



غنی سازی و بهینه سازی مقادیر فیبر گندم و اسانس شوید در دوغ سین بیوتیک با استفاده از روش سطح پاسخ

شهین زمردی^{۱*}، مرضیه بلندی^۲، مهدی شهیدی^۳

۱-دانشیار پژوهشی بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ارومیه، ارومیه، ایران.

۲-دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

۳-دانش آموخته ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۲/۰۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶

کلمات کلیدی:

اسانس شوید،

بیفیدوباکتریوم لاکتیس،

دوغ،

سین بیوتیک،

فیبر گندم.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.26

* مسئول مکاتبات:

s.zomorodi@areeo.ac.ir

در این پژوهش مقدار اسانس شوید و فیبر گندم در دوغ سین بیوتیک حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس با استفاده از طرح آزمایشی **Box behnken** و روش سطح پاسخ (**RSM**) بهینه سازی شد. متغیرهای مستقل عبارت بودند از اسانس شوید در محدوده ۸۰ - ۰ میکرولیتر بر لیتر، فیبر گندم در محدوده ۲ - ۰ درصد و زمان نگهداری در محدوده ۱۰ - ۵۰ روز. سپس زنده مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس و ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی دوغ سین بیوتیک در طول نگهداری مطالعه شد. نتایج حاصل از تجزیه آماری داده ها نشان داد که در طی زمان نگهداری تعداد پروبیوتیک ها به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). کاربرد اسانس شوید در مقادیر کمتر از ۳۰ میکرولیتر بر لیتر موجب افزایش و در مقادیر بالاتر موجب کاهش زنده مانی باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس گردید ($P < 0.05$). با افزایش مقدار فیبر گندم اسیدیته و ماده خشک دوغ افزایش و pH کاهش یافت. همچنین پایداری دوغ با افزایش فیبر گندم در مقادیر بالاتر از ۱/۶ درصد افزایش و با گذشت زمان نگهداری بطور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). نتایج ارزیابی حسی نمونه ها نشان داد که با افزایش مقدار فیبر گندم امتیاز رنگ و طعم نمونه ها بطور معنی داری کاهش و امتیاز قوام افزایش پیدا کرد. استفاده از اسانس شوید در مقادیر کمتر از ۴۰ میکرولیتر بر لیتر موجب افزایش و در مقادیر بالاتر موجب کاهش امتیاز طعم نمونه ها شد ($P < 0.05$). بر اساس یافته های حاصل از این بررسی، استفاده از فیبر گندم و اسانس شوید به ترتیب در مقادیر ۱/۶ درصد و ۴۰ میکرولیتر بر لیتر و زمان نگهداری ۳۰ روز به عنوان شرایط بهینه برای تولید دوغ سین بیوتیک تعیین گردید.

۱- مقدمه

گرایش جهانی مصرف‌کنندگان به غذاهای سالم منجر به ایجاد اصطلاح "غذاهای عملگرا" شده است. مزایای سلامت‌بخشی محصولات غذایی مربوط به مزایای پیشگیری و درمانی بیماری‌ها است [۱]. در این خصوص غذاهای لبنی سنبیوتیک مطرح هستند. در میان محصولات لبنی تخمیری، دوغ می‌تواند به عنوان یک حامل پروبیوتیک مورد استفاده قرار گیرد زیرا پروتئین‌های شیر در دوغ از باکتری‌های پروبیوتیک هنگام عبور از معده محافظت می‌کنند [۲]. استفاده و تجویز پروبیوتیک به طور کلی ایمن شناخته شده است [۳]. به رغم پیشرفت‌های چشمگیر در محصولات پروبیوتیک همواره در حین تولید مشکلاتی نظیر از دست رفتن قابلیت زیستی یا بقاء پروبیوتیک‌ها در مرحله تولید و نگهداری وجود دارد. فعالیت و زنده ماندن پروبیوتیک‌ها به هنگام رسیدن به روده شرط لازم برای بروز اثرات دارویی است [۲]. با استفاده از پری‌بیوتیک‌ها می‌توان قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را افزایش داد. پری‌بیوتیک‌ها مواد مغذی هستند که به عنوان منبع کربن بوسیله میکروارگانیسم‌های خاصی مصرف می‌شوند و بنابراین می‌توانند جهت افزایش رشد و بقاء باکتری‌ها به محیط افزوده گردند. پری‌بیوتیک‌ها علاوه بر افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، موجب بهبود احساس دهانی، کاهش چربی و افزایش تولید اسیدهای چرب با زنجیر کوتاه، کاهش ریسک ابتلاء به دیابت، اعمال اثر مثبت روی جذب کلسیم، آهن و منیزیم در مواد غذایی می‌شود [۴].

فیبرهای رژیمی یکی از انواع ترکیبات پری‌بیوتیک هستند که می‌توانند منجر به بهبود قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در فراورده‌های غذایی طی مدت انبارمانی شود [۵]. در این بین فیبر گندم یکی از محصولات جانبی تهیه آرد از گندم است. دیواره سلولی در بخش‌های مختلف دانه گندم خصوصیات و ترکیبات متفاوت دارد. بافت بیرونی دیواره سلولی عمدتاً هیدروفوب بوده و از سلولز، لیگنین و مجموعه‌ای از آرابینوزایلان‌ها تشکیل شده است. بافت درونی دیواره سلولی بیشتر هیدروفیل بوده و ترکیبی از آرابینوزایلان‌ها و β -D-گلوکان‌ها است. آرابینوزایلان‌ها پلیمرهای اصلی دیواره سلولی دانه گندم هستند. این ترکیبات دارای خاصیت پری‌بیوتیکی هستند [۶].

شوید^۱ با نام علمی *Anethum graveolens* متعلق به خانواده جعفری گیاهی یک ساله، علفی و معطر است که دارای ۲/۵ تا ۴ درصد اسانس می‌باشد، مهمترین مواد تشکیل دهنده آن، د-کارون^۲ (۴۰ تا ۶۰ درصد)، د-لیمون^۳ (۲۰ تا ۲۸ درصد)، آلفافلاندرن^۴ (۲ درصد) و دی هیدروکارون^۵ است. معمولاً اسانس شوید از برگ‌ها و تخم‌های آن تهیه می‌گردد. به دلیل ویژگی‌های خاص و عطر و طعم آن، در دوغ استفاده می‌شود [۷]. مهدی‌زاده و همکاران (۲۰۱۹) خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، حسی و زنده ماندنی لاکتوباسیلوس کازئی را در ماست پروبیوتیک حاوی اسانس شوید بررسی نمودند و نشان دادند که زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی تا هفته دوم نگهداری افزایش و سپس تا پایان دوره نگهداری کاهش یافت [۸].

