

تولید ماست پاراپروبیوتیک و پروبیوتیک حاوی *Lactiplantibacillus plantarum*: بررسی ویژگی‌های میکروبی و فیزیکوشیمیایی آن‌ها

بهروز علیزاده بهبهانی^۱، حسین جوینده^۲، نگین غظنفری^۳، علیرضا وسیعی^۴

۱- نویسنده مسئول: دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران
پست الکترونیکی: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

۲- استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۳- دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۴- موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۴

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۵/۱۴

چکیده

سابقه و هدف: غذاهای فراسودمند به غذاهای غنی شده با موادی مانند ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، فیبرها و پروبیوتیک‌ها با مداخله تکنولوژی اطلاق می‌شود. پاراپروبیوتیک‌ها، به عنوان سلول‌های کشته شده پروبیوتیک با عصاره‌های سلولی خام و ترکیب شیمیایی پیچیده تعریف می‌شوند، که در صورت مصرف به مقدار کافی برای مصرف کننده، مفید هستند.

مواد و روش‌ها: سلول‌های پاراپروبیوتیک به روش حرارتی بدست آمد. ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک از شیر کم چرب تولید شد. نمونه‌ها به مدت ۷ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ویژگی‌های میکروبیولوژیکی، فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، سینرزیس، ظرفیت نگهداری آب، رنگ و بافت) نمونه‌ها در روزهای صفر و هفتم ارزیابی شد.

یافته‌ها: تا پایان دوره نگهداری در هر دو نمونه، pH کاهش، اسیدیته افزایش، سینرزیس کاهش و ظرفیت نگهداری آب (WHC) افزایش یافت. سلول‌های زنده و کشته شده *Lactiplantibacillus plantarum* تأثیر مشابهی روی رنگ ماست داشتند. آنالیز بافتی نشان داد که اختلاف آماری معنی‌داری ($P>0.05$) بین دو نمونه وجود نداشت، و هر سه پارامتر سختی، قوام و چسبندگی در هر دو نمونه، افزایش یافتند. نتایج شمارش سلول‌های زنده نشان داد، تفاوت آماری معنی‌داری ($P<0.05$) بین دو نمونه ماست وجود داشت ولی، تعداد سلول‌های زنده در هر دو نمونه ماست تا انتهای روز هفتم افزایش یافته بود.

نتیجه‌گیری: می‌توان از سلول‌های پاراپروبیوتیک برای تولید ماست به دلیل مزایای بهداشتی و تکنولوژیکی، ماندگاری بالا، سادگی کار و عدم تأثیر پذیری و حساسیت به شرایط محیطی استفاده کرد، همچنین به نظر می‌رسد می‌توانند جایگزین مناسبی برای پروبیوتیک‌ها در توسعه ماست‌های فراسودمند باشند، هر چند باید مطالعات بالینی بیشتری برای تأیید مزایای بهداشتی مربوط به پاراپروبیوتیک‌ها صورت بگیرد.

واژگان کلیدی: پاراپروبیوتیک، ماست فراسودمند، پروبیوتیک، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

• مقدمه

میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که وقتی به میزان کافی مصرف شوند، مفید بوده و اثرات و مزایایی سلامتی برای میزبان به همراه دارند. "قابل قبول‌ترین تعریف برای پروبیوتیک‌هاست، که اثرات مفید را عمدتاً با متعادل کردن فلور روده و تعاملات بین میکروبیوتای دستگاه گوارش و سیستم ایمنی ارائه می‌دهند (۴-۶). مکانیسم عمل آن‌ها می‌تواند مربوط به عملکرد

غذاهای فراسودمند به غذاهای غنی شده با موادی مانند ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، فیبرها و پروبیوتیک‌ها با مداخله تکنولوژی اطلاق می‌شود (۱). با توجه به مزایای سلامتی غذاهای فراسودمند، تقاضا برای این غذاها در سراسر جهان، در حال افزایش است (۲). غذاهای پروبیوتیک، تعداد قابل توجهی از غذاهای فراسودمند را تشکیل می‌دهند (۳). "پروبیوتیک‌ها،

پروبیوتیک‌ها علیه میکروارگانیسم‌های مختلف مانند ترشح مواد ضد میکروبی، چسبیدن رقابتی به غشا مخاطی و اپیتلیوم، تعدیل سیستم ایمنی بدن و تقویت سد اپیتلیال روده باشد (۷). تعداد زیادی از این میکروارگانیسم‌ها از باکتری‌های اسید لاکتیک مشتق شده‌اند و از منابع غذایی بدست می‌آیند که به طور کلی ایمن شناخته می‌شوند. باکتری‌های اسید لاکتیک گرم مثبت، غیر اسپورزا، بی‌هوازی اختیاری، متحرک، غیر بیماری‌زا و کروی یا میله‌ای شکل هستند و در طی فعالیت‌های متابولیکی خود عمدتاً اسید لاکتیک را به عنوان محصول جانبی تولید می‌کنند. همچنین با مصرف کربوهیدرات‌ها منجر به تولید ترکیباتی مانند اسید لاکتیک، دی استیل و باکتریوسین می‌شوند (۸، ۹). تخمیر با کمک این باکتری‌ها از رایج‌ترین روش‌های نگهداری مواد غذایی است (۱۰). در طی تخمیر با تولید اسیدهای آلی و سایر متابولیت‌ها نقش مهمی در ایجاد و افزایش طعم در غذا و جلوگیری از فساد آن غذا ایفا می‌کنند (۱۱). در بین غذاهای فراسودمند، محصولات لبنی پروبیوتیک از جایگاه ویژه‌ای برخوردار هستند و بیش از ۴۰٪ از این بازار را به خود اختصاص داده‌اند (۱۲). در میان محصولات لبنی متنوع، ماست به دلیل ارزش غذایی بالا، سازگاری خوب، خواص حسی مطلوب و حامل پروبیوتیک مناسب به دلیل توانایی خود در پشتیبانی از کشت‌های زنده به عنوان یک محصول ترجیحی برای پروبیوتیک‌ها، از محبوبیت بالایی برخوردار است (۱۳-۱۵). ماست نوعی شیر تخمیر شده غلیظ و با قوام است که با، یا بدون افزودن برخی مشتقات طبیعی شیر (کنسانتره آب پنیر، خامه، پودر شیر بدون چربی و یا کازئینات) با ساختار ژلی حاصل از انعقاد پروتئین‌های شیر و از طریق تخمیر شیر توسط باکتری‌های لاکتیکی (استارتر ماست)، تولید می‌شود و به دلیل وجود پپتیدها، پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی دارای ارزش غذایی بالایی است (۱۶، ۱۷). وجود پروبیوتیک‌ها در ماست، ترکیبات زیست فعالی با فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد فشار خون، کاهش چربی خون و تعدیل کننده ایمنی ایجاد می‌کنند (۱۹، ۱۸). پروبیوتیک‌ها باید به مقدار کافی در محصول تا رسیدن به روده زنده بمانند، تا مزایای سلامتی خود را در میزبان ارائه دهند (۲۰، ۲۱). برای اعمال این اثرات مفید، حداقل پروبیوتیک‌های زنده در محصول نهایی در زمان مصرف باید CFU/g یا 10^6 CFU/ml تا 10^7 CFU/ml باشند. تعداد زیادی غذای حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک وجود دارد، اما بقاء این میکروارگانیسم‌ها در برخی مواد غذایی چالش‌های تکنولوژیکی را به همراه دارد (۲۲). تضمین بقاء میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در طول نگهداری ماده غذایی، افزودن این میکروارگانیسم‌ها به فرمولاسیون ماده غذایی بعد از

