Archive of SID

فصلنامه علمی پژوهشی میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی دوره ۲، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۵، صفحات ۵۲ تا ۶۰

اثر اینولین و لاکتولوز بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* و خواص فیزیکوشیمیایی ماست قالبی پروبیوتیک

رضوان پوراحمد[۱]*، میترا شقاقی[۲]

۱- گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران (نویسنده مسئول)*

۲- گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

چکیده

فرآورده‌های سین بیوتیک حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و ترکیبات پری‌بیوتیک هستند. این فرآورده‌ها فوائدمتعددی برای سلامت انسان دارند. هدف از این تحقیق بررسی اثر اینولین و لاکتولوز بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* و خواص فیزیکوشیمیایی ماست قالبی پروبیوتیک بود. ترکیبات پری‌بیوتیک (اینولین و لاکتولوز به‌صورت منفرد و مخلوط) و باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس*) به همراه استارتر ماست به شیر ٪۲/۵ چربی جهت تولید ماست پروبیوتیک اضافه شد. طی سه هفته نگه‌داری در سرما، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$) در حالی‌که مقادیر اسیدیته و ویسکوزیته نمونه‌های ماست افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) پیدا کرد. آب‌اندازی نمونه‌ها (به‌جز نمونه شاهد که فاقد ترکیبات پری بیوتیک بود) طی نگه‌داری به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. بیش‌ترین اسیدیته مربوط به نمونه حاوی اینولین و نمونه حاوی مخلوط اینولین و لاکتولوز بود. نمونه‌های حاوی اینولین و لاکتولوز (به‌صورت منفرد و مخلوط) کم‌ترین آب‌اندازی را داشتند. بیش‌ترین ویسکوزیته مربوط به نمونه حاوی مخلوط اینولین و لاکتولوز بود. بیش‌ترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه حاوی اینولین مشاهده شد. بنابراین افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک موجب بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ماست قالبی گردید به‌طوری‌که در نمونه‌های حاوی اینولین و لاکتولوز (به‌صورت منفرد و مخلوط) تعداد باکتری‌های پروبیوتیک بالاتر از $۱۰^{۶}$cfu/ml در انتهای دوره نگه‌داری بود.

واژه‌های کلیدی: اینولین، لاکتولوز، *لاکتوباسیلوس روتری*، *لاکتوباسیلوس رامنوزوس*، ماست قالبی پروبیوتیک.

* rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه با توجه به افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات سلامتی بخش فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک، تولید و مصرف این محصولات روند رو به رشدی داشته است. در این فرآورده‌ها از میکروارگانیسم‌های زنده به‌عنوان حامل انتقال باکتری‌های پروبیوتیک به دستگاه گوارش انسان استفاده می‌شود که با بازسازی تعادل میکروفلور روده اثرات سلامتی بخش بر بدن میزبان می‌گذارند (۴). افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به مواد غذایی فراتر از تأثیر آن‌ها بر سلامت مصرف کننده، به دلیل فواید حسی و گسترش تنوع محصولات نیز می‌باشد (۵).

محصولات لبنی پروبیوتیک علاوه بر این‌که حاوی تعداد نسبتاً بالایی از باکتری‌ها می‌باشند، مزایایی مانند تبدیل لاکتوز شیر به اسیدلاکتیک از طریق تخمیر را دارند، اسیدلاکتیک در ایجاد طعم ترش ملایم، تغییر خواص فیزیکی لخته کازئین به جهت سهولت هضم و افزایش دسترسی به کلسیم و مواد معدنی دیگر نقش دارد. بنابراین جذب کلسیم از طریق‌فرآورده‌های لبنی تخمیر شده بهتر از فرآورده های لبنی غیر تخمیری می‌باشد (۶). امروزه ماست مقبول‌ترین و معمول‌ترین فرآورده لبنی می‌باشد. ازنظر ویژگی بافتی دو نوع ماست قالبی و هم زده وجود دارد. در تولید ماست قالبی، مراحل تشکیل ژل و متعاقب آن سرد کردن در ظروف بسته بندی انجام می‌شود و بافت ماست، شکل ظرف را به خود می‌گیرد (۱). ماست پروبیوتیک، ماستی است که در تهیه آن علاوه بر باکتری‌های استارتر ماست ازگونه های باکتری‌های پروبیوتیک نیز استفاده شده باشد (۷).