آلگیر و همکاران (۲۰۱۰) زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس را در دوغ حاوی فیبر محلول ذرت، پلی دکستروز و اینولین مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد در طول نگهداری تعداد پروبیوتیک‌ها در حدود ۲ تا ۳ سیکل لگاریتمی کاهش یافت که در این میان تعداد پروبیوتیک‌ها فقط در نمونه‌های حاوی پلی‌دکستروز، بالاتر از مقدار توصیه شده برای اثرات درمانی بود [۹]. سرایی جماب و همکاران (۲۰۰۹)، اثر اسانس آویشن را بر لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و باکتری آغازگر ماست مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که تعداد باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس با افزایش غلظت اسانس آویشن کاهش یافت [۱۰].

در این تحقیق هدف بهینه سازی مقادیر فیبر گندم و اسانس شوید در دوغ سنبیوتیک حاوی پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در طول نگهداری بود.

۲- مواد و روش‌ها

شیر تازه گاو، تهیه شده از دامداری‌های ارومیه (با ماده خشک ۱۱/۵۵ درصد، اسیدیته ۱۴/۶ درجه دورنیک، دانسیته ۱/۰۳۱۵ و pH برابر ۶/۷)، آغازگر تجاری ماست YC-X11 (کشت مخلوط استریوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس) و باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس

1. Dill
2. D-carvone
3. D-limonen
4. α -phellandren
5. dihydrocarvone

۶۹۱ متروهم، ساخت سویس) قرائت گردید. برای تعیین اسیدیته نیز ۵۰ میلی لیتر از محلول صاف شده توسط سود ۰/۱ نرمال تا pH ۸/۳ تیترا گردید. سپس اسیدیته فیبر گندم بر حسب اسید لاکتیک محاسبه شد [۶]. برای تعیین قابلیت نگهداری آب فیبر گندم مقدار ۵ گرم از فیبر در لوله‌های فالکون توزین شد. سپس مقدار ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و هم زده شد. مدت یک ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۵۰۰xg سانتریفوژ گردید. پس از سانتریفوژ نمونه توزین شد. قابلیت نگهداری آب فیبر برحسب مقدار آب نگه داشته شده در یک گرم فیبر بیان گردید [۱۱]. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی فیبر گندم عبارت از رطوبت ۸/۸٪، خاکستر ۴/۷۷٪، اسیدیته ۰/۷٪ بر حسب اسید لاکتیک، pH برابر ۵/۶۰ و ظرفیت جذب آب ۲/۸ گرم بر گرم بود.

۲-۴-تهیه دوج سین پروبیوتیک

ابتدا مطابق طرح آزمایشی مقدار لازم از فیبر گندم به شیر افزوده شد. سپس مخلوط در دمای °C ۸۵ به مدت ۱۵ دقیقه در حال همزدن آرام، در حمام آب گرم پاستوریزه گردید. پس از خنک شدن تا دمای °C ۴۳، استارتر تجاری ماست مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آن به هر تیمار اضافه گردید. گرمخانه‌گذاری تیمارها در انکوباتور °C ۴۳ تا رسیدن به pH ۴/۵ تا ۴/۴ انجام گرفت.

به آب لازم برای رقیق سازی ماست نیز مقدار ۰/۸٪ نمک طعام اضافه گردید و در دمای °C ۹۵ به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شد. پس از سرد کردن در شرایط استریل با مقدار ۰/۰۵ گرم از باکتری لیوفیلیزه بیفیدوباکتریوم لاکتیس برای هر کیلوگرم شیر (مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده)، تلقیح شد. سپس ماست به نسبت ۵۰:۵۰ با آب پاستوریزه حاوی نمک و پروبیوتیک رقیق گردید و در شرایط استریل در بطری‌های پلاستیکی بسته بندی شد و مطابق تیمارهای آزمایشی مقدار لازم اسانس در توئین ۲۰ استریل حل و به بطری‌های حاوی دوج اضافه و کاملاً مخلوط گردید. سپس در دمای °C ۵±۱ به مدت ۵۰ روز نگهداری شد. نمونه‌ها در فواصل زمانی معین (جدول ۱) مورد آزمایش قرار گرفتند.

۲-۵-شمارش بیفیدوباکتریوم لاکتیس

برای تهیه رقت ۰/۱، مقدار ۵ گرم از نمونه دوج به ۴۵ میلی‌لیتر از پپتون واتر استریل ۰/۱٪ افزوده شد. سری بعدی رقت‌ها با افزایش ۱ میلی‌لیتر از هر رقت به ۰/۹ میلی‌لیتر آب پپتون ۰/۱٪

(LAFTI-B94) از شرکت DSM استرالیا، محیط کشت RCA^۱ ساخت شرکت لیوفیلیکوم ایتالیا، آب پپتون و گاز پک بی هوازی نوع A از شرکت مرک آلمان و اسانس شوید از شرکت زرد بند ایران تهیه شد.

۲-۱-طرح آزمایشی و تیمار آماری

در این تحقیق، از روش سطح پاسخ^۲ و از طرح باکس بنکن^۳ استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل مقادیر فیبر گندم، اسانس شوید و زمان نگهداری در ۳ سطح بود. سطوح متغیرها در جدول ۱ آورده شده است. تعداد نمونه‌های آزمایش برابر ۲۱ عدد بود که در این میان ۵ آزمون تکرار در نقطه مرکزی بود و از این نقاط برای تعیین خطای آزمایش استفاده شد. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

در این فرمول Y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1 ، β_2 و β_3 اثرات خطی، β_{11} ، β_{22} و β_{33} اثر مربعات و β_{12} ، β_{13} و β_{23} و اثر متقابل می‌باشد. نتایج حاصل از آزمایشات با استفاده از نرم افزار SAS (۲۰۰۱) تجزیه و تحلیل شد.

Table 1 Variable levels

Factors	quantities		
	-1	0	+1
Dill essential oil (μL/L)	0	40	80
Wheat Firber (%)	0	1	2
Storage time (day)	10	30	50

۲-۲-روش تهیه فیبر گندم

فیبر گندم از فیبر کارخانه آرد سازی فردوس ارومیه تهیه گردید. ابتدا فیبر گندم آسیاب شد و سپس از الک‌هایی با مش ۴۰ و ۷۰ عبور داده شد [۶].

