



عنوان طرح:

فرمولاسیون پوشش طعم دهنده کم چرب سین بیوتیک با هدف تولید
میان وعده غذایی حجیم فراسودمند

کد طرح: ۲۳۵۳

واحد سازمانی مجری: سازمان جهاد دانشگاهی خراسان رضوی
گروه پژوهشی: فرآوری مواد غذایی

مسئول اجرای طرح: الناز میلانی

گزارش نهایی: مهر ۱۳۹۶

Archive of SID

مشخصات مسئول و همکاران طرح مطابق پرسشنامه مصوب:

ردیف	نام و نام خانوادگی	مسئولیت در طرح	تخصص	رتبه	جمع کل نفر ساعت همکاری در طرح
	الناز میلانی	مجری	میکروبیولوژی مواد غذایی	استادیار	۲۰۰
	غلامعلی گلی موحد	همکار	شیمی مواد غذایی	مریی	۱۰۰
	مجید هاشمی فوژدی	همکار	تکنولوژی مواد غذایی	مریی	۱۰۰
	لیلا بابا شکوری	همکار	صنایع تبدیلی	کارشناس	۱۰۰

Archive of SID

چکیده:

هدف: امروزه با توجه به نیاز انسان به غذای فراسودمند حاوی باکتری های پروبیوتیک، توجه خاصی به سمت توسعه این قبیل فراورده ها معطوف گردیده که می تواند نقش مهمی در ارتقای سلامت جامعه ایفا نماید. اینولین به علت دارا بودن ویژگی های مفید تغذیه ای، تکنولوژیکی و اثرات پری بیوتیک به طور گسترده ای در جهان مورد استفاده می باشد. بهترین راهکار در توسعه فراورده های غذایی عملگر، ادغام ترکیبات زیست فعال نظیر انواع پروبیوتیک و پری بیوتیک بویژه در فرآورده هایی است که به طور روزمره توسط اغلب مردم مورد مصرف قرار می گیرند. از آنجا که انواع فراورده های پخت بویژه اسنک در اقصی نقاط دنیا مصرف کنندگان بسیاری دارد؛ تولید فراورده هایی با ویژگی تغذیه ای مطلوب از نیازمندی های جامعه بود و پژوهش در این زمینه رو به افزایش است. با غنی سازی اسنک ها می توان به تولید محصولی فراسودمند با کالری و کلسترول کمتر دست یافت. پوشش طعم دهنده (دراژه) انواع اسنک، دارای پتانسیل مناسب برای بهبود ویژگی های تغذیه ای، حمل باکتری های پروبیوتیک می باشند.

روش: از این رو، در فاز نخست پژوهش، ویژگی پری بیوتیک اینولین استحصالی از منبع بومی سیب زمینی ترشی بر جمعیت *E. Coli*, *B. bifidum*, *L. acidophilus* در مقایسه با نمونه تجاری تحت شرایط *in vitro* بررسی و مورد مقایسه قرار گرفت. در فاز دوم اجرا، در قالب طرح مخلوط، تاثیر غلظت های مختلف پوشش طعم دهنده شامل اینولین (۱۰-۰ درصد)، نشاسته اصلاح شده (۱۰-۰ درصد) به عنوان پری بیوتیک و جایگزین چربی و روغن (۸۰-۲۰ درصد) بر زنده مانی باکتری منتخب *L. acidophilus*، ویژگی های فیزیوشیمیایی، رئولوژی، عملکردی، سنجش بافت، رنگ و حسی در طول دوره نگهداری بررسی گردید. به منظور افزایش زنده مانی باکتری از تکنیک ریزپوشانی بر پایه آلژینات- اینولین بومی استفاده شد.

نتایج: رشد بیفدو باکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حضور اینولین بومی بیشتر از شاهد بود. pH هر دو محیط پس از ۴۸ ساعت کاهش معنی داری یافت. نمودار رشد ویژه ارگانسیم ها مورد بررسی نشان داد، میزان رشد به شدت به غلظت و طول زنجیره پلیمریزاسیون اینولین وابستگی دارد. در این پژوهش میزان چربی دراژه از ۵۰ به ۴۰ درصد کاهش یافت. حضور جایگزین های چربی در فرمولاسیون دراژه تاثیرات متفاوتی به همراه داشت. بطوریکه افزودن اینولین سبب کاهش ثبات امولسیون دراژه و افزایش سفتی بافت اسنک گردید؛ در حالیکه نتایج عکسی در حضور نشاسته اصلاح شده ثبت گردید. مطابق نتایج بهینه سازی شامل منظور کردن بیشینه میزان زنده مانی ارگانسیم پروبیوتیک در طول دوره نگهداری؛ کمینه میزان چربی در فرمول، کمینه میزان سفتی بافت، بیشینه قوام، بیشینه ثبات امولسیون و بیشینه پذیرش کلی تیمارهای بهینه حاوی ۲۰ درصد نشاسته اصلاح شده - فاقد اینولین و ۱۵/۳۳ درصد اینولین فاقد نشاسته اصلاح شده گزینش گردید. ارزیابی زنده مانی باکتری پروبیوتیک در فرم آزاد، دانک تازه و خشک ریزپوشانی شده در فرمولاسیون تیمار بهینه پیگیری گردید؛ مطابق نتایج کمترین میزان کاهش لگاریتمی در طول دوره نگهداری ۲۱ روزه اسنک متعلق به تیمار حاوی باکتری ریزپوشانی شده خشک به روش لیوفیلیزه بود. نتایجی که از این تحقیق به دست آمد، نشان داد؛ افزودن ترکیب پری بیوتیکی نشاسته اصلاح شده به فرمولاسیون دراژه و اینولین به فرمولاسیون دانک آلژینات و لیوفیلیزه نمودن باکتری های ریزپوشانی شده توانست به طور چشمگیری، قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس ها را در اسنک حجیم سین بیوتیک کم چرب بهبود بخشد. بطوریکه شمار زیست پذیر این باکتری ها، در محدوده توصیه شده توسط سازمان جهانی غذا و دارو بود.

کلید واژگان: سین بیوتیک، ریزپوشانی، اسنک، جایگزین چربی، دراژه

Archive of SID

۱-۱- پروبیوتیک ها (تعریف ، مفهوم ،اهمیت و تاریخچه)	۱
۱-۱-۱- مهمترین جنس ها و گونه های پروبیوتیک	۱
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۲-۱-۱- خواص سلامت بخش پروبیوتیک ها	۲
۳-۱-۱- ویژگی های فرآورده های پروبیوتیک	۵
۲-۲- پری بیوتیک ها	۶
۲-۲-۱- برخی مزایای سلامت بخش پری بیوتیک ها	۷
۲-۲-۱- تقسیم بندی پری بیوتیک ها	۷
۳-۲-۱- ارزش تغذیه ای و اثرات سلامتی بخش اینولین	۹
۴-۲-۱- تاثیر تکنولوژیکی اینولین در صنایع غذایی	۱۰
۳-۱- افزایش زنده مانی پروبیوتیک ها	۱۰
۴-۱- تکنولوژی ریزپوشانی	۱۱
۴-۱-۱- ترکیبات مورد استفاده در ریزپوشانی	۱۱
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۲-۴-۱- ریزپوشانی به روش امولسیون سازی	۱۱
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۳-۴-۱- عوامل موثر بر کارایی ریزپوشانی پروبیوتیک ها	۱۱
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۵-۱- سین بیوتیک	۱۱
۶-۱- میان وعده های (اسنک) غذایی	۱۱
۷-۱- تکنولوژی پخت با اکستروژن	۱۱
۸-۱- تنوع و بازار فرآورده های میان وعده و اکستروژن شده	۱۱
۸-۱-۱- جاذبه های مصرف و استقبال نسل جدید از فرآورده های میان وعده اکستروژن شده	۱۶
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۲-۸-۱- نگرش منفی نسبت به مصرف برخی از فرآورده های میان وعده موجود در بازار داخلی	۱۶
DEFINED.	
۳-۸-۱- ضرورت تولید فراورده های غذایی فراسودمند	۱۸
۴-۸-۱- چالش های پیش رو در تولید فراورده های غذایی فراسودمند (عملگر)	۹
۹-۱- جایگزین های چربی	۱۰
۱۰-۱- ترکیبات مورد استفاده به عنوان جایگزین چربی	۱۰
۱۱-۱- ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون درآژه	۱۱
۱۲-۱- فاکتورهای کلیدی در طول عملیات درآژه رنی	۱۲
ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.	
۱۳-۱- تاکید جهانی بر افزایش سلامتی زایی انواع اسنک	۱۲
ERROR!	
۱-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه تأثیر پری بیوتیک ها بر رشد و تولید متابولیت باکتری های پروبیوتیک و پاتوژن روده ای	۲۶
BOOKMARK NOT DEFINED.	
۲-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه مقایسه اندیس پری بیوتیکی ترکیبات مختلف	۲۶
۳-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه کاربرد اینولین و نشاسته اصلاح شده به عنوان ترکیب پری بیوتیک در صنایع غذایی	۲۷
۴-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه تأثیر پری بیوتیک ها، فرایند ریزپوشانی باکتری های پروبیوتیک در فرآورده های غذایی سین بیوتیک	۲۸
۵-۲- پژوهش انجام شده در زمینه کاربرد جایگزین های چربی در فرمولاسیون های غذایی	۲۳

۳۸	۱-۳- مواد	۳۸
۳۸	۲-۳- روش ها	۳۸
۳۹	۲-۱-۲- تصفیه و تخلیص عصاره سیب زمینی ترشی	۳۹
۴۰	۲-۲-۳- ارزیابی ویژگی های پری بایوتیکی اینولین استخراج شده از گیاه سیب زمینی ترشی و اینولین تجاری	۴۰
۴۱	۳-۲-۳- ریز پوشانی باکتری های پروبیوتیک	۴۱
۴۳	۴-۲-۳- شرایط فرایند اکستروژن به منظور تولید اسنک حجیم	۴۳
	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED. ۵-۲-۳- فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (دراژه)	
	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED. ۶-۲-۳- ارزیابی ویژگی های پوشش عملگر	
۴۶	۷-۲-۳- ارزیابی ویژگی های اسنک حجیم حاوی پوشش عملگر	۴۶
۴۸	۸-۲-۳- طرح آماری در فاز نخست پژوهش	۴۸
۴۸	۹-۲-۳- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری در فاز دوم پژوهش	۴۸
	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED. ۱-۴- ارزیابی کیفی اینولین استحصالی	
۵۱	۲-۴- ارزیابی ویژگی های پری بایوتیکی اینولین استخراج شده از سیب زمینی ترشی در مقایسه با اینولین تجاری در	۵۱
۵۷	۳-۴- بررسی تغییرات رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط حاوی غلظت های مختلف از اینولین	۵۷
۲۲	۴-۴- بررسی رشد اشیریشیا کلی در محیط حاوی غلظت های مختلف اینولین	۲۲
۷۲	۵-۴- نتیجه گیری فاز اول پژوهش	۷۲
۷۳	۶-۴- ریخت شناسی دانک های ریزپوشینه	۷۳
۷۴	۷-۴- شمارش تعداد باکتری های به دام افتاده در دانک های تازه و خشک شده به روش انجمادی	۷۴
۷۴	۸-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه فراسومند بر ویژگی های اسنک حجیم	۷۴
۷۵	۹-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه فراسومند بر میزان زنده مانده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در فرم آزاد حین مدت زمان نگهداری اسنک	۷۵
۷۹	۱۰-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون بر ظرفیت تشکیل و ثبات امولسیون دراژه فراسومند	۷۹
۸۱	۱۱-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون بر رفتار جریان دراژه فراسومند	۸۱
۸۵	۱۲-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه فراسومند بر مولفه های سنجش رنگ اسنک حجیم	۸۵
۸۸	۱۳-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه فراسومند بر سفتی بافت نمونه های اسنک حجیم	۸۸
۹۰	۱۴-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه فراسومند بر پارامترهای حسی انواع اسنک حجیم	۹۰
۹۲	۱۵-۴- بهینه سازی فرمولاسیون دراژه سین بایوتیک کم چرب	۹۲
۹۳	۱۶-۴- ارزیابی و مقایسه زنده مانده باکتری های پروبیوتیک (آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک) در فرمولاسیون های منتخب	۹۳
۹۹	۱-۵- نتیجه گیری کلی	۹۹
۱۰۰	۲-۵- پیشنهاد برای تحقیقات آتی	۱۰۰
۱۰۱	۳-۵- توجیه فنی و اقتصادی برای توسعه پژوهش	۱۰۱
۱۰۳	منابع	۱۰۳

جدول ۱- مهمترین ریززنده های پروبیوتیک مربوط به انسان و حیوانات-----	۲
جدول ۱-۲- مثال هایی از فرمولاسیون های بعضی میان وعده های تولیدی با استفاده از اکستروژن-----	۱۵
جدول ۱- تیمار های فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (دراژه)-----	۷۳
جدول ۱-۴- مقایسه نرخ رشد ویژه و زمان دوبرابر شدن سلولی باکتری ها ی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حضور فروکتان های مختلف-----	۵۳
جدول ۲-۴- مقایسه نرخ رشد ویژه باکتری ها ی بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در حضور فروکتان های مختلف و زمان دوبرابر شدن سلولی-----	۵۸
جدول ۳-۴- مقایسه نرخ رشد ویژه باکتری ها ی اشريشيا کلى در حضور فروکتان های مختلف-----	۶۵
جدول ۴-۴- تیمار فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (دراژه) و و پاسخ های مورد آنالیز-----	۷۴
جدول ۴-۵- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-----	۷۵
جدول ۴-۶- تأثیر متغیرهای فرمولاسیون دراژه بر میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس-----	۷۸
جدول ۴-۷- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر ظرفیت امولسیون کنندگی-----	۷۹
جدول ۴-۸- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر ثبات امولسیون-----	۸۰
جدول ۴-۹- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر شاخص کا-----	۸۱
جدول ۴-۱۰- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر شاخص رفتار جریان-----	۸۵
جدول ۴-۱۱- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر میزان روشنی رنگ-----	۸۶
جدول ۴-۱۲- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر میزان روش شاخص قرمزی-----	۸۵
جدول ۴-۱۳- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر میزان روش شاخص زردی-----	۸۶
جدول ۴-۱۴- نتایج آنالیزواریانس اثر فرمولاسیون بر میزان سفتی-----	۸۸
جدول ۴-۱۵- نتایج آنالیزواریانس اثر متغیرهای فرمولاسیون دراژه بر پارامترهای حسی انواع اسنک حجیم-----	۹۶
جدول ۴-۱۶- فاکتورهای مورد ارزیابی برای انتخاب نمونه بهینه-----	۹۳
جدول ۴-۱۷- مقایسه میزان زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در سه نمودار آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک.....	۹۷
جدول ۴-۱۸- مقایسه میزان کاهش لگاریتمی جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در سه نمودار آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک.....	۹۷

Archive of SID

- شکل ۱-۱- ساختمان پایه مولکول اینولین----- ۹
- شکل ۱-۲- حجم فروش میان وعده‌ها در سطح خرده فروشی در استرالیا (هزار تن) ----- ۱۶
- شکل ۲-۲- دیاگرام جریان فرآیند تولید اسنک حجیم ذرت ----- ۱۶
- شکل ۱-۳- کپسولاسیون باکتری در آلزینات سدیم----- ۴۲
- نمودار ۱-۴: کروماتوگرام اینولین حاصل از سیب زمینی ترشی ----- ۵۱
- نمودار ۲-۴- رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف فروکتوالیگوساکارید سیب زمینی ترشی----- ۵۲
- نمودار ۳-۴- رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف اینولین تجاری----- ۵۲
- نمودار ۴-۴- منحنی رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط های حاوی غلظت های ----- ۵۴
- نمودار ۵-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف از فروکتان های سیب زمینی ترشی. ----- ۵۴
- نمودار ۶-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد ----- ۵۵
- نمودار ۷-۴- منحنی تغییرات پی اچ محیط کشت ناشی از رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ----- ۵۶
- نمودار ۸-۴- رشد باکتری بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی ----- ۵۸
- نمودار ۹-۴- رشد باکتری بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین تجاری ----- ۵۹
- نمودار ۱۰-۴- منحنی رشد باکتری بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در محیط های حاوی غلظت های فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد ----- ۵۹
- نمودار ۱۱-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی باکتری بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین سیب زمینی ترشی ----- ۶۲
- نمودار ۱۲-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد ----- ۶۳
- نمودار ۱۳-۴- منحنی تغییرات پی اچ محیط کشت ناشی از رشد باکتری بیفیدوباکتريوم بیفیدوم در محیط های حاوی غلظت های فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد ----- ۶۳
- نمودار ۱۴-۴- رشد باکتری اشیریشیاکلی در غلظت مختلف از فروکتوالیگوساکارید سیب ترشی ----- ۶۴
- نمودار ۱۵-۴- رشد باکتری اشیریشیا کلی در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد ----- ۶۵
- نمودار ۱۶-۴- منحنی رشد باکتری اشیریشیا کلی در محیط های حاوی غلظت های فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد ----- ۶۶
- نمودار ۱۷-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی اشیریشیا کلی و غلظت های مختلف اینولین سیب زمینی ترشی ----- ۶۹
- نمودار ۱۸-۴- میانگین پی اچ در محیط حاوی باکتری اشیریشیا کلی در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد ----- ۶۹
- نمودار ۱۹-۴- منحنی تغییرات پی اچ محیط کشت ناشی از رشد باکتری اشیریشیا کلی در محیط های حاوی غلظت های فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد ----- ۷۱
- شکل ۲۰-۴- تصویر میکروسکوپ الکترونی از دانک های آلزینات-اینولین حاوی باکتری بدام افتاده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ----- ۷۳
- شکل ۲۱-۴- تصویر میکروسکوپ نوری از دانک های آلزینات-اینولین حاوی باکتری بدام افتاده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ----- ۷۳
- نمودار ۲۲-۴- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس" ----- ۷۹
- نمودار ۲۳-۴- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "پایداری امولسیون" ----- ۷۹
- نمودار ۲۴-۴- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "شاخص قوام کا" ----- ۸۱
- نمودار ۲۵-۴- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "شاخص رفتار جریان ان" ----- ۸۲
- نمودار ۲۶-۴- نمودار رابطه تنش برشی با درجه برش نمونه های درازه کم چرب ----- ۸۳
- نمودار ۲۷-۴- نمودار رابطه بین ویسکوزیته ظاهری و درجه برش نمونه های درازه کم چرب ----- ۸۳

نمودار ۴-۲۸- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر روشنی رنگ، شاخص قرمزی و شاخص زردی نمونه های اسنک حاوی درازه فراسودمند-----۸۷

نمودار ۴-۲۹- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "سفتی".....۸۸

نمودار ۴-۳۰- نمودار کانتور بهینه سازی فرمولاسیون درازه سین بایوتیک کم چرب-----۹۳

Archive of SID



فصل اول کلیات

Archive of SID

Archive of SID

رژیم غذایی به عنوان کانون اصلی در دستیابی به سلامتی در طول زندگی و جلوگیری از ابتلا به بیماری‌هایی چون بیماری‌های گوارشی، بیماری‌های قلبی - عروقی و سرطان نقش حیاتی دارد. تحقیقات گسترده صورت گرفته به دلیل ارتباط تنگاتنگ میان غذا و سلامتی به پیشرفت‌های شایانی در این مورد رسیده است. افزایش آگاهی از سلامت مصرف کنندگان و افزایش تقاضای عمومی برای غذاهای سالمتر، توسعه محصولات جدید را به دنبال داشته است.

۱-۱- پروبیوتیک‌ها (تعریف، مفهوم، اهمیت و تاریخچه)

واژه پروبیوتیک نخستین بار در سال ۱۹۵۴ در دست‌نوشته‌های شخصی به نام ویرجیو به کار رفته است. با عنوان «پادزیست‌ها و زیست‌بخش‌ها» به بررسی اثرات زیان‌بخش مصرف پادزیست‌ها بر جمعیت میکروبی روده پرداخته و پروبیوتیک‌ها را موادی دانسته بود که بر این فلور میکروبی اثر مطلوب دارند. اما واژه پروبیوتیک نخستین بار با رسمیت بیشتر در سال ۱۹۶۵ توسط لیلی و استیل ول به کار برده شد. آنها واژه پروبیوتیک را به موادی نسبت دادند که به وسیله پروتوزوآ ترشح می‌شد و رشد پروتوزوآی دیگر را تحریک می‌کرد. آنها همچنین این واژه را در مورد ریززنده‌هایی که رشد یکدیگر را تحریک می‌کنند نیز به کار بردند (داویدسون، ۲۰۰۹).

پارکر این واژه را به صورت مکمل‌های غذایی حیوانات که به علت بهبود توازن فلور میکروبی روده اثرات سلامت‌بخش دارند تعریف کرد. فولر (۱۹۸۹)، آن را به باکتری‌های زنده‌ای که به عنوان مکمل غذایی حیوانات به مصرف می‌رسند و از طریق بهبود توازن فلور میکروبی روده در بردارنده خواص سلامت‌بخش برای آنها هستند، نسبت داد (لی، ۲۰۰۹). امروزه می‌توان تعریف جامع‌زیر را در ارتباط با پروبیوتیک‌ها ارائه کرد: ریززنده‌های (باکتری و مخمر) زنده‌ای که با استقرار در بخش‌های مختلف بدن (اساساً روده؛ به عنوان فلور طبیعی از طریق دریافت خوراکی یا کارگذاری موضعی) با عمل زیستی خود، عمدتاً از طریق حفظ و بهبود توازن فلور میکروبی روده (میان ریززنده‌های سودمند و زیان‌بخش) سبب ایجاد خواص سلامت‌بخش برای میزبان می‌شوند (الان، ۲۰۰۸).

تفاوت پروبیوتیک با سایر ریززنده‌ها در این خاصیت نهفته است که اثرات سلامت‌بخش پروبیوتیک‌ها از طریق فعالیت زیستی آنها در داخل بدن، پس از استقرار در بخش‌های مختلف ایجاد می‌شود. ایجاد خواص سلامت‌بخش پروبیوتیک‌ها اساساً مدیون اثرات سرکوب‌کننده آنها بر فلور مضر روده و حفظ و بهبود توازن این فلور به نفع خود (به عنوان ریززنده‌های سودمند) است (شاه، ۲۰۰۰).

۱-۱-۱- مهمترین جنس‌ها و گونه‌های پروبیوتیک

مهمترین ریززنده‌هایی که در منابع گوناگون تحت عنوان پروبیوتیک از آنها یاد می‌شود (در مورد انسان و حیوان) را می‌توان در چهار دسته مطابق جدول ۱ خلاصه کرد. بطور کلی اغلب باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در غذا و مکمل‌های دارویی، باکتری‌های اسیدلاکتیک و عمدتاً به دو جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم تعلق دارند.

