مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال چهاردهم، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، صفحات ۳۶-۲۷

دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک تخمیری و غیرتخمیری کم لاکتوز با استفاده از مخلوط مساوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس جی‌جی* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*

سیما طاهری[۱]، مرتضی خُمیری[۲]، مهران اعلمی[۳]، علی مویدی[۴]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
پست الکترونیکی: khomeiri@gau.ac.ir
۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران
۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۲/۶ تاریخ پذیرش: ۹۸/۳/۵

چکیده

سابقه و هدف: به کارگیری آب پنیر به صورت تازه به عنوان پسماند کارخانجات لبنی در فرمولاسیون دسر نوشیدنی از نوآوری‌های اخیر در تولید این محصول می‌باشد. تهیه دسر نوشیدنی به صورت فراسودمند سین‌بیوتیک حاوی دو گونه مختلف از لاکتوباسیلوس‌ها جهت افزایش اثرات سلامتی بخش می‌تواند به افزایش تنوع محصولات پروبیوتیک کمک نماید از این جهت این محصول به دو صورت تخمیری و غیرتخمیری تولید شد تا مشخص گردد کدام نوع از ویژگی‌های برتری برخوردار است.

مواد و روش‌ها: با استفاده از نسبت مساوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* نوشیدنی سین‌بیوتیک به دو صورت تخمیری و غیرتخمیری تهیه شد. تغییرات pH، اسیدیته، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و خاصیت آنتی‌اکسیدانی در طول نگهداری مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت و با استفاده از آنالیز حسی مشخص شد کدام نوع نوشیدنی مقبولیت بیشتری دارد.

یافته‌ها: pH نمونه تخمیری پس از ۲۱ روز و نمونه غیرتخمیری پس از ۷روز در یخچال به ترتیب ۱/۲ و ۰/۶ واحد کاهش یافت. جمعیت پروبیوتیکی در پایان دوره نگهداری بیشتر از حد استاندارد 10^7 CFU/ml بود. نمونه غیرتخمیری به واسطه وجود کاکائو تا ۴۰٪ خاصیت آنتی‌اکسیدانی داشت که بسیار بیشتر از نمونه تخمیری بود. در نهایت پذیرش کلی دسر نوشیدنی غیرتخمیری بیشتر از نمونه تخمیری و ۳/۸۶ (از ۵) بود.

نتیجه گیری: دسر نوشیدنی یک حامل عالی برای رساندن پروبیوتیک‌ها به بدن است و امکان تولید دسر نوشیدنی با استفاده از مخلوط دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* وجود دارد. به دلیل پذیرش کلی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر نمونه غیرتخمیری توصیه می‌شود این نوشیدنی به صورت غیرتخمیری تولید و مصرف گردد.

واژگان کلیدی: دسر نوشیدنی، سین‌بیوتیک، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*

• مقدمه

در ایران یکی از پنیرهای پرطرفدار و با سطح تولید بالا، پنیر لاکتیکی است که اخیراً استاندارد ملی آن به شماره ۱۳۸۶۳ تدوین گردیده است. آب پنیر حاصل از آن باعث افزایش حجم آب پنیر تولید شده در ایران شده است. با وجود تکنولوژی‌های نو ظهور در صنعت لبنیات و فرآوری‌های انجام شده برای تبدیل آب پنیر به محصولات با ارزش افزوده مانند تولید پنیر ریکوتا، پودر آب پنیر، کنسانتره پروتئین آب پنیر، ایزوله پروتئین آب پنیر و استفاده به عنوان مکمل‌های پروتئینی ورزشی، مقدار قابل توجهی از آن وارد فاضلاب می‌شود و تمامی این فرآیندها بسیار هزینه بردار هستند. لذا به نظر می‌رسد تبدیل آب پنیر به نوعی نوشیدنی بهترین راه برای برگرداندن آن به جیره غذایی انسان باشد. از سال ۱۹۸۲ محققان شروع به تحقیق برای تولید نوشیدنی‌های آب پنیری نموده‌اند (۱) که علاوه بر ساده بودن فرآیند و کاهش

هزینه‌های فرآوری به طور مستقیم بتوان از ارزش تغذیه‌ای آن بهره‌مند شد و نیز آلودگی‌های زیست محیطی حاصل از آن را کاهش داد.