فرآیند حرارتی و اطمینان از وجود حداقل غلظت مؤثر میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در غذا، محدودیت‌هایی را در استفاده از آن‌ها در طی نگهداری ماده غذایی ایجاد کرده است (۲۳). همچنین برخی ماتریکس‌های غذایی، به دلیل pH پایین و فعالیت آبی کم، بسترهای استرس‌زا برای بقاء میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک را ایجاد می‌کنند. از طرفی، اضافه کردن این میکروارگانیسم‌ها بعد از فرآیند حرارتی، احتمال آلودگی مجدد میکروبیولوژیکی را افزایش می‌دهد (۲۴). طبق تعریف کلاسیک پروبیوتیک‌ها، این میکروارگانیسم‌ها باید زنده باشند تا تأثیرات سلامتی را برای میزبان ارائه دهند، نتایج بدست آمده از پژوهش‌های اخیر نشان داد که پاراپروبیوتیک‌ها نیز می‌توانند چنین مزایایی را ارائه دهند (۲۶، ۲۵).

پاراپروبیوتیک‌ها، به عنوان "سلول‌های کشته شده یا غیر زنده پروبیوتیک" یا "پروبیوتیک‌های شب (روح پروبیوتیک)" با عصاره‌های سلولی خام و ترکیب شیمیایی پیچیده تعریف می‌شوند، که در صورت مصرف به مقدار کافی برای مصرف کننده، مفید هستند (۲۷). پاراپروبیوتیک‌ها اثرات متعددی بر سلامتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به، کاهش کلسترول، تنظیم سیستم ایمنی، تعدیل بیماری‌های تنفسی، بهبود بیماری‌های کبدی ناشی از الکل، مهار پوسیدگی دندان، درمان کولیت و مهار رشد سلول‌های سرطانی اشاره کرد (۲۵، ۷). پاراپروبیوتیک‌ها به روش‌های مختلفی از جمله، عملیات حرارتی، اشعه ماوراء بنفش، فراصوت، میدان الکتریکی پالسی، تغییرات pH، فشار بالا و گرمایش آهسته بدست می‌آیند که، عملیات حرارتی رایج‌ترین روش می‌باشد. این روش‌ها از طریق آسیب‌های غشائی، پارگی دیواره سلولی، دناتوره شدن پروتئین و تغییر ساختار آن‌ها، کاهش pH بین سلولی، آسیب DNA و غیر فعال شدن آنزیم‌ها، منجر به مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شوند (۲۸). غیر فعال شدن باکتری‌ها منجر به آزاد شدن ترکیباتی مانند پپتیدوگلیکان‌ها، آگزوپلی ساکاریدها و اسیدهای لیپوتیکوئیک می‌شود که مزایای سلامتی متعددی از جمله تعدیل کننده ایمنی به همراه عملکرد بازدارندگی علیه میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و بیماری‌های مختلف از خود نشان می‌دهند (۷). همچنین عدم تعامل با سایر اجزاء ماتریکس غذایی، پایداری در طیف گسترده‌ای از pH و دما، ماندگاری بالا، حمل و نقل صنعتی و تجاری‌سازی ساده، از دیگر مزایای این باکتری‌ها در توسعه محصولات غذایی فراسودمند می‌باشد (۲۹). در پژوهش‌هایی که مولای پرواری و همکاران در سال‌های ۲۰۲۰ و ۲۰۲۱ انجام دادند، ماست پروبیوتیک حاوی *Lactobacillus acidophilus* ATCCSD و *subsp. lactis* BB- و *Bifidobacterium animalis* 12 و ماست پاراپروبیوتیک حاوی

در محیط کشت MRS آگار (۴۸ ساعت، دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد) انجام شد، هیچ کلونی پس از کشت روی صفحات آگار مشاهده نشد.

تولید ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک

تمامی وسایل مورد نیاز در اتوکلاو استریل شد. شیر کم‌چرب در دمای ۸۰ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده، سپس در حمام یخ تا دمای ۴۵ درجه سانتی-گراد خنک شد. شیر، در ظرف‌های جداگانه‌ای با حجم یکسان ۲۰۰ میلی‌لیتر تقسیم شد، در ادامه در هر ظرف از استارتر (Yogo - mir Italia - 10U - *Streptococcus thermophilus* و *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) به میزان ۱٪ (وزنی/حجمی) و یک میلی‌لیتر از کشت‌های پروبیوتیک ($10^8 \times 1/5$) و پاراپروبیوتیک به طور جداگانه به شیر اضافه و به خوبی همزده شدند. سپس از شیر حاوی کشت‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک در ظروف مخصوص تست بافت (Back-extrusion) به ارتفاع ۱۸ میلی‌متر توزیع شد و تمامی نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی-گراد گرمخانه گذاری شده و پس از این مدت به مدت ۷ روز در دمای ۴ درجه سانتی-گراد نگهداری گردید (۳۳).

اندازه‌گیری pH و اسیدیته قابل تیتراسیون

pH نمونه‌ها در دمای محیط با کمک pH متر (Metrohm (pH Lab, swiss made) 827 تعیین شد. برای اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون ۱۰ گرم نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی مخلوط و تیتراسیون با ۰/۱ NaoH نرمال و فنل فتالین (۵٪ وزنی/حجمی در اتانول) به عنوان معرف انجام شد. نتایج بر اساس درصد اسید لاکتیک گزارش شد (۲۱).