جدول ۱- مهمترین ریززنده های پروبیوتیک مربوط به انسان و حیوانات

نام ریززنده ها به لاتین	نام ریززنده ها به فارسی	گروه باکتریایی
<i>L. acidophilus</i>	لاکتوباسیلوس. اسیدوفیلوس	باکتریهای اسیدلاکتیک
<i>L. casei (amylovorus)</i>	لاکتوباسیلوس. کازی (آمیلووروس)	جنس لاکتوباسیلوس ^۱
<i>L. johnsonii (paracasei)</i>	لاکتوباسیلوس. جانسونی (پاراکازی)	
<i>L. crispatus</i>	لاکتوباسیلوس. کریسپاتوس	
<i>L. gasseri</i>	لاکتوباسیلوس. گسری	
<i>L. reuteri (fermentum)</i>	لاکتوباسیلوس. رتوتری (فرمنتوم)	
<i>L. plantarum</i>	لاکتوباسیلوس. پلاتناروم	
<i>L. rhamnosus</i>	لاکتوباسیلوس. رامنوسوس	
<i>L. helveticus</i>	لاکتوباسیلوس. هلوتیکوس	
<i>L. gallinarum</i>	لاکتوباسیلوس. گالیناروم	
<i>L. salivarius</i>	لاکتوباسیلوس. سالیواریوس	
<i>L. lactis</i>	لاکتوباسیلوس. لاکتیس	
<i>L. Leichmanii</i>	لاکتوباسیلوس. لیچمانی	
<i>L. cellobiosus</i>	لاکتوباسیلوس. سلوبیوسوس	
<i>L. bulgaricus</i>	لاکتوباسیلوس. بولگاریکوس	
<i>L. acidophilus</i>	لاکتوباسیلوس. اسیدوفیلوس	

نام ریززنده ها به لاتین	نام ریززنده ها به فارسی	گروه باکتری
<i>Ent. Faecium</i>	آنتروکوکوس فیسیوم	باکتریهای اسیدلاکتیک - ج:
<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	اسپورولاکتوباسیلوس اینولینوس	غیر لاکتوباسیلوس
<i>B. bifidum</i>	بیفیدوبکتریوم. بیفیدوم	
<i>B. longum</i>	بیفیدوبکتریوم. لانگوم	
<i>B. infantis</i>	بیفیدوبکتریوم. اینفنتیس	
<i>B. adolescentis</i>	بیفیدوبکتریوم. ادوله سنتیس	
<i>B. breve</i>	بیفیدوبکتریوم. برو	
<i>B. lactis (animalis)</i>	بیفیدوبکتریوم. لاکتیس (انیمالیس)	

<i>B. essensis</i>	بیفیدوبکتریوم. اسنسیس	
<i>B. thermophilus</i>	بیفیدوبکتریوم. ترموفیلوس	
<i>Bacillus subtilis</i>	باسیلوس سوبتیلیس	سایر پروبیوتیک ها
<i>Bacillus cereus</i>	باسیلوس سرئوس	
<i>Bacillus licheniformis</i>	باسیلوس لیچنی فرمیس	
<i>Non- pathogenic E. coli Nissle 1917</i>	اشرشیا کلائی غیربیماریزا، نژاد نیسل	

۱-۱-۲- خواص سلامت بخش پروبیوتیک ها

سودمندی های سلامت بخش پروبیوتیک ها ممکن است ناشی از فعالیت و حضور سلول های زنده آنها در جهاز گوارش، حضور سلول های مرده یا حتی تکه های دیواره سلولی و بخش های سیتوپلاسم، متابولیت های ترشح شده آنها در جهاز گوارش و یا تمامی موارد یاد شده باشد. شاخص اساسی پروبیوتیک بودن، فعالیت و عمل سلول های زنده باکتری در داخل بدن است.

حفظ و افزایش پروبیوتیک (فلور میکروبی سودمند) در بخش های مختلف بدن به ویژه روده به منظور افزایش اثرات سودمند آنها به سه روش امکانپذیر است.

۱- دریافت تعداد زیاد سلول های زنده آنها به صورت مصرف خوراکی یا کارگذاری موضعی (استفاده از فرآورده های غذایی و دارویی).

۲- پرهیز از مجاورت با عواملی که جمعیت این باکتریها را در بدن کاهش می دهند (مانند رژیم ناسالم غذایی، تابش رادیواکتیو، تنش، بیماری و مصرف داروها و پادزیست ها)

۳- مصرف پری بیوتیک با رژیم غذایی علاوه بر تحریک و تقویت رشد و فعالیت پروبیوتیک ها در بدن ممکن است مستقیماً اثرات سودمند سلامت بخش نیز به همراه داشته باشد. برای مثال گزارش شده است که مصرف نئوشوگر (نوعی فروکتو- الیگوساکارید) ضمن افزایش تعداد بیفیدوباکتریوم ها در روده، فعالیت آنزیم های مضر روده ای را نیز کاهش می دهد؛ نتیجه این خاصیت کاهش ریسک سرطان زایی است (همایونی، ۱۳۹۱ و ریکاردو، ۲۰۰۹).

برخی خواص سلامت بخش پروبیوتیک ها شامل موارد ذیل می باشد:

- خواص پاد جهش زا و پاد سرطان زا
- تحریک، تقویت و تنظیم سیستم ایمنی
- کاهش کلسترول سرم
- بهبود ناسازگاری لاکتوز
- بهبود یبوست
- کمک به تخلیه مدفوع از روده یا تولید گاز
- پیشگیری از ابتلا به آلرژی

- کاهش ابتلا به زخم روده
- کاهش فشار خون
- کاهش نفخ، تورم و گازدار شدن شکم به سبب اثر بازدارندگی پروبیوتیک‌ها بر باکتریهای گندزای روده.
- پیشگیری و درمان بیماری سخت و کبدی
- کاهش عوارض درون - سمیت الکلی (مسمومیت ناشی از مصرف الکل)
- کاهش مسمومیت با آفلاتوکسین
- کاهش مسمومیت با جیوه (الان، ۲۰۰۸ و ریکاردو، ۲۰۰۹)
- افزایش ارزش تغذیه‌ای

پروبیوتیک‌ها به روش گوناگون بدن را از سودمندیه‌های تغذیه‌ای برخوردار می‌سازند. این شیوه‌ها عبارتند از: الف) ساخت مواد مغذی نظیر ویتامین‌ها (گروه K, B) اسیدهای چرب کوتاه زنجیر (SCFA)، آنزیم‌های هضم‌کننده و اسیدهای آمینه. آنزیم‌های لاکتاز، لیپاز و پروتئاز از جمله آنزیم‌های تولید شده هستند که هضم مواد غذایی کربوهیدراتی و پروتئینی را تسهیل می‌کنند. بیفیدوباکتریوم‌ها با هضم هیدرات‌های کربن رژیمی نقش مهمی در هضم غذایی حیوانات نشخوارکننده به عهده دارند. لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس پلاتناروم تولیدکننده اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و اسیدهای آمینه نظیر Arg, Cys, Glu هستند. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم‌ها ویتامین‌های $B_1, B_2, B_3, B_6, B_9, K$ را سنتز می‌کنند. درمورد باکتری ل. کازی، ویتامین B_1 ساخته شده متصل به سلول باقی می‌ماند و فقط پس از تخریب سلول می‌تواند در دسترس بدن قرار گیرد. از این رو عملاً برای بدن غیرقابل استفاده است. همچنین گزارش شده است که ل. کازی ویتامین B_2 را به مصرف می‌رساند (لی، ۲۰۰۹).

SCFA های تولید شده توسط پروبیوتیک‌ها حدود ۱۰٪ از انرژی مورد نیاز روزانه میزبان را فراهم می‌سازند. SCFA₃ همراه با گازهای تولید شده (عمدتاً CH_3, CO_2, H_2) به عنوان منبع انرژی، مورد استفاده سایر ریززنده‌های روده قرار می‌گیرند (داویدسون، ۲۰۰۹).

تولید SCFAs بر pH روده نیز اثر می‌گذارد که نتیجه آن از یک سو بازدارنده رشد باکتریهای نامطلوب و از سوی دیگر بهبود جذب یون‌های معدنی است.

ب) بهبود جذب املاح (Ca, Zn, Fe, Mn, Cu) به سبب ساخت اسید توسط پروبیوتیک‌ها و کاهش pH، همانگونه که اشاره شد علاوه بر اسیدهای آلی اصلی، SCFAs نیز در کاهش pH موثر است. کاهش pH سبب تبدیل فلزات به شکل غیر آلی می‌شود و از این طریق جذب و دسترسی زیستی آنها را در روده بزرگ افزایش میدهد. در عین حال وقتی فیبرهای خوراکی با اتصال به عناصر در روده کوچک مانع جذب آنها می‌شود، در روده بزرگ به دلیل کاهش pH ایجاد شده توسط پروبیوتیک‌ها مجدداً آنها را آزاد می‌کنند و جذب بهبود می‌یابد، علت پروتون دار شدن عوامل درگیرکننده یون در ترکیبات یاد شده است. گزارش شده است که خمیر نانوائی تخمیر شده با پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس پلاتناروم و ساکارومایسس بولاردی مقدار اسید فتیک و پلی فنل‌ها را که از جمله عوامل درگیرکننده یون هستند در خمیر تخمیر شده کاهش می‌دهد (همایونی، ۱۳۹۱ و ریکاردو، ۲۰۰۹).

پ) تولید مقادیر بیشتر اسید لاکتیک نوع L(+) در مقایسه با نوع D(-) این نوع اسید لاکتیک ضمن آنکه با سهولت بیشتر در بدن سوخت و ساز می شود و مقدار ۱۵ kJ/g انرژی در دسترس قرار می دهد (انرژی آزاد شده از سوخت و ساز لاکتوز ۱۶kJ/g است، برخلاف نوع دیگر، اسیدوز متابولیک^۲ در نوزادان زیر یک سال ایجاد نمی کند (لی، ۲۰۰۹).

ت) افزایش جذب پروتئین و بازده رشد، پروبیوتیک در مقام نخست باکتریهای ساکاروکافت (ساکارولیتیک) هستند تا پروتئوکافت، حال آنکه باکتریهای بیماریزا و باکتریهای گندزای روده در مرحله اول از مواد پروتئینی استفاده می کنند. همگام با کاهش تعداد باکتریهای مضر به دلیل اثر مهارکنندگی پروبیوتیک ها بر آنها، مقدار بیشتری پروتئین برای جذب و فرآیندهای ترمیم و رشد در اختیار بدن قرار می گیرد (شاه، ۲۰۰۰).

ث) کاهش فعالیت آنزیم های دارای اثرات پاد تغذیه ای. برای مثال گزارش شده است که باکتریهای ل. کازی ل. پلانتاروم و س. بولاردی سبب کاهش فعالیت بازدارنده های تریپسین می شوند.

۱-۱-۳- ویژگی های فرآورده های پروبیوتیک

بر اساس استاندارد سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و داروی آمریکا، تعداد پروبیوتیک ها در ماده غذایی حامل آن در لحظه مصرف حداقل باید $(10^6 - 10^7 - \text{CFU/g})$ باشد (داویدسون، ۲۰۰۹).

نظارت و انتخاب دقیق گونه ها، استفاده از کشت های با اسیدیته ملایم، غنی سازی با پروتئین و فسفات نظیر کنستانتره پروتئین آب پنیر برای رسیدن به ظرفیت بافری فرآورده های عملگر از اهمیت بسزایی برخوردار است و حفظ پایداری ژنتیکی و فیزیکی آنها هنگام تولید و نگهداری تا مرحله فروش به مشتری توسط تولید کننده تضمین شود. حفظ بو و طعم محصولات پروبیوتیک بسیار مهم است و این باکتریها نباید اسیدیته محصول را بیش از حد افزایش دهند (گیسون و همکاران، ۱۹۹۵).

از آنجا که زیستگاه طبیعی این باکتریها روده است، میزان اکسیژن، پتانسیل اکسیداسیون و فعالیت آبی محیط بایستی مد نظر باشد (لی و همکاران، ۲۰۰۹).

نوع و میزان کربوهیدراتهای در دسترس، درجه هیدرولیز پروتئینهای شیر، pH محیط، ترکیب و درجه هیدرولیز چربی ها بسیار مهم است به عبارت دیگر خواص پروتئولیتیک و لیپولیتیک پروبیوتیک ها در میزان تخریب چربیها و پروتئینهای محصول مهم است (لیو و همکاران، ۲۰۰۵؛ ریکاردو، ۲۰۰۹).

اثرات متقابل باکتری های استارتر در تهیه محصولات حائز اهمیت است. اثرات متقابل سینرژیستی پروبیوتیک ها با سایر باکتری های استارتر بایستی مدنظر قرار گیرد برای مثال استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی اثرات سینرژیستی دارند. این اثر در افزایش تعداد میکروب های محیط و افزایش اسیدیته محیط دیده می شود (گرانانو و همکاران، ۲۰۱۰).

²- Metabolic acidosis

افزایش زمان نگهداری محصول در انبار و هرگونه اختلال در دمای مناسب سبب افزایش شدت واکنش ها می شود (ویندرولا و همکاران، ۲۰۰۰). همانطور که می دانیم مراحل زندگی باکتری ها شامل مراحل تأخیر، رشد لگاریتمی، سکون و مرگ است. اینکه پروبیوتیک ها در کدام مرحله از رشد به محیط افزوده شوند اهمیت دارند، به عبارت دیگر شرایط فیزیولوژیکی آنها اهمیت بسیاری دارد. کاربرد پروبیوتیک ها در فرآورده های لبنی، با محدودیت هایی از جمله وجود ترکیبات حساسیت زا، نیاز به انبارداری سرد، وجود لاکتوز، وجود کلسترول حیوانی، نیاز به محصولات با طعم های جدید و نیاز به فرآورده های پروبیوتیک غیر لبنی و مخصوصاً محصولات گیاهی مواجه هستند. همچنین پروبیوتیک ها به دلیل غلظت بالای اسید لاکتیک و استیک، وجود اکسیژن، پراکسید هیدروژن و pH پایین، زنده مانی کمی در محصولات لبنی دارند.

به استثنای برخی انواع لاکتوباسیلوس و لاکتوستوک، بیشتر پروبیوتیک ها مقاومت کمی نسبت به اسید داشته و pH اپتیمم برای رشد آنها بین ۵ تا ۹ است.

این سویه ها در فاز لگاریتمی رشد و در زمان ورود به فاز ثابت پایداری بیشتری نسبت به اسید از خود نشان میدهند، با این وجود در برخی از گونه های پروبیوتیک مقاومت در برابر شرایط اسیدی فقط در فاز ثابت رشد وجود دارد. ساده ترین تکنیک برای مقابله با شوک های اسیدی، قرار دادن گونه در محیط های با pH پایین برای مدت زمانی کوتاه می باشد. بدین ترتیب قابلیت تحمل اسیدیته در گونه افزایش می یابد (همایونی، ۱۳۹۱).

همچنین با استفاده از این تکنیک در سویه های مقاوم به اسید سرعت تخمیر و فعالیت آنزیمی بالاتری مشاهده میشود (مانند آنزیم گلوکوزیداز) و نیز با اعمال چنین فرایندهایی، قابلیت عملکردی و زنده مانی گونه پروبیوتیک در ناحیه روده نیز افزایش می یابد (هوازاپفول، ۱۹۹۵ و کاپلا، ۲۰۰۷).

مصرف کنندگان با عرضه محصولات پروبیوتیک در بازار انتظار دارند با مصرف این محصولات به اثرات مفید ادعا شده در مورد آنها دست یابند برای این کار در ابتدا باکتری ها بایستی تا پایان تاریخ انقضای محصول در آن زنده بمانند و در ضمن پس از مصرف با عبور از روده به تعداد کافی به قسمت انتهایی روده بزرگ رسیده و در آنجا مستقر شوند (ریکاردو و همکاران، ۲۰۰۹).

۱-۲- پری بیوتیک ها

اخیراً توجه دانشمندان نسبت به پری بیوتیکها بیشتر از پروبیوتیکها جلب شده است و تحقیقات زیادی در این زمینه در دست انجام است. به نظر می رسد اهمیت پری بیوتیکها بیشتر از پروبیوتیکها باشد، چراکه هر فردی دارای پروبیوتیکهای خاص خود است و این باکتریها از منطقه ای به منطقه دیگر جهان فرق می کند. بنابراین بهتر است به جای وارد کردن گونه های پروبیوتیکی جدید به بدن انسان چه بصورت خالص و چه به همراه غذا، پروبیوتیکهای خاص دستگاه گوارش آن فرد را توسعه دهیم این کار توسط پری بیوتیک ها قابل انجام است.

پری بیوتیک ها، ترکیباتی هستند که از دو ویژگی اساسی زیر برخوردار باشند:

الف) در برابر آنزیم ها و ترکیبات ترشح شده در بزاق و روده کوچک هضم ناپذیر یا اندک- هضم باشند تا دست نخورده یا با شکست پاره ای در محیط روده در دسترس پروبیوتیک ها قرار گیرند.

ب) به عنوان منابع کربن یا انرژی، رشد و یا فعالیت این ریززنده ها را به طور انتخابی (گزینشی) تحریک کنند. بر این اساس، پری بیوتیک ها ممکن است کربوهیدراتهای هضم ناپذیر (NDCs)^۳ انواع خاصی از پپتیدها و پروتئینها، انواع خاصی از لیپیدها و حتی برخی املاح و یونها باشند. مهمترین و ثمربخش ترین پری بیوتیک ها، الیگوساکاریدها یا کربوهیدراتهای زنجیرکوتاه (SCCs)^۴ هستند.

ماهیت ساکاروکافتی پروبیوتیک ها ایجاب می کند که پری بیوتیک ها از جنس کربوهیدرات باشند. زیرا باکتریهای مضر روده ای اساسا پروتئوکافت هستند و ممکن است قادر به استفاده از ترکیبات با پایه پپتیدی باشند. ترکیبات پری بیوتیک به دو صورت طبیعی و مصنوعی وجود دارند (ریکاردوو همکاران، ۲۰۰۹).

۱-۲-۱- برخی مزایای سلامت بخش پری بیوتیک ها

الف) کم کالری و رژیمی بودن

ب) دارا بودن اثرات دارویی

پ) تخلیه سریعتر محتویات روده؛ علت آن افزایش تحرک روده ای است.

گفته شده است که فروکتان های نوع اینولین از موثرترین فیبرها در این ارتباط هستند.

ت) اثرات پادسرطان زا و تحریک سیستم ایمنی بدن

ث) افزایش جذب عناصر معدنی و کاهش ریسک ابتلا به پوکی استخوان به دلیل افزایش دسترسی زیستی کلسیم و چگالی املاح استخوان فیبرهایی نظیر اینولین به دلیل ایجاد فشار اسمزی، به اجتماع آب نسبتا زیاد در روده بزرگ و حلالیت بهتر عناصر می انجامند (لوپز مونیلیا، ۲۰۰۵).

۱-۲-۲- تقسیم بندی پری بیوتیک ها

کربوهیدراتهای پری بیوتیک را می توان به دو دسته الیگوساکاریدها (۲۰-۲ واحد منومری) و پلی ساکاریدها (بیش از ۲۰ واحد منومری) تقسیم بندی کرد. الیگوساکاریدها شامل لاکتولوز، لاکتوساکارز، ایزومالتوالیگوساکاریدها، گزیلوالیگوساکاریدها، فروکتوالیگوساکاریدها، گالاکتوالیگوساکاریدها، الیگوساکاریدهای سویا و الیگوساکاریدهای شیر انسان هستند. از پری بیوتیک های پلی ساکاریدی هم می توان به نشاسته مقاوم و فیبر رژیمی اشاره کرد.

^۳- Nondigestible carbohydrates

^۴- Short- chain carbohydrates

فروکتوالیگوساکاریدها، زیر گروهی از اینولین‌اند، به طور خاص پلی‌فروکتوز آنها با یک درجه پلی‌مراسیون کمتر از ۱۰ ($DP < 10$) در گیاهان معینی از قبیل کنگر فرنگی، ریشه کاسنی، تره فرنگی، پیاز، سیر، جو دوسر، جو و چاودار یا گندم سیاه تشخیص داده شده است (لوپز مونیلیا، ۲۰۰۵). فروکتوالیگوساکاریدها و اینولین نیز در معده و روده کوچک انسان هضم نشده و به صورت دست نخورده وارد روده بزرگ می‌شوند و در آنجا رشد گونه‌های بیفیدوباکتریوم، لاکتوباسیلوس و ائوباکتریوم را تشدید می‌کنند (مونت زوریس و همکاران، ۲۰۰۶).

در میان پربیوتیک‌ها FOS^۵ و اینولین کم‌پلیمر بیشترین اثر را بر تحریک رشد و فعالیت بیفیدوباکتریوم دارند. FOSs در کل مهمترین پری بیوتیک‌ها دانسته شده‌اند. این ترکیبات از نظر شیمیایی $D-\beta$ - فروکتان هستند که درجه پلیمری شدن آنها متفاوت است. برای مثال در صورتیکه درجه پلیمری شدن ۶۰-۲ باشد، ترکیبات FOS را اینولین و چنانچه این شاخص ۲۰-۲ باشد، الیگوفروکتوز می‌نامند. FOSs دارای چندین باقیمانده $\beta(1 \leftarrow 2)$ یا $\beta(1 \leftarrow 6)$ - متصل به فروکتوز هستند که می‌توانند به باقیمانده‌های گلوکز متصل شوند. پیاز، سیر، کاسنی، تره فرنگی، کنگر فرنگی (آرتیشو) و در مقادیر کمتر سبوس غلات از مهمترین منابع FOSs و اینولین محسوب می‌شوند (مونت زوریس و همکاران، ۲۰۰۶، سینگ، ۲۰۱۰، میلانی و همکاران، ۲۰۱۱).

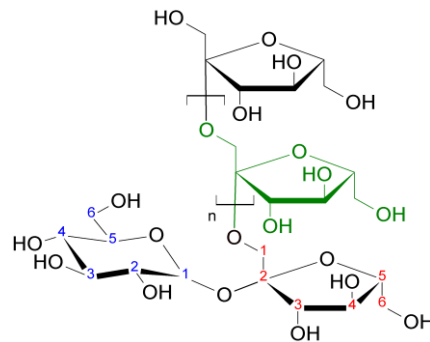
با توجه به شواهد متضاد، به نظر می‌رسد که اثر FOS تا اندازه زیادی به نوع آن مربوط باشد تا گونه‌ها و نژادهای باکتریایی، برای مثال در اغلب پژوهش‌ها گزارش شده است که اینولین تحریک کننده رشد بیفیدوباکتریوم‌ها است. لاکتوز، لاکتیتول و لاکتوبیونیک اسید از مشتقات هضم‌ناپذیر لاکتوز با خاصیت پری بیوتیکی هستند و رشد بیفیدوباکتریوم‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها را تحریک می‌کنند. این ترکیبات از آب پنیر تهیه می‌شوند (لوپز مونیلیا، ۲۰۰۵، سینگ، ۲۰۱۰، میلانی و همکاران، ۲۰۱۱).

