

## بهینه‌سازی فرمولاسیون پوشش دهنده کم چرب سین بیوتیک جهت استفاده در صنعت میان‌وعده غذایی حجیم

الناز میلانی<sup>۱</sup>، ندا هاشمی<sup>۲</sup>، غلامعلی گلی موحد<sup>۳</sup>، مجید هاشمی<sup>۳</sup>

۱- استادیار پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، ایران، پست الکترونیکی: e.milani@jdm.ac.ir

۲- باشگاه پژوهشگران جوان، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

۳- گروه پژوهشی فرآوری مواد غذایی پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۱۷

تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۵

### چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه انواع میان‌وعده غذایی حجیم رایج‌ترین فرم وعده‌های غذایی را شامل می‌شوند. حضور مقادیر بالای چربی و نمک در آنها سبب افزایش ریسک ابتلا به انواع بیماری‌ها می‌گردد. پوشش میان‌وعده حجیم، دارای پتانسیل مناسب برای بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و حمل‌بakterی‌های پروبیوتیک می‌باشند. در پژوهش حاضر، تولید پوشش میان‌وعده سین بیوتیک حاوی باکتری پروبیوتیک، اینولین بومی و نشاسته مقاوم به عنوان ترکیب پری‌بیوتیک و جایگزین چربی مورد بررسی قرار گرفت.

**مواد و روش‌ها:** در قالب طرح آماری مخلوط، تأثیر غلظت‌های مختلف اینولین بومی (۲۰-۰ درصد)، نشاسته مقاوم (۲۰-۰ درصد)، روغن خوراکی (۱۰۰-۸۰ درصد) بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5، میزان pH، سفتی بافت و ارزیابی حسی (بافت و پذیرش کلی) بررسی گردید.

**یافته‌ها:** اینولین و نشاسته مقاوم، تأثیر خوبی بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک داشتند. ولی افزودن این ترکیبات سبب افزایش سفتی بافت محصول گردید. هرچند با افزایش اینولین و نشاسته مقاوم امتیازات ارزیابی حسی (بافت و پذیرش کلی) از سوی مصرف‌کننده کاسته شد، ولیکن محصول مورد پذیرش مصرف‌کننده‌ها قرار گرفت. تیمارهای بهینه حاوی ۲۰ درصد نشاسته مقاوم فاقد اینولین و ۱۵/۳۳ درصد اینولین فاقد نشاسته مقاوم گزینش گردید.

**نتیجه‌گیری:** پوشش کم چرب بهینه ضمن توسعه ویژگی‌های مطلوب فرآورده با کاهش ۱۰ درصد از میزان چربی در فرمولاسیون، سبب حفظ زنده‌مانی ارگانیزم پروبیوتیک طی مدت ماندگاری فرآورده در محدوده پیشنهادی ( $10^7$  CFU/g) گردید.

**واژگان کلیدی:** پوشش اسنک، سین بیوتیک، کم چربی، اینولین بومی و نشاسته مقاوم

### • مقدمه

حاوی پری‌بیوتیک‌ها از جمله اینولین به طور گسترده‌ای گزارش شده است (۲). سین بیوتیک‌ها فرآورده‌هایی هستند که به طور همزمان حاوی پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند، کاربرد توأم دو عامل با هدف ایجاد افزایش اثرات سلامتی بخش آنها صورت می‌گیرد (۳، ۱). نظر به اهمیت کاربرد پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی، امروزه رقابت میان تولیدکنندگان برای عرضه فرآورده‌های لبنی، نوشیدنی‌های گیاهی، آبمیوه‌ها، سس‌ها، شکلات‌ها، فرآورده‌های غلات و میان‌وعده‌های پروبیوتیک به نوعی چالش تبدیل شده است (۴-۱). غلات به دلیل داشتن فیبرهای رژیمی و

بر اساس تعریف ارائه شده از سوی سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization) WHO و سازمان غذا و دارو (Food and Drug Administration) FDA، پروبیوتیک‌ها میکروارگانیزم‌های زنده‌ای هستند که اگر به میزان کافی ( $10^6$ - $10^7$  CFU/g) وارد بدن شوند، اثرات سلامت بخشی در مصرف‌کننده ایجاد می‌نمایند (۱). بقای پروبیوتیک‌ها را می‌توان با کاربرد کربوهیدرات‌های پری‌بیوتیک افزایش داد. ثمربخش‌ترین پری‌بیوتیک‌ها، الیگوساکاریدها یا کربوهیدرات‌های زنجیرکوتاه (Short-chain carbohydrates) SCCs هستند. فواید ایمنولوژیکی و سلامتی‌زایی مصرف مواد غذایی

جایگزین چربی (اینولین بومی و نشاسته مقاوم) می‌باشد که مورد استفاده در صنعت اسنک حجیم بوده و برای نخستین بار در کشور مورد مطالعه و تولید قرار گرفته است.

### • مواد و روش‌ها

**مواد اولیه:** مواد اولیه شامل سیب زمینی ترشی از بازار محلی مشهد، روغن ذرت از شرکت فامیلا، بلغور ذرت از کارخانه زرین طلایی، پودر آب پنیر و پودر پنیر از شرکت گلشاد مشهد خریداری شد. اتانول ۹۹ درصد، کاغذ صافی واتمن، کربن فعال و خاک دیاتومه از شرکت vakerman تهیه شد. کشت لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 دارای شماره پیچ ۲۸۹۰۵۶۲ به صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS از شرکت Chr-Hansen دانمارک خریداری شد. محیط کشت‌های Agar، MRS Broth و پپتون واتر ۸۰٪ از شرکت مرک و سیترا سدیم از شرکت رحیق خریداری شد. نشاسته مقاوم ذرت ST-9000 کد ۹۵ از شرکت فرایند بیوتکنولوژی تأمین شد.

**استخراج اینولین از سیب زمینی ترشی:** تولید و استخراج پودر اینولین از سیب زمینی ترشی بر اساس روش میلانی و همکاران (۱۳۸۹) انجام گردید (۱۶).