اندازه‌گیری سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب WHC (Water holding capacity)

تعیین سینرزیس با سانتریفیوژ کردن ۱۰ گرم نمونه در ۷۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و توزین آب پنیر جمع آوری شده بدست آمد (۳۴).

$$\text{سینرزیس (\%)} = \frac{\text{وزن آب پنیر}}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

تعیین ظرفیت نگهداری آب نمونه‌ها (۱۰ گرم) از طریق سانتریفیوژ تحت شرایط ۵۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه انجام، سپس آب پنیر خارج شده توزین شد (۳۵).

$$\text{ظرفیت نگهداری آب (\%)} = \frac{\text{وزن نمونه} - (\text{وزن آب پنیر})}{\text{وزن نمونه}} \times 100$$

شمارش سلول‌های زنده

از محیط کشت MRS آگار و ۰/۱۵ Bile (وزنی/حجمی) به عنوان محیط کشت انتخابی باکتری‌های اسید لاکتیک استفاده شد. رقت‌های سریالی از نمونه (تا رقت 10^{-5}) به کمک رینگر

فرم غیرفعال باکتری‌های مذکور را تولید و از نظر خواص میکروبیولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیکی، طی ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال مقایسه کردند. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین نرخ افت pH، میانگین سرعت افزایش اسیدیته و اسیدیته نهایی در ماست حاوی *L. acidophilus* غیرفعال اضافه شده قبل از تخمیر مشاهده شد. بیشترین اسید لاکتیک پس از ۲۸ روز نگهداری در نمونه‌های تهیه شده با افزودن فرم پاراپروبیوتیک *L. acidophilus* پس از تخمیر به دست آمد. نمونه‌های ماست با *L. acidophilus* و *B. animalis* اضافه شده پس از تخمیر به ترتیب بیشترین و کمترین سطح اسید استیک را پس از ۲۸ روز نگهداری نشان دادند. نمونه حاوی سلول‌های کشته شده *L. acidophilus* و *B. animalis* که قبل از تخمیر اضافه شد، کمترین سینرزیس، بالاترین ظرفیت نگهداری آب و بالاترین ویسکوزیته ظاهری را به دلیل وجود اگزوپلی‌ساکاریدها و اجزای سلولی نشان داد (۲۱، ۲۰).

هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات پاراپروبیوتیک *Lpb. plantarum* در ماست طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی-گراد و ارزیابی ویژگی‌های میکروبیولوژی و فیزیکی‌شیمیایی و مقایسه آن با ویژگی‌های ماست پروبیوتیک است که در نهایت بتوان مناسب بودن پاراپروبیوتیک‌ها در تولید ماست به عنوان یک غذای فراسودمند را مشخص کرد.

• مواد و روش‌ها

فعال‌سازی باکتری *Lpb. plantarum*

باکتری پروبیوتیک *Lpb. plantarum* (۳۰) از بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی صنعتی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. برای فعال‌سازی باکتری، از محیط کشت MRS براث استفاده و سوسپانسیون میکروبی در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری شد، سپس ۱ میلی‌لیتر از باکتری فعال را مجدداً به محیط کشت تازه MRS براث برای رشد بهتر منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۸ ساعت دیگر گرمخانه گذاری شد (۳۱).

آماده‌سازی پاراپروبیوتیک‌ها

این پژوهش در سال ۱۴۰۱، انجام شد. تمامی وسایل و مواد مورد نیاز در اتوکلاو استریل شد. کشت‌های پروبیوتیک *Lpb. plantarum* پس از فعال‌سازی ($10^8 \times 1/5$)، در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۵ دقیقه کشته، سپس در حمام آب یخ، سرد و در ادامه برای انجام آزمون‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی-گراد نگهداری شدند (۳۲). بلافاصله پس از فرآیند حرارتی، شمارش تعداد باکتری‌های زنده

pH کاهش و اسیدیته قابل تیتراسیون افزایش یافت، که علت آن را می‌توان به رشد باکتری‌ها و ظرفیت بافری نسبتاً بالای شیر نسبت داد. هر دو سلول‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک در کاهش pH و افزایش اسیدیته و تولید ماست در کنار استاترتر، مؤثر عمل کردند. کاهش pH و به دنبال آن افزایش اسیدیته در نمونه‌های پروبیوتیک به فعالیت بقایای باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در ماتریکس و همچنین فعالیت آنزیم لاکتاز در دمای یخچال و شکستن لاکتوز و رشد لگاریتمی باکتری‌ها در طول تخمیر و در نمونه‌های پاراپروبیوتیک کاهش pH به وجود ترکیبات دیواره سلولی سلول‌های کشته شده، مانند اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، قندها و مواد معدنی و در کل وجود مواد مغذی بیشتری که به صورت آزاد هستند و می‌توانند رشد استاترتر را تحریک کنند، نسبت داده می‌شود.

تغییرات سینرزیس و WHC در جدول ۲، ارائه شده است. در تمامی نمونه‌ها تا آخرین روز نگهداری سینرزیس کاهش و WHC افزایش یافته بود به طوری که کمترین سینرزیس در پایان روز هفتم ۱۰/۴۷٪ و ۱۳/۳۹٪ و بیشترین WHC ۳۶/۹۶٪ و ۳۳/۰۳٪ به ترتیب در نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک اندازه‌گیری شد. اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک، در هر دو پارامتر اندازه‌گیری شده مشاهده شد ($P < 0.05$). مقادیر کم سینرزیس که منجر به مقاومت شبکه‌ی ژل در برابر خروج آب پنیر طی نگهداری می‌شود، به وجود محیط اسیدی نسبت داده می‌شود. همچنین، کاهش سینرزیس و افزایش WHC به دلیل حبس شدن مولکول‌های آب مؤثر در شبکه ژلی می‌باشد.

استریل تهیه، سپس به روش Pour plate کشت داده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. کلنی‌های ظاهر شده شمارش و در ضریب رقت ضرب شدند. نتایج به صورت $\log CFU/ml$ گزارش شد (۳۳، ۳۵).

اندازه‌گیری رنگ

رنگ نمونه‌ها با دستگاه هانتر لب (Konica Minolta, Chroma meter CR-410, Japan) اندازه‌گیری و پارامترهای a^* (+, red; -, 'L' (brightness, white = 100 – black = 0) و b^* (+, yellow; -, blue) گزارش شدند (۳۶، ۳۷).

آنالیز ویژگی‌های بافتی

پارامترهای سختی، چسبندگی و قوام نمونه‌ها به روش Back-extrusion (Brookfield CT3-10 kg, US) با شرایط پروب استوانه‌ای (قطر ۲۵/۴ نانومتر) و سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه تا تغییر شکل ۵۰٪ اندازه‌گیری شد. از نرم افزار TA برای تعیین سختی (حداکثر نیرو در مرحله loading)، قوام (مساحت منحنی در مرحله loading) و چسبندگی (منطقه منحنی در مرحله unloading) از منحنی نیرو-زمان استفاده شد (۳۸).