باکتری‌های پروبیوتیک غالباً به جنس‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند. دو گونه *لاکتوباسیلوس روتری*[1] و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس*[2] به‌عنوان باکتری‌های پروبیوتیک با ویژگی‌های درمانی موردتوجه می‌باشند (۸). تولید باکتریوسین، تحریک سیستم ایمنی، چسبندگی به دیواره روده، کاهش اگزمای پوستی، اثر بازدارندگی در برابر *اشریشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *کلستریدیوم پرفرانژنس* کاهش عفونت مربوط به *آنتروباکتر* ازجمله مهم‌ترین ویژگی‌های *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* است (۹). از ویژگی‌های *لاکتوباسیلوس روتری* می‌توان به افزایش تکثیر و فعالیت سلول‌های ایمنی، کاهش اسهال، جلوگیری از آلودگی مثانه و بیماری‌های قلبی- عروقی اشاره کرد (۸). بررسی برخی از محققین نشان داده که مصرف فرآورده شیری تخمیری حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* موجب بهبود عملکرد مغز می‌شود (۱۰).

قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست، طی تخمیر و نگه‌داری یخچالی، دو جنبه مهم تولید ماست پروبیوتیک است. یکی از راه‌های افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در محصول، افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک است. پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غیرقابل‌هضم نظیر الیگوساکاریدها هستند که به‌وسیله تقویت رشد یا فعالیت تعداد محدودی از باکتری‌های موجود در روده بزرگ (عمدتاً لاکتوباسیل‌ها و بیفیدوباکتری‌ها) اثرات مفیدی برای میزبان داشته و در افزایش سلامتی فرد موثرند (۲). از میان ترکیبات پری‌بیوتیکی می‌توان به اینولین و لاکتولوز اشاره کرد. اینولین یکی از مهم‌ترین فروکتوالیگوساکاریدها است که در موادغذایی به‌ویژه محصولات تخمیری لبنی موردتوجه قرارگرفته است. برخی از کاربردهای اینولین در فرآورده‌های لبنی، به‌عنوان جایگزین چربی و شکر، بافت دهنده، بهبود احساس دهانی، پایداری کف، خاصیت سینرژیستی با سایر شیرین‌کننده‌ها، کاهش کالری، و فیبرغذایی در رژیم‌های غذایی می‌باشد (۱۱). لاکتولوز، دی‌ساکارید متشکل از گالاکتوز و فروکتوز بوده که طی فرآیند حرارتی شیر ازایزومریزاسیون قلیایی لاکتوز تولید می‌شود (۱۲). این ترکیب باعث تحریک رشد و فعالیت بیفیدوباکتریوم می‌گردد و لذا به‌عنوان عامل بیفیدوس

www.SID.ir

Archive of SID

شناخته شده است (۱۳). فرجی[۳] و همکاران (۲۰۱۴) اعلام نمودند که ترکیبات پری‌بیوتیک موجب بهبود زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و افزایش کیفیت ماست سین بیوتیک شده است (۱۴). همچنین ممتحنی[۴] و همکاران (۲۰۱۵) اظهار داشتند که افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک موجب بهبود ویژگی‌های حسی و فیزیکوشمیایی ماست کم چرب پروبیوتیک گردیده و درضمن باعث افزایش بقای *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در این محصول شده است (۱۵).

هدف از این تحقیق بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* و نیز خواص فیزیکوشیمیایی ماست قالبی پروبیوتیک حاوی اینولین و لاکتولوز بود.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی باکتری‌های پروبیوتیک

آمپول‌های لیوفیلیزه *لاکتوباسیلوس روتری* PTCC ۱۶۵۵ و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* PTCC ۱۶۳۷ از مرکز کلکسیون باکتری‌ها و قارچ‌های سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. آماده‌سازی این باکتری‌ها طبق دستورالعمل این مرکز کلکسیون انجام گردید. بعد از شکستن آمپول لیوفیلیزه، ۰/۳ ml تا ۰/۴ آب مقطر استریل به آن اضافه شد. سپس کل سوسپانسیون به محیط MRS broth اضافه گردید و گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ h صورت گرفت. در مرحله بعد جذب نوری سوسپانسیون میکروبی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل S-K۲۰Mettler-Toledo) در طول موج ۶۲۰nm تعیین شد که معادل 10^8 cfu/ml باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (۳).

