogurt. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, 16(2), 173-178.
- [29] Tarakçi, Z., & KÜÇÜKÖNER, E. (2003). Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yoghurt. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(2), 10-14.
- [30] Hekmat, S., & Reid, G. (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition research*, 26(4), 163-166.
- [31] FARAJI, N., Alizadeh, M., Almasi, H., Pirsā, S. & FARAJI, S. (2020). Evaluation of Physicochemical and sensory
- [11] 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.
- [12] Moghanjoui, Z. M., Bari, M. R., Khaledabad, M. A., Almasi, H., & Amiri, S. (2020). Bio-preservation of white brined cheese (Feta) by using probiotic bacteria immobilized in bacterial cellulose: Optimization by response surface method and characterization. *LWT*, 117, 108603.
- [13] 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.
- [14] Amiri, S., Mokarram, R. R., Khiabani, M. S., Bari, M. R., & Khaledabad, M. A. (2020). In situ production of conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5 in milk model medium. *LWT*, 109933.
- [15] Obudi, N., Alizadeh, M., Pirsā, S. (2019). Study on the physicochemical/ microbial properties and gas chromatography profile of synbiotic yogurt. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 15(3), 45-59. doi: 10.22067/ifstrj.v15i3.76798.
- [16] Kailasapathy, K., & Chin, J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunology and cell biology*, 78(1), 80-88.
- [17] Dave, R. I., & Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7(1), 31-41.
- [18] Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17(6), 657-665.
- [19] Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of dairy science*, 83(4), 894-

- [39] Kirilenko, O. A., Linkevich, O. A., Suryaninova, E. I., & Lysogor, T. A. (1978). Antibacterial properties of juice of various types of pomegranate. *konservnaya I Ovoshchesushilnaya Promyshlennost*, 12, 12.
- [40] Ayrton, A. D., Lewis, D. F. V., Walker, R., & Ioannides, C. (1992). Antimutagenicity of ellagic acid towards the food mutagen IQ: investigation into possible mechanisms of action. *Food and chemical toxicology*, 30(4), 289-295.
- [41] Staffolo, M. D., Bertola, N., & Martino, M. (2004). Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. *International Dairy Journal*, 14(3), 263-268.
- [42] Sendra, E., Kuri, V., Fernández-López, J., Sayas-Barbera, E., Navarro, C., & Pérez-Alvarez, J. A. (2010). Viscoelastic properties of orange fiber enriched yogurt as a function of fiber dose, size and thermal treatment. *LWT-Food Science and Technology*, 43(4), 708-714.
- [43] Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W., & Fleet, G. H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT-Food Science and Technology*, 37(4), 461-466.
- [44] Fernandez-Garcia, E., & McGregor, J. U. (1997). Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, 204(6), 433-437.
- Properties of low fat probiotic Yogurt Enriched by Iraninan Shallot Nanoemulsion containing omega3 fatty acid. *Food Science and Technology*, 17(100), 77-101.
- [32] Pirsá, S., Amini, R., & Alizadeh, M. (2019). Production of fortified stirred-yogurt containing allium iranicum powder and evaluation of its shelf-life, physicochemical and sensory properties.
- [33] Shirai, K., Guerrero, I., Huerta, S., Saucedo, G., Castillo, A., Gonzalez, R. O., & Hall, G. M. (2001). Effect of initial glucose concentration and inoculation level of lactic acid bacteria in shrimp waste ensilation. *Enzyme and Microbial Technology*, 28(4-5), 446-452.
- [34] Tamime, A. Y., & Robinson, R. K. (1999). *Yoghurt: science and technology*. Woodhead Publishing.
- [35] Tarakçi, Z., & KÜÇÜKÖNER, E. (2003). Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yoghurt. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 14(2), 10-14.
- [36] Lucey, J. A. (2004). Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2 - 3), 77-84.
- [37] Luckow, T., & Delahunty, C. (2004). Consumer acceptance of orange juice containing functional ingredients. *Food research international*, 37(8), 805-814.
- [38] El-Nagar, G. F., & Brennan, C. S. (2001, November). The influence of fiber addition on the texture and quality of stirred yoghurt. In *Proc. 8th Egyptian Conf. Dairy Sci. & Techn* (Vol. 505).



Optimization of survivability of *Lactobacillus casei* LAFTI-L26 and the physicochemical properties of functional flavored set yogurt containing grape syrup

Rezaeiyan, M.¹, Amiri, S.^{2*}

1. M.Sc. graduated, Department of Food Science and Technology, Saba College of Higher Education, Urmia, Iran
2. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p>Article History:</p> <p>Received 2020/ 10/ 05 Accepted 2021/ 02/ 06</p> <hr/> <p>Keywords:</p> <p>Bio-yogurt, Grape syrup, Qualitative properties, <i>Lactobacillus casei</i> LAFTI-L26, Viability</p> <hr/> <p>DOI: 10.52547/fsc.t.18.05.17</p> <hr/> <p>*Corresponding Author E-Mail: St_sa.amiri@urmia.ac.ir</p>	<p>In this study, the effect of a grape syrup and storage time on the physicochemical, microbial, and sensory properties of yogurt were evaluated using the response surface method. The amount of grape syrup and storage time were in the range of 0-5% and 1-21 days, respectively. The results of the statistical analysis showed that with increasing the amount of grape syrup and storage time, the number of <i>Lactobacillus casei</i> were increased and decreased, respectively ($p < 0.05$). With increasing grape syrup, the moisture content and acidity decreased and ash, pH, and syneresis increased ($p < 0.05$). During storage time, pH decreased and acidity and syneresis increased ($p < 0.05$). The results of the microbial test showed that with increasing grape syrup and storage time, the molds count was decreased ($p < 0.05$). The results of sensory evaluation also showed that by increasing the amount of grape syrup, the score of color, flavor, and texture increased ($p < 0.05$). According to the obtained results, for producing bio-yogurt, grape syrup at 5% and the storage time about 7 days found to be the optimal processing conditions.</p>