اینولین کربوهیدراتی متشکل از پیوندهای $1 \rightarrow 2\beta$ فروکتوزیل-فروکتوز با ۱ واحد گلوکز انتهایی است که تعداد واحدهای فروکتوز در آن بین ۲ تا ۷۰ متغیر است. لازم به ذکر است یک مولکول گلوکز در ابتدای زنجیره با اتصال $\alpha(2_1)$ ممکن است وجود داشته باشد (سینگ، ۲۰۱۰ و روبرفریود و همکاران، ۲۰۰۴، میلانی، ۲۰۱۱).

فروکتان‌های نوع اینولین بر اساس طول زنجیره و درجه پلیمریزاسیون به گروه‌های مختلفی مانند الیگوفروکتوز (ترکیبی از الیگومرها با $DP = 2-7$)، اینولین طبیعی یا استاندارد (استخراج شده از ریشه کاسنی با $DP = 2-65$) و

⁵-Fructooligosaccharids

اینولین بلند زنجیره (Hp) اینولین با کارایی بالا با $DP = 65-10$ طبقه بندی می شوند. درجه پلیمریزاسیون اینولین و حضور زنجیره های جانبی ویژگی های مهمی هستند که خصوصیات کاربردی اینولین را تحت تاثیر قرار می دهند (سینگ، ۲۰۱۰ و روبرفریوید و همکاران، ۲۰۰۴).



شکل ۱-۱- ساختمان پایه مولکول اینولین

سیب زمینی ترشی با نام علمی *Helinthus tuberosus* / انواع سیب زمینی است که همانند یک گیاه علفی زیبا و دارای ساقه ای به ارتفاع ۱/۵ تا ۳ متر است که منشاء اصلی آن آمریکای شمالی بوده و از آن جا به نواحی دیگر انتقال یافته است.

برگهای سیب زمینی ترشی عموماً ساده، منفرد، بیضوی، نوک تیز و دارای حاشیه دندانه دار است. غده سیب زمینی ترشی دارای خواص درمانی بسیاری می باشد و به صورت جوشانده و یا به حالت خام پس از قرار دادن مدتی در سرکه و یا سالاد مصرف می شود.

این گیاه غذای مناسبی برای بیماران دیابتیک و اورمیک است زیرا اولاً مواد قندی آن به صورت گلیکوژن در کبد ذخیره نمی گردد و ثانیاً به علت داشتن مواد پروتئینی در پایین آوردن اوره خون اثر می نماید. سیب زمینی ترشی فشار خون را پایین آورده و مصرف آن بهترین درمان برای افزایش کلسترول بد (LDL) و اوره خون می باشد. این گیاه سرشار از ویتامینهای A و B و اینولین به شکل موسیلاژ است (زرگری، ۱۳۷۲).

۹۴ درصد از اینولین موجود در سیب زمینی ترشی دارای DP کمتر از ۴۰ می باشد (DP متوسط آن بین ۲-۵۰ متغیر است) (داکوستا و همکاران، ۲۰۰۵ و گونزالز و همکاران، ۲۰۰۸).

۱-۲-۳- ارزش تغذیه ای و اثرات سلامتی بخش اینولین

بیش از ۹۰٪ فلور میکروبی روده نوزادان را بیفیدوباکترها تشکیل می دهند که با افزایش سن تعدادی از این باکتریها از بین می روند. کاهش قابل توجه این باکتریها در دوران کهنسالی از عوامل تضعیف سیستم ایمنی بدن در این دوران می باشد (گیسون و همکاران، ۱۹۹۵ و روبرفریوید و همکاران، ۲۰۰۷).

ترکیبات اینولین بدون هیچ گونه تغییری توسط آنزیم های موجود در قسمت های فوقانی دستگاه گوارش، وارد کولون شده و در آنجا به وسیله آنزیم β - فروکتوزیداز (اینولیناز) تولید شده توسط بیفیدوباکترها تخمیر شده که نتیجه این

تخمیر تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره (SCFA) و افزایش توده باکتریایی روده می باشد (گوارنرو همکاران، ۲۰۰۵)، تحقیقات انجام گرفته نشان می دهد که مصرف حداقل ۵ گرم اینولین در روز به مدت ۲۱ روز سبب افزایش یک سیکل لگاریتمی در تعداد بیفیدوباکترها می شود؛ تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر توسط بیفیدوباکترها سبب کاهش قابل توجه pH و کاهش رشد و فعالیت پاتوژنها در روده می شود که به دنبال آن عفونت های دستگاه گوارش به طور قابل توجهی کاهش می یابد. از سوی دیگر این اسیدهای چرب به عنوان منبع انرژی عضلات کولون به حساب می آیند از اینرو تولید آنها حرکات روده بزرگ را افزایش می دهد (رائوو همکارانش، ۲۰۰۲، وادا و همکاران، ۲۰۰۵؛ اوئینگ و همکاران، ۲۰۰۵).

۱-۲-۴- تاثیر تکنولوژیکی اینولین در صنایع غذایی

خواص تکنولوژیکی منحصر به فرد اینولین سبب شده تا این ماده در صنایع غذایی مورد توجه قرار گیرد. مخلوط غنی از اینولین به صورت پودرهای سفید و بدون بو و الیگوفروکتوز به صورت پودر و شربت های غلیظ بدون رنگ (۷۵٪ ماده خشک با درجه خلوص بالا و ترکیب شیمیایی شناخته شده در دسترس می باشد) (گونزالز، ۲۰۰۸). اینولین دارای طعم طبیعی و ملایم و بدون هیچ گونه بد طعمی می باشد، به دلیل وجود فروکتوز، گلوکز و سوکروز کمی شیرین بوده (تقریباً ۱۰٪ شیرینی شکر را دارا می باشد) در حالیکه اینولین بلند زنجیره به راحتی با سایر مواد اولیه ترکیب شده و هیچ گونه تغییری در طعم ایجاد نمی کند، حلالیت آن در آب کم بوده (حداکثر ۱۰٪ در دمای اتاق) و ایجاد ویسکوزیته تقریباً پایینی می کند. اینولین با درجه پلی مریزاسیون کمتر از ۱۰ یا اینولوالیگوساکاریدها دارای شیرینی معادل ۳۰٪ شیرینی ساکارز می باشند و میزان کالری آنها پایین و حدود ۱/۵ کیلوکالری به ازای گرم می باشد، از این رو می توان از آنها در تولید فراورده های غذایی و نوشیدنی های کم کالری استفاده نمود (فرانک، ۲۰۰۲).

۱-۳- افزایش زنده مانی پروبیوتیک ها

قابلیت زیستی اندک پروبیوتیک ها در شرایط دشوار فرآورده های غذایی و نیز شرایط اسیدی - صفراوی دستگاه گوارش، پژوهشگران را همواره به یافتن شیوه برای بهبود این خاصیت ترغیب کرده است. ریز پوشانی به عنوان یکی از نوین ترین این شیوه ها، اثر قابل ملاحظه ای در این ارتباط داشته است. از دیدگاه میکروب شناختی، ریز پوشانی عبارت است از پوشش دادن لایه ای از هیدروکلئیدها به دور سلول های ریززنده ها در مقیاس ذره بینی (میکروسکپی) و محصور کردن آنها به منظور تفکیک کردن از محیط، طوریکه آزاد سازی هدمند سلولها (در مکان و زمان مناسب) را در پی داشته باشد. از جمله عوامل آزاد سازی می توان به تغییرات pH، تنش های مکانیکی، گرما، فعالیت آنزیمی، زمان، فشار اسمزی، انتشار آهسته رطوبت از خلال پوشینه و حضور ترکیبات شیمیایی اشاره داشت. بنابراین، ریزپوشینه ها به

عنوان عوامل تفکیک کننده^۶ سلول ها از محیط عمل می کنند. تفکیک کردن سلول ها از محیط اساسا به منظور ایمن سازی آنها از شرایط نامناسب و شدید محیطی نظیر اسیدیته بالا و pH پایین، نمک های صفاوی، انجماد شدید یا خشک شدن انجمادی، اکسیژن مولکولی، خشک شدن پاششی، باکتری فاژها و ترکیبات شیمیایی پادمیکروبی و در نتیجه آن جلوگیری از آسیب و / یا افت سلولی صورت می گیرد، هر چند می تواند اهداف دیگری همچون تثبیت و یا بهبود خواص حسی فرآورده، نامتحرک کردن ریززنده ها برای مقاصد خاص و تثبیت آنها به منظور سهولت در استفاده اشاره داشت. در یک جمله، هدف اصلی ریزپوشانی پروبیوتیک ها ایجاد امکان انتقال و آزاد سازی ایمن آن ها در نقاط جای گیر شدن در بدن است (آکیلا، ۲۰۱۰).

ریزپوشانی کاربردهای زیادی در صنایع غذایی دارد. برای پایدار کردن مواد درون دانک، کنترل شروع واکنش، کنترل زمان و سرعت رها شدن مواد، برای پوشاندن طعمها، رنگها و بوها، برای تشخیص فشار، افزایش ماندگاری، حفاظت از ترکیبات غذا و حفظ ارزش تغذیه ای، برای تبدیل یک مایع به شکل جامد، برای کاهش فرار بودن و جدا نگهداشتن مواد فعال از این روش بهره برداری می شود. ماندگاری شیر خام را با افزودن دانک های آلزینات کلسیم حاوی باکتری های اسیدلاکتیک شامل لاکتوکوکوس لاکتیس و لاکتوباسیلوس هلویتیکوس می توان افزایش داد. یکی از دلایل ریزپوشانی اجزای غذاها، تأخیر در آزاد شدن این ترکیبات در طول فرآیند است. به عنوان مثال شیرین کننده های مصنوعی را در داخل دانک قرار داده و در مقابل دمای بالای فرآیند پخت محافظت می نمایند. در این صورت شیرین کننده مصنوعی در اثر دماهای بالا تجزیه نشده ولی در پایان فرآیند به بیرون از دانک رها می شود و در نتیجه محصول نهایی دارای مزه شیرین خواهد بود. در غذا، رهایش کنترل شده پروبیوتیک های درون دانک، به این معنی است که این باکتری ها به طور یک جا در معرض شرایط غذا و دستگاه گوارش قرار نمی گیرند، بلکه به تدریج از درون دانک آزاد شده و طی مدت زمانی طولانی، جمعیت پروبیوتیک ها در داخل روده به طور مداوم تجدید می گردد. آزاد شدن مواد درون دانک به صورت کنترل شده در غذاها با مکانیسم های زیر صورت می گیرد (صابری و همکاران، ۲۰۱۴؛ آکروه، ۲۰۱۳ و فریزن فریر، ۲۰۱۲).

۱-۴- تکنولوژی ریزپوشانی

۱-۴-۱- ترکیبات مورد استفاده در ریزپوشانی

موادی که برای ریزپوشانی مورد استفاده قرار می گیرند اساسا در یک محدوده ای از پلی مرهای طبیعی یا سنتزی نظیر ژلاتین، آلزینات سدیم، کاراژینان، نشاسته، مشتقات سلولز، صمغ عربی، چربی ها و اسیدهای چرب، موم، پلی اتیلن گلیکول یا مخلوطی از این ترکیبات قرار دارند. مواد پوششی موثر بایستی خصوصیات رئولوژیکی خوبی داشته باشند و به سهولت تولید شوند. مواد پوششی بایستی طوری انتخاب شوند که یک امولسیون یا یک محلول پراکنده مناسبی را با

⁶. Segregation agents

مواد فعال تولید کنند و در طی فرایند یا نگه‌داری ناپیستی با مواد فعال واکنش دهند یا تجزیه شوند. علاوه بر آن بایستی با خصوصیات حلالیت پذیری دانک و نیز با خواص رهایش مواد فعال مطابقت داشته باشند (پائولا و همکاران، ۲۰۱۳).
آلژینات یک هتروپلی ساکارید خطی متشکل از اسید مانورونیک و اسید گلورونیک بوده و در دیواره سلولی و فضاهای بین سلولی جلبک قهوه‌ای وجود دارد. آلژینات کلسیم به طور وسیعی برای ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک بدلیل طبیعت بی‌خطر، سهولت استفاده و قیمت پایین استفاده شده است (شی و همکاران، ۲۰۱۳).
ماتریکس آلژینات از نظر ساختاری در شرایط محیطی اسیدی پایین مقاومت می‌کند با این حال هنگامی که pH به پایین‌تر از Pka اسید مانورونیک و اسید گلورونیک می‌رود (به ترتیب ۳/۶ و ۳/۷) آلژینات با رهایش یون‌های کلسیم به اسید آلژینیک تبدیل شده و یک ژل متراکم و غلیظ به علت از دست رفتن آب شکل می‌گیرد (صابری و همکاران، ۲۰۱۴). از آلژینات برای ریزپوشانی باکتری‌های اسید لاکتیک به طور گسترده‌ای استفاده می‌شود. برای شکل‌گیری دانک‌ها سوسپانسیون سلول با یک محلول آلژینات سدیم مخلوط شده و مخلوط به صورت قطره قطره با یک محلول کاتیونی (معمولاً Ca^{2+} در شکل $CaCl_2$) تماس می‌گیرد. دانک‌ها بلافاصله به صورت گویچه‌های ژل شکل می‌گیرند و سلول‌ها در یک شبکه سه بعدی از آلژینات با پیوند عرضی به صورت یونی به دام انداخته می‌شوند (پائولا و همکاران، ۲۰۱۳ و کراسی کوپت و همکاران، ۲۰۱۴).

۱-۴-۲- ریزپوشانی به روش امولسیون‌سازی

اولین گام در این روش، مخلوط کردن کشت باکتریایی با یک محلول پلیمری است تا سوسپانسیون باکتری- پلیمر به دست آید. حجم اندکی از این سوسپانسیون (فاز ناپیوسته) به حجم بزرگی از روغن گیاهی (فاز پیوسته)، مثل روغن سویا، روغن آفتابگردان، روغن کانولا یا روغن ذرت اضافه می‌شود تا مخلوط هموژنیزه شده و امولسیون آب در روغن (w/o) بدست آید. در برخی موارد امولسیون سازها اضافه می‌شوند تا امولسیون پایدارتری شکل گیرد، چون این عوامل کشش سطحی قطره‌ها را کاهش می‌دهد که منجر به تشکیل دانک‌های کوچکتر می‌شود. رایج‌ترین امولسیون ساز به کار رفته توئین ۸۰ در غلظت کم است. در فرآیند امولسیون، تنظیم سرعت تلاطم و نسبت فاز تولید، اندازه مهره هدف را ممکن می‌سازد. اندازه دانک‌ها می‌تواند بین ۲۵ میکرومتر و ۲ میلی‌متر متفاوت باشد. روش و تکنیک امولسیون‌ی یک روش مناسب برای ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیکی در دانه‌های کوچکتر از ۱ میلی‌متر است. نوع و مقدار ماده فعال سطحی به علاوه حجم روغن و محلول کلرور کلسیم می‌تواند بازده فرایند ریزپوشانی را تحت تاثیر قرار دهد (فریزرفریر و همکاران، ۲۰۱۲).

۱-۴-۳- عوامل موثر بر کارایی ریزپوشانی پروبیوتیک ها

کارایی ریز پوشانی را می توان از نقطه نظرات گوناگون مورد بحث و بررسی قرار داد. قابلیت زیستی پروبیوتیک ها پس از مجاورت با شرایط سخت و دشوار محیط، درصد آزاد سازی سلول ها، یا بازیافت سلولی، زمان انجام و تکمیل ریزپوشانی (زمان تشکیل و تثبیت پوشینه)، مقاومت پوشینه ها به عوامل محیطی و میزان بار میکروبی در دانک ها، همگی از جمله جنبه ها و شاخص های کارایی ریزپوشانی پروبیوتیک ها محسوب می شوند (صابری و همکاران، ۲۰۱۴؛ آکروه، ۲۰۱۳ و فریزن فریر، ۲۰۱۲).

۱-۵- سین بیوتیک

سین بیوتیک ها فرآورده هایی هستند که به طور همزمان حاوی پروبیوتیک ها و پری بیوتیک ها می باشند، کاربرد توام دو عامل با هدف ایجاد افزایش اثرات سلامتی بخش آنها صورت می گیرد (همایونی، ۱۳۸۷، بریتی، ۲۰۰۷، کارادلی، ۲۰۰۸، نازارو، ۲۰۰۸، زامورا، ۲۰۱۳).

۱-۶- میان وعده های (اسنک) غذایی

میان وعده ها محدوده وسیعی از فرآورده های غذایی را شامل می شود. این غذاها به عنوان غذاهای سبک یا جایگزین بخشی از یک غذای معمول استفاده می شوند. گاهی هنگام مسافرت یا تماشای برنامه های ورزشی یا سایر سرگرمی ها مصرف می شوند. فرایندهای مبتکرانه متعددی جهت تهیه این میان وعده ها در صنعت وجود دارد که برای افزایش تعداد این غذاها به کار می روند و تعدادی از انواع مهم این فرایندها از اکستروژن به عنوان بخشی از خط تولید استفاده می کنند. بیش از ۶۰ سال است که صنعت تولید میان وعده ارتباط تنگاتنگی با پیشرفت و استفاده از دستگاه های پخت با اکستروژن دارد. بطوریکه یکی از مهمترین کاربردهای فناوری اکستروژن در صنایع غذایی، تولید انواع مختلف میان وعده های اکستروژن شده می باشد. اگرچه فرآورده های میان وعده ای از تاریخ ابداع اکستروژن قدیمی تر هستند و مبداء آنها به فرآورده های سنتی ساخته شده توسط دست در قرون گذشته بر می گردد. مثالهایی از انواع قدیمی میان وعده شامل دانه های پف کرده، کراکر میگو و کرپوک مربوط به آسیای دور و میان وعده های تورتیلا مربوط به آمریکای جنوبی است. از سایر کاربردهای فناوری اکستروژن در صنایع غذایی می توان به تولید پروتئین های گیاهی بافت داده شده قابل استفاده در مواد غذایی، ریزپوشانی ترکیبات و تولید فرآورده های خمیری (پاستا) اشاره کرد (سینگ، ۲۰۱۴ و یگی و همکاران، ۲۰۱۴).

تعریف های مختلفی برای میان وعده ارائه شده است از جمله "غذایی سبک که بین وعده های منظم استفاده می شود. میان وعده ها بخش مهمی از صنایع غذایی محسوب می شوند. چیپس سیبزمینی میان وعده غالب است و پس از آن میان وعده های اکستروژن شده، چیپس ذرت، مغزها، میان وعده های گوشت، پرتزل و ذرت پف داده قرار دارند (استوجسکا، ۲۰۰۹).

فرایندهایی که برای تولید میان وعده ها به کار می روند بسیار مبتکرانه می باشند و درک آن ها با یک توصیف پایه ای از مهمترین خصوصیات آن ها راحت تر می شود. فرآیند اکستروژن بر تبدیل نشاسته در فرمولاسیون تمرکز می کند اما ممکن است برای تولید انواعی از میان وعده ها با خصوصیات مختلف تغییر کند. این کار ممکن است با تغییر در فرمولاسیون و نیز با تغییر شرایط فرایند انجام شود (چنلات، ۲۰۱۱ و سینگ، ۲۰۱۴).

۱-۷- تکنولوژی پخت با اکستروژن

تکنولوژی پخت با اکستروژن طی دو دهه اخیر با استقبال گسترده ای روبرو شده است که دلایل آن عبارتند از :
۱. تنوع فراورده های تولیدی: با تغییرات اعمال شده در مواد اولیه، شرایط اکستروژن کردن و تعویض قالب ها امکان تولید تعداد زیادی از فراورده های متنوع با استفاده از یک تکنیک وجود دارد که به راحتی با سایر انواع فرایندها این امکان میسر نمی شود .

۲. هزینه پایین: هزینه فرآیند اکستروژن پایین تر از بسیاری از تکنیک های دیگر پختن و شکل دادن است .
۳. میزان تولید بالا: پیوسته بودن فرآیند تولید در اکستروژن ها امکان تولید در سطح بالا را فراهم می کند .
۴. کیفیت بالای محصول: اکستروژن به عنوان یک فرآیند دمای بالا و زمان کوتاه محسوب می شود و به همین دلیل بسیاری از ترکیبات حساس به حرارت در طی فرآیند اکستروژن از بین نمی روند .
۵. مخاطره پایین زیست محیطی: با توجه به اینکه فرآیند پخت با اکستروژن در شرایط خشک و در حضور مقادیر کم رطوبت صورت می گیرد همین امر باعث می شود که میزان فاضلاب تولیدی به ازای واحد تولید پایین بوده و هزینه تامین آب و تصفیه فاضلاب پایین آید (برست، ۱۹۸۹، آلتان، ۲۰۰۸ و چنلات و همکاران، ۲۰۱۱).
ترکیبات فرآیند شده در اکستروژن ذرات جامد مرطوب یا سیالات خمیر مانند با ویسکوزیته ی بالا هستند. با چرخش ماریچ، مواد توسط گام ها به سمت خروجی کشیده می شوند. کانال جریان در حد فاصل بین دو سطح ماریچ و پوسته مشخص است. با حرکت مواد، اصطکاک روی هر دو سطح مذکور رخ می دهد. در حالت ایده آل جهت ایجاد نیروی برشی داخلی، اصطکاک در سطح پوسته باید قوی تر باشد. چنانچه به هر دلیلی (مثلا لغزنده بودن سطح پوسته) اصطکاک بین مواد با پوسته ضعیف تر از اصطکاک بین مواد با ماریچ باشد، در نتیجه مواد به ماریچ چسبیده و همراه آن می چرخند بدون آنکه نیروی برشی ایجاد شود. در نتیجه ی این امر مواد به جلو حرکت نخواهند کرد. وجود شیار در سطح پوسته به افزایش اصطکاک بین این سطح و مواد کمک می کند (چن و همکاران، ۱۹۹۱؛ کوروس و همکاران، ۲۰۰۶، هاگنمانا، ۲۰۰۶ و موسکیکی، ۲۰۱۱).

اکستروژن را می توان به ۳ بخش زیر تقسیم نمود

۱- قسمت تغذیه خوراک. در این قسمت یک نقاله ی حلزونی مواد را از ورودی به بخش های بعدی منتقل می کند. در این قسمت تقریباً هیچ فشردگی یا تغییری در توده ی خوراک روی نمی دهد.
۲- قسمت تشکیل بافت. در این قسمت مواد فشرده شده و حرارت می یابند.
۳- قسمت پخت. در این بخش اکثر اهداف فرآیند اکستروژن بواسطه ی نیروی برشی و اختلاط محقق می شوند (ذوب شدن، بافت بندی، ورز دادن، واکنش های شیمیایی و غیره) (استوج سسکا، ۲۰۰۹).

به دلیل فشار بالای موجود در اکستروژن، دمای پوسته به دمای بالاتر از ۱۰۰ درجه سانتیگراد (گاهی ۱۸۰ تا ۲۰۰ درجه سانتیگراد) می رسد. با کاهش ناگهانی فشار در هنگام خروج فرآورده از قالب، مقداری از آب محصول به سرعت

تبخیر شده و در نتیجه محصول پف می کند. درجه ی پف کردن را می توان به وسیله کاهش بخشی از فشار و سرد کردن توده در آخرین بخش از اکسترودر پیش از خروج از قالب کنترل نمود (موسکیکی، ۲۰۱۱).