۲-۳-روش‌های آزمایش فیبر گندم

رطوبت به روش خشک کردن در آون معمولی در دمای °C ۱۰۳±۲ و خاکستر با وزن کردن ۱-۲ گرم نمونه و سوزاندن در کوره الکتریکی در دمای °C ۵۵۰±۵۰ تا ایجاد خاکستر سفید تعیین شد [۱۱]. برای تعیین اسیدیته و pH به مقدار ۱۸ گرم از فیبر، ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر بدون دی اکسید کربن اضافه گردیده و در حمام آب °C ۴۰ به مدت یک ساعت قرار گرفت. پس از صاف کردن، pH نمونه‌ها توسط pH متر (مدل

1. Reconstituted Clostridial Agar
2. Response Surface Methodology
3. Box Behnken

استریل تهیه گردید. برای شمارش بیفیدوباکتریوم لاکتیس از محیط کشت اختصاصی RCA حاوی $2 \mu\text{g/mL}$ دیکلوکساسیلین و 0.3 g/L آنیلین آبی استفاده گردید. کشت‌ها تحت شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک در جار بی‌هوازی، به مدت ۷۲ ساعت در دمای 37°C گرمخانه‌گذاری شدند [۱۲].

۲-۶- اندازه گیری ترکیبات فیزیکی شیمیایی

دوغ

رطوبت به روش خشک کردن در آون معمولی در دمای 2°C ± 10.3 انجام گرفت. برای تعیین pH بعد از کالیبره کردن دستگاه pH متر توسط بافر استاندارد ۴ و ۷، الکتروود pH متر مستقیماً در داخل نمونه‌های دوغ قرار گرفت و pH قرائت گردید. قبل از اندازه‌گیری نمونه‌ها هم زده شدند. برای تعیین اسیدیته به ۵ گرم از نمونه دوغ مقدار ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و پس از مخلوط کردن در حضور شناساگر فنل فتالین با محلول سود ۰/۱ نرمال تا ایجاد رنگ صورتی کم‌رنگ تیت‌ر گردید. درصد بر حسب اسید لاکتیک محاسبه شد [۱۳].

به منظور تعیین پایداری دوغ از استوانه‌های مدرج ۵۰ میلی‌لیتری سترون استفاده شد. بدین صورت که مقدار ۴۵ میلی‌لیتر دوغ درون استوانه‌های مدرج ریخته و با ورق آلومینیوم درب بندی شد و در روزهای آزمون پایداری بر حسب درصد تعیین شد [۱۴].

قوام، رنگ و طعم نمونه‌های دوغ توسط گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف‌کننده و روش هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. تعداد ۱۵ داور از کارشناسان و اعضای هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی با استفاده از آزمایش تشخیص درجه یا سطح کیفیت انتخاب شدند. از هر تیمار تعداد ۱۵ نمونه یکسان تهیه و همراه با فرم مخصوصی که دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای بود به داوران داده شد. 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 استفاده کردند [۱۶].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأثیر تیمارها بر زنده‌مانی باکتری‌های

بیفیدوباکتریوم لاکتیس در دوغ

بر اساس آنالیز واریانس، تأثیر خطی و مربعی عصاره شوید و تأثیر مربعی فیبر و زمان نگهداری بر تغییرات تعداد باکتری‌های پروبیوتیک معنی‌دار بود ($P < 0.05$). همان‌طور که شکل ۱ نشان می‌دهد با افزایش غلظت اسانس شوید تا ۳۰ میکرولیتر بر لیتر تعداد کلنی‌های بیفیدوباکتریوم لاکتیس بطور معنی‌داری افزایش پیدا کرد، اما با افزایش بیشتر اسانس شوید تعداد پروبیوتیک‌ها کاهش یافت ($P < 0.05$).

دلیل افزایش پروبیوتیک‌ها در اثر استفاده از غلظت پایین اسانس، می‌تواند وجود غلظت بالای یون‌های فلز به خصوص منیزیم و منگنز در اسانس‌های گیاهی باشد [۱۵] که نشان دهنده اثر مثبت اسانس بر رشد و بقای پروبیوتیک‌ها می‌باشد که قبلاً نیز توسط سایر تحقیقات بر روی محصولات لبنی پروبیوتیک حاوی عصاره‌های گیاهی گزارش شده است [۱۵ و ۱۶]. از طرفی علت کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در اثر افزایش بیشتر اسانس می‌تواند به دلیل وجود ترکیبات ضد میکروبی اسانس‌ها از جمله ترکیبات فنولی و ترپن‌ها باشد. ترکیبات فنولی‌ها علاوه بر تأثیر منفی بر غشای سلولی از طریق از بین بردن لایه لیپیدی و نفوذپذیری آن، بر عملکرد لایه نیز تأثیر مخرب دارند؛ از جمله اختلال در انتقال الکترون، سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک که در نهایت می‌تواند منجر به اثر بازدارندگی بر علیه باکتری‌ها باشد [۱۷].

عصاره شوید دارای ترکیباتی ضد میکروبی است و به همین دلیل منجر به کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک شده است. روغن‌های فرار موجود در شوید در دوزهای بسیار پایین دارای اثرات ضد باکتریال بسیار قوی می‌باشد [۱۸].

از آنجایی که ترکیبات ضد میکروبی روغن‌ها در حقیقت فنول‌ها و ترپن‌ها هستند، به نظر می‌رسد که نحوه مکانیسم اثر ضد میکروبی آن‌ها مشابه دیگر ترکیبات فنولی و ترپنی باشد. بیشتر مطالعات در ارتباط با مکانیسم ترکیبات فنولی بر اثر آن‌ها بر روی غشاهای سلولی تمرکز کرده است. فرایند دیگری که علت اثر بازدارندگی بسیاری از ترکیبات ضد میکروبی است نابودی غشای سلولی و تراوش مواد داخل سلولی است که این فرایند توسط بسیاری از مواد ضد میکروبی اعمال می‌شود [۱۹]. لذا با توجه به نتایج این بررسی، استفاده از اسانس شوید در سطوح کمتر (تا ۳۰ میکرولیتر بر لیتر) موجب افزایش زنده‌مانی و استفاده از سطوح بالاتر (بیش از ۳۰ میکرولیتر بر لیتر) موجب کاهش زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس گردید. کیوانس

و همکاران (۱۹۹۱) نیز نشان دادند که اسانس زیره سبز و پونه کوهی در غلظت‌های پایین موجب تحریک رشد و تولید اسید و در غلظت‌های بالا از رشد باکتری لاکتوباسیلوس پلانٹاروم در یک محیط مایع جلوگیری می‌کند [۲۰]. که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