تولید ماست قالبی پروبیوتیک

ابتدا شیر خشک بدون چربی به میزان ٪۱/۵ (وزنی/وزنی) به شیر ٪۲/۵ چربی اضافه شد، سپس شیر تحت عملیات حرارتی (۹۵°C به مدت ۱۵ min) قرار گرفت و بعد از رسیدن به دمای ۷۰°C به هموژنیزاتور منتقل شد و هموژنیزاسیون صورت گرفت (The Danish Homogenizer Model AVP). بعد از کاهش دمای شیر به ۴۰°C، مقدار ٪۱/۵ ترکیبات پری بیوتیک شامل اینولین (شرکت فلوکا، سوئیس) و لاکتولوز (شرکت بوفالو، آمریکا) به‌صورت منفرد و مخلوط دوتایی اضافه شد. استارتر ماست (مخلوط دو نوع استارتر با فرمول های تجاری DI-PROX TY ۹۴۷ و DI-ROX TY ۳۶۷) به میزان ٪۱ و *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس*، هرکدام به میزان ٪۲ (جمعا ٪۴ باکتری‌های پروبیوتیک) به‌طور همزمان تلقیح گردیدند. نمونه‌ها در ظروف ۱۰۰ گرمی پلاستیکی درب دار ریخته شده و در انکوباتور در دمای ۴۰°C تا رسیدن به pH = ۴/۷ نگه‌داری گردیدند. سپس نمونه‌ها در سردخانه ۴°C به مدت ۲۱ روز نگه‌داری شدند. نمونه‌های موردبررسی در این تحقیق در جدول (۱) مشخص شده است.

جدول (۱): تیمارهای تحقیق

تیمار	ترکیب
I	ماست پروبیوتیک حاوی ٪۱/۵ اینولین
L	ماست پروبیوتیک حاوی ٪۱/۵ لاکتولوز
IL	ماست پروبیوتیک حاوی٪۰/۷۵ اینولین و ٪۰/۷۵ لاکتولوز
C	ماست پروبیوتیک شاهد (فاقد ترکیبات پری بیوتیکی)

www.SID.ir

Archive of SID

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری اسیدیته

اسیدیته از طریق تیتراسیون با سود N/۹ بر اساس روش AOAC اندازه‌گیری شد (۱۶).

اندازه‌گیری سینرزیس (آب اندازی)

سینرسیس با استفاده از سانتریفوژ HerolabFR ۱۸۰۰۰ (آلمان ، وایسلاج) تعیین گردید. ابتدا gr ۲۵ از نمونه داخل لوله‌های سانتریفوژ توزین شده و در دمای $10^{\circ}C$ با دور G۳۵۰ به مدت min ۳۰ سانتریفوژ گردید. پس از آن وزن سرم آزاد شده در بخش بالای لوله سانتریفوژ اندازه‌گیری شد. از تقسیم میزان آب آزاد شده به وزن ماست اولیه ، میزان آب اندازی به‌صورت درصد مشخص گردید (۱۷).

اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته با ویسکومتر بروکفیلد DV-II+pro در دمای $4^{\circ}C$ اندازه‌گیری شد. آزمایش در ۵۰ =shear rate و ۴۲، ۴۱ ، ۴۰ = rpm با استفاده از اسپیندل ۴ اندازه‌گیری شد (۱۸).

آزمون میکروبی

جهت شمارش انتخابی *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* ، از محیط کشت MRS agar حاوی اسید فوسیدیک (به میزان ۱۵ µg/ml) وبرای شمارش *لاکتوباسیلوس روتری* از محیط کشت MRS agar حاوی تتراسایکلین (به میزان ۵۰ µg/ml) استفاده شد. کشت به روش پورپلیت و گرمخانه‌گذاری در $37^{\circ}C$ به مدت h ۷۲ در شرایط بی‌هوازی(گازپک بی‌هوازی A) صورت گرفت (۱۹).