روش آماری

همه آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف استاندارد ارائه شد. از نرم‌افزار SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) نسخه ۲۰ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها و برای مقایسه میانگین از آزمون دانکن در سطح اطمینان $P < 0.05$ و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

• یافته‌ها

نتایج اندازه‌گیری pH و اسیدیته قابل تیتراسیون در جدول ۱، ارائه شده است. در طول نگهداری نمونه‌ها تا پایان روز هفتم

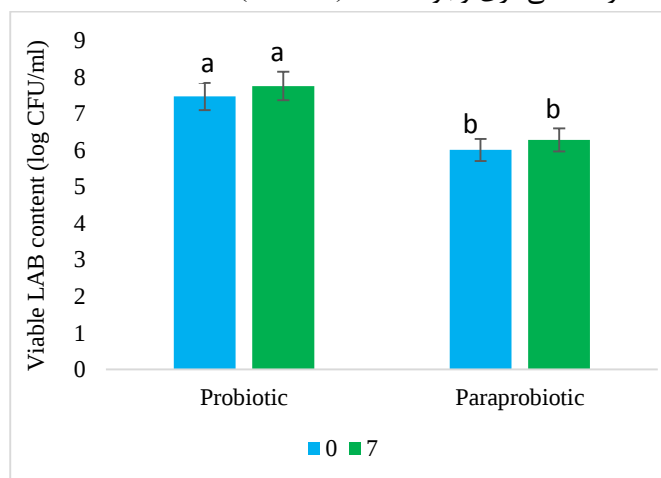
جدول ۱. تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک طی زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نمونه	pH		اسیدیته قابل تیتراسیون (%)	
	۰	۷	۰	۷
ماست پروبیوتیک	۴/۲۶ $\pm$ ۰/۰۰	۴/۱۹ $\pm$ ۰/۰۰	۱/۰۸ $\pm$ ۰/۰۱	۱/۲۶ $\pm$ ۰/۰۵
ماست پاراپروبیوتیک	۴/۳۲ $\pm$ ۰/۰۰	۴/۲۸ $\pm$ ۰/۰۰	۰/۹۰ $\pm$ ۰/۰۵	۰/۹۹ $\pm$ ۰/۰۵

جدول ۲. تغییرات WHC و سینرزیس نمونه‌های ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک طی زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نمونه	سینرزیس (%)		WHC (%)	
	۰	۷	۰	۷
ماست پروبیوتیک	۱۱/۰۴ $\pm$ ۰/۱	۱۰/۴۷ $\pm$ ۰/۱	۳۳/۱ $\pm$ ۰/۰۲	۳۶/۹۶ $\pm$ ۰/۱۵
ماست پاراپروبیوتیک	۱۹/۰۶ $\pm$ ۰/۵	۱۳/۳۹ $\pm$ ۰/۱	۳۰/۵ $\pm$ ۰/۰۵	۳۳/۰۳ $\pm$ ۰/۰۵

سرعت رشد کرد و تعداد سلول‌های زنده افزایش یافت. از نظر تعداد سلول‌های زنده در ماست‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$).



شکل ۱. نتایج شمارش سلول‌های زنده نمونه‌های ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک طی زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد.

تعداد اولیه باکتری *Lpb. plantarum* تلقیح شده در نمونه پروبیوتیک 1.5×10^8 CFU/ml بود و در طول دوره نگهداری تعداد این باکتری‌ها $7.76 \log$ CFU/ml شمارش شد. همانطور که قبلاً اشاره شده بود، حداقل پروبیوتیک‌های زنده در زمان مصرف در محصول نهایی $10^6 - 10^7$ CFU/ml می‌باشد، بنابراین این نمونه را می‌توان به عنوان غذای پروبیوتیک در نظر گرفت. در نمونه پاراپروبیوتیک با توجه به تلقیح سلول‌های کشته شده *Lpb. plantarum* تعداد کمتر سلول‌های زنده شمارش شده در مقایسه با نمونه پروبیوتیک قابل توجه است. رشد و تکثیر استارترها در ماست پاراپروبیوتیک به وجود ساختار دیواره سلولی باکتری *Lpb. plantarum* کشته شده نسبت داده می‌شود.

در جدول ۳، نتایج اندازه‌گیری پارامترهای a^* ، b^* و L^* ارائه شده است. تفاوت آماری معنی‌داری بین مقادیر a^* ، b^* و L^* در نمونه‌های پاراپروبیوتیک و پروبیوتیک (به جز تفاوت جزئی روز صفر در پارامتر a^*) مشاهده نشد ($P > 0.05$). سلول‌های زنده و کشته شده *Lpb. plantarum* تأثیر مشابهی روی رنگ ماست در طی نگهداری از خود نشان دادند. مقادیر درخشندگی از ۱۰۴/۶۲ تا ۱۰۶/۳۳ برای نمونه پروبیوتیک و از ۱۰۸ تا ۱۰۶/۳۳ برای نمونه پاراپروبیوتیک متغیر بود. به طور کلی تفاوت جزئی بین نمونه‌ها وجود داشت که قابل توجه نبود. نکته جالب کاهش مقدار درخشندگی نمونه پاراپروبیوتیک از روز صفر تا انتهای روز هفتم بود. بالاترین و کمترین مقدار a^* بین نمونه‌ها به ترتیب برای روز هفتم پاراپروبیوتیک و روز صفر نمونه پروبیوتیک اندازه‌گیری شد. به طور مشابه در مقادیر b^* بین نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک تفاوت جزئی وجود داشت. بیشترین مقدار b^* ۱۵/۰۶ برای پاراپروبیوتیک در روز صفر و کمترین مقدار ۱۲/۷۵ برای پروبیوتیک روز هفتم بدست آمد.

نتایج آنالیز بافتی نمونه‌ها در جدول ۴، نشان داده شده است. در هر دو نمونه میزان سختی تا انتهای روز هفتم افزایش یافته بود، به طوری که میزان سختی، $1/61$ و $1/5$ نیوتن به ترتیب در نمونه پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک اندازه‌گیری شد. نتایج چسبندگی نیز نشان دهنده روند افزایشی در نمونه‌ها بود و در انتهای روز هفتم به $2/9$ و 2 میلی ژول به ترتیب در نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک بدست آمد. مطابق با دو پارامتر قبلی، میزان قوام در نمونه‌ها نیز افزایش یافت. به نظر می‌رسد مقادیر کم سختی در نمونه‌ها به دلیل عدم استفاده از قوام دهنده و ترکیبات جامد در تولید ماست مرتبط باشد. تغییر در تعداد باکتری‌های زنده ماست در شکل ۱ ارائه شده است. در هر دو نمونه تا پایان روز نگهداری، استارتر ماست به

جدول ۳. نتایج آنالیز رنگ (a^* و b^*) نمونه‌های ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک طی زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نمونه	L^*		a^*		b^*	
	۷	۰	۷	۰	۷	۰
ماست پروبیوتیک	۱۰۴/۶۲ ± ۲/۶	۱۰۶ ± ۰/۶۶	-۰/۷۷ ± ۰/۰۰۱	-۱/۱ ± ۰/۰۲	۱۳/۷۹ ± ۰/۳	۱۲/۷۵ ± ۰/۱
ماست پاراپروبیوتیک	۱۰۸ ± ۴/۲۵	۱۰۶/۳۳ ± ۰/۴۸	-۱/۱۲۵ ± ۰/۰۲۵	-۱/۲۵ ± ۰/۰۰۱	۱۵/۰۶ ± ۰/۲۶	۱۳/۲۰ ± ۰/۰۸

جدول ۴. نتایج آنالیز بافتی نمونه‌های ماست پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک طی زمان نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد

نمونه	سختی (N)		چسبندگی (mJ)		قوام (mJ)	
	۷	۰	۷	۰	۷	۰
ماست پروبیوتیک	۱/۳۱ ± ۰/۰۱	۱/۶۱ ± ۰/۰۳	۱/۸ ± ۰/۰۴	۲/۹ ± ۰/۰۲	۷/۳ ± ۰/۰۱	۹/۱ ± ۰/۰۶
ماست پاراپروبیوتیک	۱/۱۳ ± ۰/۰۲	۱/۵ ± ۰/۰۱	۱/۳ ± ۰/۰۵	۲ ± ۰/۰۱	۷/۲ ± ۰/۰۳	۹ ± ۰/۰۸

• بحث

در طول نگهداری نمونه‌ها تا پایان روز هفتم pH کاهش و اسیدیته قابل تیتراسیون افزایش یافت، که علت آن را به رشد باکتری‌ها و ظرفیت بافری نسبتاً بالای شیر نسبت می‌دهند (۳۹). از عوامل مؤثر بر مقادیر pH و اسیدیته در طی نگهداری ماست می‌توان، نوع کشت استارتر، روش‌های تولید و شرایط نگهداری را نام برد (۴۰). هر دو سلول‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک در کاهش pH و افزایش اسیدیته و تولید ماست در کنار استارتر، مؤثر عمل کردند. کاهش pH و به دنبال آن افزایش اسیدیته در نمونه‌های پروبیوتیک به فعالیت بقایای باکتری‌های اسید لاکتیک موجود در ماتریکس و همچنین فعالیت آنزیم لاکتاز در دمای یخچال و شکستن لاکتوز و رشد لگاریتمی باکتری‌ها در طول تخمیر نسبت داده می‌شود (۴۲). اسید لاکتیک تولید شده تعیین کننده ویژگی‌های حسی و مدت زمان نگهداری ماست است (۴۳). از نظر کاهش pH اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک در روزهای صفر و هفتم مشاهده نشد ($P > 0.05$). هر چند از نظر افزایش اسیدیته اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌ها وجود داشت ($P < 0.05$). به نظر می‌رسد در نمونه‌های پاراپروبیوتیک کاهش pH به وجود ترکیبات دیواره سلولی سلول‌های کشته شده، مانند اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، قندها و مواد معدنی و در کل وجود مواد مغذی بیشتری که به صورت آزاد هستند و می‌توانند رشد استارتر را تحریک کنند، مرتبط باشد (۴۴). افزایش اسیدیته در نمونه‌های حاوی سلول‌های کشته شده *Lpb. plantarum* به وجود موادی مانند اسیدهای تیکوئیک، پپتیدوگلیکان و پروتئین‌های سطحی نسبت داده می‌شود (۴۵).

سینرزیس یا انتشار آب پنیر یکی از مهمترین پارامترهای مؤثر بر کیفیت ماست شناخته می‌شود. پدیده‌ای نامطلوب در ماست است که در اثر تنظیم مجدد شبکه ژل مانند رخ می‌دهد و منجر به افزایش تعداد پیوند ذرات شبکه ژلی می‌شود، در نتیجه شبکه ژلی چروک (منقبض) شده و مایع داخل آن به بیرون ترشح می‌شود (۴۶، ۴۷). نوع کشت استارتر، محتوای جامد، اسیدیته قابل تیتراسیون و مواد معدنی از عوامل مؤثر بر سینرزیس هستند (۲۱). از مهم‌ترین عوامل در تعیین کیفیت ماست، که نشان دهنده پایداری ژل پروتئینی است، WHC است (۴۸، ۴۹). در تمامی نمونه‌ها تا آخرین روز نگهداری سینرزیس کاهش و WHC افزایش یافته بود به طوری که کمترین سینرزیس در پایان روز هفتم 10.47% و 13.39% و بیشترین WHC 36.96% و 33.03% به ترتیب در نمونه‌های پروبیوتیک

و پاراپروبیوتیک اندازه‌گیری شد. اختلاف آماری معنی‌داری بین نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک در هر دو پارامتر اندازه‌گیری شده، مشاهده شد ($P < 0.05$). مقادیر کم سینرزیس که منجر به مقاومت شبکه‌ی ژل در برابر خروج آب پنیر طی نگهداری می‌شود، به وجود محیط اسیدی نسبت داده می‌شود (۳۵). همچنین، کاهش سینرزیس و افزایش WHC به دلیل حبس شدن مولکول‌های آب مؤثر در شبکه ژلی می‌باشد (۵۰). به نظر می‌رسد کاهش سینرزیس در نمونه‌های پاراپروبیوتیک تا انتهای روز هفتم به حضور اگزوپلی ساکاریدهای مشتق شده از سلول‌های کشته شده مرتبط باشد (۲۱). افزایش WHC در نمونه‌های پاراپروبیوتیک به دلیل وجود پروتئین بیشتر است به طوری که شبکه پروتئینی فشرده می‌تواند، به آب بیشتری متصل شود. به طور کلی پروتئین منجر به افزایش WHC می‌شود، زیرا افزایش محتوای پروتئینی باعث افزایش تعامل بین ذرات و در نتیجه افزایش WHC می‌شود (۵۱).

اولین ویژگی که توسط مصرف کننده درک شده و بر ترجیح آن تأثیر می‌گذارد، رنگ است (۴۱). رنگ، از مهمترین ویژگی‌های بصری ماست است. مدت زمان نگهداری، ماندگاری و کاهش رنگ از عوامل مؤثر بر این پارامتر است (۵۲). تفاوت آماری معنی‌داری بین مقادیر a^* ، b^* و L^* در نمونه‌های پاراپروبیوتیک و پروبیوتیک (به جز تفاوت جزئی روز صفر در پارامتر a^*) مشاهده نشد ($P > 0.05$). سلول‌های زنده و کشته شده *Lpb. plantarum* تأثیر مشابهی روی رنگ ماست در طی نگهداری از خود نشان دادند. مقادیر درخشندگی از 104.62 تا 106 برای نمونه پروبیوتیک و از 106.33 تا 108 برای نمونه پاراپروبیوتیک متغیر بود. به طور کلی تفاوت جزئی بین نمونه‌ها وجود داشت که قابل توجه نبود. نکته جالب کاهش مقدار درخشندگی نمونه پاراپروبیوتیک از روز صفر تا انتهای روز هفتم بود. بالاترین و کمترین مقدار a^* بین نمونه‌ها به ترتیب برای روز هفتم پاراپروبیوتیک و روز صفر نمونه پروبیوتیک اندازه‌گیری شد. به نظر می‌رسد تفاوت جزئی در پارامتر a^* در نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک به توانایی باکتری‌ها در تولید ویتامین‌های B_{12} و ریبوفلاوین مرتبط باشد چرا که از عوامل تولید رنگدانه سبز در غذا هستند (۵۳). به طور مشابه در مقادیر b^* بین نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک تفاوت جزئی وجود داشت. بیشترین مقدار b^* 15.06 برای پاراپروبیوتیک در روز صفر و کمترین مقدار 12.75 برای پروبیوتیک در روز هفتم بدست آمد. اولسون و آریانا در سال ۲۰۰۸ گزارش دادند مقدار b^* نمونه ماست تحت تأثیر سطح تلقیح باکتری اسید لاکتیک قرار گرفته است و سطح تلقیح بالاتر منجر به تیره‌تر شدن و زردتر شدن ماست می‌شود (۵۴).