**آماده‌سازی باکتری‌های پروبیوتیک:** جهت آماده‌سازی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5، مقدار ۱ گرم از کشت خشک شده انجمادی به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت MRS Broth تلقیح شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. سلول‌های پروبیوتیکی حاصل بعد از سانتریفوژ در ۴۵۰۰ g (eppendorf - ساخت کشور آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جداسازی شدند. سپس عمل شستشوی سلول‌های جدا شده با استفاده از محلول ۰/۱٪ پپتون واتر استریل تحت شرایط فوق در دو تکرار انجام و از آن جهت تلقیح مستقیم استفاده گردید (۲۰۱).

**شرایط فرایند اکستروژن به منظور تولید میان‌وعده حجیم:** مخلوط بلغور و آرد ذرت با رطوبت تنظیم شده (بر پایه مربع پیرسون) توسط اکسترودر دو ماردونه با چرخش هم جهت مدل DS56 ساخت شرکت Jinan Saxin موجود در پایلوت اکستروژن پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد اکستروود شد. فراورده‌های اکستروود شده بلافاصله پس از تولید به آن هوای داغ برای مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شده و سپس درون کیسه‌های پلاستیکی پلی اتیلنی ضخیم قرار گرفته و دربندی گردید.

الیگوساکاریدها به عنوان منابع پری‌بیوتیکی، محیط مناسبی جهت میزبانی پروبیوتیک‌ها بوده و به علت داشتن دکسترین و پلی دکستروز نقش حمایتی مطلوبی در رشد آنها اعمال می‌نمایند (۳-۶). میان وعده‌های رایج عموماً بر پایه غلات بوده و محدوده وسیعی از فراورده‌های غذایی را شامل می‌شوند، که به عنوان غذاهای سبک یا جایگزین، بخشی از یک غذای معمول استفاده می‌گردند. تکنولوژی پخت اکستروژن از فرایندهای مهم جهت تولید میان‌وعده‌ها طی نیم قرن اخیر می‌باشد (۸، ۷). تحقیقات صورت گرفته در آمریکا بین سال‌های ۱۹۷۷ تا ۲۰۱۲ نشان داده است که میزان تقاضای گروه‌های مختلف سنی به مصرف میان‌وعده‌ها به بیش از دو برابر افزایش یافته است، طوری که بیش از ۲۵٪ از انرژی روزانه از میان‌وعده‌های دارای نمک و چربی اشباع بالا تأمین می‌گردد (۹). مهم‌ترین چالش متخصصین تغذیه در مواجهه با اثرات ضد تغذیه‌ای میان‌وعده‌های حجیم موجود در بازار (پفک) مربوط به پوشش (دراژه) آنهاست که محتوی نمک و چربی اشباع بالا (بیش از ۵۰٪) می‌باشد (۷). گزارشات مبنی بر الگوی نامناسب تغذیه‌ای شایع بین کودکان و نوجوانان، انتخاب نادرست میان‌وعده‌ها بر افزایش شاخص توده بدنی (Body Mass Index) BMI و افزایش پوسیدگی دندان، افزایش بیماری‌هایی قلبی-عروقی، افزایش فشار خون و دیابت گزارش شده است (۱۲-۱۰). لذا استفاده از ترکیبات جایگزین چربی روشی مؤثر به منظور جبران ویژگی‌های تغذیه‌ای، عملکردی و حسی چربی در محصولات غذایی کم چرب بوده و باعث افزایش پذیرش این محصولات توسط مصرف‌کنندگان نیز می‌گردد (۲). مطالعاتی در زمینه اثر جایگزینی ترکیبات پری‌بیوتیک (اینولین، نشاسته مقاوم و فیبر) با چربی بر ویژگی‌های مافین (۱۳)، کیک اسفنجی (۱۴) و نان خرمایی (۱۵) صورت گرفته است. در زمینه پوشش‌ها و فیلم‌های خوراکی پروبیوتیکی نیز در مورد قطعات سیب (۴، ۲) و نان نیم‌پز (۳) تحقیقاتی انجام گرفته است.

با توجه به جایگاه میان‌وعده‌ها بین دانش‌آموزان و همچنین اثر این وعده غذایی بر سلامت نسل آینده، میان‌وعده‌های غذایی می‌تواند به عنوان حامل مناسب ترکیبات فراسودمند پری‌بیوتیک و پروبیوتیک معرفی شوند. لذا غنی‌سازی پوشش این محصولات با بکارگیری همزمان پروبیوتیک‌ها و پری‌بیوتیک‌ها (سین‌بیوتیک) می‌تواند سبب تولید فراورده غذایی سلامتی‌زا و فراسودمند گردد. هدف از انجام این تحقیق ارائه فرمولاسیون نوعی پوشش جدید حاوی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 در کنار ترکیبات

بافت (Texture Profile Analysis) TPA)، توسط دستگاه آنالیز بافت مدل TA plus ساخت شرکت Lloyd انگلستان استفاده شد. این دستگاه با مشخصات ذیل تنظیم گردید؛ پروب استوانه‌ای به قطر ۲ میلی‌متر، نیروی بارگذاری ۱۰۰N جهت نفوذ پروب به عمق مشخص ۸ میلی‌متر، سرعت ثابت ۱mm/s جهت آزمون فشرده سازی ۷۰٪ (۸). برای انجام این آزمون از هر تیمار ۱۰ نمونه یک اندازه با سطح مقطع یکسان انتخاب و میانگین اعداد آنها گزارش گردید.

**ارزیابی حسی (ارزیابی بافت و پذیرش کلی):** ارزیابی‌های حسی توسط گروهی متشکل از دانشجویان و کارمندان جهاد دانشگاهی مشهد انجام گردید. از سیستم امتیاز دهی پنج نقطه‌ای شامل خوب، نسبتاً خوب، متوسط، نسبتاً بد و بد برای سنجش ویژگی‌های محصول اکستروود شده با پوشش سین بیوتیک استفاده گردید. از هر نمونه سه عدد به طور تصادفی درون ظروف یک بار مصرف قرار داده شدند و با شماره‌های ۳ رقمی انتخاب شده از اعداد جدول تصادفی، شماره‌گذاری شدند. از ارزیاب‌ها خواسته شد قبل از شروع ارزیابی و همچنین پس از هر بار چشیدن محصول دهان خود را با آب معدنی شستشو دهند. امتیازات مربوط به ارزیابی بافت و پذیرش کلی محصول به نحوی محاسبه گردید که برای بیشترین امتیاز (خیلی خوب) عدد ۵ و جهت کمترین امتیاز (بد) عدد ۱ در نظر گرفته شد (۱۷).