آنالیز آماری

آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گردید. آنالیز واریانس و آزمون دانکن برای ارزیابی آماری داده‌ها استفاده شد. نرم‌افزار SPSS (version۱۸) مورداستفاده قرار گرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

مقادیر اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جدول (۲) مشخص گردیده است. بالاترین اسیدیته مربوط به نمونه حاوی اینولین و نمونه حاوی مخلوط اینولین و لاکتولوز بود . میزان اسیدیته در تمام نمونه‌ها طی نگه‌داری به‌طور معنی-داری ($p<۰/۰۵$) افزایش یافت. افزایش اسیدیته محصول طی نگه‌داری به علت تولید اسیدلاکتیک توسط باکتری‌ها به‌ویژه *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* است (۲۰). کاهش زمان تخمیر و افزایش اسیدسازی در ماست در حضور اینولین توسط برخی از محققین به اثبات رسیده است (۲۱). برخی از محققین گزارش نمودند لاکتولوز به‌صورت منفرد اثر مشخصی بر اسیدسازی ماست پروبیوتیک ندارد که نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های محققین مذکور مطابقت دارد. در یک بررسی مشابه افزایش معنی دار اسیدیته ماست پروبیوتیک حاوی اینولین طی نگه‌داری در سرما گزارش شد (۲۳,۲۲).

جدول (۲): مقادیر اسیدیته ($^{\circ}D$) نمونه‌های ماست قالبی پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگه‌داری در دمای $4^{\circ}C$ (میانگین± انحراف معیار).

	اسیدیته($^{\circ}D$)			
نمونه‌ها	روز ۱	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
I	۸۱/۶۷ ± ۰/۶۶$^{(a)}$	۸۵/۳۳ ± ۰/۸۸$^{(a)}$	۸۸/۰۰ ± ۱/۰۰$^{(bc)}$	۹۰/۶۷ ± ۰/۳۳$^{(ab)}$
L	۷۸/۶۷ ± ۰/۸۸$^{(b)}$	۸۱/۶۷ ± ۱/۲۰$^{(ab)}$	۸۲/۶۷ ± ۳/۳۸$^{(bc)}$	۸۸/۰۰ ± ۱/۱۵$^{(b)}$
IL	۸۱/۶۷ ± ۰/۶۶$^{(a)}$	۸۳/۳۳ ± ۲/۶۰$^{(ab)}$	۸۹/۰۰ ± ۰/۵۷$^{(a)}$	۹۱/۳۳ ± ۰/۶۶$^{(a)}$
C	۷۸/۳۳ ±۰/۸۸$^{(b)}$	۸۱/۳۳ ±۰/۵۷$^{(b)}$	۸۳/۶۷ ±۰/۸۸$^{(bc)}$	۸۷/۳۳ ±۰/۵۷$^{(b)}$

حروف مشابه در ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است($p>۰/۰۵$)

www.SID.ir

Archive of SID

مقادیر سینرسیس (آب اندازی) نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جدول (۳) مشخص گردیده است. نمونه‌های حاوی اینولین و لاکتولوز (به‌صورت منفرد و مخلوط) کم‌ترین آب اندازی را در روز بیست و یکم نگه‌داری داشتند. مقدار سینرسیس نمونه‌ها (بجز نمونه شاهد) طی نگه‌داری به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) کاهش یافت. در یک بررسی کاهش میزان آب اندازی ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازیی* در حضور مخلوط لاکتولوز و اینولین گزارش شده است (۲۴) که در راستای نتایج تحقیق حاضر است. در بررسی مشابه دیگری اعلام شد که روند افزایشی بسیار کندی در میزان سینرسیس ماست پروبیوتیک حاوی ترکیبات پری‌بیوتیک مشاهده می‌گردد (۲۵).

جدول (۳): میزان آب‌اندازی (٪) نمونه‌های ماست قالبی پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگه‌داری در دمای ۴°C (انحراف معیار ± میانگین).