در جدول ۲-۲ مثال هایی از فرمولاسیون های بعضی میان وعده ها که با استفاده از اکستروژن تولید شده اند گزارش شده اند (آلتان و همکاران، ۲۰۰۸).

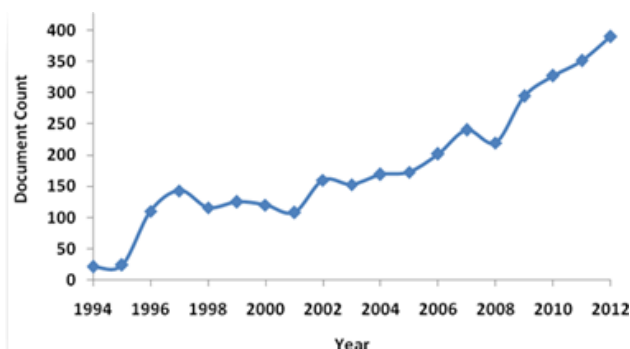
جدول ۲-۱- مثال هایی از فرمولاسیون های بعضی میان وعده های تولیدی با استفاده از اکستروژن

نام عمومی اجزاء ترکیبات	پفک ذرت	میان وعده ذرت وسیب زمینی	میان وعده آرد گندم
بلغور ذرت	۸۰/۷	۵۰	-
گرانول سیب زمینی	-	۲۰	-
نشاسته سیب زمینی	-	۵	-
آرد گندم	-	-	۷۰
گلوتن گندم	-	۲	-
آرد سویا	-	-	۵
روغن گیاهی	۰/۵	۱/۵	۱
آب	۱۶	۱۸	۱۶
مونوگلیسیرید	۰/۳	۰/۳	۰/۳
نمک	۱	۱	۱/۵
مالتودکستترین	-	۵	-
کربنات کلسیم	-	۱/۵	-
شیر خشک و پودر آب پنیر	۱	۲	۲/۵
گلوکز و پپتیدها	۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۱

۱-۸- تنوع و بازار فرآورده های میان وعده و اکسترودر شده

امروزه تولیدکنندگان مواد غذایی به دنبال ایجاد تنوع و عرضه فرآورده های جدید می باشند. بر این اساس انواع مختلف فرآورده های میان وعده و اکسترودر شده نیز تولید شده است که از این بین می توان به میان وعده های پف داده شده بر پایه برنج پوشش دار شده با آب پنیر و فلفل؛ برنج، ذرت و پنیر چدار طبیعی رسیده؛ برنج، ذرت، اسفناج، کلم بروکلی و هویج؛ ذرت، پنیر چدار و روغن کانولا و میان وعده های اکسترودر شده بر پایه سویا، ذرت و پنیر چدار طبیعی رسیده اشاره کرد. همچنین انواع چیپس های حاوی نخودفرنگی شیرین تفت داده شده با پوشش تند فلفلی؛ نخود فرنگی شیرین تفت داده شده با سیر، پونه کوهی و روغن زیتون؛ نخود پوشش دار و سرخ شده و میان وعده حاصل از برنج برشته و سرخ شده تولید شده است (آلتان و همکاران، ۲۰۰۸).

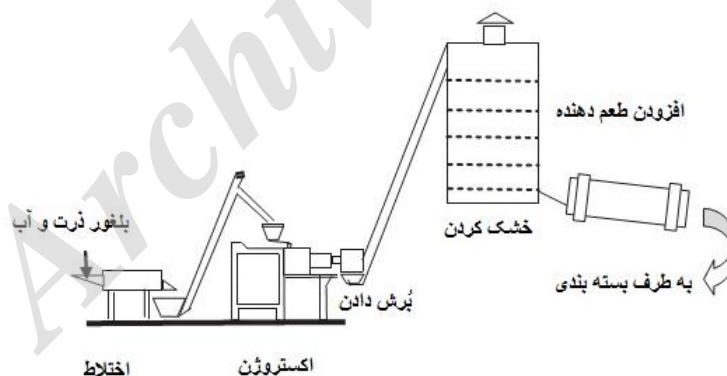
با اینکه برآورد دقیق و قابل اعتمادی از حجم جهانی فروش میان وعده ها وجود ندارد اما در کتاب فرآوری میان وعده های غذایی این مقدار برای سال ۲۰۰۲ بین ۳۰ تا ۳۵ میلیارد دلار برآورده شده است. در مجموع بازار انواع میان وعده ها در سطح جهان رو به گسترش است. به عنوان مثال وضع بازار مواد غذایی میان وعده استرالیا در اشکال و جداول زیر آمده است (استوج سسکا، ۲۰۰۹).



شکل ۲-۱- حجم فروش میان وعده‌ها در سطح خرده فروشی در استرالیا (هزار تن)

در ایران طبق اطلاعات اداره صنایع (۱۳۹۲) ۶۴ واحد تولید پُفک ذرت با ظرفیت اسمی ۶۵,۹۷۷ تن به صورت فعال وجود دارد. همچنین ۳۹ واحد تولید پاپ کورن با مجموع ظرفیت ۲۴,۱۳۹ تن و ۶ واحد تولید چیپس ذرت با مجموع ظرفیت ۸,۲۹۲ تن فعال است. در جدول زیر تعداد و ظرفیت اسمی واحدهای فعال تولیدکننده انواع میان وعده و همچنین ماکارونی آورده شده است (صنعت و معدن، ۱۳۹۲).

اسنک ها پس از عبور از تونل خشک کن وارد دستگاه لعاب زنی یا دیگ درازه می شوند. تمام مواد افزودنی شامل روغن، نمک، پودر پنیر، پودر آب پنیر و رنگ همه در مخازن دو جداره که دارای همزن نیز میباشند و در بین دو جداره آب گرم جریان دارد به صورت هموژن در آمده و با فشار هوا به داخل دیگ درازه اسپری می شوند؛ با گردش دستگاه اسنک لعاب را به خود میگیرند که فشار هوا و چرخش دستگاه باعث میشود که لعاب به طور یکنواخت روی سطح محصول پخش شود. مدت زمان ماند اسنک داخل دستگاه لعاب زنی حدود ۲۲ ثانیه می باشد. آب گرم مورد نیاز مخازن دو جداره توسط المنت حرارتی تامین میشود. اسنک بعد از خروج از دیگ درازه توسط بالابر پلکانی به طرف مخازن بسته بندی هدایت شده و از آنجا وارد دستگاه بسته بندی می شود.



شکل ۲-۲- دیاگرام جریان فرآیند تولید اسنک حجیم ذرت

۱-۸-۱- جاذبه‌های مصرف و استقبال نسل جدید از فرآورده‌های میان وعده اکستروژنشده

پودر پنیر معمولاً حاوی ۲۰ درصد پروتئین و ۳۰ درصد چربی است، که با توجه به میزان لعاب اسنک، این مقادیر در محصول نهائی به ۷ درصد پروتئین و حداقل ۲۳ درصد چربی تنزل می‌یابد. ارزش کالری زائی اسنک حجیم شده با طعم پنیر، در هر ۱۰۰ گرم برابر با ۵۰۰ کیلوکالری است. ارزش کالری زائی اسنک حجیم شده با طعم پنیر، در هر ۱۰۰ گرم برابر با ۵۰۰ کیلوکالری است (دینگ و همکاران؛ ۲۰۰۵).

بدلیل میزان چربی بالای پوشش اسنک‌های موجود در بازار و بواسطه عادات بد غذایی همواره نگرانی در خصوص شیوع چاقی مفرط در افراد وجود دارد. سطح اسنک‌ها به‌طور متداول توسط چربی‌های خوراکی تا ۵۰٪ پوشش‌دار و طعم‌دار می‌شوند. در نتیجه فرآورده‌های با کالری بالا، میزان پروتئین و فیبر ناچیز تولید می‌شوند. لذا برای کاهش میزان چربی و تولید فراورده سالم، استفاده از ترکیبات پری بایوتیک و جایگزین چربی توصیه می‌شود (استوج سسکا، ۲۰۰۹).

با توجه به خصوصیات بافتی و نیز استفاده از مواد طعمی و رنگ‌های جذاب، مصرف این نوع از فرآورده‌ها در بین اقشار مختلف جامعه به ویژه کودکان و نوجوانان از جاذبه زیادی برخوردار است. شواهد موجود از قبیل میزان تولید و فروش، نشان می‌دهد جامعه از این گونه فرآورده‌ها استقبال می‌کند و این استقبال به شدت رو به گسترش است. متأسفانه در ایران در خصوص میزان استقبال نسل جدید از این فرآورده‌ها مطالعه جامع و مدونی صورت نگرفته است و تنها یک گزارش در این زمینه در دسترس است (دراگو، ۲۰۰۷). این تحقیق نیز صرفاً در سطح مدارس راهنمایی و دبیرستان‌های منطقه ۱۳ تهران انجام شده است و نتایج آن نشان می‌دهد ۲۸ درصد دانش‌آموزان مصرف پفک را حتی بر پسته و بادام ترجیح می‌دهند. در هر حال به نظر می‌رسد با گذشت زمان تغییراتی در میزان علاقه‌مندی به این فرآورده‌ها پدید آمده است و این استقبال بیشتر شده است (آزادبخت، ۱۳۸۲).

۱-۸-۲- نگرش منفی نسبت به مصرف برخی از فرآورده‌های میان وعده موجود در بازار داخلی

بدلیل میزان چربی بالای پوشش اسنک‌های موجود در بازار و بواسطه عادات بد غذایی همواره نگرانی در خصوص شیوع چاقی مفرط در افراد وجود دارد. سطح اسنک‌ها به‌طور متداول توسط چربی‌های خوراکی تا ۵۰٪ پوشش‌دار و طعم‌دار می‌شوند. در نتیجه فرآورده‌های با کالری بالا، نمک بالا، میزان پروتئین و فیبر ناچیز تولید می‌شوند. با توجه به برخی آثار سوء تغذیه‌ای بعضی از میان وعده‌های موجود در بازار، حساسیت زیادی در خصوص مصرف آنها به ویژه چیپس سیب‌زمینی و پفک در جامعه وجود دارد به طوری‌که عرضه و فروش برخی از آنها در سطح مدارس ممنوع اعلام شده است. این موضوع خود اهمیت پژوهش در زمینه تولید فرآورده‌های جایگزین و سالم را در این زمینه نشان می‌دهد (آزادبخت، ۱۳۸۲).

۱-۸-۳- ضرورت تولید فراورده های غذایی فراسودمند

اقتضای مختلف جامعه، تمایل زیادی به مصرف مواد غذایی سلامتی زا و کم چربی دارند و به همین دلیل تولید این دسته از مواد غذایی به شدت در حال افزایش است. تغذیه ی صحیح کودکان نوعی سرمایه گذاری در جهت سالم سازی آنها در سنین بالا می باشد. توجه به تغذیه صحیح و جلوگیری از تاثیر تبلیغات سوء در جهت تغییر ذائقه کودکان در بلند مدت، تاثیر بسزایی در جامعه دارد. نظر به صنعتی شدن جوامع و سهم بالای تولیدات صنعت غذا در تغذیه مردم، اطمینان حاصل کردن از کیفیت تغذیه ای و بهداشت آن اهمیت فراوان دارد.

از این میان غذاهای فراسودمند (عملگر) جدید از یک طرف فرصت خوبی برای توسعه کیفیت غذاها در دسترس مصرف کنندگان ایجاد نموده و از طرف دیگر باعث رشد صنعت در جوامع مدرن شده است. بطور کلی، یک ماده غذایی هنگامی وظیفه خود را انجام میدهد که، علاوه برمنافع مغذی ذاتی، ثابت شود که یک یا چند وظیفه مورد نظر در بدن مرتبط با سلامتی یا کاهش خطر بیماریها را ایفا میکند. امروزه، معروفترین غذاهای عملگر آنهایی هستند که شامل پرو / پری بیوتیک میباشند.

۱-۸-۴- چالش های پیش رو در تولید فراورده های غذایی فراسودمند (عملگر)

ورود پروبیوتیک ها در ماتریس های غذایی و زنده نگه داشتن آن ها در طول دوره نگهداری مواد غذایی چالشی مهم محسوب می گردد. محصولات خشک اغلب در دمای اتاق نگهداری شده و بنابراین غلات یا شکلات های پروبیوتیک باید در این دما نیز قابلیت زیست مناسب داشته باشند (رانادھیرا و همکاران، ۲۰۱۰).

آزاد شدن مواد اینکپسوله شده با سرعت کنترل شده حائز اهمیت می باشد. آزاد سازی کنترل شده بدین معنی است که باکتریها بر اثر مواجهه با شرایط نامساعد ضایع نخواهند شد؛ ریزپوشانی یک روش فیزیکی شیمیایی و یا مکانیکی است که در آن ذرات دارای مواد فعال، جهت حفاظت توسط یک لایه از مواد دیگر پوشش داده می شوند.

از میان مواد غذایی، تنقلات با تنوع و گستردگی زیاد (فراورده های حجیم شده ، انواع بیسکویت، شکلات، تافی، چیپس، انواع مغزهای آجیلی، نوشیدنیها و میوه) جایگاه ویژه ای به خصوص در بین کودکان و نوجوانان دارند. از این رو می توانند هدف بسیار مهمی برای جهت بخشیدن به اصلاح نواقص تغذیه ای باشند (آنتون، ۲۰۰۷، گرگوری، ۲۰۱۱ و اسمیت، ۲۰۱۴).

۱-۹- جایگزین های چربی

اقشار مختلف جامعه، تمایل زیادی به مصرف مواد غذایی سلامتی زا و کم چربی دارند و به همین دلیل تولید این دسته از مواد غذایی به شدت در حال افزایش است.

مصرف بیش از حد چربی ها و روغن ها در رژیم غذایی، منجر به افزایش خطرات سلامتی و چاقی گشته است؛ لذا تقاضا برای مواد غذایی کم کالری با طعم و بافت مناسب در حال افزایش می باشد. به منظور حل برخی از مشکلات مربوط به حذف یا کاهش چربی، از طریق روش هایی همچون حذف به روش مستقیم، بهینه سازی فرمولاسیون، تغییر در روش فرآوری و روش جامع، یکی از معمول ترین استراتژی ها استفاده از جایگزین های چربی بر پایه کربوهیدرات، پروتئین و چربی می باشد؛ که نتایج حاصله بیانگر امکان استفاده از جایگزین های چربی به منظور تولید مواد غذایی کم کالری با بافتی مشابه محصولات پرچرب است.

استفاده از ترکیبات جایگزین چربی روشی موثر به منظور جبران ویژگی های عملکردی و حسی چربی در محصولات غذایی کم چرب بوده و باعث افزایش پذیرش این محصولات توسط مصرف کنندگان می گردد (نوربخش و همکاران، ۲۰۱۳). جایگزین های چربی، مواد کربوهیدراتی یا پروتئینی بوده و توانند ویژگی های عملکردی و حسی چربی را تقلید کنند؛ توانایی جایگزینی چربی اینولین و نشاسته اصلاح شده به قابلیت اتصال آنها به مولکول های آب و تشکیل شبکه ژلی نسبت داده شده است (لیندسای، ۲۰۰۰).

۱-۱۰- ترکیبات مورد استفاده به عنوان جایگزین چربی

۱) جایگزین چربی بر پایه استرها و اترها مثل ، اولستر، امولسیفایرها، روغن ژوژوبا؛
۲) جایگزین چربی بر پایه کربوهیدرات مانند نشاسته اصلاح شده، مالتودکستران، ضمغها و ...
جایگزین های چربی کربوهیدراتی اصولاً از نشاسته های اصلاح شده دکسترین های نشاسته نشاسته های پایدار پلی دکستروز اینولین و صمغ ها هستند. تاثیر اصلی این مواد بر حرکت آب درونی مواد غذایی است که در آنها مورد استفاده قرار گرفته اند.

به عنوان مثال نشاسته به عنوان ماده اولیه در بسیاری از رشته های صنایع غذایی استفاده می شود که برای هر مورد نشاسته خاص آن مناسب است. در تولید، دکستروز، دکسترین، گلوکز مایع و سایر انواع سیروپ، ماده اولیه اصلی نشاسته است و برای بسیاری دیگر از رشته های صنایع، برای نقشی که در بهبود ویژگی های فیزیکی، بالا بردن ثبات سیستم های کلوئیدی و اثر غلظت دهنده دارد از آن استفاده می شود. در پودرهای نانوائی و مواد بهبود دهنده پخت به عنوان پرکننده یا پرکننده و جلوگیری از واکنش های شیمیایی بین بیکربنات و اسید پیش از ساختن خمیر، در سس ها برای حفظ امولسیون روغن و سرکه و جلوگیری از دو فاز شدن سیستم، در بیسکویت و کراکر برای بهبود بافت و تردی فرآورده و کنترل PH ، در صنایع پخت پیش از قالب گیری و برای جلوگیری از چسبیدن خمیر به قالب، در تولید انواع

سوپ به عنون غلظت دهنده و در صنایع کنسروسازی، صنایع گوشت، صنایع غذاهای منجمد، بیسکویت سازی، کیک سازی و نیز کاکائو، بستنی، آدامس، قهوه، شیر کندانسه و خردل از نشاسته استفاده می شود.

۳) جایگزینهای چربی بر پایه پروتئین مانند تخم مرغ، پودر آب پنیر، ژالتین، سویا و گلوتن گندم.

پروتئین ها به منظور این جایگزینی، حرارت دیده و سپس به طور شدید در مخلوط کن چرخانده می شوند تا در نهایت ذرات بسیار ریزی به نام "ریز ذره" از این پروتئین ها ساخته شوند. این دسته از پروتئینهای آب پنیر، شیر و تخم مرغ حاصل می شوند که ۴-۱ کیلو کالری به ازای هر گرم استفاده از آنها به همراه دارند. ریز ذرات حاصل شده پروتئینی، ذرات ریز و گردی اند که می توانند احساس دهانی مطلوب و مشابه چربی را ایجاد کنند. این گروه عموماً آمیخته با آب اند و در مقادیر کمتر از چربی می توانند بکار روند مثلاً می توان ۱ گرم از جایگزین های چربی بر پایه پروتئین را می توان جایگزین ۳ گرم از چربی کرد. این گروه برای استفاده در غذاهای سرخ شده نامناسب اند اما در صنایع لبنی مثل بستنی بدون چربی، دسر های منجمد و میلک شیک ها استفاده دارند (آرسیا، ۲۰۱۱).

مخلوط پروتئین گروه دیگری از این دسته جایگزین هاینده که مخلوطی از پروتئین های گیاهی و جانوری، صمغ، نشاسته غذا و آب است که در دسر های منجمد و صنایع نانوائی بکار میروند. کنسانتره پروتئین آب پنیر یکی از مقلدهای چربی است و به طور وسیعی در امولسیون ها با چربی کاهش یافته، به تنهایی و یا در حضور سایر مقلدهای چربی، بکار می رود. کنسانتره ای که عموماً استفاده می شود، کنسانتره آب پنیر ۳۴ و ۸۰ می باشد (دارای ۳۴ و ۸۰٪ پروتئین). خواص عملکرد متنوع و مشابه چربی را مثل تشکیل ژل، تشکیل امولسیون، جذب آب، ویسکوز کردن و چسبندگی را از خود نشان می دهند (عزیز نیا و همکاران، ۲۰۰۸).

نتایج پژوهشهای انجام گرفته نشان می دهد که ترکیبات اینولین با درجه پلیمریزاسیون بالای ۱۰ در محیط های حاوی آب به صورت میکروکریستالها و یا تکه های کوچک ژل حل می گردند و منجر به تشکیل ساختمان کرمی، با بافت قابل گسترش می شود که براحتی می توان آن را به عنوان جایگزین چربی در مواد غذایی استفاده کرد، این میکروکریستالها در دهان احساس دهانی چرب ایجاد می کنند (کیم و همکاران، ۲۰۰۱)، از این خاصیت در تولید ماست بدون چربی، شکلات، پنیرهای تقلیدی، بستنی و سوسیسهای تخمیری کم چرب استفاده شده است و نتایج بدست آمده حکایت از عدم تغییر در خواص ارگانولپتیکی محصولات تولید شده دارد (برنان و همکاران، ۲۰۰۸ و تایدوما و همکاران، ۲۰۱۱ و کریم و همکاران، ۲۰۱۵).

۱۱-۱- ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون درآژه

فرآیند پوشش دهی اسنک (لعاب)، شامل تهیه خمیر از پودر پنیر و اسپری کردن آن روی سطح اسنک است. رایج ترین فرآیند در تهیه پودر پنیر، مخلوط کردن انواع پنیرها با طعم های مختلف با سایر طعم دهنده ها (پودر گوجه فرنگی، پودر پیاز، پودر سیر، خردل) آب، رنگ و نمک های پایدارکننده است تا بدین ترتیب کنسانتره آن به دست آید. کنسانتره سپس به وسیله خشک کن های پاششی توسط جریان هوای گرم خشک می شود و پودر حاصل می شود. از

آنجا که بازار اسنک‌های با طعم پنیر رو به گسترش است. امروزه برای کاهش هزینه، کنساتره‌های حاصل از پنیر تغییر یافته با آنزیم با آب پنیر، شیر پس چرخ، روغن‌های گیاهی هیدورژنه شده، جایگزین طعم‌دهنده‌های مشتق شده از پنیر می‌شوند. همچنین ترکیبات اصلی غیرلبنی مانند (مال‌تو دکسترین، چربی گیاهی) برای کاهش بیشتر هزینه مورد استفاده قرار می‌گیرند (گلد، ۲۰۰۱).

طعم دهنده‌های بر پایه لبنیات و پنیر برای ایجاد طعم مناسب در اسنک‌ها کاربرد دارند امروزه از طعم دهنده‌های مشتق شده از پنیر، در کراکرها، چیپس سیب زمینی و اسنک حجیم شده و اکستروود شده به طور گسترده استفاده می‌شود انتخاب اسنک توسط مشتری، بر اساس طعم آن انجام می‌شود

به‌طور مثال اگر طعم ملایم پنیر، مناسب و موردپسند مشتری است پنیر موتزارلا در فرمولاسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای تأمین طعم تند پنیر، از پنیر پارمان و پنیر چدار یا از پنیرهای تغییر یافته توسط آنزیم استفاده می‌شود. شدت طعم به میزان پنیر در پودر پنیر بستگی دارد. ادویه نیز برای کامل کردن و شکل ظاهری پودر پنیر استفاده می‌شود. تشدیدکننده‌های طعم مثل منوسدیم گلوآمات و عصاره مخمر نیز در ترکیب پودر پنیر می‌تواند استفاده شوند. نمک موجود در پودر پنیر در طعم محصول مؤثر است. همچنین به‌عنوان حاملی برای سایر طعم‌دهنده‌های موجود عمل می‌کند. علاوه بر این، نمک به‌عنوان تشدیدکننده یا تعدیل‌کننده طعم نیز کاربرد دارد (گلد، ۲۰۰۱).