**تجزیه و تحلیل آماری:** در این پژوهش به منظور بررسی اجزاء فرمولاسیون پوشش فراورده حجیم شده با سه جزء اینولین، نشاسته مقاوم و روغن بر ویژگی‌های پوشش میان-وعده و زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس L. acidophilus و در نهایت بهینه‌یابی فرمولاسیون از طرح مخلوط استفاده گردید. مقادیر حقیقی و کد گذاری شده هر جزء فرمول در جدول ۱ مندرج است. بهینه‌یابی براساس بیشینه میزان زنده‌مانی میکروارگانیسم پروبیوتیک در طول دوره نگهداری؛ کمینه میزان چربی در فرمول، کمینه میزان سفتی بافت، بیشینه ارزیابی‌های حسی (سفتی و پذیرش کلی) صورت گرفت. جهت تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای کانتور از نرم افزار Design Expert 7.1.6 استفاده شد. به منظور ارزیابی صحت مدل‌های برازش داده شده مقادیر  $R_2$ ،  $R_2$  تصحیح شده مدل و P ضرایب تعیین و بررسی شدند.

**فرمولاسیون پوشش کم چربی:** اجزاء ثابت فرمول پوشش خوراکی شامل پودر پنیر، پودر آب پنیر و متغیرهای فرمولاسیون شامل اینولین، نشاسته مقاوم و روغن خوراکی می‌باشند. میزان افزودن نمک تا ۰/۵ درصد بوده و نسبت ماده جامد: روغن فرمولاسیون پوشش، در محدوده ۵۵:۴۵ متغیر در نظر گرفته شد. پس از آماده سازی فرمول‌های مختلف بر اساس جدول ۱، کلیه اجزای فرمول درون مخازن مجهز به همزن مخلوط گردید.

**تلقیح باکتری پروبیوتیک به پوشش و انجام عملیات پوشش زنی روی محصول:** در مرحله بعد، میکروارگانیسم لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 با جمعیت  $10^{10}$  CFU/g به ۹/۴ -  $10^{13}$  × ۲/۲۷ به روش تلقیح مستقیم باکتری آزاد به فرمولاسیون پوشش میان‌وعده حجیم شده افزوده شد. سپس توسط دستگاه پوشش زن، مخلوط پوشش تهیه شده به صورت لایه لعابی یکسان بر سطح میان‌وعده حجیم ذرت داخل استوانه چرخان پاشیده شد.

**شمارش میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک:** ابتدا به منظور تهیه سوسپانسیون یکنواخت، رقت‌ها ( $10^{-1}$  تا  $10^{-13}$ ) با استفاده از آب پیتونه استریل ۰/۱ درصد وزنی- حجمی تهیه شدند. از رقت‌های تهیه شده، کشت مخلوط در محیط کشت MRS Agar انجام گردید و بعد از عملیات گرمخانه گذاری (۳۷ درجه سانتی گراد) به مدت ۴۸ ساعت شمارش کلنی‌ها انجام شد. ارزیابی تعداد باکتری‌ها، در ۴ بازه زمانی صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تولید و در ۳ تکرار انجام گرفت و نتایج بر اساس کلنی در گرم گزارش شد. جهت ارزیابی فلور میکروبی در کلیه آزمایش‌ها پس از کشت در محیط اختصاصی پرگنه‌های تشکیل شده توسط دستگاه پرگنه شمار انجام شد (۲).

**اندازه‌گیری pH پوشش کم چرب سین بیوتیک:** جهت اندازه‌گیری pH نمونه‌ها از دستگاه pH متر مدل WTW 720 ساخت شرکت InoLab آلمان استفاده گردید. قبل از استفاده، دستگاه مذکور با بافر استاندارد با pH=۴ و pH=۷ کالیبر گردید. آزمون‌ها با ۳ تکرار در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد انجام شد.

**ارزیابی سختی بافت فراورده اکستروود شده با پوشش کم چرب سین بیوتیک:** برای ارزیابی سختی بافت محصول اکستروود شده با پوشش سین بیوتیک از آزمون آنالیز پروفایل

**جدول ۱.** تیمارهای فرمولاسیون پوشش میان‌وعده حجیم، سطوح حقیقی و سطوح کدگذاری شده اجزاء

ردیف	اینولین		نشاسته مقاوم		روغن	
	سطوح حقیقی (%)	سطوح کدگذاری شده	سطوح حقیقی (%)	سطوح کدگذاری شده	سطوح حقیقی (%)	سطوح کدگذاری شده
۱	۰	-۱	۲۰	+۱	۸۰	-۱
۲	۰	-۱	۲۰	+۱	۸۰	-۱
۳	۰	-۱	۱۰	۰	۹۰	۰
۴	۰	-۱	۰	-۱	۱۰۰	+۱
۵	۰	-۱	۰	-۱	۱۰۰	+۱
۶	۰	-۱	۲۰	+۱	۸۰	-۱
۷	۳/۳۳	-۰/۶۶	۱۳/۳۳	+۰/۳۳	۸۳/۳۳	-۰/۶۶
۸	۳/۳۳	-۰/۶۶	۳/۳۳	-۰/۶۶	۹۳/۳۳	+۰/۳۳
۹	۶/۶۶	-۰/۳۳	۶/۶۶	-۰/۳۳	۸۶/۶۶	-۰/۳۳
۱۰	۱۰	۰	۰	-۱	۹۰	۰
۱۱	۱۰	۰	۱۰	۰	۸۰	-۱
۱۲	۱۳/۳۳	+۰/۳۳	۳/۳۳	-۰/۶۶	۸۳/۳۳	-۰/۶۶
۱۳	۲۰	+۱	۰	-۱	۸۰	-۱
۱۴	۲۰	+۱	۰	-۱	۸۰	-۱

**• یافته‌ها**

شاهد و کمترین کاهش آن به ترتیب در نمونه حاوی (اینولین ۶/۶۶، نشاسته مقاوم ۶/۶۶، روغن ۸۶/۶۶)، (اینولین ۰، نشاسته مقاوم ۱۰، روغن ۹۰) و (اینولین ۱۰، نشاسته مقاوم ۱۰، روغن ۸۰) مشاهده شد. با این حال، در کلیه نمونه‌ها همزمان با افزایش میزان اینولین و نشاسته مقاوم، شدت کاهش سیکل لگاریتمی بسیار پایین بود و در مقایسه با نمونه شاهد اختلاف معنی داری در کاهش لگاریتمی گزارش گردید. قبل از نگهداری نمونه‌ها حاوی  $CFU/g \times 10^{11} - 9/4 \times 10^{13}$  ۲۲/۲۷ بودند. که پس از طی زمان ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد و رطوبت محیط این مقدار به  $CFU/g \times 10^5$  ۲/۴ -  $10^7 \times 2/2$  کاهش یافت.