	آب اندازی(٪)			
نمونه‌ها	روز ۱	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
I	(a)۱/۸۸ ±۲۹/۶۴	(a)۰/۸۴ ±۲۸/۷۱	(a)۰/۴۰ ±۲۶/۹۱	(b)۰/۵۰±۲۴/۷۶
L	۲۹/۸۱ ± ۰/۹۳(a)	۲۷/۷۶ ± ۰/۶۷(a)	۲۸/۰۱ ± ۱/۱۷(a)	۲۴/۷۴ ± ۰/۲۱(b)
IL	۲۸/۲۲ ± ۰/۴۸(a)	۲۷/۸۲ ± ۰/۶۹(a)	۲۶/۸۱ ± ۰/۳۷(a)	۲۵/۲۱ ± ۰/۷۵(b)
C	۲۷/۲۲ ± ۱/۳۸(a)	۲۷/۸۶ ± ۰/۷۷(a)	۲۷/۹۹ ± ۰/۶۲(a)	۲۸/۱۹ ± ۰/۷۸(a)

حروف مشابه در ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است($p>۰/۰۵$)

مقادیر ویسکوزیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جدول (۴) مشخص گردیده است. نمونه حاوی اینولین و نمونه حاوی مخلوط اینولین و لاکتولوز بالاترین ویسکوزیته را داشتند. کم‌ترین ویسکوزیته مربوط به نمونه شاهد بود. افزایش ویسکوزیته درنتیجه کاهش pH و افزایش اسیدیته، توجیه پذیر است. در یک بررسی مشابه گزارش شد که ویسکوزیته ماست قالبی با کاهش pH افزایش می‌یابد (۲۶) که نتایج تحقیق حاضر با یافته های محققین فوق مطابقت دارد. همچنین افزایش میزان ویسکوزیته ظاهری در ماست کم چرب پروبیوتیک حاوی اینولین گزارش شده است (۲۷).

جدول (٤): مقادیر ویسکوزیته (cp) نمونه‌های ماست قالبی پروبیوتیک طی۲۱ روز نگه‌داری در دمای ۴°C (انحراف معیار ± میانگین) .

	ویسکوزیته (cp)			
نمونه‌ها	روز ۱	روز ۷	روز ۱۴	روز ۲۱
I	۲۱/۹۵±۰/۱۰ (a)	۲۳/۱۱±۰/۲۵ (a)	۲۳/۵۵±۰/۸۵ (ab)	۲۴/۷۷±۰/۰۸ (ab)
L	۲۱/۶۲ ± ۰/۰۹(b)	۲۲/۴۵ ± ۰/۱۲(ab)	۲۲/۸۶ ± ۰/۴۲(b)	۲۳/۸۵ ± ۰/۱۸(b)
IL	۲۲/۰۸ ± ۰/۰۸(a)	۲۳/۱۰ ± ۰/۵۶(a)	۲۴/۴۳ ± ۰/۲۲(a)	۲۵/۱۴ ± ۰/۱۱(a)
C	۲۱/۲۳ ± ۰/۰۶(c)	۲۱/۷۶ ± ۰/۰۶(b)	۲۲/۴۴ ± ۰/۲۳(b)	۲۳/۰۷ ± ۰/۰۹(c)

حروف مشابه در ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است($p>۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک

نتایج بدست آمده از شمارش *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* و *لاکتوباسیلوس روتری* در نمونه‌های ماست پروبیوتیک طی دوره نگـه‌داری در سـرما در جـداول (۵) و (۶) مشـخص گردیده است. بر اساس داده‌های جدول (۵)، نمونـه حـاوی اینولین دارای بالاترین تعداد *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* بـود و اخـتلاف قابـل تـوجهی بـا نمونـه شـاهد داشـت. در واقـع می‌توان گفت استفاده از مـواد پـری‌بیوتیـک ماننـد اینـولین به‌عنوان منبع کربن که تحریک کننده رشد پروبیوتیـک‌هـا می‌باشد، بـه رشـد و مانـدگاری بهتـر آن‌هـا طـی نگـه‌داری محصـول کمـک مـی‌کنـد (۲۸). جمعیـت *لاکتوباسـیلوس رامنـوزوس* در نمونـه‌های ماسـت طـی نگـه‌داری کـاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) پیدا کرد. بر اسـاس داده‌هـای جـدول (۶)، تفاوت معنی‌داری بین نمونـه‌هـای ماسـت ازنظـر تعـداد *لاکتوباسیلوس روتری* مشاهده نشد. جمعیت *لاکتوباسیلوس روتری* در نمونه‌های ماست طی نگه‌داری به‌طور معنـی‌داری ($p<۰/۰۵$)کـاهش یافـت. بقـاء باکتری‌هـای پروبیوتیـک در ماسـت پروبیوتیـک وابسـته بـه فاکتورهـایی نظیرگونـه مورداسـتفاده، واکـنش بـین گونـه‌هـای موجـود در محـیط کشت، ترکیب شـیمیایی محـیط کشـت تخمیـری، اسـیدیته نهـایی، مـواد جامـد شـیر، درجـه حـرارت و سـطوح تلقـیح می‌باشد (۲۹). گزارشات متعدد نشان می‌دهـد کـه حـداقل جمعیـت باکتری‌هـای پروبیوتیـک زنـده در زمـان مصـرف فرآورده پروبیوتیکی باید $۱۰^۶$ واحد تشکیل دهنده کلنی در هر میلی لیتر یا گرم باشد (۳۰). باید متذکر شد کـه جمعیـت باکتری‌هـای پروبیوتیـک در ایـن تحقیـق بیشـتر از حـداقل توصیه شده توسط IDF یعنی $۱۰^۶$ بود.