بیشتر اسنک‌های نمکی حدود دو درصد کلریدسیدیم دارند. اندازه و شکل نمک در قابلیت پخش طعم‌دهنده در سطح اسنک مؤثر است. شکل ظاهری و چسبندگی پوشش (لعاب)، به سطح اسنک نیز تحت‌تأثیر نمک قرار می‌گیرد. کریستال‌های درشت نمک به آهستگی حل می‌شوند. بنابراین اسنک حاصل در مقایسه با اسنک پوشش داده شده با کریستال ریزنمک، طعم کمتری دارد.

رنگ پودر پنیر از سفید تا نارنجی متفاوت است. انتخاب رنگ بستگی به سابقه تولیدکنندگان دارد. رنگ‌های مورد استفاده ممکن است با منشأ گیاهی (فلفل، بتاکاروتن و ...) یا با منشأ مصنوعی (رنگ‌های توصیه شده توسط FD&C مانند سان ست‌بلو) باشند، که محصولی با ظاهر شفاف و رنگ پایدار ایجاد می‌کنند. در اسنک‌های سرخ شده طعم‌دهنده‌های محلول در روغن، به طعم‌دهنده‌های محلول در آب ترجیح داده می‌شوند.

۱-۱۲- فاکتورهای کلیدی در طول عملیات درآژه رنی

از آنجا که سوسپانسیون از تانک نگهداری به سمت دیگ لعاب‌زنی کشیده می‌شوند، لذا دانسیته، اندازه ذرات، شکل ذرات و میزان ته‌نشین شدن پودر پنیر، فاکتورهای مهمی هستند که باید مورد توجه قرار گیرند تا از گرفتگی سوراخ نازل‌های پاشش درآژه جلوگیری شود. در این صورت پوشش غیریکنواخت در سطح اسنک ایجاد می‌شود.

اندازه ذرات پودر ادویه با میزان روغن اسنک در ارتباط است. برای مثال، اندازه ذرات پودر ادویه مناسب برای چیپس سیب‌زمینی با میزان روغن ۳۶۳۸ درصد وزنی، باید معادل Mesh ۴۰۱۰ باشد تا مناسب‌ترین حالت چسبندگی حاصل شود. ولی اسنک با میزان روغن کمتر مثلاً حدود ۲۳۲۵ درصد وزنی، به ذرات ریزتر نیاز دارد.

تجهیزات مربوط به اسپری کردن باید طوری طراحی شوند که پخش لعاب در سطح اسنک مناسب باشد. نقض تغذیه‌ای پودر پنیر در اسنک با توجه به پائین بودن میزان کاربرد آنها (۱۰ درصد) تقریباً معنادار نیست. آزمون‌های کنترل کیفی، ارزیابی حسی و اندازه‌گیری مقدار رطوبت، پروتئین، چربی، نمک را در اسنک دربر می‌گیرد.

۱-۱۳- تاکید جهانی بر افزایش سلامتی زای انواع اسنک

افزایش آگاهی از سلامت مصرف کنندگان و افزایش تقاضای عمومی برای غذاهای سالمتر، توسعه محصولات جدید را در دنیای تجارت کنونی به دنبال داشته است. در صنعت تولید اسنک چالش پیش رو شامل اصلاح فرمولاسیون پایه اکستروژن ها و پوشش آنها می باشد. انواع اسنک حجیم و بویژه پوشش طعم دهنده (دراژه) به اصطلاح پوشش پفک، دارای پتانسیل مناسب برای بهبود ویژگی های تغذیه ای، حمل باکتری های پروبیوتیک و تولید فراورده های غذایی فراسودمند (سین بیوتیک کم چربی) می باشند.

از رویکردهای پژوهشی و صنعتی در بازار اسنک های فراسودمند توجه به عوامل زیر می باشد.

- عرضه فراورده کم چرب
- عرضه فراورده کم کالری (با کمترین میزان اندیس گلیسمیک)
- عرضه فراورده فراسودمند (کاربرد ویتامین، مواد معدنی و پروبیوتیک ها در فرمولاسیون)
- کاربرد طعم دهنده های طبیعی
- کاهش میزان سدیم در فراورده فراسودمند
- کاهش میزان مونو سدیم گلوتامات در فراورده فراسودمند

بنابراین، هدف پژوهش، ارزیابی ویژگی پری بیوتیک اینولین استحصالی از منبع بومی سیب زمینی ترشی به منظور کاربرد در فرمولاسیون پوشش طعم دهنده کم چرب اسنک های حجیم موجود در بازار بوده تا در ارتقای سلامت جامعه موثر باشد. ورود پروبیوتیک ها در ماتریس های غذایی و زنده نگه داشتن آن ها در طول دوره نگهداری مواد غذایی چالشی مهم محسوب می گردد. از این رو، از تکنیک ریزپوشانی به منظور افزایش پایداری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و غلظت های مختلف مخلوط طعم‌دهنده شامل اینولین، نشاسته اصلاح شده (۱۰-۰ درصد) به عنوان ترکیب پری بیوتیک و جایگزین چربی روغن خوراکی در فرمولاسیون پوشش خوراکی عملگر (سین بیوتیک) اسنک حجیم استفاده خواهد شد.

فصل دوم
منابع مطالعاتی موضوع و
مبانی نظری پژوهش

Archive of SID

۱-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه تأثیر پری بیوتیک ها بر رشد و تولید متابولیت باکتری های پروبیوتیک و پاتوژن روده ای در شرایط *In vitro*

لی و همکاران (۲۰۰۹)، تأثیر پری بیوتیکی اینولین بدست آمده از ریشه گیاه بابا آدم را بر رشد و فعالیت ATCC 15703 *B.adolescentis* مورد بررسی قرار دادند، طی این بررسی اینولین بابا آدم سبب افزایش رشد بیفیدوباکتریوم و کاهش pH محیط شد.

همچنین آنها در این تحقیق با استفاده از تغییرات pH به این نتیجه رسیدند که مصرف اینولینهای مختلف توسط پروبیوتیکها وابسته به درجه پلی مریزاسیون زنجیره های فروکتوالیگومریک است، بطوریکه باکتری بیفیدوباکتریوم اینولین های کوتاه زنجیره (بدست آمده از ریشه بابا آدم و کاسنی) با DP=12 و FOS با درجه پلی مریزاسیون حدود ۴/۵ را نسبت به اینولینهای با زنجیره های بلندتر بهتر مورد استفاده قرار می دهد.

بر طبق نظریه روبرفریود (۲۰۰۵) عوامل موثر بر توانایی پروبیوتیک ها در تخمیر پلی ساکاریدها ی پری بیوتیک عبارتند از:

ساختار شیمیایی و ترکیب واحدهای مونومری تشکیل دهنده، DP و ساختار خطی یا انشعابی ممکن که سبب حلالیت بیشتر ترکیبات پری بیوتیک در آب و در نتیجه استفاده بهتر پروبیوتیک ها می شود.

ویجانچات و همکارانش (۲۰۱۰) تأثیر پری بیوتیکی الیگوساکاریدهای استخراج شده از میوه پیتایا را بر روی رشد و فعالیت *B.bifidum* و *L.delbrueckii* مورد بررسی قرار دادند.

طی آن تعداد باکتریهای لاکتوباسیل با مصرف الیگوساکارید پیتایا در طی مدت ۴۸ ساعت از 9×10^7 به 6×10^9 cell/ml رسید، اگرچه که این گونه با مصرف اینولین رشد بیشتری داشته اما نسبت به الیگوساکارید پیتایا اختلاف معنی داری نداشت.

همچنین در این تحقیق تعداد باکتریهای بیفیدوباکتریوم با مصرف این پری بیوتیک از 1.7×10^8 به 2.5×10^9 رسید که نشان دهنده ویژگی پری بیوتیکی الیگوساکارید بدست آمده از میوه پیتایا می باشد که این می تواند سبب بکارگیری این ترکیب بعنوان یک پری بیوتیک در فرآورده های غذایی عملگر باشد.

رادا و همکاران در سال ۲۰۰۸ تأثیر پری بیوتیکی اینولین کاسنی، رافینوز، استاکیوز، لاکتولوز، الیگو فروکتوز، گالاکتوالیگوساکاریدها را بر روی رشد ۵ گونه بیفیدوباکتریوم با اندازه گیری میزان شدت رشد ویژه (μ) و زمان دو برابر شدن (tg) باکتریها مورد بررسی قرار دادند.

همچنین در این پژوهش آنها به اثربازدارندگی بیفیدوباکتریوم بعنوان یک پروبیوتیک و اینولین بعنوان یک ترکیب پری بیوتیک بر روی رشد و فعالیت کلاستریدیوم پی بردند.

اولیویرا و همکارانش در سال ۲۰۱۱ تأثیر استفاده همزمان چند گونه پروبیوتیک لاکتوباسیل، بیفیدوباکتریوم و استرپتوکوکوس را در حضور پری بیوتیک های مختلف حین تولید شیر تخمیری بررسی کرده، نرخ تولید اسید و میزان زنده مانی سویه ها را در شرایط مشخص، تعیین نمودند. محصول تولید شده (نگهداری شده در دمای 4°C به مدت ۲۴ ساعت) حاوی درصد بالاتری از پروبیوتیکها بود و سویه های بیفیدوباکتریوم لاکتیس در میان سایر باکتری ها بالاترین میزان زنده مانی را نشان دادند.

هولت و همکاران در سال ۲۰۰۵ تأثیر ۵ نوع از الیگوساکاریدها را بر رشد گونه های مختلفی از پروبیوتیک ها و پاتوژن های روده ای از جمله لاکتوباسیلوس ها، بیفیدوباکتریوم و کلی فرم ها، کلاستریدیوم و... بررسی نمودند. بیشتر

گونه های بیفیدوباکتریوم در حضور الیگوساکاریدها رشد مناسبی داشتند درحالی که کلی فرم ها و پاتوژن ها رشد نکرده یا بسیار کم رشد نمودند.

طی مطالعات کراسکوپتوهمکاران (۲۰۰۶)، توانایی تخمیر انواعی از فیبرهای رژیمی توسط پروبیوتیکها و سایر باکتریهای روده ای در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. نتایج نشان داد که باکتریهای اشریشیاکلی برخلاف پروبیوتیک ها قادر به تخمیر بسیاری از انواع فیبرهای رژیمی و استفاده از آنها نمی باشند.

یاداو وهمکاران (۲۰۰۷) تاثیر مواد مغذی مختلف را در محیط های حاوی فروکتوالیگوساکارید (به عنوان تنها منبع کربنی) بر رشد پروبیوتیکها و نیز *E.coli* بررسی کردند. نتایج حاصله نشانگر کاهش رشد باکتری های اشریشیاکلی به طور معنی دار بود.

قدوسی و همکاران(۲۰۰۷)، ویژگیهای پری بیوتیکی ترکیبات الیگوساکارید و تولید گاز را در شرایط *In vitro* بررسی نمودند، ترکیبات کربوهیدرات شامل اینولین، FOS، پلی دکستروز (POL) و ایزو مالتوالیگوساکارید (ISO) بودند. براساس مطالعات آنها FOS به تنهایی و ترکیب FOS+IN دارای تاثیر پری بیوتیکی بسیار خوبی در رشد بیفیدوباکتریها و لاکتوباسیلها بودند و همچنین POL و ISO دارای اثر کمتری نسبت به ترکیبات ذکر شده می باشند. در مورد توانایی کلی فرمها برای مصرف الیگوساکاریدهای پری بیوتیک مطالعات مختلفی انجام گرفته است. طی تحقیقات ونگ و همکاران (۲۰۰۶) پری بیوتیک FOS سبب تحریک رشد اشریشیاکلی، انتروباکتر و سالمونلا شد. این در حالیست که سایر محققین نظیر هیداکا در سال ۱۹۸۶ و میتسوکا در سال ۱۹۸۷ و بیلی در سال ۱۹۹۱ و مونسان و پائول در سال ۱۹۹۷ خلاف این مطلب را ثابت کردند. نتایج آزمایشات ونلایر و همکارانش در سال ۲۰۰۰ نشان داد که آرابینوالیگوساکاریدها بر خلاف FOS ها می تواند مورد مصرف *E. coli* قرار گیرند بنابراین میتوان گفت که توانایی استفاده باکتریهای کلی فرمها از جمله اشریشیاکلی از الیگوساکاریدهای پری بیوتیک به شرایط محیط و نوع گونه باکتری (از نظر داشتن هیدرولازها و آنزیمهای گلیکوزیدی مورد نیاز) بستگی دارد.

طی مطالعات اولیویرا و همکاران (۲۰۱۱)، تاثیر افزایش اینولین بر رشد و فعالیت سویه بیفیدوباکتریوم لاکتیس و گونه هایی از لاکتوباسیل ها در شیر پس چرخ تخمیر شده بررسی گردید. همچنین تغییرات پدید آمده در خواص کیفی فراورده مورد مطالعه قرار گرفت. افزودن اینولین به فراورده در تمام انواع کشتها (کشت باکتریها به صورت خالص، دوتایی و کشت همزمان تمام سویه ها) نسبت به نمونه های فاقد اینولین موجب کاهش زمان تکثیر سلولی برای تمام گونه ها گردید.

در ایران و طی دهه اخیر پژوهش های خوبی در زمینه معرفی منابع بومی غنی از اینولین و ارزیابی ویژگی پری بیوتیکی پلی فروکتانهای استحصالی انجام گرفته است (میلانی و همکاران، ۲۰۱۱).

پژوهش نهاردانی و همکاران (۱۳۹۲)، با هدف استخراج اینولین از گیاه کاسنی چندساله با منشأ غیر بومی و مقایسه اینولین استخراجی با نمونه اینولین تجاری صورت گرفت. افزایش رشد و فعالیت باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus casei* و باکتری پاتوژن *Escherichia coli* تحت تاثیر اینولین استخراجی در درصدهای مختلف ۰، ۱ و ۲ درصد مورد بررسی قرار گرفته و با اینولین خالص تجاری، گلوکز و فروکتوز مقایسه گردید. نتایج تغییرات جذب سنجی و بررسی رشد و زنده مانی سلول های باکتریایی نشان داد که سطح ۲ درصد نمونه های اینولین در افزایش دانسیته سلولی و افزایش رشد و بقاء (افزایش تقریبی ۱ Log) باکتری پروبیوتیک موثرتر بودند، در حالی که سطح ۲ درصد گلوکز و فروکتوز موجب افزایش بیش تر رشد و تکثیر اشریشیاکلی گردید

۲-۲- پژوهش های انجام شده در زمینه مقایسه اندیس پری بیوتیکی ترکیبات مختلف

فوکس و همکاران (۲۰۰۲)، تأثیر ترکیب پری بیوتیک های مختلف با چند گونه پروبیوتیک (لاکتوباسیل و بیفیدوباکتری) را بر رشد و فعالیت باکتری های پاتوژن روده ای از جمله اشیریشیاکلی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که استفاده از چنین ترکیبی، میتواند بر این پاتوژنها اثر ممانعت کننده داشته باشد. البته این تأثیر به نوع کربوهیدرات استفاده شده (به عنوان پری بیوتیک) نیز وابسته است. پری بیوتیک های به کاررفته در این تحقیق، الیگوفروکتوز (FOS)، اینولین، زایللو-الیگوساکارید (XOS)، مخلوط FOS+XOS و IN+FOS بودند.

روبرفریود (۲۰۰۵)، نوعی اینولین با وزن مولکولی بالا را از کنگر فرنگی و کاسنی استخراج نموده و تأثیر پری بیوتیکی آن را بر گونه های اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم و اشیریشیاکلی با اینولین کاسنی و نمونه های بدون اینولین، در شرایط آزمایشگاهی مقایسه نمودند. نتایج حاصله نشان داد رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در حضور اینولین هر دو گیاه یکسان و بیشتر از نمونه های کنترل بود. لاکتوباسیلوس ها در حضور اینولین استخراج شده از کنگر فرنگی نسبت به کاسنی و تیمار کنترل، رشد بیشتری داشتند. همچنین تعداد کلنی های اشیریشیاکلی در حضور اینولین کنگر فرنگی نسبت به اینولین کاسنی، کمتر بود.

طی مطالعاتی بیتریز و همکاران (۲۰۰۵) تأثیر پری بیوتیکی تعدادی از فروکتانها از جمله فروکتوالیگوساکاریدها (FOS, DP:۲-۴)، الیگوفروکتوز (OF, DP:۲-۸) و چند نوع اینولین با درجات مختلف پلیمریزاسیون را بر رشد گونه های بیفیدوباکتریوم بررسی و با نمونه های کنترل حاوی لاکتوز مقایسه نمودند.

آزمون در شرایط آزمایشگاهی و نیز بر روی موشهای زنده انجام شد نتایج نشان داد که بین گونه های مختلف این باکتری، بیفیدوباکتریوم لانگوم و بیفیدوباکتریوم انیمالیس به میزان ۲-۵ برابر بیشتر رشد کردند. همچنین مشاهده شد که رشد سوبه ها در حضور FOS، OF و اینولین های با درجه پلیمریزاسیون کمتر و خلوص بالاتر، بهتر بود.

قدوسی و همکاران (۲۰۰۷)، تأثیر افزایش اینولین، فروکتوالیگوساکارید (FOS)، پلی دکستروز (POL) و ایزومالتوالیگوساکاریدها (ISO) را به تنهایی و در ترکیب با هم، بر جمعیت سوبه های مدفوعی به دست آمده از سه فرد داوطلب سالم مطالعه نمودند. تیمارهای حاوی FOS و تیمارهای حاوی مخلوطی از اینولین و FOS (۵۰:۵۰)، بعد از ۲۴ ساعت تخمیر، بیشترین جمعیت بیفیدوباکتری را داشتند. بالاترین میزان لاکتوباسیلها در حضور FOS و مخلوط FOS + POL مشاهده گردید.

لی و همکاران (۲۰۰۷) نیز خصوصیات پری بیوتیکی اینولین استخراج شده از گیاه بابا آدم را در شرایط آزمایشگاهی و در نمونه های زنده (موش) با اینولین کاسنی، اینولین بلند زنجیره و فروکتوالیگوساکاریدها مقایسه گردید. گونه های بیفیدوباکتری در این آزمون مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که افزودن غلظتهای خاصی از اینولین گیاه بابا آدم قادر به افزایش رشد بیفیدوباکتری ها می باشد و میزان کاهش pH حاصل از فعالیت این باکتری ها مشابه اینولین کاسنی و FOS است.

رادا و همکاران (۲۰۰۸)، تأثیرات پری بیوتیکی چند نوع الیگوساکارید از جمله اینولین، رافینوز، لاکتولوز، استاکیوز و گالاکتوالیگوساکاریدها را بر رشد بیفیدوباکتری و کلستریدیا، در شرایط آزمایشگاهی و بر روی نمونه های زنده با هم مقایسه کردند.

گونه های بیفیدوباکتری در حضور گالاکتوالیگوساکاریدها بالاترین میزان رشد را داشتند در حالی که رشد کلستریدیوم ها در محیط حاوی رافینوز و لاکتولوز بیشتر بود. اینولین و استاکیوز نیز میزان رشد بیفیدوباکتری را افزایش دادند.

بور و همکاران (۲۰۱۰)، خصوصیات پری بیوتیکی ترکیبات شامل مانان الیگوساکارید، گالاکتوالیگوساکارید و اینولین در شرایط آزمایشگاهی و شرایط روده (گونه ای از ماهی) بررسی گردید. نتایج آنالیز، تفاوت قابل ملاحظه ای در جمعیت میکروبی نشان نداد.

ویچین شات و همکاران (۲۰۱۰)، الیگوساکاریدهای گیاه پی تایا (Dragon fruit) را استخراج کرده، سپس خصوصیات ترکیب استخراج شده و نیز تأثیرات پری بیوتیکی آن را بر رشد و فعالیت گونه های لاکتوباسیل و بیفیدو باکتريا با اینولین تجاری مقایسه نمودند. سوبه های بیفیدو باکتري در حضور الیگوساکاریدهای پی تایا در طول ۷۲ ساعت، نسبت به اینولین تجاری افزایش رشد کمتری داشت که البته این تفاوت، چندان قابل ملاحظه نبود.

نوربخش و همکاران (۱۳۹۲) تأثیر بتافروکتان های شنگ در غلظت های مختلف صفر، ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی-حجمی را برافزایش رشد و فعالیت باکتري های بیفیدوباكتريوم بیفیدوم و اشرشیاکلی طی ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری مورد بررسی قرار داده و با اینولین تجاری (اینولین HP) مقایسه نمودند. این بررسی آزمایشگاهی نشان داد که میزان مصرف بتافروکتان ها توسط سوبه پروبیوتیک و اشرشیاکلی به درجه پلی مریزاسیون زنجیره های فروکتوالیگومری بستگی داشته و این باکتريها بتافروکتان های شنگ کوتاه زنجیره را با اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) نسبت به اینولین HP بلند زنجیره بهتر مورد مصرف قرار می دهند. همچنین در مورد هر دو باکتري، بین محیط حاوی اینولین HP (غلظت های ۳ و ۲ درصد) و محیط کنترل اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($P > 0.05$) که این نتایج نشان دهنده عدم تخمیر این ترکیب پری بیوتیک در این غلظت ها توسط این باکتري ها می باشد، این در حالیست که غلظت های ۰/۵ و ۱ درصد این ترکیب پری بیوتیک با اختلاف معنی داری نسبت به محیط کنترل، تأثیر خوبی بر رشد باکتريها از خود نشان دادند. همچنین بتافروکتان های شنگ در غلظت ۲ درصد تأثیرات بیشتری در رشد و فعالیت متابولیکی سوبه پروبیوتیک نسبت به اشرشیاکلی از خود نشان دادند ($P < 0.05$).

در پژوهش کمالی و همکاران (۱۳۹۳)، اثر پری بیوتیکی اینولین (استخراجی از کاسنی و سیب زمینی ترشی و همچنین اینولین استاندارد آزمایشگاهی)، گلوکز و نمونه بدون کربوهیدرات بر مقاومت در دو گونه لاکتوباسیلوس به منظور O157:H به صفرا و بازدارندگی بر اشرشیاکلی بررسی شد. نتایج نشان داد که اینولین استخراجی میتواند بر افزایش مقاومت دو لاکتوباسیلوس به نمک های صفراوی موثر باشد. در عین حال با افزایش غلظت صفرا از این اثر کاسته شد و زنجیر های بلندتر اینولین اثر کمتری از گلوکز داشتند. با وجود اینکه گلوکز دارای بازدارندگی بیشتری بر اشرشیاکلی بود، اینولین کاسنی و استاندارد نیز بازدارندگی قابل قبولی داشتند. اینولین سیب زمینی ترشی با بالاترین درجه پلیمریزاسیون کمترین اثرات را نشان داد.