تاکنون تلاش‌هایی در جهت تولید نوشیدنی‌های آب‌پنیری صورت گرفته است که اکثریت آن‌ها غیر پروبیوتیک بوده‌اند. Holsinger و همکاران (۱۹۷۴) نوشیدنی از آب پنیر شیرین و اسیدی در طعم‌های مختلف میوه تهیه کردند که بیشترین امتیاز به نوشیدنی آب پنیر اسیدی با طعم پرتقال که با اسید سیتریک اسیدی شده بود، داده شد (۲). محبی و حبیبی (۱۳۸۳) ۳ نوع کنسانتره (پرتقال، آلبالو، انگور) در ۳ سطح (۵، ۴، ۳٪) و ۳ غلظت شکر (۱۵، ۱۰، ۵٪) را مورد ارزیابی قرار دادند که نوشیدنی حاوی ۳٪ کنسانتره پرتقال و ۱۰٪ شکر طعم مطلوبی داشت، همچنین پس از نگهداری به مدت ۳ ماه در یخچال و ۶ هفته در محیط از کیفیت حسی و میکروبی قابل قبولی برخوردار بود (۳). در این بین عبدالملکی و همکاران (۱۳۸۸) با استفاده از نسبت‌های مختلف میکروفلور کفیر سعی در تولید نوشیدنی تخمیری گازدار از آب پنیر کردند. در این پژوهش اسانس نعنا از نظر رنگ و طعم بهترین اسانس بود (۴). Pescuma و همکاران (۲۰۱۰) با بکارگیری ۳ نژاد از اسیدلاکتیک باکتری‌ها نوشیدنی تخمیری فراسودمند حاوی آب پنیر تهیه کردند که همانند ماست نوشیدنی بود (۵). لازم به ذکر است نوشیدنی‌های یاد شده از محصولات تخمیری و با طعم ترش بودند. از محدود پژوهش‌هایی که تاکنون بر روی نوشیدنی‌های پروبیوتیک غیرتخمیری انجام شده است می‌توان به تولید نوشیدنی پروبیوتیک پرتقالی با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* اشاره نمود (۶). دسر نوشیدنی از جدیدترین محصولات لبنی است که اخیرا وارد بازار شده است. با وارد نمودن باکتری‌های پروبیوتیک به مخلوط این دسر نوشیدنی جدید می‌توان به تنوع محصولات پروبیوتیک موجود در بازار کمک نمود (۷).

با توجه به اینکه اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها اختصاصی جنس‌ها، گونه‌ها و نژادهای باکتریایی است (۸)، ثابت شده است که پروبیوتیک‌های چند نژادی و یا چند گونه‌ای از پروبیوتیک‌های تک نژادی موثرتر هستند. پروبیوتیک‌های چندگونه‌ای نسبت به درمان‌های مرسوم با آنتی بیوتیک‌ها یا پروبیوتیک‌های متعارف تک‌نژادی در درمان التهاب کیسه و کولیت روده برتری دارند (۱۱-۹). باکتری پروبیوتیک زمانی که به مصرف می‌رسد ابتدا باید بر مقاومتی که از سوی میکروفلور ساکن در برابر لانه‌گزینی آن القا می‌شود، فایق آید. با آماده‌سازی پروبیوتیک حاوی نژادهای مختلف، احتمال افزایش حداقل بقای نسبی وجود خواهد داشت و افزایش نرخ بقا ۴۰-۲۰ درصد برای نژادهای انتخاب شده تخمین زده شده است (۱۲). با توجه به این مهم، متأسفانه، مطالعاتی مبنی بر تأثیر ترکیب چندین گونه باکتری پروبیوتیک بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی فرآورده‌های لبنی یا سایر نوشیدنی‌های عملکردی وجود ندارد.

از این رو در این پژوهش دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک حاوی آب پنیر لاکتیکی تازه به عنوان پسماند کارخانجات لبنی با استفاده از مخلوط دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* به عنوان یک محصول فراسودمند نوین به دو صورت تخمیری و غیرتخمیری تهیه شد و روند تولید اسید، زنده‌مانی باکتری‌ها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی و خواص حسی آن‌ها مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

• مواد و روش‌ها

تهیه دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک غیرتخمیری کم لاکتوز: ابتدا دسر نوشیدنی کم لاکتوز پایه با استفاده از مخلوطی از نسبت مساوی از آب پنیر و شیر، ۰/۳ ٪ صمغ، ۱٪ نشاسته مقاوم ذرت و ۵٪ شکر تهیه شد پس از افزودن آنزیم لاکتاز و طی مراحل هیدرولیز در دمای ۳۵°C، ۱ درصد از کشت ذخیره مخلوط *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (کریستین-هانسن) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی (کریستین-هانسن) با نسبت ۱:۱ به نوشیدنی در ۴°C تلقیح شد تا جمعیت اولیه به 10^8 CFU/ml برسد و سپس در دمای یخچال نگهداری شد. قابل ذکر است در فرمولاسیون نمونه های غیرتخمیری از کاکائو استفاده شده است

تهیه دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک تخمیری: دسر نوشیدنی پایه بدون آنزیم بتاگالاکتوزیداز تهیه شد و به منظور دستیابی به جمعیت اولیه پروبیوتیک به 10^7 CFU/ml، ۰/۱ درصد از کشت ذخیره مخلوط *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (کریستین-هانسن، دانمارک) و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی (کریستین-هانسن، دانمارک) با نسبت ۱:۱ به نوشیدنی تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شد تا pH به ۵/۲ برسد..

تعیین pH و اسیدیته: به منظور ثبات طعم محصول در طول نگهداری به طوریکه محصول در روز اول که توسط مصرف کننده خریداری می‌شود و روز پنجم طعمی مشابه داشته باشد باید تغییرات pH و اسیدیته مورد ارزیابی قرار

گیرد و نمونه ای انتخاب گردد که کمترین میزان تغییرات را داشته است.

تغییرات pH و اسیدیته در مورد نمونه‌های غیرتخمیری بلافاصله پس از تلقیح و ۱، ۲، ۴ و ۷ روز پس از تولید بررسی شد. در مورد نمونه‌های تخمیری بلافاصله پس از تلقیح و در طول ۲۱ روز در فواصل زمانی یک هفته این تغییرات مورد بررسی قرار گرفت.

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر دیجیتال (Knick مدل ۷۶۶، آلمان) و بصورت غوطه‌وری مستقیم الکترود در نمونه اندازه‌گیری شد.