جدول (۵): جمعیت *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* در نمونه‌های ماست قالبی پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگه‌داری در دمای ۴°C (انحراف معیار ± میانگین).

نمونه‌ها	جمعیت *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* (log cfu/ml)			
	روز۱	روز۷	روز۱۴	روز ۲۱
I	۸/۹۱±۰/۰۳$^{(a)}$	۸/۷۰±۰/۱۵$^{(a)}$	۷/۷۱±۰/۴۷$^{(a)}$	۷/۱۶±۰/۱۴$^{(a)}$
L	۸/۴۸±۰/۳۰$^{(b)}$	۸/۲۶ ±۰/۱۶$^{(c)}$	۷/۴۸±۰/۱۴$^{(ab)}$	۶/۷۷±۰/۳۲$^{(b)}$
IL	۸/۸۴±۰/۱۱$^{(a)}$	۸/۲۸±۰/۲۲$^{(b)}$	۷/۵۹±۰/۳۹$^{(ab)}$	۶/۹۲±۰/۶۶$^{(ab)}$
C	۸/۵۱±۰/۱۶$^{(b)}$	۸/۰۵ ±۰/۰۷$^{(d)}$	۷/۴۲ ±۰/۱۸$^{(b)}$	۶/۳۹±۰/۳۵$^{(c)}$

حروف مشابه در ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است($p>۰/۰۵$).

جدول (٦): جمعیت *لاکتوباسیلوس روتری* در نمونه‌های ماست قالبی پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگه‌داری در دمای ۴°C (انحراف معیار ± میانگین).

نمونه‌ها	جمعیت *لاکتوباسیلوس روتری* (log cfu/ml)			
	روز۱	روز۷	روز۱۴	روز ۲۱
I	۸/۲۲±۰/۵۴$^{(a)}$	۷/۸۶±۰/۱۹$^{(a)}$	۷/۲۸±۰/۳۸$^{(a)}$	۶/۳۹±۰/۳۵$^{(a)}$
L	۸/۲۵±۰/۲۴$^{(a)}$	۷/۷۰ ±۰/۲۹$^{(a)}$	۶/۸۱±۰/۲۱$^{(a)}$	۶/۱۵±۰/۴۶$^{(a)}$
IL	۸/۳۸±۰/۱۱$^{(a)}$	۷/۸۸±۰/۴۶$^{(a)}$	۷/۰۹±۰/۲۷$^{(a)}$	۶/۳۰±۰/۰۰$^{(a)}$
C	۸/۱۳±۰/۱۳$^{(a)}$	۷/۸۶ ±۰/۱۱$^{(a)}$	۷/۰۸ ±۰/۲۲$^{(a)}$	۶/۰۹±۰/۳۵$^{(a)}$

حروف مشابه در ستون نشانگر عدم وجود اختلاف معنی دار است($p>۰/۰۵$).

www.SID.ir

Archive of SID

برخی محققین اعلام کردند ترکیب اینولین و لاکتولوز موجب تحریک رشد و بقای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازیی* در ماست می‌گردد که نتایج تحقیق حاضر در راستای یافته های محققین مذکور است. همچنین در یک بررسی مشابه اعلام شد در ماست حاوی لاکتولوز طی ۵ هفته نگه‌داری یخچالی، قابلیت زیستی *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* به آرامی و *بیفیدوباکتریوم* به‌طور چشمگیری زیاد می‌شود (۲۰،۳۱).