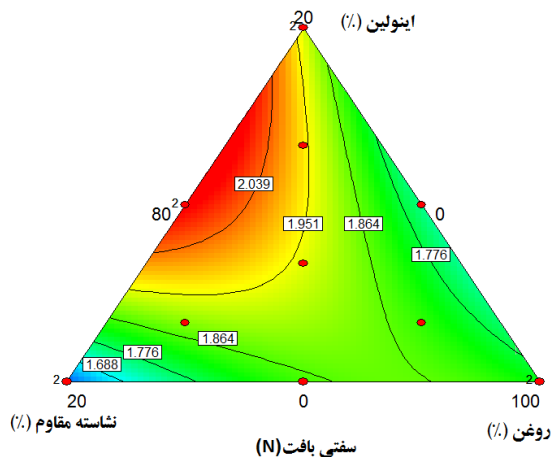
با توجه به شکل ۱ میزان کاهش سیکل لگاریتمی بین  $Log CFU/g$  ۷/۳۳-۵/۵۷ محاسبه گردید. بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۲ مدل آماری دو جمله‌ای برای کاهش سیکل لگاریتمی باکتری لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس La5 در طی مدت ۲۱ روز نگهداری پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-نشاسته مقاوم بر میزان کاهش سیکل لگاریتمی معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ ).

با توجه به شکل ۱ و نتایج زنده‌مانی، با کاهش میزان اینولین و نشاسته مقاوم میزان کاهش سیکل لگاریتمی افزایش می‌یابد و همچنین بیشترین کاهش لگاریتمی مربوط به نمونه

**جدول ۲.** نتایج حاصل از آنالیز واریانس

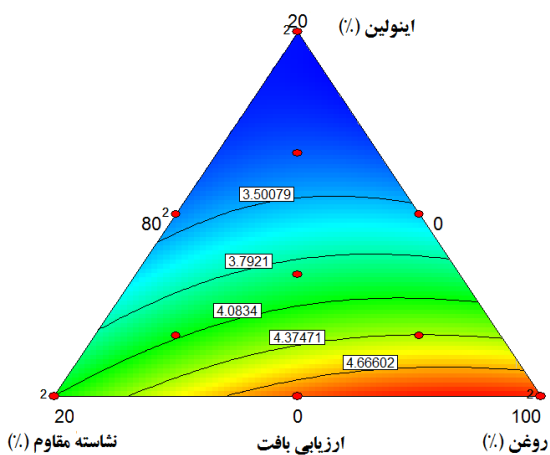
ویژگی‌های حسی	pH	سفتی بافت	زنده‌مانی باکتری	
			ارزیابی بافت	پذیرش کلی
اینولین-نشاسته مقاوم	۰/۲۸۵۷	۰/۰۰۰۲	۰/۰۵۶۸	۰/۳۵۷
اینولین-روغن	۰/۰۰۴۱	۰/۰۷۳۸	۰/۰۰۲۸	۰/۰۱۰۸
نشاسته مقاوم-روغن	۰/۶۸۵۴	۰/۰۵۴۳	۰/۰۳۶	۰/۴۹۰۵
مدل	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۷
عدم برازش	۰/۲۹۸۳	۰/۰۹۸۹	۰/۰۵۹۲	۰/۱۳۲۱
ضریب تبیین	۰/۸۸	۰/۹۶	۰/۹۷	۰/۹۳
ضریب تبیین اصلاح شده	۰/۸۰	۰/۹۴	۰/۸۳	۰/۸۸
ضریب تغییرات	۳/۷۹	۱/۵۷	۳/۴۷	۶/۴۳

فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-نشاسته مقاوم بر میزان سفتی بافت معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). بر اساس شکل ۳ بیشینه مقدار سفتی (۲/۰۹۶N) متعلق به تیمار حاوی نمونه حاوی (اینولین ۱۰، نشاسته مقاوم ۱۰ و روغن ۸۰) بود.

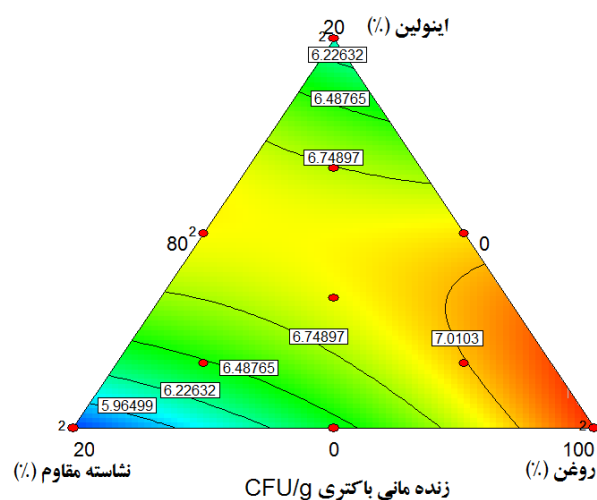


شکل ۳. نمودار کانتور اثر اجزاء فرمولاسیون بر "سفتی"

با توجه به اطلاعات آماری مندرج در جدول ۲ مدل آماری دو جمله‌ای برای ویژگی‌های حسی میان‌وعده (ارزیابی بافت و پذیرش کلی) پیشنهاد گردید. بر اساس جدول ۲، بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-روغن و نشاسته مقاوم-روغن بر میزان ارزیابی بافت معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). ولیکن در مورد پذیرش کلی فقط اثر متقابل میزان اینولین-روغن بر میزان پذیرش کلی معنی دار بود ( $p < 0.05$ ) بر اساس شکل ۴ و ۵ بیشترین امتیاز پارامترهای ارزیابی بافت و پذیرش کلی مربوط به نمونه شاهد بود اما پس از آن نمونه حاوی (اینولین، نشاسته مقاوم ۱۰ و روغن ۹۰) دارای بالاترین امتیاز بود. اینولین و نشاسته مقاوم اثر سینرژیستی بر روی افزایش سختی بافت میان‌وعده نشان دادند.