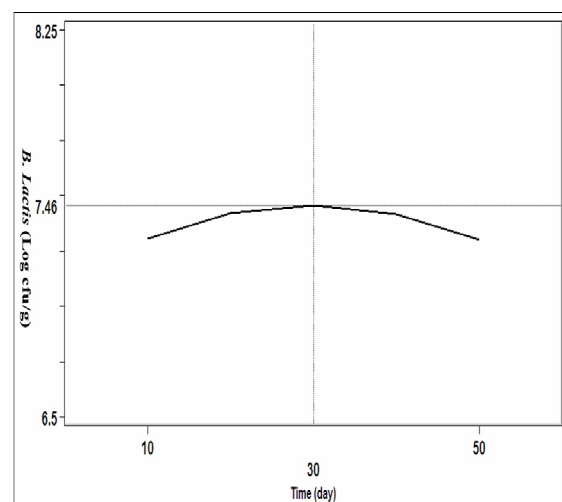
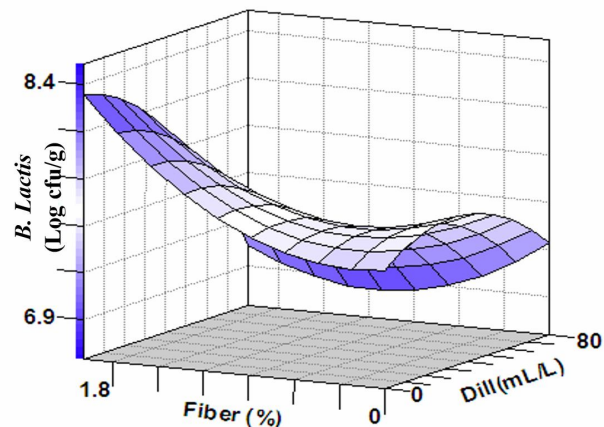


Fig 1 Effect of treatments on variability of *bifidobacterium lactis* in doogh

با توجه به شکل ۱ با افزایش مقدار فیبر تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس بطور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). دلیل آن شاید بخاطر اثر پری‌بیوتیکی فیبر گندم باشد که موجب افزایش تعداد پروبیوتیک‌ها در این نمونه‌ها شده است. دیواره سلولی گندم از سلولز، لیگنین و ترکیبی از آرابینوزایلان‌ها و β -D-گلوکان‌ها تشکیل شده است [۲۱]. در اکثر تحقیقات گزارش شده است که استفاده از فیبرها موجب افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی شده است.

همانطوری‌که از شکل ۱ مشخص است در طول نگهداری تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس تا روز ۳۰م نگهداری ۰/۱۵ سیکل لگاریتمی افزایش و سپس تا پایان نگهداری حدود ۰/۲ سیکل لگاریتمی کاهش یافت ($p < 0.05$). نتایج کک تاش و گوزل سیدم (۲۰۱۰) و ابراهیم زادگان و همکاران (۱۳۹۳) نشان داد که باکتری‌های پروبیوتیک در دوغ بقاء خود را به خوبی حفظ نمودند. آن‌ها دلیل این امر را وجود مواد مغذی و میزان بالای آب موجود در دوغ دانستند که محیط را مناسب برای پروبیوتیک‌ها ساخته است که نتایج این تحقیق را تایید می‌کنند. علت کاهش تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در انتهای دوره نگهداری، نیز می‌تواند به دلیل پایین بودن نسبی pH دوغ باشد [۱۴ و ۲۲].

با توجه به نتایج این بررسی، در پایان دوره نگهداری (پس از ۵۰ روز) در نمونه‌های بدون اسانس تعداد پروبیوتیک به 5.0 Log cfu/g رسید، اما هنگامی که مقدار اسانس شوید مصرفی 3.0 Log cfu/g میکرولیتر در لیتر رسید تعداد پروبیوتیک‌ها به 8.0 Log cfu/g افزایش یافت و زمانی که مقدار اسانس شوید 8.0 Log cfu/g میکرولیتر در لیتر استفاده شد تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس به حدود 6.6 Log cfu/g کاهش یافت (کاهش در حدود 1.1 Log cfu/g). بنابراین تعداد نهایی پروبیوتیک‌ها بعد از ۵۰ روز نگهداری در دمای $15 \pm 5^\circ \text{C}$ در نمونه‌های دوغ حاوی 3.0 Log cfu/g میکرولیتر در لیتر اسانس شوید بیشتر از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان ($10^6 - 10^7 \text{ cfu/g}$) بود.

با توجه به جدول ۲، عدم برازش^۱ داده‌ها بالاتر از ۰/۰۵ نشان دهنده درستی مدل است. ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالاتر از ۷۰٪ نشان دهنده این است که داده‌های آزمایش با مدل به خوبی تطبیق داشته و مدل دارای اهمیت بالایی است. لذا در این بررسی این ویژگی قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند. مدل پیش بینی شده زیر، برای بقای بیفیدوباکتریوم لاکتیس در دوغ، بر اساس پردازش داده‌ها به دست آمد که در آن مقدار فیبر، B اسانس شوید و C زمان نگهداری است.

$$\text{Probiotic} = 6.51 - 0.01 \cdot B - 0.19 \cdot A + 0.002 B^2 - 0.008 \cdot AB - 0.40 \cdot A^2 - 0.0001 \cdot C^2$$

1. Lack of Fit

با توجه به جدول ۲ مدل پیش بینی شده زیر، برای پایداری در دوطرف پروبیوتیک بر اساس پردازش داده ها بدست آمده است که در آن A مقدار فیبر و C زمان نگهداری است.

$$\text{Stability} = 61.14 - 4.17 \cdot A - 0.15 \cdot C$$

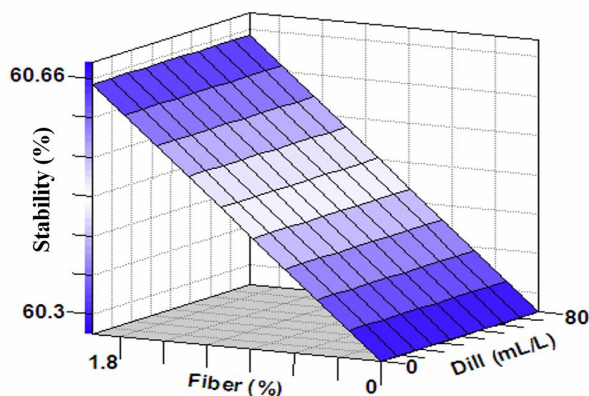


Fig 2 Effect of wheat fiber on stability of dough during storage

۳-۳- تأثیر تیمارها بر تغییرات ماده خشک

نتایج تجزیه آماری داده ها نشان داد که فقط تأثیر خطی فیبر بر درصد ماده خشک دوطرف معنی دار بود ($P < 0.05$). با افزایش درصد فیبر گندم، ماده خشک دوطرف بطور معنی داری افزایش یافت (شکل ۳). علت افزایش ماده خشک را می توان به خاصیت هیدراته شدن یا جذب آب فیبرها نسبت داد. ویژگی هیدراسیون فیبرهای رژیمی به ساختار شیمیایی پلی ساکاریدهای موجود و برخی پارامترهای دیگر از جمله تخلخل، اندازه ذرات، حالت یونی، pH و دما بستگی دارد [۴]. سهن و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که افزایش β -گلوکان ماده خشک ماست را افزایش می دهد [۲۷]. که نتایج این بررسی را تایید می کند. از آنجایی که دیواره سلولی دانه گندم ترکیبی از آرابینوزایلانها و β -گلوکانها است لذا افزایش فیبر گندم نیز موجب افزایش ماده خشک دوطرف شده است.