نتیجه‌گیری

افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک موجب بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ماست قالبی گردید به‌طوریکه در نمونه‌های حاوی اینولین، لاکتولوز، و مخلوط اینولین و لاکتولوز تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در هر میلی لیتر از نمونه بالاتر از 10^6 در انتهای دوره نگه‌داری بود. پیشنهاد می‌شود از سایر ترکیبات پری‌بیوتیک در تولید ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس روتری* و *لاکتوباسیلوس رامنوزوس* استفاده گردد و همچنین ریزپوشانی این باکتری‌ها جهت افزایش بقای آن‌ها در محصول موردبررسی قرار گیرد.

منابع

۱. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ، ۱۳۸۷. ماست، ویژگی‌ها و روش آزمون ، استاندارد ملی ایران شماره ۶۹۵

۲. مرتضویان ا، سهراب وندی س. ۱۳۸۵. مروری بر پروبیوتیک‌ها و فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک ، انتشارات آتا .

۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ، ۱۳۸۲. تعیین حداقل غلظت بازدارنده مواد نگهدارنده . روش آزمون دبیر ، استاندارد ملی ایران شماره ۵۸۷۵.

4.Martin-Diana A, Janer C, Pelaez C, Requena T. Development of a fermented goat's milk contaning probiotic bacteria. Journal of dairy.2003; 13(9), 827-833.

5.Nichols A. Probiotics and athletic performance: a systematic review. Current Sports Medicine Reports 2007; 6(4), 269-273.

6.Klaenhammer T, Kullen M. Selection and design of probiotics. International Journal of Food Microbiology 1999; 50(26), 45-57.

7.Hekmat S, Soltani H, Reid G. Growth and Survival of Lactobacillus reuteri RC-14 and Lactobacillus rhamnosus GR-1 in yogurt for use as a functional food. Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies 2009; 10(8), 293- 296.

8.Guarner F, Khan A, Carisch J, Eliakim R, Gangl A, Thomson A, Krabshuis J, Mair TL. Probiotic and prebiotic. Journal of World Gastroenterology Organisation Practice Guideline 2008; 1- 22.

9.Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Sandholm TM. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology 2006; 84, 197-215.

10 Gonzalez-Martinez C, Becerra M, Chafer M, Albors A, Carot JM, Chiralt A. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. Journal of Trends in Food Scince and Technology 2002; 13, 334-340.

11.Frank A. Technological functionality of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition 2002; 87 (2), 287-291.

12.Thammarutwasik P, Hongpattarakera T,Chantachum S, Kijroongrojana K, Itharat A, Reanmongkol W, Tewtrakul S, Buncha O. Prebiotic – A review. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2009; 31(4), 1-8.

13.Matijevic B, Bozanic R, Tratnik L. The influence of lactulose on growth and survival of probiotic bacteria Lactobacillus acidophilus La-5 and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 in reconstituted sweet whey. Journal of Mljekarstvo 2009; 59,(1), 20-27.

14.Faraji F, Pourahmad R, Hashemiravan M. Production of Synbiotic Reconstituted Yogurt. International Journal of Biology and Biotechnology 2014; 11 (2), 229-236.

15.Momtaheni S, Pourahmad R, Akbarian Mooghari A. Physicochemical, microbial and sensory characteristics of low-fat stirred yogurt

www.SID.ir

Archive of SID

containing Bifidobacterium lactis and prebiotic compounds. International Journal of Biology and Biotechnology 2015; 12(3), 361-367.

16.AOAC, 2002. Official methods of analysis (17th ed.) Gaithersburg, MD: Association of Official Analytical Chemists International.

17.Kingsley A, Emanual O, Humphrey O, Gregor R. Yogurt containing probiotic Lactobacillus rhamnosus GR- 1 and Lactobacillus reuteri RC- 14 helps resolve moderate diarrhea and increase CI count in HIV/ AIDS patients. Journal of Clinical Gastroenterology 2008; 42(12), 239- 243.