در مطالعه‌ای که مولایی پرواری و همکاران (۲۰۲۱) انجام دادند، تفاوت آماری معنی‌داری بین مقادیر L^* ، a^* و b^* برای نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک مشاهده نشد، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت داشت (۲۰).

از پارامترهای مهم در ارزیابی بافت ماست، سختی است که به عنوان نیروی مورد نیاز برای رسیدن به تغییر شکل خاصی تعریف می‌شود و معیاری برای سختی ماست و نیروی مورد نیاز برای حذف مواد چسبنده در هنگام غذا خوردن، چسبندگی در نظر گرفته می‌شود (۵۵). قوام به عنوان ناحیه تحت نیرو در مقابل زمان حاصل در حین نفوذ پروب در داخل نمونه تعریف می‌شود (۳۶). تفاوت آماری معنی‌داری بین نمونه‌ها از نظر سختی، قوام و میزان چسبندگی مشاهده نشد ($P > 0.05$). در هر دو نمونه میزان سختی تا انتهای روز هفتم افزایش یافته بود، به طوریکه میزان سختی، $1/61$ و $1/5$ نیوتن به ترتیب در نمونه پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک اندازه‌گیری شد. نتایج چسبندگی نیز نشان دهنده روند افزایشی در نمونه‌ها بود و در انتهای روز هفتم به $2/9$ و 2 میلی ژول به ترتیب در نمونه‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک بدست آمد. مطابق با دو پارامتر قبلی، میزان قوام نیز در نمونه‌ها افزایش یافت. به نظر می‌رسد مقادیر کم سختی در نمونه‌ها به دلیل عدم استفاده از قوام دهنده و ترکیبات جامد در تولید ماست مرتبط باشد. نتایج این مطالعه از نظر مقادیر کم پارامتر سختی با مطالعه‌ی آکالین و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت داشت (۴۸).

در هر دو نمونه تا پایان روز نگهداری، استارت‌ر ماست به سرعت رشد کرد و تعداد سلول‌های زنده افزایش یافت. از نظر تعداد سلول‌های زنده در ماست‌های پروبیوتیک و پاراپروبیوتیک تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). نوع سویه باکتری، میزان تلقیح، وجود پراکسید هیدروژن و اکسیژن محلول، pH، فشار اسمزی (غلظت املاح)، میزان متابولیت‌های تولید شده، در دسترس بودن مواد مغذی، محرک‌ها و بازدارنده‌های رشد و همچنین مدت زمان و دمای گرمخانه‌گذاری از مهمترین عوامل مؤثر بر زنده ماندن باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد (۵۶). تعداد اولیه باکتری *Lpb. plantarum* تلقیح شده در نمونه پروبیوتیک $10^8 \times 1/5$ CFU/ml بود و در طول دوره نگهداری تعداد این باکتری‌ها $7/76 \log$ CFU/ml شمارش شد. همانطور که قبلاً اشاره شده بود، حداقل پروبیوتیک‌های زنده در زمان

مصرف در محصول نهایی $10^6 - 10^7$ CFU/ml می‌باشد، بنابراین این نمونه (ماست) پروبیوتیک به عنوان غذای پروبیوتیک شناخته می‌شود (۲۲). در نمونه پاراپروبیوتیک با توجه به تلقیح سلول‌های کشته شده *Lpb. plantarum* تعداد کمتر سلول‌های زنده شمارش شده در مقایسه با نمونه پروبیوتیک قابل توجه است. رشد و تکثیر استارت‌رها در ماست پاراپروبیوتیک به وجود ساختار دیواره سلولی باکتری *Lpb. plantarum* کشته شده نسبت داده می‌شود (۵۷). که از ۴ جزء اصلی، اسیدهای تیکوئیک، پپتیدوگلیکان، پروتئین ساختار سلولی (لایه S) و پلی ساکاریدها تشکیل شده است. پپتیدوگلیکان جزء اصلی دیواره سلولی باکتری‌های گرم مثبت است که از اسیدهای آمینه و قند تشکیل شده است. اسیدهای تیکوئیک در اشکال مختلف وجود دارند و حاوی ترکیبات مختلف هستند. در باکتری‌های گرم مثبت ساختار اولیه پروتئین لایه S، غنی از اسیدهای آمینه اسیدی و هیدروکسیل است (۲۰). بنابراین می‌توان پیامد مثبت سلول‌های پاراپروبیوتیک را به تامین محیط مغذی و محرک، حاوی اسیدهای آمینه، کربوهیدرات و مواد معدنی نسبت داد (۴۴).

نتیجه‌گیری

این پژوهش یک مطالعه اولیه برای استفاده از سلول‌های پاراپروبیوتیک در تولید ماست بود. به طور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد، می‌توان از سلول‌های پاراپروبیوتیک برای تولید ماست به دلیل مزایای بهداشتی و تکنولوژیکی، ماندگاری بالا، سادگی کار و عدم تأثیر پذیری و حساسیت به شرایط محیطی استفاده کرد، بنابراین به نظر می‌رسد می‌توانند جایگزین مناسبی برای پروبیوتیک‌ها در توسعه ماست‌های فراسودمند در نظر گرفته شوند، هر چند باید مطالعات بالینی بیشتری برای تأیید مزایای بهداشتی مربوط به پاراپروبیوتیک‌ها صورت بگیرد.

سپاسگزاری

مقاله حاضر نتایج طرح پژوهشی کاربردی با شماره ۱/۴۱۱/۹۲۳ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی کنند.