زمردی (۲) طی تحقیقی نشان داد که افزایش فیبر گندم موجب کاهش درصد رطوبت در ماست میوه ای گردید [۶]. خواص هیدراتاسیون فیبرها را می توان با اندازه گیری جذب آب و ظرفیت نگهداری آب اندازه گیری کرد. توانایی ظرفیت نگهداری آب فیبرها در حد وسیعی به ساکارز فیبر خوراکی بستگی دارد [۴]. با توجه به جدول ۲، مدل پیش بینی شده زیر، برای رطوبت دوطرف پروبیوتیک بدست آمده که در آن A مقدار فیبر است.

$$\text{Dry matter} = 5.31 + 0.76 \cdot A$$

Table 2 R-square (R^2), Adjusted R-square (R^2 Adj) and Lack of Fit of probiotic and quality properties

Experimental	R^2 (%)	R^2 Adj (%)	Lack of Fit
Probiotic	98.48	95.74	0.481 ^{ns}
Stability	91.12	75.13	0.896 ^{ns}
Dry matter	99.40	98.32	0.52 ^{ns}
Acidity	96.17	89.29	0.945 ^{ns}
pH	96.15	89.23	0.082 ^{ns}
Color score	91.81	89.58	0.071 ^{ns}
Flavor score	91.66	76.66	0.726 ^{ns}
Texture score	92.65	79.43	0.179 ^{ns}

ns: not significant

۳-۲- تأثیر تیمارها بر تغییرات پایداری

نتایج تجزیه آماری نشان داد که تأثیر مقدار فیبر گندم و زمان نگهداری بر میزان پایداری معنی دار بود ($P < 0.05$). همانطوری که از شکل ۲ مشخص است استفاده از فیبر در سطوح کمتر از ۰/۶٪ تأثیر معنی داری بر میزان پایداری دوطرف نداشت. اما با افزایش بیش از ۰/۶٪ فیبر پایداری دوطرف بطور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). توانایی فیبرها در اتصال به مولکول های آب و تداخل با اجزای شیر به ویژه پروتئین ها و در نتیجه پایداری شبکه پروتئین ها می تواند از حرکت آزادانه آب جلوگیری کرده و منجر به کاهش آب اندازی گردد. هیدراته شدن یا جذب آب از خواص مهم فیبرهای غذایی می باشد [۲۳].

هاشمی نیا و همکاران (۱۳۹۰) نیز نشان دادند که نمونه های دوطرف حاوی فیبر و ژلان در طول نگهداری پایدار بودند. بهترین نمونه دوطرف پاستوریزه حاوی ژلان و فیبر ۴٪ بود [۲۴]. بلکر و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند استفاده از اینولین موجب کاهش سینریزس در ماست و سایر شیرهای تخمیری می گردد [۲۵]. نتایج این تحقیقات با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

با توجه به شکل ۲ با گذشت زمان نگهداری، میزان پایداری دوطرف بطور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.05$). یکی از مشکلات دوطرف دو فاز شدن آن طی نگهداری است که به دلیل پایین بودن pH دوطرف، پروتئین ها به pH ایزوالکتریک خود نزدیک شده و در نتیجه شروع به رسوب می کنند که این امر موجب ناپایداری و ایجاد حالت دو فازی بعد از تولید و در حین نگهداری می شود [۲۶].

بود ($p < 0.05$). با توجه به شکل ۴ تا روز ۳۰ نگهداری، اسیدیته نمونه‌های دوغ افزایش و pH کاهش یافت اما سپس با گذشت زمان نگهداری مقدار اسیدیته کاهش و pH افزایش یافت. دلیل افزایش اسیدیته در طول نگهداری، تولید اسید در اثر تخمیر لاکتوز توسط فعالیت آغازگرهای ماست و پروبیوتیک‌ها است [۲۸].

اما با پایان رسیدن منابع قندی، میکروارگانیسم‌ها پروتئین‌های موجود در محیط و نیز اسیدهای آلی را مصرف کرده و این باعث افزایش pH و کاهش اسیدیته محصول می‌گردد. با افزایش مقدار فیبر گندم نیز اسیدیته دوغ افزایش و pH آن کاهش پیدا کرد. فرناندز-گارسیا و مک گریگر (۱۹۹۷) نشان دادند که افزایش فیبر جو در سطح ۱/۳٪ موجب افزایش اسیدیته گردید [۲۹]. که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد.

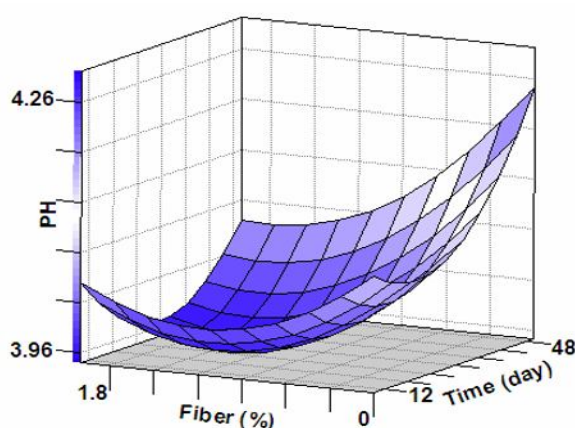


Fig 4 Effect of wheat fiber and storage time on acidity and pH of dough

غیرطبیعی در دوغ ایجاد می‌شود که مورد تأیید ارزیاب‌ها نیز قرار نگرفته است. اما با افزایش مقدار فیبر گندم امتیاز قوام نمونه‌های دوغ بطور معنی‌دار افزایش یافت. چون مقادیر بالای فیبر موجب بهبود گرانروی دوغ که یکی از مشخصه‌های مطلوبیت آن است، می‌شود.