اسیدیته نمونه‌ها نیز به روش استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۲۲ (۱۳۹۲) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۳). بدین صورت که نسبت مساوی از نمونه با آب مقطر عاری از CO_2 مخلوط شد و در دمای ۲۲°C الکترود pH متر درون نمونه قرار گرفت و با استفاده از سود ۰/۱ نرمال pH به ۸/۳±۰/۱ رسانیده شد. با استفاده از معادله ذیل نتایج بر حسب درجه درنیک گزارش شد.

$A=V\times 10$

A= درصد اسیدیته

V=حجم هیدروکسید سدیم مصرفی (ml)

زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها: ارزیابی جمعیت پروبیوتیکی در مورد یک محصول سین‌بیوتیک از ضرورت‌های همیشگی محسوب می‌شود تا مشخص گردد جمعیت پروبیوتیکی کل به واسطه وجود دو نوع باکتری پروبیوتیک در طول نگهداری چه تغییری می‌کند آیا و در پایان دوره نگهداری در حد استاندارد باقی مانده است یا خیر. بدین منظور بررسی زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده از روش شمارش اختصاصی استفاده شد (۱۴). رقت‌های سریالی با نسبت ۱میلی لیتر نمونه به ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی تهیه گردید (در مورد رقت اول نسبت نمونه به سرم فیزیولوژی ۱۰ به ۹۰ بود). از رقت مناسب با استفاده از محیط کشت MRS-Vancomycine آگار (۱mg/l) (سیگما، آمریکا) (لیوفیلکم، ایتالیا) کشت آمیخته (Pour plate) داده شد و به مدت ۷۲ ساعت تحت شرایط بی هوازی در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری و سپس از دو رقت پیاپی برای شمارش استفاده شد. معادله ذیل برای محاسبه نتایج استفاده گردید.

$$N=\frac{\Sigma Ci}{V(n1+0.1n2)d}$$

$\sum Ci$=مجموع شمارش تعداد کلنی‌ها در تمامی پلیت‌های مورد آزمون، V= حجم سوسپانسیون ریخته شده در پلیت، $n1$= تعداد پلیت‌های شمارش شده در اولین رقت، $n2$= تعداد پلیت‌های شمارش شده در رقت دوم و d= ضریب رقت اول مورد استفاده از نمونه برای شمارش تعداد کلنی

ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی دسر نوشیدنی: با توجه به مستندات موجود در مقالات، برخی از باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل دارا بودن خاصیت پروتئولیتیکی در افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی نقش دارند. هدف از ارزیابی این پارامتر در این تحقیق نیز مشخص نمودن میزان خاصیت آنتی اکسیدانی در حضور این دو باکتری پروبیوتیک در حالت تخمیری و غیرتخمیری است.

خاصیت آنتی اکسیدانی دسر نوشیدنی پروبیوتیک تخمیری و غیر تخمیری با استفاده از روش اصلاح شده بر اساس ترکیبی از دو روش Feliciano و همکاران (۲۰۰۹) و Jemil و همکاران (۲۰۱۴) مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۶، ۱۵). بدین صورت که ۵۰ میکرولیتر نمونه رقیق نشده به طور مستقیم با ۲ میلی‌لیتر محلول DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (۲۴mg/L methanol) مخلوط شد و ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در مکان تاریک قرار داده شد. سپس سانتریفیوژ (۱۰/۲۹۹۱g دقیقه) شد و روماند به یک لوله تمیز منتقل گردید. جذب در طول موج ۵۱۷nm قرائت شد. در نمونه شاهد به جای نمونه نوشیدنی سین‌بیوتیک از نوشیدنی تلقیح نشده استفاده شد و متانول نیز به عنوان blank قرار داده شد. درصد بازدارندگی فعالیت رادیکال DPPH با استفاده از معادله ذیل محاسبه گردید که در آن As جذب نمونه و Ac جذب شاهد است.

$$\text{بازدارندگی (درصد)}=\frac{(Ac-As)\times 100}{Ac}$$

آزمون میکروبی کنترل کیفیت: به منظور تعیین کیفیت میکروبی دسر نوشیدنی؛ کلی‌فرم، کپک و مخمر بلافاصله پس از تولید و در طول مدت نگهداری مورد آزمون قرار گرفت. آزمون مربوط به کلی فرم‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۶۶ (۱۳۸۷) و با استفاده از محیط کشت VRBA (Violet red bile agar) (مرک، آلمان) انجام گرفت (۱۷). آزمون مربوط به کپک و مخمر مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۰۱۵۴ (۱۳۸۶) با استفاده از محیط کشت YGC

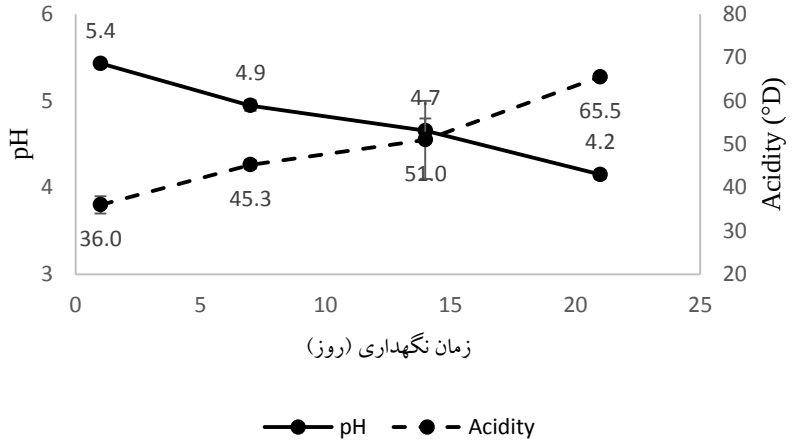
(Yeast extract glucose chloramphenicol agar) (لیوفیلکم، ایتالیا) انجام شد (۱۸).