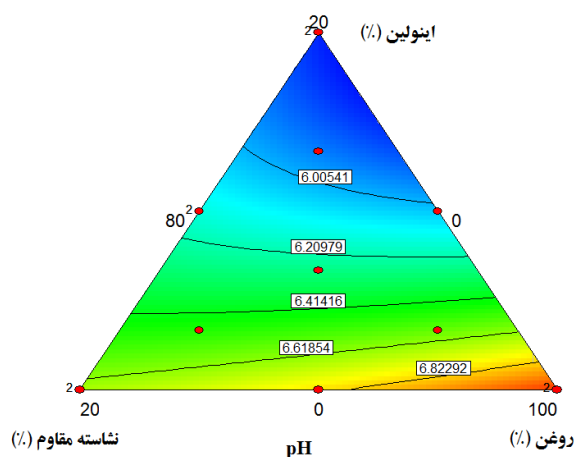


شکل ۴. نمودار کانتور اثر اجزاء فرمولاسیون بر "ارزیابی بافت"



شکل ۱. نمودار کانتور اثر اجزاء فرمولاسیون بر "میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5"

میزان pH محاسبه شده در طی مدت ۲۱ روز نگهداری بین ۵/۷۸ تا ۶/۹۲ محاسبه گردید. لازم به ذکر است که میزان pH تمامی نمونه‌ها قبل از شروع دوره نگهداری در محدوده ۷/۱۱ تا ۶/۹۸ بود. با توجه به اطلاعات آماری مندرج در جدول ۲ مدل آماری دو جمله‌ای برای میزان pH میان‌وعده پیشنهاد گردید و همچنین بر اساس جدول ۲ بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-روغن بر میزان pH معنی دار بود ( $p < 0.05$ ). بر اساس شکل ۲ کمینه میزان pH (۵/۷۸) متعلق به تیمار حاوی نمونه حاوی اینولین ۲۰، نشاسته مقاوم ۰ و روغن ۸۰ بود.

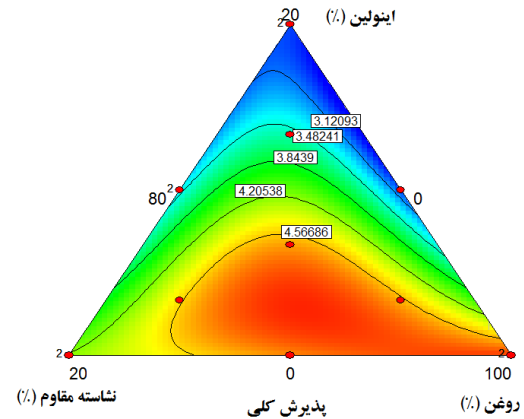


شکل ۲. نمودار کانتور اثر اجزاء فرمولاسیون بر "میزان pH"

میزان سختی بافت بین (۱/۵۳۵N) تا ۲/۰۹۶ محاسبه گردید. با توجه به اطلاعات آماری مندرج در جدول ۲ مدل آماری دو جمله‌ای برای سفتی بافت میان‌وعده پیشنهاد گردید و همچنین بر اساس جدول ۲ بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات

عوامل مخرب محافظت قوی به عمل می‌آورد (۲۰). نتایج Soukoulis و همکاران نشان داد؛ نشاسته برنج باعث افزایش زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*) می‌گردد، طوری که کاهش سیکل لگاریتمی به میزان  $0.91 \log$  CFU در روز در دمای ۴ درجه سانتیگراد و کاهش سیکل لگاریتمی به میزان  $2.90 \log$  CFU در روز در دمای اتاق گزارش شد (۲۱). در زمینه به کارگیری نشاسته مقاوم در مواد غذایی نیز تحقیقاتی صورت گرفته است. مطابق گزارش میرزایی و همکاران نیز افزایش زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس *La5* در پنیر ایرانی و تحت تأثیر افزودن نشاسته اصلاح شده گزارش گردید (۲۲). همایونی و همکاران اثر محافظتی نشاسته مقاوم را در افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در بستنی سین بیوتیک طی ۱۸۰ روز گزارش نمودند (۲۳). همچنین بیگدلیان و رضوی نیز با بکارگیری نشاسته مقاوم ذرت در فرمولاسیون سس مایونز زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را بیش از ۲۲ درصد در طی نگهداری افزایش دادند (۲۴). به طور کلی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس *La5* توانسته است به خوبی از اینولین بومی سبب زمینی ترش به عنوان سوبسترا استفاده نماید که احتمالاً این ویژگی به سیستم متابولیکی و آنزیم‌هایی درون سلولی این سویه از پروبیوتیک مرتبط می‌باشد و همچنین نشاسته مقاوم نیز اثر محافظت‌کنندگی خوبی بر سلول‌های این باکتری نشان داد. که مجموعه این عوامل زنده‌مانی مطلوب این باکتری را در طی ۲۱ روز در دمای محیط به دنبال داشت.

بر اساس نتایج محققین لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به سایر گونه‌ها در طی تخمیر مقدار بیشتری اسید تولید می‌کند و همچنین توانایی تحمل pH پایین را نیز نسبت به سایر گونه‌ها دارد. که این امر موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌گردد (۲۵، ۲۶). با افزایش اینولین در نمونه‌ها و کاهش میزان روغن فعالیت متابولیکی لاکتوباسیلوس *La5* را تحریک شده و موجب کاهش pH می‌گردد. زیرا بر اساس آنچه گفته شده لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها با بهره‌گیری از یک مکانیسم آنزیمی پیچیده توانایی استفاده از کربوهیدرات‌های پیچیده مانند اینولین را دارند (۱۸). توانایی لاکتوباسیلوس‌ها در تخمیر انواع اینولین به علت فعالیت ژن بتا- فروکتوفورانوزیداز ( $\beta$ -fructofuranosidase) می‌باشد (۲۶). نتایج مشابه در بیشترین کاهش pH در نمونه‌های حاوی اینولین و فاقد چربی در نوعی دسر (موس) سین بیوتیک نگهداری شده در طی ۲۸ روز نگهداری، ماست سین بیوتیک