با افزایش مقدار اسانس شوید تا ۴۰ میکرولیتر در لیتر امتیاز طعم افزایش یافت اما با افزایش بیشتر اسانس امتیاز طعم بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵). دلیل آن را می‌توان چنین توجیه نمود که افزودن اسانس، بیش از حد خاصی سبب نامطلوب نمونه‌ها و ناخوشایند شدن طعم آن از نظر مصرف‌کننده می‌شود. مردم کشور ایران به نوشیدنی‌های طعم‌دار علاقه زیادی دارند چنان که از روزگاران قدیم به طعم دار کردن

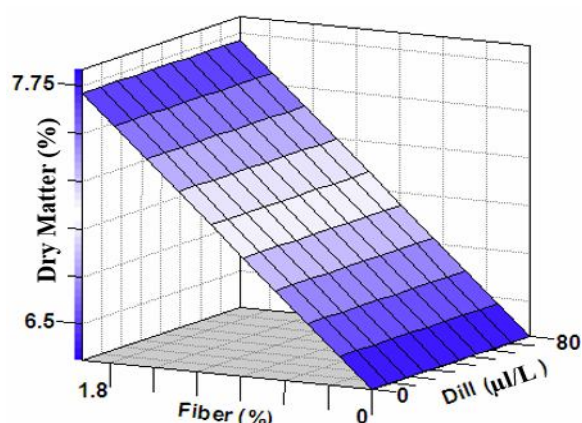
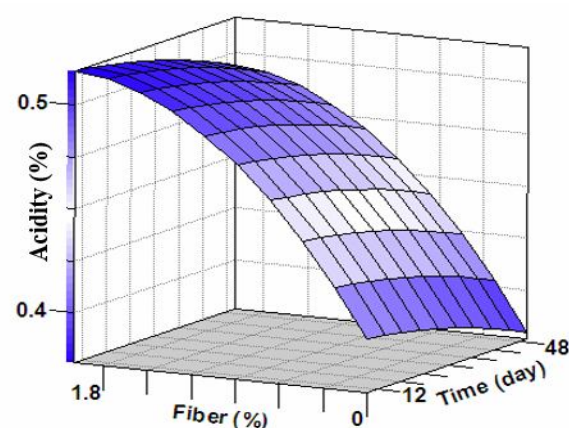


Fig 3 Effect of wheat fiber and storage time on dry matter of dough

۳-۴- تأثیر تیمارها بر تغییرات pH و اسیدیته

تأثیر خطی و مربعی فیبر و زمان نگهداری و تأثیر متقابل فیبر و زمان نگهداری بر pH و تأثیر خطی و مربعی فیبر و تأثیر مربعی زمان نگهداری بر درصد اسیدیته معنی دار



با توجه به جدول ۲ مدل پیش بینی شده زیر، برای اسیدیته و pH در دوغ بدست آمد که در آن A مقدار فیبر و C زمان نگهداری است.

$$\text{pH} = 4.36 - 0.13 \cdot A - 0.01 \cdot C + 0.07 \cdot A^2 - 0.002 \cdot AC + 0.0002 \cdot C^2$$

$$\text{Acidity} = 0.40 + 0.12 \cdot A - 0.03 \cdot A^2 - 0.00001 \cdot C^2$$

۳-۵- تأثیر تیمارها بر خواص حسی

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که تأثیر مقدار فیبر گندم بر امتیاز رنگ و قوام دوغ و تأثیر فیبر و اسانس شوید و تأثیر متقابل شوید و زمان نگهداری بر امتیاز طعم دوغ معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با توجه به شکل ۵، با افزایش مقدار فیبر گندم امتیاز رنگ نمونه‌های دوغ بطور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. احتمالاً در نمونه‌های حاوی فیبر با مقادیر بالاتر، رنگ

در طول نگهداری نیز تا روز ۳۰ امتیاز طعم افزایش و سپس کاهش یافت. همانطوری که در مبحث اسیدیته نیز بیان شد تا ۳۰ روز پس از نگهداری مقدار اسیدیته افزایش و سپس کاهش یافت. چون در دوغ ترش بودن یکی از فاکتورهای اساسی در پذیرش طعم آن می باشد لذا افزایش اسیدیته منجر به بهبود طعم دوغ گردید. اما با افزایش زمان اسیدیته دوغ کاهش پیدا کرد و منجر به کاهش امتیاز طعم دوغ شد.

با توجه به جدول ۲ مدل پیش بینی شده زیر، برای ارزیابی امتیاز طعم و بافت دوغ، بدست آمد که در آن A مقدار مقدار فیبر، B اسانس شوید و C زمان نگهداری است.

$$\begin{aligned}\text{Flavor} &= 2.56 + 0.03*A + 0.12*B - 0.08*C - 0.0003*A^2 - 0.004*B^2 + 0.005*BC - 0.001*C^2 \\ \text{Texture} &= 3.40 + 0.13*A^2 \\ \text{Color} &= 4.85 - 2.62*A + 0.003*AB + 0.91*A^2\end{aligned}$$

فرآورده های لبنی به خصوص ماست و دوغ به وسیله پودر گیاهان معطر مبادرت می ورزیدند. همچنین اکثر نوشیدنی های سنتی کشور ما از مواد گیاهی معطر تولید می شوند. این نتیجه یعنی اثر مثبت عصاره های گیاهی مثل نعناع و شوید بر طعم فرآورده های لبنی در برخی آزمایش هایی که قبلاً انجام شده نیز به اثبات رسیده است [۱۶].

با افزایش مقدار فیبر گندم نیز امتیاز طعم نمونه های دوغ بطور معنی داری کاهش یافت (شکل ۵). مقادیر بالای فیبر به دلیل درگیر شدن مولکول های اسانس و جلوگیری از آزاد شدن آنها در دهان گردیده، کاهش مطلوبیت طعم را موجب می شود (مارکو و همکاران ۲۰۱۷). نتایج حاصل از تحقیقات هاشمی نیا و همکاران (۱۳۹۰) نشان داد نمونه های حاوی فیبر و ژلان از لحاظ طعم و مزه و پس طعم اختلاف معنی داری با هم داشتند [۲۴] که با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