ارزیابی حسی دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک: نمونه‌ی تخمیری و غیرتخمیری سین‌بیوتیک در لیوان‌های کد گذاری شده در اختیار ۱۸ آنالیزگر آموزش دیده قرار داده شد و ویژگی‌های رنگ، بو، طعم و مزه، بافت و قوام، احساس دهانی و پذیرش کلی به صورت آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای (بسیار خوب، خوب، متوسط، ضعیف، بسیار ضعیف) مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه‌ی تخمیری و غیرتخمیری با یکدیگر مقایسه شد تا مشخص گردد کدام نوع نوشیدنی مطلوبیت بیشتری دارد.

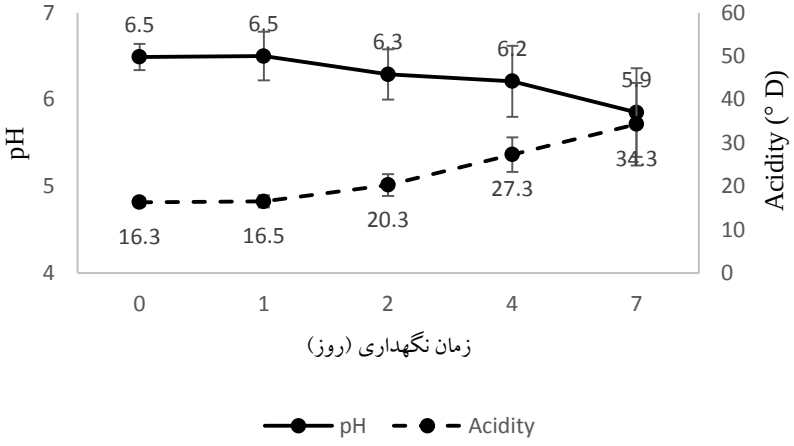
آنالیز آماری: تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و با استفاده از فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج با استفاده از جدول آنالیز واریانس یکطرفه و آزمون مقایسه میانگین دانکن مورد ارزیابی قرار گرفت. آنالیز آماری توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ انجام شد و سطح احتمال ۵ درصد به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد (۱۹).

• یافته‌ها

تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های سین‌بیوتیک در یخچال: نتایج نشان داد میانگین تغییرات pH نمونه سین-بیوتیک تخمیری بطور معنی‌داری متفاوت بوده است ($P<۰/۰۵$) و پس از ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال ۱/۲ واحد کاهش پیدا کرد (شکل ۱). دسر نوشیدنی سین‌بیوتیک غیرتخمیری نیز پس از ۷ روز نگهداری در یخچال ۰/۶ واحد کاهش pH داشت (شکل ۲) که در سطح احتمال ۵ ٪ معنی‌دار نبود. همزمان و متناسب با کاهش pH، اسیدیته هر دو نمونه بطور معنی‌داری افزایش یافته است ($P<۰/۰۵$). میزان افزایش اسیدیته در مورد نمونه تخمیری و غیرتخمیری به ترتیب ۲۹/۵ و ۱۰/۵ واحد بود.



شکل ۱. تغییرات pH و اسیدیته نمونه سین‌بیوتیک تخمیری طی ۲۱ روز نگهداری در یخچال

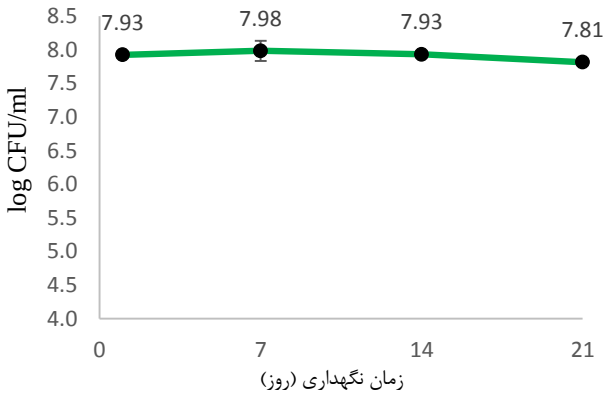


شکل ۲. تغییرات pH و اسیدیته نمونه غیرتخمیری طی ۷ روز نگهداری در یخچال

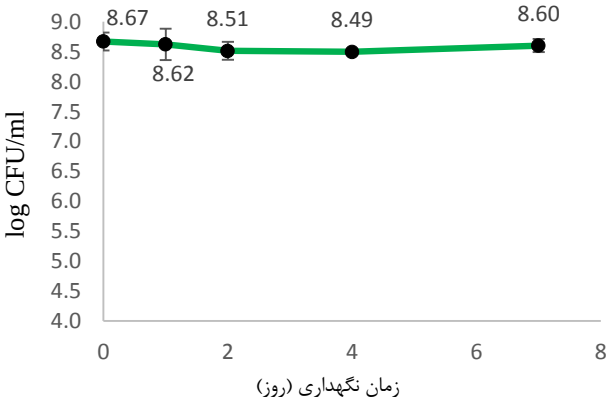
بررسی حضور کلی‌فرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها (اطلاعات نمایش داده نشده است) در طول دوره نگهداری نشان داد میزان آن‌ها در محدوده استاندارد بوده است.

جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک: تغییرات جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری در یخچال در نمونه تخمیری و غیرتخمیری به ترتیب در شکل ۳ و ۴ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد پس از ۲۱ روز نگهداری نمونه تخمیری در یخچال جمعیت پروبیوتیکی ۰/۱۲ log CFU/ml کاهش یافت. در حالی که در طول ۷ روز نگهداری نمونه غیرتخمیری در یخچال پروبیوتیک‌ها ۰/۰۶ log CFU/ml افت جمعیت داشتند. با این حال تغییرات جمعیت در هر دو نمونه تخمیری و غیرتخمیری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵) و تقریباً ثابت بود. به عبارت دیگر تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری دسر نوشیدنی تخمیری و غیرتخمیری در پایان دوره نگهداری در حد استاندارد و بیشتر از 10^7 CFU/ml بود.



شکل ۳. تغییرات جمعیت مخلوط دو باکتری در نمونه تخمیری در طول ۲۱ روز نگهداری در یخچال



شکل ۴. تغییرات جمعیت مخلوط دو باکتری در نمونه غیرتخمیری در طول ۷ روز نگهداری در یخچال

خاصیت آنتی اکسیدانی: همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در زمان تلقیح و پیش از گرمخانه‌گذاری نمونه حاوی ۵ درصد خاصیت آنتی اکسیدانی بود. پس از ۲۴ ساعت عمل تخمیر به دلیل پروتئولیز انجام شده توسط باکتری‌ها و تولید پپتیدهایی احتمالاً با خاصیت آنتی اکسیدانی، فعالیت آنتی اکسیدانی تا ۱۴ درصد افزایش یافت (P<۰/۰۵) اما پس از نگهداری در یخچال روند نزولی داشت و در پایان روز ۲۱ام به ۴ درصد رسید.

نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی دسر نوشیدنی غیرتخمیری نشان داد در طول ۷ روز نگهداری در یخچال تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جدول ۲).

جدول ۱. خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه تخمیری درطول دوره نگهداری در یخچال

زمان (روز)	خاصیت آنتی اکسیدانی (درصد)
۰	۵/۹±۱/۲۵ ^{c}
۱	۱۴/۳۱±۲/۱۴ ^{a}
۷	۱۱/۵۴±۱۱/۵۴ ^{ab}
۱۴	۸/۵۸±۴/۶۵ ^{b}
۲۱	۴/۵۶±۸/۹۴ ^{c}

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است.

جدول ۲. خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه غیرتخمیری درطول دوره نگهداری در یخچال

زمان (روز)	خاصیت آنتی اکسیدانی
۰	۲۹/۳۸±۹/۳۸ ^{a}
۱	۳۸/۴۴±۲۳/۰۹^{a}
۲	۴۰/۰۶±۵/۸۱ ^{a}
۴	۳۷/۳۶±۱۱/۲۶^{a}
۷	۳۳/۱۸±۱۰/۲۳ ^{a}

حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است.

آنالیز حسی: جدول ۳ نشان می‌دهد نمونه غیرتخمیری در تمام ویژگی‌های بو، طعم و مزه، پس طعم، بافت و قوام، احساس دهانی و پذیرش کلی امتیاز بیشتری نسبت به نمونه تخمیری کسب کرد (P<۰/۰۵).

جدول ۳. تأثیر تیمارهای مختلف باکتریایی بر ارزیابی حسی دسر نوشیدنی سین بیوتیک تخمیری و غیر تخمیری

تیمار	بو	طعم و مزه	پس‌طعم	بافت و قوام	احساس دهانی	پذیرش کلی
تخمیری	۲/۲۸±۱ ^{B}	۲/۴۷±۰/۹ ^{B}	۲/۵±۱/۱۵ ^{B}	۲/۶۶±۱/۱۳ ^{B}	۲/۷۲±۱ ^{B}	۲/۷۷±۱ ^{B}
غیرتخمیری	۳/۵۵±۱ ^{A}	۳/۵۸±۰/۷ ^{A}	۳/۴۷±۰/۸ ^{A}	۳/۶۳±۰/۹ ^{A}	۳/۷۵±۰/۸ ^{A}	۳/۸۶±۰/۷۸ ^{A}

حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون است

• بحث

تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های سین‌بیوتیک در یخچال: با توجه به نتایج حاصل از بررسی حضور کلی‌فرم‌ها، کپک‌ها و مخمرها می‌توان نتیجه گرفت *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در دمای یخچال فعال بودند و موجب کاهش pH شدند. کاهش pH در مورد نمونه غیرتخمیری نامطلوب درنظر گرفته می‌شود زیرا با کاهش pH طعم نمونه ترش خواهد شد در صورتی که نمونه غیرتخمیری می‌بایست دارای طعم شیرین باشد. از دلایل کاهش pH در طول نگهداری در یخچال می‌توان به فعال بودن آنزیم بتاگالاکتوزیداز در دمای یخچال اشاره نمود (۲۰). Karasova و همکاران (۲۰۰۲) فعالیت آنزیم بتاگالاکتوزیداز را در برخی از باکتری‌های اسید لاکتیک مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد بعضی از نژادهای *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در دمای یخچال هرچند بطور آهسته قادر به فعالیت و تخمیر قند لاکتوز می‌باشند (۲۰). از طرفی وجود قند ساکارز که به راحتی توسط میکروارگانیسم‌ها تخمیر می‌شود می‌تواند افت pH را تشدید کند. علاوه بر این وجود ۰/۳ درصد صمغ زانتان در دسر نوشیدنی نیز ممکن است دلیلی برای افت pH باشد. کارلتون-سنای و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که وجود ۰/۵ درصد صمغ کاراگینان، کاراگینان-مالتودکسترین، پکتین-کاراگینان و گوار-لوبیای لوکاست در شیر حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* DSM 200 16 و شیر حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* SD 2112 پس از ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال نسبت به نمونه کنترل بطور میانگین ۲/۳ واحد باعث کاهش pH شد (۲۱).

جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک: با توجه به ضرورت وجود حداقل 10^{7} CFU/ml از باکتری‌های پروبیوتیک زنده در محصول فراسودمند بررسی جمعیت این باکتری‌ها در مخلوط‌های غذایی جدید از اهمیت خاصی برخوردار است. سایر محققین کاهش معنی‌داری در تعداد پروبیوتیک‌های زنده در شیرهای تخمیری گزارش کردند که با نتایج حاصل از زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در دسر نوشیدنی مغایرت داشت (۲۳، ۲۲). این تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل pH کمتر (۴/۵) نمونه‌های مورد مطالعه باشد که موجب آسیب رسانی بیشتر به سلول‌های باکتریایی و کاهش جمعیت می‌شود.

با توجه به فعالیت *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی در دمای یخچال ثابت بودن جمعیت پروبیوتیکی احتمالاً به دلیل برابر بودن برآیند تعداد سلول‌های افزایش یافته در اثر رشد با تعداد سلول‌های از بین رفته است. تعامل باکتری‌های پروبیوتیک متفاوت با یکدیگر نیز می‌تواند زنده‌مانی آن‌ها را در نمونه‌های غذایی افزایش دهد (۲۵، ۲۴). از طرفی نژادها و گونه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک دارای تأثیرات سلامتی بخش متفاوتی هستند. از این رو اخیراً استفاده از محصولات پروبیوتیک حاوی چندین گونه و یا حتی چندین نژاد توصیه شده است (۲۶).

خاصیت آنتی اکسیدانی: نتایج برخی از تحقیقات انجام شده نشان می‌دهد ترکیباتی مانند آمینواسیدهای سیستئین و تیروزین به همراه آلفا-لاکتالبومین و بتا-گلوبولین موجود در آب پنیر مسئول خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن هستند (۲۷). به علاوه با اعمال فرآیند پاستوریزاسیون در حین فرآوری آب پنیر امکان افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی وجود دارد (۲۸) به همین دلیل در زمان صفر و پیش از فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد.

کاهش خاصیت آنتی اکسیدانی در طول دوره نگهداری در یخچال نیز احتمالاً به دلیل استفاده باکتری‌های پروبیوتیک از آمینواسیدها و پپتیدهای موجود در نوشیدنی باشد. در تطابق با نتایج این تحقیق ویرتانن و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش کردند در طول عمل تخمیر خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش می‌یابد (۲۹). اوسونتوکی و کوریه (۲۰۱۰) خاصیت آنتی اکسیدانی شیرهای تخمیری حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس برویس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* مورد ارزیابی قرار دادند و گزارش کردند فعالیت آنتی اکسیدانی بین ۲/۸ درصد تا ۳۱/۵ درصد متغیر بود و بیشترین و کمترین فعالیت به ترتیب مربوط به *لاکتوباسیلوس برویس* و *لاکتوباسیلوس*

دلبروکی بود (۳۰). آنزیم‌های پروتئولیتیک باکتری‌های اسید لاکتیک و اختصاصی بودن آن‌ها برای پروتئین‌های شیر نقش مهمی را در تولید پتیدهای زیست فعال ایفا می‌کند (۳۱). این مکانیسم در بین میکروارگانیسم‌های تخمیر کننده شیر متفاوت است که پروتئین‌های شیر را در سطوح مختلفی هیدرولیز می‌کنند و پپتیدهای زیست فعال متفاوتی آزاد می‌شود (۳۲). بر این اساس خاصیت آنتی اکسیدانی شدیداً به نوع نژاد باکتری بستگی دارد (۳۳).

عدم وجود تغییرات معنی‌دار در خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه غیرتخمیری در طول ۷ روز نگهداری در یخچال ممکن است به این دلیل باشد که باکتری‌ها در دمای یخچال تا حد زیادی قدرت فعالیت خود را از دست می‌دهند در نتیجه ممکن است تولید متابولیت‌های دارای خاصیت آنتی اکسیدانی متوقف شود.

بطور کلی در تمامی موارد خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های غیرتخمیری بسیار بیشتر از نمونه‌های تخمیری بود. کاکائو موجود در دسر نوشیدنی غیرتخمیری عامل فعالیت آنتی اکسیدانی بسیار بالای آن است. اپی‌کاتچین (Epicatechin) و کاتچین (Catechin)، بیشترین پلی‌فنل مونومری موجود در کاکائو است که مسئول خاصیت آنتی اکسیدانی آن می‌باشد (۳۴).