شکل ۵. نمودار کانتور اثر اجزاء فرمولاسیون بر "پذیرش کلی"

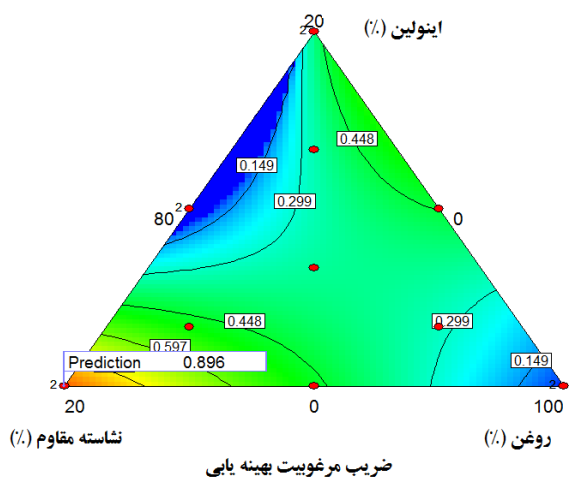
## • بحث

حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی از مهم‌ترین دلایل بقاء بیشتر باکتری‌ها است. لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها به علت داشتن یک مکانیسم آنزیمی پیچیده توانایی بهره‌گیری از کربوهیدرات‌های پیچیده مانند اینولین را دارند و همچنین اینولین حالت محافظتی بر این میکروارگانیسم‌ها ایجاد می‌نماید (۱۸). به علاوه اینولین به علت ایجاد ساختار شبه چربی باعث افزایش ویسکوزیته شده و به عنوان یک نگهدارنده مؤثر در فرمولاسیون مواد غذایی عمل می‌کند (۱۹). گزارشات متعددی در زمینه استفاده از اینولین به عنوان محرک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها توسط محققین ارائه شده است. استفاده از اینولین عامل تحریک رشد و بقاء لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس *La5* در فرمولاسیون‌های فراورده‌های لبنی سن بیوتیک گزارش شده است. در این مطالعه قابلیت زیستی باکتری‌های آزاد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس *La5* در حدود  $3.1 \log$  CFU/ml در طی مدت ۴۵ روز نگهداری است (۲). در زمینه محصولات غله نیز شهرزاد مقدم و همکاران (۱۳۹۶)، کاهش معنی‌داری در تعداد باکتری‌های باسیلوس کواگولانز (*Bacillus coagulans*) نان خرمایی محتوی ۲۰٪ اینولین در طی ۱۲۰ روز مشاهده نکردند (۱۵). Wang و همکاران نیز در ماست غیر لبنی بر پایه ذرت اکستروود شده زنده‌مانی نسبتاً بالایی از لاکتوباسیلوس پلاناریوم را در طی مدت ۸ هفته نگهداری گزارش دادند (۱).

از لحاظ تغذیه‌ای نشاسته مقاوم به عنوان سوبسترای برای فلور میکروبی روده عمل کرده و منجر به تولید متابولیت‌هایی مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شود. سویه‌هایی از بیفیدوباکتریوم توانایی چسبیدن به نشاسته را دارند؛ و نشاسته مقاوم با ایجاد اتصال و تشکیل سطح چسبناک روی دیواره سلولی باکتری‌ها، در طی نگهداری ماده غذایی در مقابل

اینولین حاصل از نوعی کنگرفرنگی برای تولید کراکر مورد استفاده قرار گرفت. در این بررسی حدود ۱۰ درصد از وزن خشک محصول توسط اینولین جایگزین شده و مشخص شد که افزودن اینولین منجر به کاهش خصوصیات حسی کراکرها نشده است (۳۴).

**بهینه‌یابی:** هدف از بهینه‌یابی دست‌یابی به فرمول بهینه پوشش سین بیوتیک کم چرب بود. تنظیمات اعمال شده، شامل قرارگیری متغیرهای فرمولاسیون (اینولین، نشاسته مقاوم) در محدوده آزمایش و تنظیم میزان روغن در کمترین مقدار بود. هدف گذاری پاسخ‌ها نیز شامل در نظر گرفتن بیشینه میزان زنده‌مانی میکروارگانیسم پروبیوتیک در طول دوره نگهداری؛ کمینه میزان چربی در فرمول، کمینه میزان pH، کمینه میزان سفتی بافت، بیشینه ارزیابی‌های حسی (سفتی و پذیرش کلی) از سوی مصرف‌کنندگان بود. بر اساس ملاحظات فوق شرایط بهینه فرمولاسیون با ضریب اطمینان ۰/۸۹۶ شامل تیمار فاقد اینولین، حاوی نشاسته مقاوم ۲۰ درصد و روغن ۸۰ درصد و ضریب اطمینان ۰/۵۳۳ شامل تیمار حاوی ۱۵ درصد اینولین، فاقد نشاسته مقاوم و روغن ۸۵ درصد تعیین گردید (شکل ۶).



شکل ۶. نمودار کانتور بهینه‌یابی فرمولاسیون پوشش سین بیوتیک میان‌وعده

### نتیجه‌گیری کلی

با پیشرفت تکنولوژی، تمایل عمومی در جهت مصرف مواد غذایی با کالری پایین و اثرات مفید و سلامت بخش، سوق پیدا کرده است. برای دستیابی به موفقیت در زمینه افزایش مصرف غذاهای فراسودمند پروبیوتیک، لازم است صنعت غذا رضایت مصرف‌کنندگان را فراهم سازد. از این رو همه غذاهای پروبیوتیک باید حاوی تعداد مشخصی از باکتری‌های پروبیوتیک در طی ماندگاری بوده و بدون تأثیر نامطلوب بر طعم، مزه و بافت، عملکرد خود را حفظ نماید. با توجه به این

محتوی اینولین نگهداری شده در طی سه هفته نگهداری و ماست سین بیوتیک محتوی اینولین استخراجی از کنگرفرنگی گزارش گردید (۲۶-۲۸).