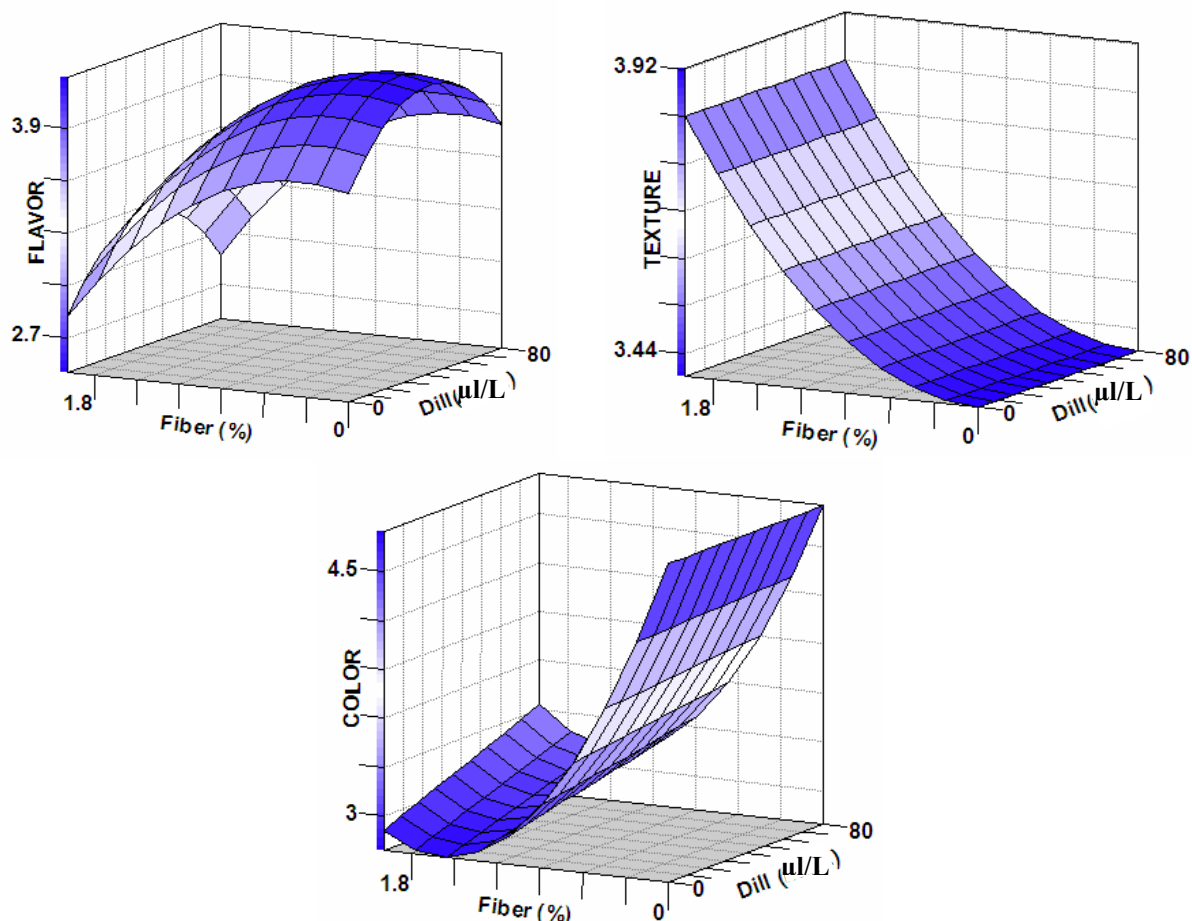


Fig 5 Effect of treatments on sensory properties of doogh

بایستی الگوی را معرفی کرد که تا حد امکان تمامی پاسخ ها را به نحو رضایت بخشی بهینه نماید. برای این منظور کانتور پلات های مختلف بر روی هم قرار گرفته و منطقه ای که

۳-۶- بهینه سازی

با توجه به تحلیل نمودارها و این نکته که شرایط بهینه یک پاسخ، ممکن است برای پاسخ دیگر نامساعد باشد؛ بنابراین

- overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. LWT - Food Science and Technology. 50: 1-16.
- [6] Zomorodi, S. 2012. Physicochemical, rheological and sensory properties of stirred fruit yoghurt fortified by wheat fiber. Journal of Food Industry Research 22: 443-454 (In Parsian).
- [7] Stanojević, L. P., Stanković, M. Z., Cvetković, D. J., Danilović, B. R., Stanojević, J. S., 2016. Dill (*Anethum graveolens* L.) seeds essential oil as a potential natural antioxidant and antimicrobial agent. Biologica Nyssana 7: 31-39.
- [8] Mehdizadeh, T., Langroodi, A. M., Shakouri, R., Khorshidi, S., 2019. Physicochemical, microbiological, and sensory characteristics of probiotic yogurt enhanced with *Anethum graveolens* essential oil. Journal Food Safety. 126: 1-9.
- [9] Allgeyer, L. C., Miller, M. J., Lee, S. Y., 2010. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics. Journal of Dairy Science. 93: 4471-4479.
- [10] Sarabi-Jamab, M., Niazmand, R., 2009. Effect of essential oil of *Menthapiperita* and *Ziziphoraclinopodioides* on *Lactobacillus acidophilus* activity as bioyoghurt starter culture. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences. 6:129-131.
- [11] AOAC, 1997. Official Methods of Analysis. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists
- [12] Bogsan, C.S.B., Florence, A.C.R., Perina, N., Hirota, C., Soares, F.A.S.M., 2013. Survival of *Bifidobacterium Lactis* hn019 and release of biogenic compounds in unfermented and fermented milk is affected by chilled storage at 4°C. Journal Probiotics Health 1: 1-7.
- [13] Unnamed, 2008. National Standard of Iran, No. 2453. Simple Doogh-Characteristics and Test Methods. Iran Institute of Standards and Industrial Research. (In Parsian).
- [14] Abrahimzadeghan, S., Zomorodi, S. 2013. Survival of *Lactobacillus acidophilus* (LAFTI-L10) and *Bifidobacterium lactis* (LAFTI-B94) and their effect on quality and microstructure of doogh. Journal of Food Industry Research 24: 531-541. (In Parsian).
- مشخصات تمامی پاسخها را برآورد نماید، به عنوان منطقه بهینه معرفی می‌گردد. مبنای بهینه سازی به حداکثر رساندن میزان پایداری، تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس و امتیاز خواص حسی، مقدار فیبر و زمان نگهداری دوغ بود. بر این اساس، شرایط بهینه برای تولید دوغ میزان فیبر گندم ۱/۶٪ و اسانس شوید ۴۰ میکرولیتر بر لیتر و زمان نگهداری ۳۰ روز تعیین گردید.
- ### ۴- نتیجه گیری
- در این تحقیق با توجه به مدل تجربی به دست آمده توسط روش سطح پاسخ، ارتباط بین متغیرهای مورد مطالعه مناسب تشخیص داده شد. بر اساس نتایج حاصل از این بررسی، شرایط بهینه برای تولید دوغ سین‌بیوتیک مقدار فیبر گندم و اسانس شوید به ترتیب ۱/۶٪ و ۴۰ میکرولیتر بر لیتر و زمان نگهداری ۳۰ روز تعیین گردید. در شرایط بهینه جمعیت باکتری‌های بیفیدوباکتریوم لاکتیس در حدود $\log \text{cfu/g}$ ۷/۳۲، ماده خشک ۶/۵۲٪، پایداری ۴۸/۵٪، اسیدیته ۰/۵۱٪ بر حسب اسید لاکتیک و pH برابر ۳/۹ و خواص حسی طعم، رنگ و قوام به ترتیب ۴/۲، ۳/۲ و ۳/۷ از ۵ می‌باشد.
- ### ۵- منابع
- [1] Marco, M. L, Heene, D., Binda, S., Cifelli, C. J., Cotter, P. D., 2017. Health benefits of fermented foods: Microbiota and beyond. Curr Opinion Biotechnology. 44: 94-102.
- [2] Pandey, S. M., Mishra, H. N., 2015. Optimization of the prebiotic and probiotic concentration and incubation temperature for the preparation of synbiotic soy yoghurt using response surface methodology. LWT-Food Science Technology. 62: 458-67.
- [3] Vanden Nieuwboer, M., Brummer, R. J., Guarner, F., Morelli, L., Cabana, M., 2015. Safety of probiotics and synbiotics in children under 18 years of age. Beneficial Microbes. 6: 615-30.
- [4] Elleuch, M., Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., Attia, H., 2010. Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality & commercial applications: A review Food Chemistry. 121: 174-185.
- [5] Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., Bressollier, P., 2013. An