آنالیز حسی: نگرانی اساسی در تمام آزمون‌های حسی میزان پذیرش محصول از طرف مصرف کننده می‌باشد. نتایج حاکی از آن است که امتیاز ویژگی‌های مختلف محصول رابطه نزدیکی با میزان فعالیت باکتری‌ها دارد به طوری که با افزایش میزان فعالیت از مقبولیت محصول کاسته شده است. در اثر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک، ترکیباتی تولید می‌شود که مسئول ایجاد عطر و بوی مخصوص فرآورده‌های تخمیری است و ممکن است برای تمامی افراد خوشایند نباشد. همچنین با افزایش فعالیت باکتری و تولید اسید لاکتیک امکان آب اندازی محصول، شل شدن بافت و متعاقباً کاهش قوام و احساس دهانی وجود دارد. از طرف دیگر اسید لاکتیک تولید شده موجب ایجاد طعم ترش در محصول می‌گردد که تحقیقات نشان داده است میزان پذیرش محصولات با طعم شیرین در بین مصرف‌کنندگان بیشتر است و این تمایل به طعم شیرین یک امر ذاتی است که از کودکی در افراد دیده می‌شود (۳۵). در نتیجه توصیه می‌شود این محصول به صورت غیرتخمیری تولید و مصرف گردد.

با تولید نوشیدنی‌های بر پایه آب پنیر علاوه بر ساده بودن فرآیند و کاهش هزینه‌های فرآوری آب پنیر، به طور مستقیم می‌توان از ارزش تغذیه‌ای آن بهره‌مند شد و نیز آلودگی‌های زیست محیطی حاصل از آن را کاهش داد. دسرنوشیدنی به دلیل وجود آب پنیر و شیر گزینه مناسبی به عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک است. نتایج این تحقیق نیز نشان داد جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در هر دو نمونه تخمیری و غیرتخمیری در پایان دوره نگهداری کاهش معنی داری نداشته است و بیشتر از حد استاندارد 10^7 CFU/ml بود. بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی نشان داد نمونه‌های غیرتخمیری در پایان روز هفتم خاصیت آنتی اکسیدانی برابر با ۳۳٪ داشت و به دلیل وجود کاکائو این خاصیت بیشتر از نمونه تخمیری بود. همچنین به دلیل ثبات نسبی در pH و اسیدیته در طول نگهداری در یخچال و عدم وجود عطر و آرومای مخصوص فرآورده‌های تخمیری و طعمی شیرین از پذیرش کلی بیشتر معادل با ۳/۷۸ (از ۵) برخوردار بود در نتیجه توصیه می‌شود نوشیدنی حاوی مخلوط دو باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جی‌جی و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* به صورت غیرتخمیری تهیه و مصرف گردد.

• References

1. Patil GR, Gupta SK. High protein beverage from cheese whey and soybean: manufacture and process. Indian J Dairy Sci 1982; 35(4).
2. Holsinger VH, Posati LP, DeVilbiss. Whey beverages: a review. J Dairy Sci 1974; 57(8): 849-859.
3. Mohedi M, Habibi M. Optimization of production conditions, shelf life and quality of whey juice drink. Agri Sci Tech 2005; 18(2): 1-10 [in Persian].
4. Abdolmaleki F, Assadi MM, Jahadi M. Production of a whey-based beverage using several kefir microflora and assessment of its chemical and organoleptic characteristics. Iran J Nutr Sci Food Technol 20104; 4: 21-32 [In Persian].
5. Pescuma M, Hébert EM, Mozzi F, de Valdez GF. Functional fermented whey-based beverage using lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol 2010; 141: 73-81.

6. Khamirian RA, Jooyandeh J, Hesari J, Barzegar H. Optimization and investigation on physicochemical, microbial and sensory quality of permeate-based probiotic orange beverage. J Food sci Technol 2016; 4 (65) [In Persian].

7. Sanders ME, Huis in't Veld, JHJ. Bringing a probiotic containin functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues. Antonie Van Leeuwenhoek 1999; 76:293– 315.

8. 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. J Dairy Sci 2014; 97:2578-2590.

9. Gionchetti P, Amadini C, Rizzello F, Venturi A. Campieri M. Review article: treatment of mild to moderate ulcerative colitis and pouchitis. Aliment Pharmacol Ther 2002; 16:13–19.

10. Shibolet O, Karmeli F, Eliakim R, Swennen E, Brigidi P, Gionchetti P, et al. Variable response to probiotics in two models of experimental colitis in rats. Inflamm. Bowel Dis 2002; 8:399–406.

11. Ulisse S. Gionchetti P. D'Alo S. Russo FP. Pesce I. Ricci G, et al. Cifone MG. Campieri M, De Simone C.. Expression of cytokines, inducible nitric oxide synthase, and matrix metalloproteinases in pouchitis: effects of probiotic treatment. Am J Gastroenterol 2001; 96:2691–2699.

12. Bezkorovainy A. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. Am J Clin Nutr 2001; 73:399-405.

13. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fermented milks –Yoghurt determination of total titratable Acidity potentiometric method. 1st edition 2000;ISIRI No. 5222[In Persian].

14. Tharmaraj N, Shah NP. Selective Enumeration of Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacteria, Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, and Propionibacteria. J Dairy Sci 2007; 86:2288-2296.

15. Feliciano RP, BravoMarilda MN, PiresAna M, SerraCatarina T, DuarteLuís M, Boas V, et al.. Phenolic content and antioxidant activity of moscatel dessert wines from the setúbal region in portugal. Food Anal Methods 2009; 2(2):149-161.

16. Jemil I, Jridi M, Nasri R, Ktari N, Salem RB, Mehiri M, et al. Functional antioxidant and antibacterial properties of protein hydrolysates prepared from meat fermented by Bacillus subtilis is A26. Process Biochem 2014; 49(6):963-972.

17. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Microbiology of food and animal feedingstuffs – Horizontal method for thedetectionand enumeration of coliforms –Most probable number technique. 1st edition 2009; ISIRI No. 11166 [In Persian].

18. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Milk and milk products –Enumeration of colony-forming units of yeasts and/or moulds-colony -Count Technique at 25°C. 1st edition 2007;ISIRI No. 10154 [In Persian].

19. IBM Corp. Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp

20. Karasova P, Spiwok V, Mala S, Kralova B, Russell NJ. Beta-Galactosidase activity in psychrotrophic mmicroorganisms and their potential use in food industry. Czech J Food Sci 2002.

21. Karlton-Senaye BD. Ibrahim SA. Impact of gums on the growth of probiotics. Agro Food Industry Hi Technolog 2013; 24(4).

22. Damin MR, Minowa E, Alcantara MR, Oliveira MN. Effect of cold storage on culture viability and some rheological properties of fermented milk prepared with yogurt and probiotic bacteria. J Texture Stud 2008; 39(1):40-55.

23. 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. J Dairy Sci 2014; 97(5):2578-2590.

24. Gomes AMP, Malcata FX. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci. Technol 1999; 10:139–157.

25. Ong L, Henriksson A, Shah NP. Proteolytic pattern and organic acid profiles of probiotic Cheddar cheese as influenced by probiotic strains of Lactobacillus acidophilus, Lb. paracasei, Lb. casei or Bifidobacterium sp Int Dairy J. 2007; 17;67–78.

26. Timmermana HM, Koningb CJM, Mulderc L, Romboutsd FM, Beynen C. Monostrain, multistrain and multispecies probiotics —A comparison of functionality and efficacy. Int J Food Microbiol 2004; 96:219–233.

27. Allen JC, Wrieden WL. Influence of milk proteins on lipid oxidation in aqueous emulsion I. Casein, whey protein and a-lactalbumin. J Dairy Res 1982; 49:239-248.

28. Taylor MJ, Richardson T. Antioxidant Activity of Skim Milk: Effect of Heat and Resultant Sulfhydryl Groups. J Dairy Sci 1980; 63(11):1783–1795.

29. Virtanen T, Pihlanto A, Akkanen S, Korhonen H. Development of antioxidant activity in milk whey during fermentation with lactic acid bacteria. J Applied Microbiol 2006; 102:1106-115.

30. Osuntoki A, Korie I. Antioxidant activity of whey from milk fermented with Lactobacillus species isolated from Nigerian fermented foods. Food Technol Biotech 2010; 48(4):505-511.

31. Korhonen HJ. Bioactive Components in Bovine Milk. Wiley- Blackwell, Ames, IA. 2009.

32. Chen HM, Muramoto K, Yamauchi F. Structural analysis of antioxidant peptides from soybean b-conglycinin. J Agric Food Chem 1995; 43:574–578.

33. Donkor O, Henriksson A, Vasiljevic T, Shah N. Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk. Lait 2007; 87:21–38.

34. Miller KB, Stuart DA, Smith NL, Lee CY, Mchale NL, Flanagan JA, et al. Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. J Agric Food Chem 2006; 54: 4062-4068.

35. Mennella JA, Bobowski NK. The sweetness and bitterness of childhood: Insights from basic research on taste preferences. Physiol Beha 2015; 152:502–7.

Fermented and Low-Lactose Nonfermented Synbiotic Drinking Desserts Containing Equal Mixture of *Lactobacillus Rhamnosus* GG and *Lactobacillus Paracasei*

*Taheri S[1], Khomeiri M[*2], Aalami M[3], Moayedi A[3]*

1- MS.c of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources,Iran

*2- *Corresponding author: Associate professor of Food Science and Technology, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran. E.mail: khomeiri@gau.ac.ir*

3- Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

Received 25 Feb, 2019 **Accepted 26 May, 2019**

Background and Objectives: Drinking dessert is a dairy product with high viscosity and great mouth-feel. Use of fresh lactic cheese whey in formulation of this beverage is one of the recent innovations in dessert production. Due to increasing demands for novel probiotic products, preparation of synbiotic drinking desserts with two various species of *Lactobacillus* can help to increase diversity and health effects of the probiotic products.

Materials & Methods: After preparation of drinking desserts, synbiotic drinks were prepared in fermented and nonfermented types using an equal ratio of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus paracasei*. Changes in pH, acidity, viability of probiotic bacteria and antioxidant activity of the two samples during storage were assessed and results were compared with each other. Furthermore, the sensory analysis revealed that which type of the drinks was more acceptable.

Results: The pH of both samples decreased during refrigerated storage, while it was more severe in fermented samples. Population of the probiotic bacteria did not change significantly at the end of the storage time. Results showed increases in antioxidant activity during fermentation; however, nonfermented desserts generally included a greater antioxidant activity due to the presence of cocoa powder. The overall acceptance of the nonfermented desserts was more than that of fermented desserts.

Conclusion: Drinking desserts are great carriers for delivering probiotic bacteria to the body. Production of synbiotic drinking desserts is possibly using a mixture of two probiotic bacteria, including *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus paracasei*. Due to the general acceptance and high antioxidant properties of the nonfermented desserts in comparison with fermented ones, it is recommended to produce this synbiotic drinking dessert in nonfermented type.

Keywords: Drinking dessert, Synbiotic, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus paracasei*