اینولین به دلیل داشتن گروه‌های هیدروفیل قابلیت جذب آب بیشتری داشته و موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته پوشش محصول شده و بافت سفت‌تری را در فراورده ایجاد می‌نماید (۲۹). همچنین اینولین میکروکریستال‌هایی را تشکیل می‌دهد که از طریق کنشهای متقابل با یکدیگر تجمع‌های کوچکی را ایجاد نموده و موجب به دام انداختن آب و سختی بافت می‌گردند (۳۰). نتایج محققین دیگر نیز نشان‌دهنده افزایش سختی بافت با افزایش مقدار اینولین در کیک اسفنجی و مافین پری بیوتیک بود (۲۹، ۱۴).

تمایل آمیلوز نشاسته به تشکیل باندهای هیدروژنی، جذب آب و تشکیل اتصالات عرضی سفتی بافت را به دنبال دارد، این اثر احتمالاً به میانکنش بین ترکیبات مختلف فرمولاسیون مربوط می‌شود (۲۰). گزارشات Rawat و همکاران در مورد میان‌وعده پروتئینی غنی شده با غله و نیز محبی و همکاران در مورد نان پری بیوتیک نشان‌دهنده افزایش سختی بافت با افزایش میزان نشاسته مقاوم بود (۳۱، ۱۳). بر اساس نتایج به دست آمده برای پذیرش کلی و پذیرش بافت نمونه‌ها زمانی که واکنش بین متغیرها باعث نرم شدن بافت شده پذیرش کلی نیز افزایش یافته است. این نشان می‌دهد بافت نرم‌تر از نظر ارزیابی‌های حسی، پذیرش بالاتری داشته است. بر طبق گزارشات محققین با افزایش فیبر و نشاسته مقاوم (از ۲۵ به ۷۵٪) میزان سختی بافت میان‌وعده پروتئینی غنی شده با غله افزایش می‌یابد (۱۳). یکی از مهمترین عوامل سفتی بافت در نمونه‌های محتوی نشاسته مقاوم، ایجاد پدیده رتروگراداسیون در نشاسته است (۲۰). زیرا احساس دهانی خشک‌تری ایجاد نموده و زمان و نیروی بیشتری جهت خرد کردن ماده غذایی در دهان نیاز داشت (۱۳).

Capriles و همکاران میان‌وعده کم چربی را با استفاده از نشاسته اصلاح شده و میان‌وعده کم چرب دیگر با دیگر اینولین و الیگوفروکتوز عنوان جایگزین چربی تولید نمودند. میان‌وعده تولید شده ضمن کاهش کالری و شاخص گلاسمیک از نظر بافت و قابلیت پذیرش تفاوتی با نمونه‌های سنتی نداشتند (۳۳، ۳۲). ارزیابی حسی (بافت و پذیرش کلی) کیک‌های اسفنجی جایگزین شده با مقادیر ۰/۳۵-۰/۷۰ اینولین با چربی تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت و همچنین بافت اثرگذارترین عامل در امتیاز دهی به پذیرش کلی معرفی شد (۲۹). در پژوهش انجام شده توسط Hempel و همکاران

شود. در تولید محصول از ترکیب پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، ترکیب پری بیوتیکی اینولین بومی و نشاسته مقاوم به عنوان جایگزین چربی استفاده شد و در مجموع دانش فنی تولید میان‌وعده حجیم با پوشش سین بیوتیک کم چربی تدوین گردید که دارای خواص درمانی و سلامت بخش برای مصرف کننده می‌باشد.

که در کشور ما مصرف برخی از میان‌وعده حجیم ناسالم توسط مردم به ویژه کودکان رواج یافته؛ ذائقه کودکان را به غذای چرب و شور هدایت می‌کند. از این رو جایگزینی ترکیبات مغذی با بخشی از روغن موجود در میان‌وعده علاوه بر اثرات سلامتی زایی از بروز چاقی بیش از حد جلوگیری خواهد نمود. بر اساس نتایج این تحقیق، می‌توان گفت که پوشش میان‌وعده حجیم می‌تواند به عنوان یک حامل، برای تحویل میکروارگانسیم‌های پروبیوتیکی به بدن انسان در نظر گرفته

## • References

- Wang C, Zheng H, Liu T, Wang D, Guo, M. Physicochemical Properties and Probiotic Survivability of Symbiotic Corn-Based Yogurt-Like Product. *J. Food Sci* 2017. doi: 10.1111/1750-3841.13823
- Noorbakhsh, R., Yaghmaee, P., & Durance, T. Radiant energy under vacuum (REV) technology: A novel approach for producing probiotic enriched apple snacks. *J Funct Foods* 2013;5: 1049–1056
- Altamirano-Fortoul R, Moreno-Terrazas R, Quezada-Gallo A, Rosell CM. Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocoll* 2012; 29: 166-174
- Tavera-Quiroz, M. J., Romano, N., Mobili, P., Pinotti, A., Gomez-Zavaglia, A., Bertola, N. Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing *Lactobacillus plantarum*. *J Funct Foods* 2015;16:164–173.
- Vijaya Kumar, B, Vijayendra SVN, Reddy OVS. Trends in dairy and non-dairy probiotic products-a review. *J Food Sci Technol* 2015; 52(10):6112–6124.
- Saarela M, Virkajarvi I, Nohynek L, Vaari A, Matto J. Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. *Int J Food Microbiol* 2006; 112(2):171–178.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Puffed products based on cereal grits and flour: specifications and test methods. ISIRI no 2880. 3rd revision, Tehran: ISIRI; 2008 [in Persian].
- Hashemi N, Mortazavi SA, Milani E, Tabatabai Yazdi F. Microstructural and textural properties of puffed snack prepared from partially defatted almond powder and corn flour. *J Food Process Preserv* 2017; 00:e13210. doi:10.1111/jfpp.13210.
- Dunford E K, Popkin, BM. Disparities in Snacking Trends in US Adults over a 35 Year Period from 1977 to 2012. *Nutr. J* 2017; doi:10.3390/nu9080809.
- Bahrololoomi Z, Soruri M, Rekabi M, Ravaie S. The relationship between BMI and DMFT/dmft among 7-11 Year-old children in Yazd. *J Shahid Sadoughi Univ Med Sci* 2014; 21(6): 751-58 [In Persian].
- Nicklas TA, O'Neil CE, Fulgoni VL. Snacking patterns, diet quality, and cardiovascular risk factors in adults. *BMC Public Health* 2014; 14:388
- Abedi Gh, Zerangian N, Asadi-Aliabadi M, Rostami F. Study of Snack Pattern and Some Factors Affecting It among Elementary School Students in the Gonbad, Iran. *JHRC* 2017;2(4): 46-53 [In Persian].
- Rawat N, Darappa I. Effect of ingredients on rheological, nutritional and quality characteristics of fibre and protein enriched baked energy bars. *J Food Sci Technol* 2015; 52(5):3006–3013.
- Zahn S, Pepke F, Rohm H. Effect of inulin as a fat replacer on texture and sensory properties of muffins. *Int J Food Sci Technol* 2010; 45(12):2531–7.
- Shahrzad Moghadam M, Samira Bahramian S. Effect of oil substitution with inulin on qualitative properties of date bread and the survival of *Bacillus coagulans*. *AMFIJ* 2017; 3(2): 1-8 [In Persian].
- Milani E, Pourazarang H, Vatan khah Sh, Vakilian H. Optimization of Inulin Extraction from *Helianthus* Using Response Surface Methodology (RSM). *IFSTRJ* 2010; 6(3): 176-183 [In Persian].
- Yağci S, Göğüş, F. Development of extruded snack from food by-products: A response surface analysis. *J. Food Process Eng* 2009; 32: 565-586.
- Karimi R, Azizi MH, Ghasemlou M, Vaziri M. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydr Polym* 2015; 119: 85–100
- Crispín-Isidro G, Lobato-Calleros C, Espinosa-Andrews H, Alvarez-Ramirez J, Vernon-Carter E.J. Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT-Food Sci Technol* 2015; 62(1): 438-444.
- Alsaffar AA. Effect of food processing on the resistant starch content of cereals and cereal products – a review. *Int J Foods Sci Tech* 2011;46:455–462.
- Soukoulis C, Singh P, Macnaughtan W, Parmenter C Fisk ID. Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. *Food Hydrocoll* 2016; 52: 876–887.
- Mirzaei H, Pourjafar H, Homayouni A. Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chem* 2012; 132(4):1966–1970.