- Kullaniminin Ayran Kalite Kriterleri Üzerine Etkilerinin Belirlenmesi. GIDA. 35: 105-111.
- [23] Staffolo, M. D., Bertola, N., Martino, M., Bevilacqua, A., 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. International Dairy Journal. 14: 263-268.
- [24] Hasheminia, S. M., Ebrahimzadeh Mousavi, S. A., Ehsani M. R., Dehghanania J., 2011. The effect of adding Jelau hydrocolloid on rheological properties and stabilization of fibrous doogh. Food Industry Research. 193-179. (In Parsian).
- [25] Blecker, C., Chevalier, J. P., Van Herch, J. C., Fournies, C., Deroane, C., Paguot, M., 2001. Inulin: Its pH ysiocemical properties and technological functionality. Research Development in Agricultural and Food Chemistery. 125-131.
- [26] Kiani, H., Mousavi, M. E., Razavi, H., Morris, E. R., 2010. Effect of gellan, alone and in combination with high-methoxy pectin, on the structure and stability of doogh, a yogurt-based Iranian drink. Food Hydrocolloids. 2: 744-754
- [27] Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A., 2008. Physical, chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids. 22: 1291-1297.
- [28] Tarakci, Z., Kucukoner, E., 2004. Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yogurt. Journal Food Science Technology. 41: 177-181.
- [29] Ferna'ndez-Garci'a, E., McGregor, J. U., 2017. Fortification of sweetened plain yogurt with insoluble dietary fiber. European Food Research and Technology. 204: 433-437.
- [15] Zaika, L. L., Kissinger, J. C., 1984. Fermentation Enhancement by Spices: Identification of Active Component. Journal of Food Science. 49:1.5-9.
- [16] El-Nemr, T.M., Ali, A.H., Awad, S. A., 2004. Introducing of some herb oils in the manufacture of Probiotic Lebneh. Alexandria. Journal of Agricultural Research. 49: 49-58.
- [17] Shafei, M., Sharifian, A., Aghazadeh Meshgi, M., 2010. Identification of chemical compounds of Kakoti essential oil and investigation of its antimicrobial effect on the yeast of Cloromays Marxianus. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 9: 101-105. (In Parsian).
- [18] Delaquis, P.J., Stanich, K., Girard, B., Mazza, G., 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal Food Microbiology. 74: 101-109.
- [19] Tassou, C., Koutsoumanis, K., Nychas, G. J. E., 2000. Inhibition of Salmonella enteritidis and staphylococcus aureus in nutrient broth by mint essential oil. Food Research International. 33: 273-280.
- [20] Kivance, M., Akgule, A. and Dogan, A., 1991. Inhibitory and Stimulatory effects of cumin, oregano and their essential oil on growth and acid production of *Lactobacillus Plantarum* and *Leuconostoc Mesentroides*. International Journal of Food Microbiology 13:1.81-85.
- [21] Saulnier, L., Sado, P. E., Branlard, G., Charmet, G., Guillon, F., 2007. Wheat arabinoxylans: exploiting varia-tion in amount and composition to develop enhanced varieties. Journal of Cereal Science. 46: 261-281.
- [22] Kök Taş, T., Güzel-Seydim, Z., 2010. Çeşitli Yağ İkame Maddeleri Ve Probiyotik



Enrichment and optimization of wheat fiber and dill essential oil in synbiotic doogh using response surface methodology

Zomorodi, Sh. ^{1*}, Bolandi, M. ², Shahidi, M. ³

1. Associate Professor, Department of Engineering Research, West Azarbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran.

2. Associate Professor, Department of Food Science, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

3. Graduated Senior, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received 2020/ 04/ 21
Accepted 2021/ 08/ 07

Keywords:

Doogh,
Wheat fiber,
Dill essential oil,
Bifidobacterium lactis,
Synbiotic.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.26

*Corresponding Author E-Mail:
s.zomorodi@areeo.ac.ir

In this study, the amount of dill essential oil and wheat fiber was optimized in synbiotic doogh using Box Behnken design and Response Surface Methodology (RSM). Independent variables benign dill essential oil in the range of 0-80 $\mu\text{l/l}$, wheat fiber in the range of 0-2% and storage time in the range of 10-50 days. The survival of *Bifidobacterium lactis* and physicochemical and sensory properties of synbiotic doogh were evaluated during storage. The results of statistical analysis of data showed that the survival of *Bifidobacterium lactis* increased with increasing the dill essential oil concentration up to 30 $\mu\text{l/l}$, but decreased with more increasing its concentration ($P < 0.05$). However, the number of probiotics significantly decreased during storage ($P < 0.05$). Increasing the amount of wheat fiber, the acidity and dry matter increased and pH decreased. Doogh stability increased with increasing fiber at levels up 0.6% but decreased during storage time ($P < 0.05$). The results of sensory evaluation of the samples showed that increasing the amount of wheat fiber, caused decrease in the color and flavor score of the samples and increase in the texture score. However, increasing the amount of essential oil to 40 $\mu\text{l/l}$, caused an increase in the flavor score, and then decreased significantly ($P < 0.05$). Accordingly, the optimal conditions for the production of synbiotic doogh containing *Bifidobacterium lactis*, the amount of wheat fiber and dill essential oil of 1.6% and 40 $\mu\text{l/l}$, respectively, and storage time was evaluated being 30 days.