۲-۴- پژوهش های انجام شده در زمینه کاربرد اینولین و نشاسته اصلاح شده به عنوان ترکیب پری بیوتیک در صنایع غذایی

یوسفی و همکاران (۱۳۹۵)، ریزپوشانی پروبیوتیک ها با روش امولسیون را در تولید نان پروبیوتیک بررسی نمودند. تهیه نان پروبیوتیک حاوی باکتري های زنده گسترش به دلیل حرارت بالای پخت نان و مرگ پروبیوتیک ها در طول پخت، چندان نیافته است. در این تحقیق، باکتري لاکتوباسیلوس پلانتروم ۷ با غلظت های مختلف آلژینات سدیم و نشاسته ذرت ریزپوشانی شد. مطابق نتایج، ریزپوشانی تأثیر معنی داری در زنده مانی پروبیوتیک ها حین پخت نان داشت و تعداد باکتري های زنده را نسبت به نمونه شاهد، بین ۲-۱ سیکل لگاریتمی، افزایش داد. بیشترین تعداد باکتري

زنده در نان، ۵/۷ سیکل لگاریتمی بود که تا میزان لازم برای ایجاد خواص پروبیوتیک، اختلاف کمی داشت (۶ سیکل لگاریتمی). همچنین وجود ریزپوشینه ها، باعث نرم تر شدن بافت نان، نسبت به نمونه شاهد گردید. در گزارش نامبردگان روش امولسیون ضمن حفظ کیفیت مناسب در نان، می تواند به عنوان روشی برای افزایش زنده مانده پروبیوتیک ها در نان، مد نظر قرار گیرد.

محبی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر پری بیوتیک های بتا گلوکان و نشاسته مقاوم، بر ویژگی های رئولوژیکی خمیر محصولات تخمیری پرداختند. در این پژوهش پری بیوتیک های بتا گلوکان در سطوح ۰/۸، ۱ و ۱/۲ درصد و نشاسته مقاوم در سطوح ۵/۵، ۸ و ۱۰/۵ درصد استفاده گردیدند.

همایونی راد و همکاران (۱۳۹۵)، اثر افزودن نشاسته مقاوم را بر خواص فیزیکوشیمیایی، رئولوژیکی، حسی و پخت ماکارونی پری بیوتیک بررسی نمود. بر اساس نتایج، ماکارونی غنی شده با ۷/۵ درصد نشاسته مقاوم نوع دو در مجموع بهترین و مناسب ترین تیمار معرفی شد.

محبی و همکاران (۱۳۹۵) اثر ترکیبات پری بیوتیک بتاگلوکان و نشاسته مقاوم به هضم را بر ویژگی های رئولوژیکی خمیر بررسی نمودند. در این پژوهش اثر پری بیوتیک های بتاگلوکان در سطوح ۰/۸، ۱ و ۱/۲ درصد و نشاسته مقاوم به هضم در سطوح ۵/۵، ۸ و ۱۰/۵ درصد و یک نمونه ترکیبی شامل ۰/۵٪ بتاگلوکان و ۴٪ نشاسته مقاوم به هضم، بر خصوصیات رئولوژیکی خمیر مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داد که ویژگی های رئولوژیکی خمیر بسته به نوع و غلظت ماده پری بیوتیک اضافه شده متفاوت است. تیمار ترکیبی، حاوی هر دو ماده بتاگلوکان و نشاسته مقاوم، بهترین خمیر از نظر ویژگی های زمان گسترش و مقاومت خمیر، قابلیت و مقاومت به کشش بود.

۲-۵- پژوهش های انجام شده در زمینه تاثیر پری بیوتیک ها، فرایند ریزپوشانی باکتری های پروبیوتیک در فراورده های غذایی سین بیوتیک

در بررسی منابع حاضر تاثیر پری بیوتیک ها و فرایند ریزپوشانی باکتری های پروبیوتیک در فراورده های غذایی لبنی و غیر لبنی سین بیوتیک گزارش می گردد.

فارن ورث (۲۰۰۴)، به امکان استفاده از محصولات کشاورزی برای گسترش محصولات جدید پروبیوتیک اشاره کرده است. غلات، سوبستراهای مناسبی برای رشد سوش های پروبیوتیک بوده و به دلیل حضور ترکیبات غیر قابل هضم در غلات، این ترکیبات می توانند به عنوان پری بیوتیک نیز عمل نمایند. برخی از غلات دارای اثر حفاظتی بر پروبیوتیک ها در برابر شرایط pH پایین دستگاه گوارش می باشند. از این رو؛ کاربرد باکتری های پروبیوتیک در محصولات غیر لبنی دارای چالشی بزرگ است.

توانایی محصولات بر پایه غلات در کمک به رشد باکتری های پروبیوتیک اساسا ناشی از حضور قند هایی مانند مالتوز و گلوکز و غلظت بالای فیبرها در این محصولات می باشد که می تواند به عنوان سوبسترای رشد باکتری های پروبیوتیک عمل نماید. نشاسته و ترکیبات فیبری در غلات می توانند به عنوان محافظ یا تثبیت کننده به منظور افزایش پایداری پروبیوتیک ها در طی فرآوری، نگهداری و شرایط روده ای-معدده ای عمل نمایند (چارالامپوپولوس، ۲۰۰۳ و یو و همکاران، ۲۰۱۱).

وانگ و همکاران (۱۹۹۹) پیشنهاد کردند که گرانول های نشاسته ذرت به عنوان ماده انکپسوله کننده عمل کرده و سطحی را برای چسبیدن پروبیوتیک ها فراهم نموده است.

در بسیاری از مطالعات انجام شده، از گونه های لاکتوباسیلوس کازی و پاراکازی به صورت لیوفیلیزه شده و تثبیت شده بر روی پودر شیر خشک به روش انجمادی در شکلات تلخ و پودر ماست استفاده شده است (نسبی و همکاران، ۲۰۰۵).

اووهام و همکاران (۲۰۰۴)، باکتری پروبیوتیک *Bifidobacterium lactis* را به نوعی اسنک خشک بر پایه جو تلقیح کرده و این باکتری را در مدفوع ۵ نفر از ۹ نفر مصرف کننده این ماده غذایی پس از یک هفته شناسایی نمودند. تاپیا و همکاران (۲۰۰۷) پوشش خوراکی پروبیوتیکی را برای پوشش میوه های تازه بریده شده مورد استفاده قرار داده اند. در این مطالعه، امکان استفاده از پوشش های خوراکی بر پایه آلژینات و ژلان به عنوان حامل ارگانسیم هایی مانند بیفیدوباکتريا به منظور دستیابی به میوه های با پوشش پروبیوتیک مورد مطالعه قرار گرفته است. در این بررسی بیشتر از 10^6 Cfu/g از باکتری *Bifidobacterium lactis* بر روی تکه های سیب و پاپایا در مدت بیش از ۱۰ روز نگهداری در دمای انجماد باقی ماندند.

کاپلا و همکاران (۲۰۰۶) کارایی فرایند ریزپوشانی به همراه تاثیر حفاظتی پری بیوتیک ها در افزایش قابلیت زنده مانی میکروارگانسیم های پروبیوتیکی شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بیفیدوباکتریوم ها را در پودر ماست تولیدی توسط خشک کن انجمادی ارزیابی کردند. نتایج بدست آمده نشان داد که از بین سه ترکیب پری-بیوتیکی اضافه شده رافتیلوز، نشاسته مقاوم و اینولین، رافتیلوز قابلیت زنده مانی ارگانسیم های پروبیوتیکی را در ماست بعد از ۴ هفته از نگه داری بهتر حفظ می کند. مرگ سلول ها در مجموعه محتوی پروبیوتیک های ریزپوشانی شده در هر سه دمای گرمخانه گذاری طی نگه داری پایین تر بود. در طول یک ماه نگه داری در ۳۷ درجه فقط پروبیوتیک های ریزپوشانی شده قابلیت زنده مانی خوبی داشتند (Log cfu/g 84/6).

آکین و همکاران (۲۰۰۷) اثرات سطوح مختلف شیرین کننده (۱۵٪، ۱۸٪ و ۲۱٪ w/w) و سطوح ۱٪ و ۲٪ اینولین را روی قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA-14) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (BL-01) در بستنی پروبیوتیکی مورد ارزیابی قرار دادند. مطابق نتایج، بالاترین قابلیت زیستی در نمونه های با ۱۸٪ قند بود. اضافه کردن اینولین اثری روی تعداد استرپتوکوکوس ترموفیلوس یا لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس نداشت در حالیکه قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس لاکتیس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به همان اندازه ای که سطح اینولین افزایش یافته بود، افزایش یافت. به علت اثرات پری بیوتیکی اینولین، این ترکیب در مقدارهای ۲٪ و pH برابر ۵/۹ بهترین اثر پری بیوتیکی را داده است. جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس به سرعت در نمونه های شاهد کاهش یافته بودند. کاهش در تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه حاوی اینولین نسبت به نمونه شاهد کمتر بود.

آکالین و همکاران (۲۰۰۸) اثر اینولین و الیگوفروکتوز را به عنوان مکمل پری بیوتیک بر خواص رئولوژیکی و قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La-5) و بیفیدوباکتریوم انیمالیس (Bb-12) در بستنی کم چرب در 18°C برای ۹۰ روز مورد ارزیابی قرار دادند. قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم در مخلوط بستنی با افزودن الیگوفروکتوز هنگامی که با نمونه های شاهد مقایسه شده بودند به طور چشمگیری افزایش یافته بود که به علت اثرات پری بیوتیکی الیگوفروکتوز در مخلوط بستنی است. طی انجماد

مخلوط بستنی، قابلیت زیستی برای هر دو باکتری ۱/۵ تا ۲ واحد لگاریتمی کاهش یافته بود و تعدادشان در بستنی منجمد شده در یک محدوده $5/96 \text{ Log cfu/g}$ تا $6/60$ برای بیفیدوباکتریوم/انیمالیس و $5/98 \text{ Log cfu/g}$ تا $6/21$ برای لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس تشخیص داده شد.

بوسنیا و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که سلول های باکتری *L. casei* بر سطح و داخل دانه گندم که بیشتر از فیبر رژیمی تشکیل شده است تثبیت شده اند.

از جمله تلاش های انجام گرفته در رابطه با تلفیق پروبیوتیک ها به نان، توسط پن هاسی و همکاران (۲۰۱۰) انجام گرفت. آنها باکتری های پروبیوتیک را با استفاده از دستگاه پوشش دهنده با بستر سیال با چندین لایه پوشش دهی کردند و از ریزپوشینه های تولید شده، در فرآیند تهیه خمیر و پخت نان استفاده نمودند.

نتایج تحقیق زیزلویچ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد؛ زنده مانی باکتری های اسیدلاکتیک در برخی از فرآورده های قنادی بطور ویژه ای بالا می باشد؛ همچنین محتوای بسیار پایین رطوبت در این گروه از محصولات، یعنی داشتن فعالیت آبی پایین $0/6$ ، غلظت بالای کربوهیدرات ها و به ویژه ساکاروز و دسترسی پایین به اکسیژن منجر شده است که به عنوان حامل مناسبی برای انتقال باکتریهای پروبیوتیک ها به بدن انسان مطرح باشند.

وسترلوند (۲۰۱۲)، قابلیت زنده مانی و نگهداری باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* در بذر کتان را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که قابلیت زنده مانی به مقدار زیادی تحت تاثیر فعالیت آبی می باشد.

آلتامینالو فورتال و همکاران (۲۰۱۲)، پروبیوتیک ها را در قالب فیلم خوراکی روی سطح نان نیم پز اسپری نمودند. آنها با استفاده از تکنیک ریزپوشانی با دستگاه خشک کن پاششی، باکتری های پروبیوتیک را با ترکیبات مختلفی مانند اینولین، پکتین، کربوکسی متیل سلولز، ایزوله پروتئین آب پنیر ریزپوشانی کردند. سپس، ریزپوشینه ها را در ترکیب با محلول حاوی نشاسته ذرت مقاوم قبل از پخت به صورت پوشش، در چند لایه روی سطح نان نیم پز منجمد اسپری کردند و نان فراسودمند حاوی باکتری پروبیوتیک تولید کردند

وستر لاند و همکاران (۲۰۱۲) قابلیت زنده مانی و نگهداری طولانی مدت باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus rhamnosus* در بذر کتان که محصول غذایی خشکی است مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که قابلیت زنده مانی به مقدار زیادی تحت تاثیر فعالیت آبی می باشد.

آلتامیرانفورتول و همکاران (۲۰۱۲) نان پروبیوتیکی را با استفاده از باکتری انکپسوله شده *Lactobacillus acidophilus* با پوشش بر پایه نشاسته تولید نمودند. در نمونه های تولید شده، باکتری مورد نظر پس از پخت و طی کردن زمان نگهداری ۷ روزه همچنان زنده باقی ماند. با وجود اینکه پوشش مورد استفاده بر ویژگی های پوسته نان تاثیر گذار بوده است اما در مجموع پذیرش کلی نان از نظر ویژگی های حسی مطلوب گزارش شده است.

نوربخش و همکاران (۲۰۱۳)، امکان استفاده از نوعی تکنولوژی خشک کردن در خلاء برای تولید اسلایس های سیب غنی شده با باکتری پروبیوتیک *L. rhamnosus* را بررسی کردند. بر اساس یافته این محققان قابلیت بقای باکتری های پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه بستگی به نوع روش خشک کردن داشته اما نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا مدت ۱۸۰ روز تغییر مهمی را در جمعیت باکتری های پروبیوتیک ایجاد نموده است.

روبل و همکاران (۲۰۱۴)، فعالیت پروبیوتیکی کربوهیدرات های غنی از اینولین حاصل از سیب زمینی ترشی که طی ۸ ماه در زمان های مختلف نگهداری استخراج شده بودند را توسط لاکتوباسیلوس پاراکازئی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج بررسی نشان داد که میزان استخراج و مقدار اینولین در طی دوره نگهداری کاهش یافته است. کربوهیدرات های غنی از اینولین حاصل از سیب زمینی ترشی نگهداری شده در طی ۴ ماه بیشترین قابلیت پروبیوتیکی را از خود نشان دادند که حتی از نمونه های تجاری بیشتر بوده است که نشان دهنده قابلیت آن جهت جایگزینی اینولین های تجاری نیز می باشد. تاورا کوئیروز و همکاران (۲۰۱۵)، میان وعده سیب پوشش داده شده با فیلم های متیل سلولوز و حاوی فروکتوالیگوساکارید ها و باکتری های پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* را تولید نمودند. نتایج این بررسی نشان داد که ویژگی های جذب آب و تردی میان وعده تولید شده مشابه نمونه کنترل می باشد. بقای باکتری های پروبیوتیک نیز پس از ۹۰ روز نگهداری میان وعده در شرایط مشخص دارای افت ناچیز بوده و بخش مهمی از باکتری ها بعد از شبیه سازی شرایط هضم در بدن زنده ماندند.

در پژوهش یوسفی و همکاران (۱۳۹۱)، افزایش پایداری حرارتی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم A7 برای تولید نان پروبیوتیک با استفاده از تکنیک ریزپوشانی پی گیری گردید. در این تحقیق، باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم A7 به کمک نشاسته ذرت ۲۱ درصد و آلژینات سدیم ۰/۵، ۱ و ۲ درصد و صمغ عربی ۲ درصد، به روش امولسیون ریزپوشانی شد. از باکتری مذکور به دو صورت ریزپوشانی شده و فاقد ریزپوشینه، خمیر تهیه شده و خمیر حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد پخت گردید. به منظور ارزیابی وضعیت خمیر و نان حاوی باکتری پروبیوتیک، pH خمیر قبل و بعد از ور آمدن و pH نان پس از پخت، اندازه گیری شد. همچنین تعداد باکتری پروبیوتیک زنده پس از پخت نان، شمارش شد.

به منظور سنجش بافت نان حاوی باکتری پروبیوتیک، بافت نان بلافاصله پس از پخت، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از پخت با استفاده از آزمون نفوذسنجی مورد ارزیابی قرار گرفت. بازده به دست آمده از فرآیند ریزپوشانی ۲۰/۷-۴۴/۶ درصد بود و افزایش غلظت آلژینات سدیم، بر افزایش بازده فرآیند اثر معنی داری داشت. اندازه گیری pH خمیر پس از ور آمدن، نشان دهنده کاهش pH نسبت به قبل از ور آمدن بود که نشان می داد در خمیرهای حاوی باکتری پروبیوتیک چه به صورت ریزپوشانی شده و چه فاقد ریزپوشینه، تخمیر انجام گرفته است. براین اساس، افزایش غلظت آلژینات سدیم تاثیر بسزایی بر افزایش راندمان ریزپوشانی داشت. وجود pH نان در محدوده ۶-۵ نشان می دهد، نان احتمالاً محیط مناسبی برای پایداری ریزپوشینه ها می باشد. نتایج نشان داد، تعداد باکتری های زنده در نان حاوی ریزپوشینه ۲-۳ سیکل لگاریتمی بیشتر از نمونه حاوی باکتری آزاد بود. همچنین ریزپوشینه حاوی نشاسته ذرت ۲ درصد و آلژینات ۲ درصد بیشترین تعداد باکتری زنده را پس از پخت نان داشتند. نتیجه کلی حاصل از این پژوهش نشان داد؛ فرآیند ریزپوشانی، توانسته است زنده مانی باکتری پروبیوتیک را پس از پخت نان، تا ۵ سیکل حفظ کند.

گنجوری و همکاران (۱۳۹۱)، در پروژه غنی سازی نان های حجیم توسط باسیلوس کوآگولانس گزارش نمودند میزان کاهش زنده مانط باکتری پس از پخت به میزان ۲ سیکل لگاریتمی گزارش گردید 10^6 Cfu/g.

طالب پور و همکاران (۱۳۹۳)، چپس سیب زمینی پروبیوتیک حاوی دو گونه از باکتری های اسیدلاکتیک به نام لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس را با استفاده از روش های مرسوم تولید چپس تولید کرده و سپس زنده مانی باکتری های پروبیوتیک ذکر شده، در طول نگهداری در سه سطح دمایی ۴، ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی های پلاستیکی معمولی (در مجاورت اکسیژن) و پوشش دار (عدم حضور اکسیژن) در مدت زمان دو هفته مورد بررسی قرار دادند. ریز پوشانی دو گونه ی باکتری در دانک هایی از جنس صمغ عربی در ترکیب با ژلاتین انجام

گرفت. نتایج نشان داد که تعداد باکتری های زنده پس از ۱۴ روز به طور معنی داری کاهش می یابد و بین نمونه های نگهداری شده در سه سطح دمایی ۴، ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد، در سطح اطمینان یک درصد اختلاف معنی دار مشاهده شد. هم چنین بین نمونه های نگهداری شده در دو نوع بسته بندی، در سطح اطمینان یک درصد اختلاف معنی دار مشاهده گردید. حداکثر زنده مانی در نمونه نگهداری شده در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی پلاستیکی پوشش دار بوده و تعداد پروبیوتیک زنده در هر گرم از چیپس سیب زمینی بالاتر از 10^6 CFU/g گزارش گردید که مطابق با مقدار توصیه شده از سوی سازمان جهانی غذا و دارو است.

مهربان رود بنه و همکاران (۱۳۹۶)، زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی را در مدت ۶ ماه انبارمانی شکلات پروبیوتیک بررسی نمودند. شکلات محیط اولیه مناسبی برای پروبیوتیک ها محسوب می شود. زیرا در این میزان از فعالیت آبی، امکان رشد و تکثیر هیچ باکتری گرم مثبت از جمله پروبیوتیک ها وجود ندارد، لذا این باکتری ها در فاز آنابیوسیس رشد، باقی می ماند که در محصولات پروبیوتیک به عنوان شرایط ایده آل محسوب می شود.

در این مطالعه، شکلات پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی تولید شد و برخی از فاکتورهای فیزیکیوشیمیایی شامل pH و فعالیت آبی (aw) به همراه ارزیابی زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی مورد بررسی قرار گرفتند. بر اساس نتایج به دست آمده، مقدار فعالیت آبی در شکلات پروبیوتیک بطور معنی داری بیشتر از شکلات کنترل بوده است. افزودن لاکتوباسیلوس کازئی به شکلات تاثیر نامطلوب و معنی داری بر روی پارامترهای فیزیکیوشیمیایی pH و فعالیت آبی در طول مدت زمان نگهداری ۶ ماهه در دو دمای متفاوت اتاق و یخچالی، نداشته است. نتایج حاکی از حفظ زنده مانی باکتری در طول مدت انبارمانی و دمای ۴ و ۲۱ درجه سانتی گراد بود. بطوریکه جمعیت باکتری ها 10^8 Cfu/g گزارش گردید.

حق شناس و همکاران (۲۰۱۵)، تاثیر افزودن اینولین و شنبلیله بر بقای باکتری انکپسوله شده *Enterococcus durans 39C* در مخلوط پلیمری آلژینات-اسفرزه را در دستگاه گوارش شبیه سازی شده و ماست مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بقای سلول های زنده پروبیوتیک تحت شرایط مشابه سیستم گوارش در مقایسه با سلول های غیر کپسوله بیشتر بوده است. رهائش این باکتری ها پس از ۲ ساعت در شرایط روده ای اتفاق افتاده و تا ۱۲ ساعت پس از زمان انکوباسیون پایدار باقی مانده است. همچنین افزودن اینولین و شنبلیله باعث افزایش خواص پروبیوتیکی گشته است.

۲-۸- پژوهش انجام شده در زمینه کاربرد جایگزین های چربی در فرمولاسیون های غذایی

وندین و هال (۲۰۰۱) اثر مخلوط صمغ های گوار و زانتان بر سس سالاد با چربی کاهش داده شده را بررسی کردند. نتایج نشان داد؛ نمونه های تهیه شده با استفاده از چربی و صمغ نسبت به نمونه های دارای چربی و امولسیفایر و یا صمغ و امولسیفایر، تنش تسلیم و ویسکوزیته بالاتری داشتند. هنگامی که میزان چربی و صمغ افزایش یافت، افزایش امولسیفایر تاثیر کمی بر فاکتورهای نام برده داشت.

توسط لیو و همکاران (۲۰۰۷) اثر ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین با متوکسیل پایین به عنوان جایگزین چربی بررسی گردید. نتایج این تحقیق نشان داد که مایونزهای کم چرب نسبت به نمونه های با چربی کامل رطوبت بیشتری داشتند. نمونه های تهیه شده با ژل پکتین ضعیف بافتی مشابه سس های با چربی کامل داشتند. سس های تهیه شده با چربی کامل و کم چرب رفتار جریان تیکسوتروپ داشته و در آزمون های تنش نوسانی با دامنه نوسانی کم به عنوان ژل ضعیف در نظر گرفته شدند.

سو و همکاران (۲۰۱۰) از صمغ زانتان، فیبر مرکبات و صمغ گوار به عنوان جانشین چربی در تهیه سس مایونز کم چرب استفاده کردند. این تحقیق نشان داد که استفاده از صمغ های زانتان و فیبر مرکبات همراه با صمغ گوار خصوصیات رئولوژیکی مشابهی با نمونه شاهد ایجاد کردند. این نمونه ها، نسبت به نمونه با چربی کامل شفافیت بیشتری داشتند.