18.Boeini S, Pourahmad R, Mahdavi Adeli HR. Investigation of viability of probiotic bacteria and physicochemical characteristics of synbiotic yogurt during cold storage. International Journal of Biology and Biotechnology 2012; 9(3), 359-365.

19.Lourens-Hattingh A, Viljoen BC. Yoghurt as probiotic carrier food: Review article. International Journal of dairy. 2001; 1(2), 1-17.

20.Antunes EC, Cazetto TF, Bolini HMA. Viability of probiotic microorganisms during storage, post acidification and sensory analysis of fat-free yogurt with added whey protein concentrate. International Journal of Dairy Technology 2005; 58(34), 169-173.

21.Oliveira RPS, Perego P, Converti A, Oliveira MN. Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with Streptococcus thermophilus. Journal of Food Engineering 2009; 91(18), 133-139.

22.Mohebbi M, Ghoddusi HB. Rheological and sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures. Journal of Agriculture Science Technology 2008; 10(4), 147-155.

23.different techniques. Journal of Dairy. 1998; 8(4),793-799.

24.Paseephol T. Characterisation of prebiotic compounds from plant sources and food industry wastes. Inulin from Jerusalem artichoke and Lactulose from milk concentration permeate,200;12(8),1-21.

25.Aryana KJ, McGrew P. Quality attributes of yoghurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. Journal of Food Science and Technology. 2007; 40(12), 1808–1814.

26.Walstra P, Wouters JTM, Geurts TJ. Dairy science and Technology, 2nd edn.2006, Boca Raton, FL, USA: CRC Taylor & Francis.

27.Kip P, Meyer D, Jellema RH. Inulins improve sensory and textural properties of low-fat yogurts. Journal of Daiy,2006; 16(5), 1098-1103.

28.Gibson GR, Roberforid MB. Handbook of Prebiotics. CRC Press,2008, Boca Raton.

29.Hekmat S, Reid G. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutrition Research 2006; 26(7),163-166.

30.Sharp MD, McMahon DJ, Broadbent JR. Comparative Evaluation of yogurt and low-fat Cheddar cheese as delivery media For probiotic Lactobacillus casei. Journal of Food Science 2008; 73(7), 375-377.

31.Tabatabaie F, Mortazavi A. Influence of Lactulose on the survival of probiotic strains in yoghurt. World Applied Sciences Journal 2008; 3 (1), 88-90.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of inulin and lactulose on viability of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus reuteri* and physicochemical characteristics of probiotic set yogurt

Rezvan Pourahmad[1], Mitra Shaghaghi[2]

1-Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin- Pishva Branch,Islamic Azad University, Varamin, Iran(Correspond author)*
2-Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin- Pishva Branch,Islamic Azad University, Varamin, Iran

Abstract
Synbiotic products contain both probiotic bacteria and prebiotic compounds. These products have several benefits for human health. The aim of this study was to investigate the effect of inulin and lactulose on viability of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus reuteri* and physicochemical characteristics of probiotic set yogurt. Prebiotic compounds including inulin and lactulose (solely or in combination together) and probiotic bacteria (*L. rhamnosus* and *L. reuteri*) along with yogurt starter were added to milk 2.5% fat in order to make probiotic yogurt. The viability of probiotic bacteria in yogurt samples decreased significantly ($p<0.05$) while the amounts of acidity and viscosity of yogurt samples increased significantly ($p<0.05$) during three weeks of cold storage. The amount of syneresis decreased significantly ($p<0.05$) during storage in all the samples except control sample (without prebiotic compounds). The highest acidity was related to sample containing inulin and sample containing inulin and lactulose in combination together. The samples containing inulin and lactulose (solely or in combination together) had the lowest syneresis. The highest viscosity was related to sample containing inulin and lactulose in combination together. The sample containing inulin had the highest number of *L. rhamnosus* and *L. reuteri*. Therefore, adding prebiotic compounds could improve physicochemical properties and viability of probiotic bacteria in set yogurt. The number of probiotic bacteria in the samples containing inulin and lactulose (solely or in combination together) was higher than 10^6 CFU/mL at the end of storage period.

Key words: Inulin; lactulose; *Lactobacillus rhamnosus*; *Lactobacillus reuteri*; probiotic set yogurt.

* rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir

www.SID.ir