References

- García-Burgos M, Moreno-Fernández J, Alférez M J, Díaz-Castro J, & López-Aliaga I. New perspectives in fermented dairy products and their health relevance. *Journal of Functional Foods*. 2020;72:104059.
- Vasiee A, Falah F, Sankian M, Tabatabaei-Yazdi F, Mortazavi S A. Oral immunotherapy using probiotic ice cream containing recombinant food-grade *Lactococcus lactis* which inhibited allergic responses in a BALB/c mouse model. *Journal of Immunology Research*. 2020; 2635230.
- Mohammadi R, Zabihzadeh M, Hasanvand S, Sarlak Z, Mortazavian A.M, Shadnoosh M, Bahadori Monfared A. Effects of type and concentration of dry matter and final pH of fermentation on biochemical, microbial and sensory properties of probiotic dough. *Koomesh*. 2017;19(4):798-811.
- Zibaei-Rad A, Rahmati-Joneidabad M, Alizadeh Behbahani B, Taki M. Assessing the protection mechanisms on *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 by potentially probiotic strain *Lactocaseibacillus casei* XN18: An experimental and modeling study. *Microbial Pathogenesis*. 2023;181: 106177.
- Falah F, Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B. Preparation and functional properties of synbiotic yogurt fermented with *Lactobacillus brevis* pml1 derived from a fermented cereal-dairy product. *BioMed Research International*. 2021;1-9.
- Alizadeh Behbahani B, Jooyandeh H, Falah F, & Vasiee A. Gamma-aminobutyric acid production by *Lactobacillus brevis* A3: Optimization of production, antioxidant potential, cell toxicity, and antimicrobial activity. *Food Science & Nutrition*. 2020; 8(10): 5330-5339.
- Vasiee A, Falah F, Behbahani B A, Tabatabaei-Yazdi F. Probiotic characterization of *Pediococcus* strains isolated from Iranian cereal-dairy fermented product: Interaction with pathogenic bacteria and the enteric cell line Caco-2. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2020; 1;130(5):471-9.
- Vasiee A, Mortazavi S A, Sankian M, Yazdi F T, Mahmoudi M, Shahidi F. Antagonistic activity of recombinant *Lactococcus lactis* NZ1330 on the adhesion properties of *Escherichia coli* causing urinary tract infection. *Microbial Pathogenesis*. 2019; 1;133:103547.
- Barzegar H, Alizadeh Behbahani B, & Falah F. Safety, probiotic properties, antimicrobial activity, and technological performance of *Lactobacillus* strains isolated from Iranian raw milk cheeses. *Food Science & Nutrition*. 2021; 9(8): 4094-4107.
- Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi A, Edalatian M R. Isolation, identification and characterization of probiotic *Lactobacilli* spp. from Tarkhineh. *International Food Research Journal*. 2014; 1;21(6).
- Vasiee A, Falah F, Mortazavi S A. Evaluation of probiotic potential of autochthonous lactobacilli strains isolated from Zabuli yellow kashk, an Iranian dairy product. *Journal of Applied Microbiology*. 2022; 1;133(5):3201-14.
- Turkmen N, Akal C, Özer B. Probiotic dairy-based beverages: A review. *Journal of Functional Foods*. 2019;53:62-75.
- Kowaleski J, Battestin Quast L, Steffens J, Lovato F, Rodrigues dos Santos L, Zambiazzi da Silva S, Maschio de Souza D, Alceu Felicetti M. Functional yogurt with strawberries and chia seeds. *Food Bioscience*. 2020;37:100726.
- Lucatto J.N, Aparecida da Silva-Buzanello R, Terroso Gama Mendonça S.N, Crespan Lazarotto T, Sanchez J.L, Bona E, Drunkler D.A. Performance of different microbial cultures in potentially probiotic and prebiotic yoghurts from cow and goat milks. *International Journal of Dairy Technology*. 2020;73(1):144-156.
- Alizadeh Khaledabad M, Ghasempour Z, Moghaddas Kia E, Rezazad Bari M, Zarrin R. Probiotic yoghurt functionalised with microalgae and Zedo gum: chemical, microbiological, rheological and sensory characteristics. *International Journal of Dairy Technology*. 2020;73(1):67-75.
- Kaur R, Kaur G, Kumar Mishra S, Panwar H, Kumar Mishra K, Singh Brar G. Yogurt: A nature's wonder for mankind. *International Journal of Fermented Foods*. 2017;6(1):57-69.
- Shirani K, Falah F, Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Alizadeh Behbahani B, Zanganeh H. Effects of incorporation of *Echinops* setifer extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022;16(4): 2899-2907.
- Sarfraz F, Farooq U, Shafi A, Hayat Z, Akram K, Rehman H.U. Hypolipidaemic effects of synbiotic yoghurt in rabbits. *International Journal of Dairy Technology*. 2019;72(4):545-550.
- Hassanzadeh-Taheri M, Hassanzadeh-Taheri M, Jahani F, Hosseini M. Effects of yoghurt butter oils on rat plasma lipids, haematology and liver histology parameters in a 150-day study. *International Journal of Dairy Technology*. 2018;71(1):140-148.
- Parvareh M.M, Fazeli M.R, Mortazavian A.M, Sarem Nezhad S, Mortazavi S.A, Golabchifar A.A, Khorshidian N. Comparative effects of probiotic and paraprobiotic addition on microbiological, biochemical and physical properties of yogurt. *Food research international*. 2021;140:110030.
- Parvareh M.M, Khorshidian N, Fazeli M.R, Mortazavian A.M, Sarem Nezhad S, Mortazavi S.A. Comparative effect of probiotic and paraprobiotic addition on physicochemical, chemometric and microstructural properties of yogurt. *LWT*. 2021;144:111177.
- Falah F, Vasiee A, Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S A. Optimization of gamma-aminobutyric acid production by *Lactobacillus brevis* PML1 in dairy sludge-based culture medium through response surface methodology. *Food Science & Nutrition*. 2021;9(6):3317-26.
- Ranadheera R.D.C.S, Baines S.K, Adams M.C. Importance of food in probiotic efficacy. *Food research international*. 2010;43(1):1-7.
- Rokka S, Rantamäki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*. 2010;231:1-12.
- Sugawara T, Sawada D, Ishida Y, Aihara K, Aoki Y, Takehara I, Takano K, Fujiwara S. Regulatory effect of paraprobiotic *Lactobacillus gasseri* CP2305 on gut environment and function. *Microbial Ecology in Health and Disease*. 2016;27(1):30259.
- Murata M, Kondo J, Iwabuchi N, Takahashi S, Yamauchi K, Abe F, Miura K. Effects of paraprobiotic *Lactobacillus paracasei* MCC1849 supplementation on symptoms of the