کن گیزی و همکاران (۲۰۰۷)، از سطوح مختلف فیبر مرکبات و کنسانتره پروتئین سویا (۲، ۵، ۱۰ و ۲۰ درصد) به عنوان جایگزین چربی در سوسیس فرانکفورتر استفاده کرد. استفاده از این ترکیبات میزان انرژی و کلسترول را کاهش داده و مصرف توأم آنها با هم نتایج بهتری نشان داد.

ذرات نشاسته و ترکیبات مشابه مانند دکستین، به دلیل خاصیت هیدروفیلیک در سطح خود، قدرت جذب و نگهداری آب بسیار زیادی دارند. مطالعات نشان داده شده که نشاسته، دکستین و مالتو دکستین قادرند با تولید ژل تا بیش از ۳ برابر وزن خود آب جذب کنند. ژل حاصل از این ترکیبات به خوبی در آب پخش شده و ذرات به سهولت بر روی هم می غلطند. جذب آب و پراکندگی بسیار زیاد این ژل ها در محیط های آبی با پایدار کردن امولسیون، خصوصیات رئولوژیکی مشابه گلبول های چربی ایجاد خواهد کرد و نتیجه آن تولید بافت و طعم مشابه چربی خواهد بود (کاپریلس، ۲۰۰۸؛ آرکیا و همکاران، ۲۰۱۱؛ داو و همکاران، ۲۰۱۲).

برخلاف جایگزین های چربی بر پایه پروتئین، مالتو دکستین ها در برابر حرارت پایدار هستند. مالتو دکستین های تجاری از نشاسته ذرت، نشاسته ذرت مومی، نشاسته سیب زمینی و تاپیوکا ساخته می شوند (دسموند و همکاران، ۱۹۹۸ و اوزلم و همکاران، ۲۰۰۳).

کاربرد دکستین یولاف به عنوان جایگزین چربی در تهیه سس مایونز کم چرب توسط شن و همکاران (۲۰۱۱) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج تحقیق نامبردگان نشان داد که با کاهش سطح جانشینی دکستین یولاف به مقادیر کمتر از ۳۰ درصد، گرانول های چربی یکنواخت، کوچک و هم اندازه شدند. سس مایونز تهیه شده با دکستین یولاف، ظاهر، رنگ، بو و پذیرش مشابه با نمونه شاهد و ویسکوزیته بالاتری نسبت به آن داشت.

لاگونا و همکاران (۲۰۱۴)، ویژگی های حسی و مولفه بافت بیسکویت های حاوی اینولین و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (جایگزین ۱۵ - ۳۰ گرم چربی) را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که با جایگزین نمودن چربی تا ۱۵ گرم با اینولین یا HPMC بیسکویت های قابل قبولی تولید شده است اما جایگزین نمودن بیشتر از این مقدار منجر به کاهش پذیرش کلی بیسکویت ها شده است.

هیدروکلئیدهای طبیعی مانند صمغ عربی، تراگاکانت (کتیرا)، کاراجیان، آلژینات، صمغ آگار، صمغ لوبیای لوکاست و ... که در سیستم های مختلف نظیر سسهای سالاد و بستنی استفاده می شوند (برنان و همکاران، ۲۰۰۸؛ سو و همکاران، ۲۰۱۰ و شی و همکاران، ۲۰۱۳).

در پژوهش مورین و همکاران، (۲۰۰۲) و اوگنین و همکاران، (۲۰۰۶). ی، اوآتریم^۷ و سی تریم^۸ که از مشتقات بتا گلوکان (کنترل کننده قند خون و کاهش دهنده کلسترول) می باشند، به عنوان جایگزین چربی استفاده شدند. استفاده از این ترکیبات در حد ۱۰-۵ درصد مطلوب شناخته شد و در مقادیر بیشتر باعث ایجاد سفتی بافت گردید.

7 -Oatrim

8 -C-trim

وراسینچایی و همکاران (۲۰۰۶) نیز از بتاگلوکان به عنوان جایگزین چربی در تهیه سس مایونز با چربی کاهش داده شده استفاده کردند. بافت سس های کم چرب حاوی غلظت های بالای بتاگلوکان، سفتی و چسبندگی مشابه نمونه های با چربی کامل را داشتند. هر دو سس با چربی کامل و چربی کاهش یافته، رفتار تیکسوتروپ داشته و از نظر رئولوژیکی در تست های نوسانی با دامنه نوسانی کوچک به عنوان ژل ضعیف طبقه بندی شدند. نمونه های با چربی کاهش یافته که حاوی بتاگلوکان بودند، پایداری بیشتری را نسبت به نمونه های با چربی کامل داشتند. نامبردگان دلیل این امر را افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته و تشکیل شبکه ژلی ضعیف در اثر اضافه کردن بتاگلوکان دانستند.

امیری عقدایی و همکاران (۱۳۹۱) تأثیر بتاگلوکان جو بدون پوشینه به عنوان مقلد چربی بر ویژگی های فیزیکی، شیمیایی، بافتی وحسی سس مایونز کم چرب را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد نمونه های کم چرب، انرژی کمتری نسبت به نمونه های با چربی کامل داشتند. با کاهش روغن و افزایش درصد جایگزینی روغن توسط بتاگلوکان از ۲۰ درصد به ۵۰ درصد، ویسکوزیته کاهش یافته و ویژگی های بافتی سس دچار تغییر شد. با افزودن بتاگلوکان در سطح ۲۰ درصد به عنوان جایگزین چربی، سفتی نمونه ها افزایش یافت، اما با افزایش میزان جایگزینی تا سطح ۵۰ درصد به تدریج سفتی بافت نمونه ها کاهش یافت.

امیری عقدایی و همکاران (۲۰۱۲) نیز از دانه اسفرزه به عنوان جایگزین چربی در سس مایونز کم چرب استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد که نمونه های کم چرب، رطوبت بیشتری نسبت به نمونه های با چربی کامل داشتند. بافت نمونه حاوی ۳ درصد صمغ و ۳۰ درصد سطح جانشینی، شباهت بیشتری به نمونه با چربی کامل نشان داد. هر دو سس با چربی کامل و کم چرب، رفتار جریان تیکسوتروپ نشان دادند.

مطابق گزارش برین (۲۰۰۳)، بکار بردن اینولین در تولید نان به عنوان جایگزین چربی سبب افزایش پوکی، عدم تغییر در حجم، بالابردن میزان جذب آب در خمیر و به تعویق انداختن بیاتی (به دام افتادن مقادیر زیاد آب درون شبکه ژلی) می شود.

برنوتی و همکاران (۲۰۱۰)، اثرات جایگزینی چربی شیر با اینولین و کنسانتره پروتئین آب پنیر را در یک محصول سین بایوتک تولیدی به نام موس، بر بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La-5) بررسی نموده و مقاومت آن را در شرایط تحریک شده دستگاه گوارش مورد مطالعه قرار دادند. تحقیقات آن ها مشخص کرد در کلیه موس های منجمد شده میزان میکروارگانیسم پروبایوتیک در بیشترین مقدار قرار داشت. تحقیقات نشان دادند که افزودن اینولین نیز در هفته اول انبارداری باعث افزایش بقای میکروارگانیسم پروبایوتیک گردید.

در پژوهش همایونی و همکاران (۱۳۹۱)، اینولین به عنوان جایگزین چربی و پایدارکننده امولسیون و کف در بستنی مورد استفاده قرار گرفت و احساس دهانی و نقطه انجماد بستنی را بهبود بخشید.

کاپریلس و همکاران (۲۰۰۸) اسنک ذرتی را تولید نمودند که در آن بخشی از روغن اسنک با محلول بدون چربی غنی شده با اینولین و الیگوفروکتوز ها جایگزین شده بود. اسنک حاصل دارای میزان چربی پایین (۰/۱ درصد) و حدود ۷ برابر فیبر رژیمی در مقایسه با انواع سنتی خود بود. غنی سازی با فروکتان ها همچنین اندیس گلاسمیک مورد انتظار را ۲۵ درصد کاهش داد. اسنک های غنی شده با فروکتان ها دارای قابلیت پذیرشی مشابه با انواع سنتی بودند.

کریسپین ایزیدرو و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر اینولین و فروکتان را در غلظت های ۲ و ۴ درصد بر ویژگی های ریزساختاری، رئولوژیکی و حسی ماست حاصل از شیر کم چرب در مقایسه با شیر پرچرب مورد مقایسه قرار دادند. نمونه های حاوی اینولین از نظر ویژگی های مذکور نسبت به نمونه کنترل بهتر بودند.

پرسینی و همکاران (۲۰۱۵)، تاثیر افزودن اینولین را بر ویژگی اسنک اکستروژ شده مورد ارزیابی قرار دادند. در این بررسی از دو محصول فروکتان تجاری با درجه های پلیمریزاسیون مختلف و در سطوح ۲ تا ۷ درصد استفاده شد. نتایج بررسی نشان داد؛ اینولین با درجه پلی مریزاسیون کمتر باعث افزایش انبساط پذیری و سختی در مقایسه با نمونه کنترل شد. از نظر حجم ویژه و ویژگی های مکانیکی تفاوت معنی داری بین نمونه کنترل و نمونه غنی شده با اینولین با درجه پلی مریزاسیون بالا تا سطح ۵ درصد مشاهده نشد. در مجموع محققان بیان داشته اند که اسنک های حاوی ۵ درصد اینولین با درجه پلی مریزاسیون بالا می توانند به منظور افزایش مقدار فیبر محصول و بدون تاثیر منفی بر کیفیت آن تولید شوند.

هیدن ریچ و همکاران (۲۰۰۴) از نشاسته مقاوم به عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون پوشش طعم دهنده اسنک حجیم استفاده نمود. مطابق نتایج، نشاسته مقاوم به عنوان ترکیب غیبری فراسودمند حاوی ۳۰ درصد فیبر رزیمی بوده و بر خلاف سایر منابع فیبری، بدلیل دارا بودن قطر متوسط ذره پایین و قابلیت نگهداری آب پایین تر سبب پخش شدن یکنواخت چربی موجود در پوشش طعم دهنده شده و در نهایت سبب بروز خواص حسی مطلوب نظیر بافت ترد، ظاهر درخشان و جذاب و عطر و طعم مطلوب در اسنک حجیم کم چربی می گردد.

کاپریلس و همکاران (۲۰۰۷)، اسنک کم چربی را با استفاده از نشاسته اصلاح شده به عنوان جایگزین چربی و عامل تثبیت کننده طعم تولید نمودند. محصول تولید شده دارای حدود ۴۷.۵ درصد کاهش کالری در مقایسه با نمونه های تجاری موجود در بازار بود. اسنک تولید شده از نظر بافت تفاوتی با نمونه های سنتی نداشته اما از لحاظ رنگی دارای مقداری تفاوت بود. همچنین اسنک کم چرب تولید شده دارای ویژگی های حسی بالایی بود و از لحاظ پذیرش تفاوتی با نمونه سنتی نداشت.

مون و همکاران (۲۰۰۹) از نشاسته برنج اصلاح شده به روش آنزیمی و صمغ زانتان به عنوان جانشین چربی در تهیه سس مایونز استفاده کردند. سس مایونز تهیه شده با این روش، خصوصیات شبه ژل ضعیف از خود نشان داد. نتایج نشان داد؛ استفاده از ۵/۶ درصد وزنی نشاسته اصلاح شده و ۰/۱ درصد وزنی صمغ زانتان، برای تهیه سس مایونز با چربی کاهش یافته، بهترین نسبت بوده و این سس بیشترین شباهت را به سس مایونز با چربی کامل داشت.

تایودم و خانتارات (۲۰۱۱) پایداری و خصوصیات رئولوژیکی مایونزهای با چربی کاهش داده شده با استفاده از نشاسته سدیم اکتیل سوکسینات به عنوان جانشین چربی را بررسی کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که جایگزینی چربی در سطوح بالاتر از ۲۵ درصد باعث کاهش میزان ضریب قوام، رفتار تیکسوتروپ، مدول ذخیره و ویسکوزیته گردید. جایگزینی چربی بر اندازه ذرات و جدایی فازها تاثیری نداشت. شفافیت مایونز با چربی کاهش داده شده بیشتر از مایونز با چربی کامل بود. تمام نمونه ها ساختار ژل مانند و رفتار تیکسوتروپ رقیق شونده با برش نشان دادند.

لوباتا کالروس و همکاران (۲۰۱۴)، تاثیر افزودن نشاسته های طبیعی و اصلاح شده را به عنوان جایگزین چربی بر ویژگی های ویسکوالاستیک ماست هم زده کم چرب بررسی نموده و بیان کردند که ماست نمونه کنترل دارای سینرسیس بیشتری در مقایسه با نمونه های کم چرب بوده و نمونه های کم چرب دارای اندکی تفاوت در ویژگی های جریان و ویسکوالاستیک در طی زمان نگهداری بوده اند. همچنین افزودن نشاسته های طبیعی و اصلاح شده منجر به تشکیل سیستم ژلی پایدار تری در ماست های تولیدی شده است.

Archive of SID

فصل سوم
مواد و تجهیزات
و روشهای پژوهش

۳-۱- مواد

ماده ی اولیه شامل سیب زمینی ترشی و روغن ذرت از بازار محلی، بلغور ذرت از کارخانه زرین طلایی، پودر آب پنیر از شرکت گلشاد مشهد و طعم دهنده از شرکت طعم سازه خریداری شد.

مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش شامل اسید سولفوریک ۹۶٪، تارتارات مضاعف سدیم و پتاسیم، اسید فسفریک ۱۰٪، هیدروکسید کلسیم، هیدروکسید پتاسیم، گلوکز و دی فروکتوز استاندارد همگی از شرکت مرک آلمان (Merck)، فنول کریستاله تهیه شده از PANREAC QUIMICA SA، دی نیترو سالیسیلیک اسید و آنزیم اینولیناز (I-2017) از شرکت SIGMA، اینولین استاندارد (HP) با درجه خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت Orafti BeneO، اتانول ۹۹ درصد، کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰، ۴ و ۱، کربن فعال و خاک دیاتومه از شرکت واکرمن بود. کشت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (LA-5) دارای شماره بچ ۲۸۹۰۵۶۲ به صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS از شرکت کریستین هانسن دانمارک و سایر باکتری ها از کلکسیون باکتری ها و قارچ های ایران خریداری شد و تحت شرایط 18°C - و استریل شده نگه داری گردید. محیط کشت های MRS Broth، Agar، wpc 80%، روغن کلزا، توپین ۸۰، کلرور کلسیم $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (M=142.02 g/m)، از شرکت مرک، آلزینات سدیم با ویسکوزیته متوسط^۹ و با شماره تجاری ۲۰۳۳ از شرکت سیگما خریداری شد. سیترات سدیم، سود ۱ نرمال از شرکت رحیق شرق خریداری شد. نشاسته اصلاح شده ذرت ST-9000 کد ۹۵ از شرکت فرایند بیوتکنولوژی تامین شد.

۳-۲- روش ها

۳-۲-۱- نحوه استخراج آبی اینولین از سیب زمینی ترشی

۳-۲-۱-۱- تهیه و تغلیظ عصاره سیب زمینی ترشی

جهت استخراج بهینه اینولین و افزایش راندمان، پودر سیب زمینی ترشی تحت تیمارهای بهینه نسبت آب به ماده جامد، درجه حرارت و مدت زمان بدست آمده از آزمون های پیشین قرار گرفت.

در این تکنیک پودر سیب زمینی ترشی با ۱۲ برابر آن آب مقطر مخلوط و برای مدت زمان ۲۴ دقیقه تحت دمای $76/5$ درجه سانتی گراد در بن ماری ساخت شرکت دنا قرار گرفت، سپس جهت صاف شدن اولیه محلول از پارچه نظیف عبور داده شده و سپس محلول بوسیله روتاری اوپراتور تحت خلاء شرکت DLAB با دمای 55 درجه سانتی گراد تا حدود ۵۰ درصد (رسیدن به بریکس $12/2$) تغلیظ شد (میلانی و همکاران، ۱۳۹۰).

۳-۲-۱-۲- تصفیه و تخلیص عصاره سیب زمینی ترشی

جهت جداسازی پکتین، پروتئین و ترکیبات دیواره سلولی محلول تغلیظ شده با بریکس ۱۲/۲ را با ۵۰ درصد هیدروکسید کلسیم ۵ درصد در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد برای مدت زمان ۳۰ دقیقه مخلوط شد که ماحصل آن، تشکیل ذرات ترسیب یافته و مایع شفاف زرد رنگ بر روی سطح محلول بود، توسط این روش pH محلول کلونیدی حاصله از ۵/۵ به حدود ۱۱ افزایش می یافت.

پس از تنظیم pH ۱۱، محلول داخل ارلن برای مدت نیم ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ و قیف بوخنر متصل به پمپ خلاء، عمل فیلتراسیون انجام گرفت و جهت کاهش pH دوغاب محلول ۱۰ درصد اسید فسفریک به ترکیبات فیلتر شده تا رسیدن به $pH = 8-9$ افزوده شد (در حین کار عمل هم زدن شدید نیز انجام پذیرفت)، فرایند اخیر سبب ترسیب کلسیم اضافه و لخته شدن ترکیبات آلی می شود.

قبل از فیلتراسیون مجدد به کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۴، مخلوط با $pH = 8/5$ برای مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

پس از آن فرایند شفاف سازی برای ۲ مرحله انجام و سپس پودر کربن فعال در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد و با نسبت ۱ به ۵ به محلول اضافه شد (به منظور افزایش تأثیر کربن فعال، از خاک دیاتومه به عنوان کمک فیلتر استفاده گردید) سپس مجدداً شربت تیمار شده به کمک کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر گردید و شربت شفاف مجدداً توسط روتاری اوپراتور تحت خلاء تا رسیدن به درجه بریکس ۳۲ مورد تغلیظ قرار گرفت.

در فواصل زمانی مختلف از عصاره تغلیظ شده نمونه برداری صورت گرفته و میزان بریکس آن توسط دستگاه رفاکتومتر رومیزی پریسماتک اندازه گیری شد (میلانی و همکاران، ۱۳۹۰).

۳-۲-۱-۳- ترسیب اینولین با بکارگیری اتانول

بدین منظور عصاره تغلیظ شده از مرحله قبل به نسبت ۱ به ۵ با اتانول ۹۷ درصد مخلوط شده و برای مدت زمان ۷۲ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد در آن ساخت شرکت Binder مدل ED 115 قرار داده شد.

پس از سپری شدن مدت زمان نگهداری در آن محلول رویی توسط پی پت جدا شده و بخش ترسیب یافته، با ۵ میلی لیتر اتانول ۹۷ درصد مورد شستشوی مجدد قرار گرفت. سپس ظرف محتوی مواد ترسیب یافته جهت حذف کلیه اتانول اضافی به آن با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد برای ۲۴ ساعت منتقل شد.

پس از تبخیر کامل اتانول پودر سفید رنگ حاصله همان اینولین است که جهت نگهداری برای انجام آزمون های میکروبی در فریزر ۲۰- نگهداری شد (میلانی و همکاران، ۱۳۹۰).

۳-۲-۲- ارزیابی ویژگی های پری بایوتیکی اینولین استخراج شده از گیاه سیب زمینی ترشی و اینولین تجاری در شرایط *in vitro*

برای بررسی اثر اینولین های مذکور بر افزایش جمعیت باکتری های *Lactobacillus acidophilus La-5* و *Bifidobacterium bifidum PTCC1644* و *Escherichia coli PTCC 1330* از محیط MRS فاقد کربوهیدرات استفاده شد. MRS غنی شده با 0.5 g/L L-سیستین هیدروکلراید، 0.2 g/L سدیم تیوگلیکولات و 0.1 g/L کلرید کلسیم دوآبه استریل شده و به عنوان محیط کشت پایه در نظر گرفته شد؛ سپس غلظت های 0.5 ، 1 ، 2 ، 3 و 4 درصد از اینولین های سیب زمینی ترشی و اینولین تجاری استریل به صورت جداگانه به محیط های فوق افزوده شدند. برای هر غلظت، 5 لوله آزمایش حاوی 5 میلی لیتر از محیط غنی شده با اینولین تهیه و به هر کدام $50 \mu\text{L}$ از کشت یک شبه باکتری مورد نظر (حاوی حدودا 10^6 cells/ml) تلقیح گردید. لوله های تلقیح شده به مدت 48 ساعت در شرایط بی هوازی (با کمک گاز پک H_2+CO_2) در دمای 37 درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. برای اندازه گیری میزان افزایش جمعیت محیط، هر 3 ساعت یک بار فرایندهای زیر انجام گردید.

کشت مایع به مدت 15 دقیقه در سانتریفیوژ با دور $2500 \times \text{g}$ سانتریفیوژ و رسوب حاصل با کمک PBS (بافر فسفات 0.1 مولار با pH معادل 7.4 و آب نمک 0.9 درصد) دو بار شسته شد و سپس با همین محلول به نسبت 1 تا 5 رقیق گردید. سلول ها به خوبی در محلول با کمک ورتکس مخلوط شده و سپس کدورت در 600 nm اندازه گیری و نمودار افزایش جمعیت رسم گردید.

۳-۲-۲-۱- تعیین کدورت محیط کشت

برای بررسی میزان رشد باکتری های مورد نظر، کدورت محیط کشت (محیط کنترل و محیط حاوی غلظت های مختلف از فروکتان ها) طی 48 ساعت گرمخانه گذاری توسط انکوباتور (VELP/FOC 225I) در دمای 37 درجه سانتی گراد ارزیابی شد. تعیین میزان کدورت با اندازه گیری جذب محیط در طول موج 620 نانومتر به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Biochrom/500) هر 4 ساعت و در 2 تکرار صورت گرفت. بدین منظور در هر زمان محیط کشت فاقد باکتری برای هر غلظت، به عنوان محلول بلانک در نظر گرفته شد. در این مرحله با رسم منحنی رشد مربوط به هر باکتری طی مدت 48 ساعت، میزان رشد باکتری در حضور فروکتوالیگوساکاریدها و نیز در محیط کنترل بررسی گردید (لی و همکاران، 2008 ؛ رادا و همکاران، 2008).

۳-۲-۲-۲- اندازه گیری تغییرات pH در شرایط *in vitro*

میزان pH نمونه های حاوی اینولین تجاری، فروکتان های سیب زمینی ترشی و نیز نمونه کنترل توسط دستگاه pH متر در طول 48 ساعت، هر 4 ساعت یک بار و در 2 تکرار اندازه گیری گردید (لی و همکاران، 2008).

۳-۲-۲-۳- محاسبه شدت رشد ویژه و زمان دو برابر شدن باکتری

شدت رشد ویژه (μ) و زمان تقسیم سلولی (t_g) مربوط به هر باکتری برای هر غلظت از فروکتان در طول ۲۴ ساعت از زمان کشت، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد اندازه گیری شد. بدین منظور با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر میزان جذب محیط کشت های حاوی باکتری در طول موج 620 nm خوانش و با بکارگیری فرمول ذیل میزان (μ) و (t_g) محاسبه گردید. لازم به ذکر است؛ به منظور شمارش میزان زنده مانی باکتری ها نیز هر ۲ ساعت یک بار و توسط تهیه رقت های مختلف و انجام کشت پور پلیت (عمقی) بر محیط MRS آگار و نوترینت آگار و در ۲ تکرار تحت شرایط بی هوازی (جار بی هوازی و گاز پک نوع A) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری انجام شد و شمارش پرگنه ها پی گیری گردید (رادا و همکاران، ۲۰۰۸).

$$\mu = (\ln x - \ln x_0) / (t - t_0)$$

X و X_0 میزان جذب های اندازه گیری شده در زمان های t و t_0 در فاز لگاریتمی رشد می باشند.