23. Homayouni A, Azizi A, Ehsani MR, Yarmand MS, Razavi SH. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chem* 2008; 111: 50-55.
24. Bigdelian E, Razavi SH. Evaluation of Survival Rate and Physicochemical Properties of Encapsulated Bacteria in Alginate and Resistant Starch in Mayonnaise Sauce. *J Bioprocess Biotech* 2014; 4: 166 doi: 10.4172/2155-9821.1000166.
25. Yoon K Y, Woodams E E. and Hang Y D. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT- Food Sci Technol* 2005; 37: 73-75.
26. Buriti F C A, Inar A, Castro I A, Saad SMI. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Int J Food Microbiol* 2010;137(2-3):121-9.
27. Aghajani A R, Pourahmad R. & Mahdavi Adeli H R. Evaluation of Physicochemical Changes and Survival of Probiotic Bacteria in Synbiotic Yoghurt. *JFBT* 2012; 2: 13-22.
28. Paseephol T, Sherkat F. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *J Funct Foods* 2009; 311-318
29. Rodríguez-García J, Puig A, Salvador A, Hernando I. Optimization of a sponge cake formulation with inulin as fat replacer: structure, physicochemical and sensory properties. *J. Food Sci* 2012; 77:189-97.
30. Bayarri S, González-Tomás L, Hernando I, Lluch MA, Costell E. Texture perceived on inulin-enriched low-fat semisolid dairy desserts. Rheological and structural basis. *J Texture Stud* 2011;42(3):174-84.
31. Mohebbi Z, Homayouni A, Azizi MH, Jafarabadi MA, Hosseini SJ. Effect of Beta-Glucan and Resistant Starch on Prebiotic Dough and Bread Properties. *J Prob Health* 2017, 5: 160. doi: 10.4172/2329-8901.1000160
32. Capriles VD, Soares RAM, Areas JAG. Development and assessment of acceptability and nutritional properties of a light snack. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas* 2007; 27(3): 562-566.
33. Capriles, VD, Soares RAM, Silva MEMP, Areas JAG. Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *Int J Food Sci Tech* 2008; 44, 1895-1901.
34. Hempel S, Jacob A, Rohm H. Influence of inulin modification and flour type on the sensory quality of probiotic wafer crackers. *Eur Food Res Technol* 2007; 224(3):335-341.

## Optimization of the Formulation of Low-Fat Symbiotic Flavored Coating for Use in Functional Puffed Snack Technology

Milani E<sup>1\*</sup>, Hashemi N<sup>2</sup>, Golimovahhed Gh.A<sup>3</sup>, Hashemi M<sup>3</sup>

1- \*Corresponding author: Assistant professor. Food Science and technology research institutet, ACECR, Khorasan Razavi, Iran  
Email: e.milani@jdm.ac.ir

2- Young researchers and elite club, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

3- Food Processing Research Department, ACECR, Khorasan Razavi, Iran

Received 6 Jun, 2016

Accepted 25 Sept, 2016

**Background and Objectives:** Nowadays, extruded snacks are the most common form of meals; however, their high amount of salt and fat leads to increase disease risk. Their coating would be a proper carrier for probiotics and has an appropriate potential for enhancement of the nutritional properties of puffed snacks. In this research, production of symbiotic snack coating by probiotic bacteria, as well as incorporation of native inulin and resistant starch as prebiotics and fat replacer have been studied.

**Materials and Methods:** Based on mixture design, the effects of different concentrations of native inulin (0-20%), resistant starch (0-20%) and edible oil (80-100%) on the survivability of *L. acidophilus* LA5, and the pH, texture and sensory properties of extruded snacks were evaluated.

**Results:** The native inulin and resistant starch had positive effect on the survivability of probiotic bacteria. However, their presence in the coatings increased the hardness of the extruded snacks. Although by enhancement of native inulin and resistant starch, the scores for hardness and overall acceptability were decreased, but eventually, the optimized product was acceptable for consumers. Optimum formulation conditions were selected to be 20% resistant starch without inulin and 15.33 % inulin without starch.

**Conclusion:** Optimized low fat snack coating could enhance the quality of product along with reduction of fat in formulation up to 10% and improvement of lactobacillus survivability in higher levels as suggested by the World Health Organization ( $10^7$  CFU/ g).

**Keywords:** Snack coating, Symbiotic, Low fat, Native inulin, Resistant starch