- common cold and mood states in healthy adults. *Beneficial microbes*. 2018;9(6):855-864.
27. Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes & nutrition*. 2011;6(3):261-274.
 28. Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian A.M, G da Cruz A. Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*. 2020;32:103-123.
 29. Barros C.P, Guimarães J.T, Esmerino E.A, Carmela KH Duarte M, Silva M.C, Silva R, Ferreira B.M, Sant'Ana A.S, Freitas M.Q, Cruz A.G. Paraprobiotics and postbiotics: concepts and potential applications in dairy products. *Current Opinion in Food Science*. 2020;32:1-8.
 30. Vasiee A, Alizadeh Behbahani B, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S.A, Noorbakhsh H. Diversity and probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from horreh, a traditional Iranian fermented food. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2018;10(2),258-268.
 31. Ghazanfari N, Fallah S, Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F. Optimization of fermentation culture medium containing food waste for L-glutamate production using native lactic acid bacteria and comparison with industrial strain. *LWT*. 2023;184:114871.
 32. Rouhi A, Falah F, Azghandi M, Behbahani B.A, Mortazavi S A, Tabatabaei-Yazdi F, Vasiee A. Investigating the effect of *Lactiplantibacillus plantarum* TW57-4 in preventing biofilm formation and expression of virulence genes in *Listeria monocytogenes* ATCC 19115. *LWT*. 2023 Dec 16:115669.
 33. Linares D.M, O'Callaghan T.F, O'Connor P.M, Ross R.P, Stanton C. *Streptococcus thermophilus* APC151 strain is suitable for the manufacture of naturally GABA-enriched bioactive yogurt. *Frontiers in Microbiology*. 2016;7:1876.
 34. Mosallaie F, Jooyandeh H, Hojjati M, Fazlara A. Biological reduction of aflatoxin B1 in yogurt by probiotic strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. *Food science and biotechnology*. 2020;29(6):793-803.
 35. Hussin F.S, Chay S.Y, Meor Hussin A.S, Ibadullah W.Z.W, Muhiaddin B.J, Abd Ghani M.S, Saari N. GABA enhancement by simple carbohydrates in yoghurt fermented using novel, self-cloned *Lactobacillus plantarum* Taj-Apis36 and metabolomics profiling. *Scientific Reports*. 2021;11(1):1-12.
 36. Karaca O.B, Saydam İ.B, Güven M. Physical, chemical, and sensory attributes of low-fat, full-fat, and fat-free probiotic set yogurts fortified with fiber-rich persimmon and apple powders. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2019;43(6):e13926
 37. Falah F, Zareie Z, Vasiee A, Tabatabaei Yazdi F, Mortazavi S.A, Alizadeh Behbahani B. Production of synbiotic ice-creams with *Lactobacillus brevis* PML1 and inulin: functional characteristics, probiotic viability, and sensory properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2021;15(6):5537-5546.
 38. Li S, Ye A, Singh H. Effect of seasonal variations on the acid gelation of milk. *Journal of dairy science*. 2020;103(6):4965-4974.
 39. Shafiee G, Mortazavian A.M, Mohammadifar M.A, Koushki M.R, Mohammadi A, Mohammadi R. Combined effects of dry matter content, incubation temperature and final pH of fermentation on biochemical and microbiological characteristics of probiotic fermented milk. *African Journal of Microbiology Research*. 2010;4(12):1265-1274.
 40. Yilmaz-Ersan L, Kurdal E. The production of set-type-bio-yoghurt with commercial probiotic culture. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*. 2014;5(5):402-408.
 41. Mani-López E, Palou E, López-Malo A. Probiotic viability and storage stability of yogurts and fermented milks prepared with several mixtures of lactic acid bacteria. *Journal of dairy science*. 2014;97(5):2578-2590.
 42. Shori A.B, HJ Baba A.S, Keow J.N. Effect of *Allium sativum* and fish collagen on the proteolytic and angiotensin-I converting enzyme-inhibitory activities in cheese and yogurt. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 2012;15(24):1160-1167.
 43. Setyawardani T, Sumarmono J, Kusuma D.R. Microbiological profile of concentrated yoghurt manufactured from low and full fat milk during storage. in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2022;IOP Publishing.
 44. Beheshtipour H, Mortazavian A.M, Haratian P, Khosravi Darani K. Effects of *Chlorella vulgaris* and *Arthrospira platensis* addition on viability of probiotic bacteria in yogurt and its biochemical properties. *European Food Research and Technology*. 2012;235:719-728.
 45. Anjum N, Maqsood S, Masud T, Ahmad A, Sohail A, Momin A. *Lactobacillus acidophilus*: characterization of the species and application in food production. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2014;54(9):1241-1251.
 46. Dönmez Ö, Mogol B.A, Gökmen V. Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of dairy science*. 2017;100(2):901-907.
 47. Han X, Yang Z, Jing X, Yu P, Zhang Y, Yi H, Zhang L. Improvement of the texture of yogurt by use of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria. *BioMed research international*. 2016.
 48. Akalın A.S, Unal G, Dinkci N, Hayaloglu A.A. Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*. 2012;95(7):3617-3628.
 49. Yang M, Li L. Physicochemical, textural and sensory characteristics of probiotic soy yogurt prepared from germinated soybean. *Food Technology and Biotechnology*. 2010;48(4):490-496.
 50. Lobato-Calleros C, Ramírez-Santiago C, Vernon-Carter E.J, Alvarez-Ramirez J. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering*. 2014;1(31):110-115.
 51. Sodini I, Lucas A, Tissier J.P, Corrieu G. Physical properties and microstructure of yoghurts supplemented with milk protein hydrolysates. *International Dairy Journal*. 2005;15(1):29-35.
 52. Pan L.H, Liu F, Luo S.Z, Luo J.P. Pomegranate juice powder as sugar replacer enhanced quality and function of set yogurts: Structure, rheological property, antioxidant activity and in vitro bioaccessibility. *LWT*. 2019;115:108479.
 53. Meira Q.G.S, Magnani M, de Medeiros Júnior F.C, Queiroga R.D.C.R, Madruga M.S, Gullón B, Gomes A.M.P, Pintado M.M.E, de Souza E.L. Effects of added *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*

- probiotics on the quality characteristics of goat ricotta and their survival under simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*. 2015;76:828-838.
54. Olson D, Aryana K.J. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. *LWT-Food Science and Technology*. 2008; 41(5): 911-918.
55. Mudgil D, Barak S, Khatkar B.S. Texture profile analysis of yogurt as influenced by partially hydrolyzed guar gum and process variables. *Journal of food science and technology*. 2017;54: 3810-3817.
56. Donkor O, Henriksson A, Vasiljevic T, P Shah N. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 2006;16(10):1181-1189.
57. Vollmer W, Blanot D, De Pedro M.A. Peptidoglycan structure and architecture. *FEMS microbiology reviews*. 2008; 32(2):149-167.

Production of Paraprobiotic and Probiotic Yogurts Containing *Lactiplantibacillus plantarum*: Investigation of Their Microbial and Physicochemical Characteristics

Alizadeh Behbahani B^{1*}, Jooyandeh H², Ghazanfari N³, Vasiee A⁴

1- *Corresponding author: Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
Email: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir

2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

3- PhD Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Research Institute of Food Science and Technology (RIFST), Mashhad, Iran

Received 5 Aug, 2023

Accepted 26 Oct, 2023

Background and Objectives: Functional foods refer to foods enriched with substances such as vitamins, proteins, fibers and probiotics with the intervention of technology.

Materials and Methods: Paraprobiotic cells were achieved using thermal method. Probiotic and paraprobiotic yogurt were produced from low-fat milk and samples were stored at 4 °C for 7 d. Then, microbiological and physicochemical (pH, acidity, syneresis, water holding capacity, color and texture) characteristics of the samples were assessed on Days 0 and 7.

Results: Until the end of the storage in the two samples, pH decreased, acidity increased, syneresis decreased and water holding capacity increased. Live and killed *Lactiplantibacillus plantarum* cells included similar effects on the yogurt color. Texture analysis showed no statistically significant differences ($P > 0.05$) between the two samples and all three parameters of hardness, consistency and adhesion increased in the two samples. Results of counting live cells showed statistically significant differences ($P < 0.05$) between the two yogurt samples; however, number of the live cells in the two yogurt samples increased until the end of Day 7.

Conclusion: Paraprobiotic cells can be used to produce yogurts due to their health and technological advantages, long shelf life, simplicity of work, lack of side effects and sensitivity to the environmental conditions. It seems that they can be used as appropriate alternatives to probiotics in development of functional yogurts. However further clinical studies should be carried out to verify health benefits of paraprobiotics.

Keywords: Paraprobiotic, Functional yogurt, Probiotics, Physicochemical characteristics