زمان دو برابر شدن سلولهای باکتری از فرمول زیر بدست آمد:

$$t_g = \ln 2 / \mu$$

۳-۲-۳- ریز پوشانی باکتری های پروبیوتیک

۳-۲-۳-۱- آماده سازی باکتری پروبیوتیک

جهت آماده سازی باکتری *L. acidophilus* LA5، مقدار ۱ گرم از کشت خشک شده انجمادی به ۱۰۰ میلی لیتر از محیط کشت MRS Broth تلقیح شد و در دمای ۳۷°C به مدت ۶ تا ۸ ساعت گرمخانه گذاری گردید. مقدار ۱ یک میلی لیتر از محیط فوق به ۹۹ میلی لیتر از محیط کشت MRS Broth جدید انتقال داده شد و به صورت ۱٪ رقیق و سپس در دمای ۳۷°C به مدت ۶ تا ۸ ساعت گرمخانه گذاری شد. کشت مذکور در طول هفته بر حسب تعداد سلول مورد نیاز به محیط کشت تازه انتقال داده شد و بعد از ۶ تا ۸ ساعت گرمخانه گذاری در یخچال و در دمای ۴°C نگه داری شد. هدف از انجام این کار دسترسی دائم به فاز لگاریتمی است. سلول های پروبیوتیکی حاصل بعد از سانتریفوژ در ۴۵۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴°C جداسازی شدند. سپس عمل شستشوی سلول های جدا شده با استفاده از محلول ۱٪ پپتون واتر تحت شرایط فوق در دو تکرار انجام و از آن جهت تلقیح مستقیم استفاده گردید (وین برک و همکاران، ۲۰۱۰).

۳-۲-۳-۲- آماده سازی مواد تشکیل دهنده ریزپوشینه

روش آماده سازی مواد تشکیل دهنده دیواره طبق روش احمدی و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، براین اساس، ابتدا مقدار ۱۸ گرم از آلژینات سدیم با ویسکوزیته متوسط در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از همزن مغناطیسی حل شده و سپس به مدت یک شب در دمای ۴°C نگه داری می شود تا آلژینات به خوبی آب جذب کند. سپس پودر اینولین بومی را به نسبت ۵ درصد به سوسپانسیون فوق افزوده و جهت استریل نمودن محلول، فرایند اتوکلاو پیگیری

گردید. سوسپانسیون استریل با ۱ گرم از پلت باکتری شستشو شده از مراحل قبل حاوی 10^{12} CFU/g باکتری زنده، مخلوط شده و سپس مخلوط حاصل با استفاده از پیپت استریل در ۱۰۰ گرم روغن نباتی مایع (کلزا) حاوی توپین ۸۰ (۵g/L) اضافه شده و با استفاده از همزن مغناطیسی در ۹۰۰ rpm به مدت ۲۰ دقیقه به صورت یکنواخت پراکنده می گردد. عمل ژلاتیناسیون با اضافه کردن ۱۰۰ میلی لیتر از یک امولسیون حاوی یون کلسیم (تهیه شده از انحلال ۶۰ گرم روغن مایع کلزا، توپین ۸۰ (۵g/L) و ۶۲/۵ میلی مولار کلرور کلسیم آغاز گردید. همزدن به مدت ۲۰ دقیقه دیگر نیز ادامه پیدا نمود تا دانک های آلژینات شکل بگیرد. بعد از این مدت، ۳۰ دقیقه دیگر نیز ادامه یافته تا عمل ژلاتیناسیون کامل شود. در نهایت سیستمی که بدست می آید، یک سیستم دو فاز است که فاز رویی آن روغن و فاز پایینی آن دانک های آلژینات ته نشین شده در محلول کلرور کلسیم بود. در این مرحله فاز روغنی را جدا کرده و جداسازی دانک ها با استفاده از سانتریفوژ در ۵۰۰ g و در دمای 4°C به مدت ۵ دقیقه صورت پذیرفت. عمل شستشوی دانک ها نیز با استفاده از محلول ۱٪ پپتون واتر و با استفاده از سانتریفوژ تحت شرایط فوق انجام شد. سپس دانک های آلژینات سدیم حاصل، جهت تلقیح مستقیم استفاده شدند. عمل ریزپوشانی باکتری با استفاده از روش ژلاتیناسیون خارجی و مطابق گزارش الان (۲۰۰۸) و آماگیری و همکاران (۲۰۱۶) انجام پذیرفت.



شکل ۳-۱- کپسولاسیون باکتری در آلژینات سدیم

۳-۲-۳- شمارش تعداد باکتری های به دام افتاده در دانک ها

جهت تعیین کارایی فرایند ریزپوشانی باکتری های پروبیوتیکی، مقدار ۱ گرم از دانک های تولید شده را در ۹۹ میلی لیتر از محلول ۱ W/v سیترات سدیم استریل دارای pH ۶ پراکنده کرده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق توسط همزن مغناطیسی، همزده شد. در طی این فرایند دیواره دانک های آلژینات تخریب شده و سلول های باکتریایی به بیرون رها شدند. بعد از این مرحله برای شمارش باکتری ها، عمل رقت سازی انجام و با استفاده از محیط MRS Agar در شرایط هوازی و در دمای 37°C به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت کشت داده شدند (کالیسپاتی و همکاران، ۲۰۰۶).

۳-۲-۳- ریخت شناسی دانک های ریزپوشینه

اندازه و شکل دانک های حاصل از ریزپوشانی سلول های میکروبی و طرز قرارگیری باکتری ها درون دانک ها به وسیله میکروسکوپ نوری مجهز به میکرومتر و پاشیدن گول روی دانک ها و همچنین رنگ

آمیازی گرم دانک های شکاف داده شده مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت شکاف دادن دانک ها، ابتدا دانک های درشت تر انتخاب و سپس روی لام به وسیله تیغ جراحی از وسط برش داده شد و بلافاصله روی سطح برش رنگ آمیازی گرم انجام گرفت. در این روش ها ساختمان کروی و یا بیضی دانک های حاصل و پوشینه نشاسته اطراف آنها و همچنین باکتری های باسیلی شکل درون دانک ها به طور کامل روشن زیر میکروسکوپ مشاهده می شد.

در روش ژلاتیناسیون خارجی، اندازه ذرات توسط سرعت به هم زدن کنترل می شود و می تواند بین ۲۵ تا ۱۰۰ میکرومتر تغییر کند. این روش برای ریزپوشانی باکتری های اسیدلاکتیک به خوبی استفاده شده است. در روش ریزپوشانی بر پایه ژلاتیناسیون خارجی، دانک هایی با قطر کم تر از ۱۰۰ میکرومتر تولید شد. این امر نشان می دهد که با این روش می توان دانک هایی با قطر میکرونی تهیه کرد. و با استفاده از آن، بافت نرم تری را در مواد غذایی ایجاد کرد (الان، ۲۰۰۸).

۳-۲-۳-۵- نحوه تلقیح میکرو ارگانسیم پروبیوتیک به پوشش درازه

از آنجا که هدف آزمون غنی سازی روکش اسنک با ارگانسیم پروبیوتیک بود، در مراحل بعد ارگانسیم ها به سه روش تلقیح مستقیم باکتری آزاد، باکتری ریزپوشانی و باکتری ریزپوشانی لیوفیلیزه به فرمولاسیون درازه افزوده شدند. در روش خشک کن انجمادی، کشت باکتری در خلأ و دمای پایین آبیگری می شود و در نهایت از باکتری پودری به دست می آید که در ویال های کوچکی قابل نگهداری تا زمان بسیار طولانی می باشند. در این پژوهش به منظور لیوفیلیزه نمودن باکتریهای ریزپوشانی شده از دستگاه خشک کن انجمادی CHRIST Beta 1-8 LD plus مستقر در آزمایشگاه مرکزی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی استفاده شد.

۳-۲-۴- شرایط فرایند اکستروژن به منظور تولید اسنک حجیم

با هدف کاربرد پوشش در اسنک حجیم، فرایند تولید اسنک حجیم کم چرب عملگر پی گیری گردید. به منظور آماده سازی نمونه ها برای عملیات اکستروژن، به طور خلاصه، بلغور ذرت توسط آسیاب آزمایشگاهی خرد گردیده و توسط روش الک کردن از مش هایی با قطر ۱ میلی متر عبور داده دشد. 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. فرآورده های اکستروود شده بلافاصله پس از تولید به آون هوای داغ برای مدت ۲ ساعت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد منتقل و درون کیسه های پلاستیکی پلی اتیلنی ضخیم قرار گرفته و دربندی شدند.

۳-۲-۵- فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (دراژه)

اجزای اصلی فرمول پوشش خوراکی شامل پودر پنیر، پودر آب پنیر و روغن خوراکی می باشند. میزان افزودن نمک تا ۰/۵ درصد بوده و نسبت ماده جامد: روغن فرمولاسیون پوشش، در محدوده ۵۵: ۴۵ متغیر می باشد. کلیه اجزای فرمول درون مخازن مجهز به همزن مخلوط شده و توسط دستگاه درام دراژه زن موجود در پایلوت اکستروژن پژوهشگاه علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد به صورت پوششی یکسان بر سطح اسنک حجیم ذرت پاشیده می شود. مخزن آماده سازی لعاب به شکل استوانه و به حجم یک متر مکعب داخل آن یک شافت و یک پره که نهایت بایک الکترو گیربکس درگیر می باشند. در این مخزن، روغن، پودر پنیر، رنگ مجاز خوراکی، نمک و انواع طعم دهنده با درصدهای لازم مخلوط و پس از آماده سازی لعاب در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد وارد دوعدد تانک ذخیره لعاب می شود. در این پژوهش به منظور بهینه سازی فرآیند تولید دراژه سین بیوتیک از طرح مخلوط رئوس انتهایی (Extreme vertices mixture design) برای سه جزء فرمول شامل اینولین، نشاسته اصلاح شده و روغن با حدود مشخص بالا و پایین استفاده شد. ترکیب چندگانه ای از ۱۴ مخلوط فرموله شد. این ۱۴ مخلوط، ناحیه مطلوبی را برای بررسی پیوسته اثرات مواد اولیه بر کیفیت دراژه بوجود می آورند. برای طراحی آزمایش و آنالیز نتایج از نرم افزار Design Expert 7.1.6 استفاده شد. بدین منظور معادلات ریاضی درجه سوم ویژه از گروه چند جمله ای ها با استفاده از آنالیز رگرسیون گام به گام پیش رونده (Forward multiple stepwise regression) بر روی متغیرهای وابسته شامل قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک و ویژگی های فیزیکوشیمیایی، بافت سنجی، عملکردی و حسی فرآورده در طول دوره نگهداری برازش شدند. برای نشان دادن رابطه هر یک از متغیرهای وابسته در مدل رگرسیون با متغیرهای مستقل، نمودارهای کانتور مخلوط آنها بوسیله این نرم افزار ترسیم شدند. به منظور ارزیابی صحت مدل های برازش داده شده مقادیر R^2 ، R^2 تصحیح شده مدل و P ضرایب تعیین شدند.



شکل ۳-۳- نمایشی از پایلوت اکستروژن و مراحل تولید و دراژه نی اسنک حجیم

۳-۲-۶- ارزیابی ویژگی های پوشش عملگر

۳-۲-۶-۱- ارزیابی ویژگی رئولوژیک سوسپانسیون پوشش عملگر

ویژگی های رئولوژیک سوسپانسیون فرموله شده جهت تولید پوشش عملگر با استفاده از ویسکومتر چرخشی DV III Ultra BROOKFIELD با دمای ثابت ۲۰ درجه سانتیگراد مورد بررسی قرار گرفت. منحنی های رئولوژیکی پس از یک زمان نگهداری ۳ دقیقه ای در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد بدست آمد. تنش برشی به عنوان تابعی از میزان برش در دامنه ۰ تا $1382S^{-1}$ تعیین می شود. ویسکوزیته ظاهری در ۶۴ و ۱۲۸ دور بر دقیقه تعیین شد (گارسیا و همکاران، ۲۰۰۲).

۳-۲-۶-۲- ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پوشش عملگر

اندازه گیری میزان رطوبت مواد خام و محصول، پروتئین و خاکستر به ترتیب توسط روش AOAC 925.10 (2002) (AOAC 955.04, 2002) و با کمک دستگاه کدال اتومات مدل VAP20 ساخت شرکت Gerhardt و (AOAC 923.03, 2002) صورت گرفت.

۳-۲-۶-۳- تعیین خصوصیات رنگی پوشش عملگر

رنگ نمونه های تولید شده توسط دستگاه هانتربل و به روش ليو (۱۹۹۹) اندازه گیری می شود. به این منظور ابتدا نمونه ها پودر و در کاپ مخصوص ریخته شد تا سطح آن کاملا پوشانده شود. در این آزمون مقادیر L^* ، a^* ، b^* تعیین گردید.

۳-۲-۶-۳- تشکیل و پایداری امولسیون پوشش عملگر

امولسیون یک سیستم دو فازی است که از دو مایع مخلوط نشدنی که یکی از آنها به صورت قطرات مایع در فاز دیگر پراکنده شده است. به منظور اندازه گیری ظرفیت امولسیون کنندگی، پس از اختلاط کلیه مواد با نسبت مشخص نمونه ها ابتدا توسط همزن مکانیکی مخلوط شد و سپس با استفاده از همزنایزر التراتوراکس مدل تی ۲۵ دیجیتال، شرکت آی کی ای آلمان (با سرعت ۱۱۰۰۰ دور بر دقیقه تحت دمای اتاق) به مدت یک دقیقه همزن گردید. ۱۰ میلی لیتر از نمونه های امولسیون به لوله های آزمایش به قطر داخلی مشخص انتقال و سپس در ۱۲۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. ظرفیت امولسیون کنندگی با استفاده از رابطه زیر محاسبه گردید (دینگ، ۲۰۰۶ و دراگو، ۲۰۰۷).

10^{*} (ارتفاع امولسیون قبل از سانتریفیوژ / ارتفاع لایه امولسیفیه پس از سانتریفیوژ) = ظرفیت امولسیون کنندگی

به منظور بررسی پایداری امولسیون در برابر حرارت حین درآژه زنی، نمونه ها در حمام بن ماری با دمای ۵۰ درجه و به مدت ۴۰ دقیقه قرارداده شدند و سپس در ۱۲۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردیدند، در انتها پایداری امولسیون ها بر اساس معادله زیر محاسبه گردید.

۱۰۰*(ارتفاع امولسیون قبل از حرارت/ ارتفاع لایه امولسیفیه پس از حرارت)= پایداری امولسیون کنندگی

۳-۲-۷- ارزیابی ویژگی های اسنک حجیم حاوی پوشش عملگر

۳-۲-۷-۱- ویژگی های بافت سنجی اسنک حاوی پوشش عملگر

به منظور تعیین میزان سختی بافت نمونه ها از دستگاه آنالیز بافت مدل TA plus ساخت شرکت LLOYD انگلستان با مشخصات پروب استوانه ای به قطر ۲ میلی متر استفاده می شود؛ نیروی موردنیاز جهت نفوذ پروب به عمق مشخص ۸ میلی متر و تحت سرعت ثابت ۱mm/s می باشد. در روش کرامر، به منظور تعیین مولفه های سنجش بافت (آزمون TPA) حدود ۱۰ گرم نمونه در سیلندر آلومینیومی (قطر داخلی = ۲۷ میلی متر، عمق = ۲۷ میلی متر) قرار گرفته و تا ایجاد یک سطح صاف فشرده می شود. پروب های پلاستیکی صاف ۱۳ میلی متری برای تعیین فشرده سازی ۷۰٪ با سرعت ۵ میلی متر/ثانیه مورد استفاده قرار می گیرد. سختی، اسفنجی بودن، انسجام و قابلیت جویدن نمونه ها مورد بررسی قرار گرفت (پائولا، ۲۰۱۴).

۳-۲-۷-۲- ظرفیت جذب آب اسنک حاوی پوشش عملگر

ظرفیت جذب آب یا ظرفیت نگه داری آب طبق روش استاندارد (AOAC, 1990) اندازه گیری می شود. ۱ گرم نمونه بر مبنای وزن خشک درلوله سانتریفیوژ از پیش توزین شده اضافه شده، سپس ۲۰ میلی لیتر آب مقطر به آن افزوده و برای ۱۰ دقیقه به سرعت هم زده می شود. سپس مخلوط حاصل در ۲۰۰۰g برای ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتیفیوژ می گردد. مایع رویی حاصل از سانتیفیوژ دور ریخته شده و لوله ها به مدت چند دقیقه روی کاغذ صافی برای اطمینان از تخلیه کامل آب واژگون نگه داشته می شوند. پس از توزین مجدد لوله، میزان ظرفیت نگه داری آب محاسبه شد.

۳-۲-۷-۳- آزمون های حسی اسنک حاوی پوشش عملگر

خصوصیات حسی نمونه های تولید شده مانند بافت، ظاهر کلی، عطر و طعم، مزه و پذیرش کلی توسط ۱۰ پانلیست آموزش دیده و براساس آزمون هدونیک ۵ نقطه ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳-۲-۷-۴- شمارش میزان زنده مانی باکتری های پروبیوتیک

ابتدا به منظور تهیه سوسپانسیونی همگن، ۱۰ گرم نمونه اسنک حاوی درآژه، داخل کیسه های استریل با فیلتر مخصوص حاوی ۹۰ میلی لیتر محلول استریل سیترات سدیم ۲ درصد وزنی- حجمی ساخت شرکت سیگما، منتقل گردید و

توسط دستگاه استومکر به مدت ۵ دقیقه بطور کامل هوموژن و سپس فیلتر شد تا ذرات معلق آن حذف شود به این ترتیب اولین رقت 10^{-1} ، تهیه گردید. برای انجام پژوهش، سایر رقت‌ها (10^{-2} تا 10^{-3}) با استفاده از آب پیتونه استریل ۰/۱ درصد وزنی - حجمی تهیه شدند، سپس از لوله های حاوی رقت های تهیه شده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر بوسیله سمپلر (کشت سطحی) روی سطح محیط کشت MRS منتقل و سپس عملیات گرمخانه گذاری در ۳۷ درجه سانتی گراد و برای ۴۸ ساعت پیگیری گردید (دالاروسا، ۲۰۰۸). ارزیابی فلور میکروبی، در ۴ بازه زمانی صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تولید و در ۳ تکرار انجام شد.

جهت ارزیابی فلور میکروبی در کلیه آزمایش ها پس از کشت در محیط اختصاصی پرگنه های تشکیل شده توسط دستگاه پرگنه شمار انجام شد (دالاروسا، ۲۰۰۸).

به منظور جلوگیری از رشد کپک و مخمر در محیط کشت MRS آنتی بیوتیک سیکلوهگزیمید به میزان ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر، اضافه شد (دالاروسا، ۲۰۰۸). از بین کلیه پلیت‌های تلقیح شده، پلیت های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ پرگنه، انتخاب شد. علاوه بر شمارش کلی باکتری‌ها از کلیه پرگنه های قابل دسترس نمونه برداری انجام پذیرفت. گستره میکروبی هر یک از پرگنه های مورد بررسی، پس از خشک شدن در مجاورت هوا و تثبیت حرارتی، با رنگ کریستال بنفش به مدت ۱ دقیقه رنگ آمیزی شده و پس از شستشوی ملایم با آب، محلول لوگول به مدت ۱ دقیقه جهت تثبیت رنگ به گستره میکروبی افزوده شد. پس از شستشوی ملایم با آب مقطر از الکل مطلق به مدت ۳۰ ثانیه برای رنگبری و نهایتاً محلول سافرانین به مدت ۱ دقیقه جهت رنگ آمیزی استفاده شد (کیت رنگ آمیزی پارس). پس از خشک شدن لام تهیه شده، آرایش سلولی و واکنش گرم با استفاده از لنز ۱۰۰ روغنی میکروسکوپ نوری تعیین گردید (دالاروسا، ۲۰۰۸).

۳-۲-۷-۵- تعیین مدت زمان بهینه ماندگاری

تعیین مدت زمان بهینه ماندگاری اسنک حجیم با پوشش خوارکی عملگر، بر پایه قابلیت زنده مانده حادقل 10^6 CFU/g باکتری های پروبیوتیک موجود، در طی زمان نگهداری و توسط کشت بر روی محیط MRS Agar در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت و تحت شرایط بی هوازی تعیین شد.

۳-۲-۸- طرح آماری در فاز نخست پژوهش

تجزیه و تحلیل داده ها در فاز نخست پژوهش با طرح آماری دو فاکتوره‌ی کاملاً تصادفی و در دو تکرار و مقایسه‌ی میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام می شود. برای انجام آنالیز واریانس از نرم‌افزار Minitab ver 14 و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار Mstac استفاده شده و برازش خطوط و ترسیم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزارهای Slide Write و Excel انجام شد.

۳-۲-۹- طراحی آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری در فاز دوم پژوهش

بهبود کارایی سیستم‌ها و افزایش عملکرد فرایندها بدون افزایش هزینه دارای اهمیت بسیار می‌باشد. روش به کار رفته بدین منظور، بهینه‌سازی نامیده می‌شود. در عملیات معمول برای تعیین شرایط بهینه فرآیند، یکی از پارامترها با ثابت در نظر گرفتن سایر پارامترها تغییر می‌یابد. از معایب اصلی این شیوه بهینه‌سازی این است که بر هم کنش میان متغیرها را لحاظ نکرده و در نتیجه اثرات کامل پارامترها بر فرآیند را پوشش نمی‌دهد. به منظور غلبه بر این مشکل، می‌توان از متدولوژی رویه پاسخ بهره گرفت. این روش، مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری و ریاضی است که در مورد فرآیندهایی کاربرد دارد که اطلاعات موجود در مورد سیستم بسیار کم می‌باشد یا میان متغیرها برهم کنش وجود داشته و پاسخ غیر خطی است. در این تکنیک، پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد و هدف، توصیف رابطه میان پاسخ و متغیرهای مستقل توسط مدل‌های ریاضی و بهینه‌سازی این پاسخ می‌باشد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه متدولوژی رویه پاسخ شده است (میرز و همکاران، ۲۰۰۲).

روش صفحه پاسخ، کمکی مضاعف برای یافتن حالت بهینه فاکتورها می‌باشد و نشان دهنده چگونگی تاثیر فاکتورهای درامنه مورد بررسی بر نتایج آزمون هاست (میرز و همکاران، ۲۰۰۲).

فرآیند بهینه‌سازی توسط RSM را می‌توان به سه مرحله تفکیک کرد. مرحله نخست، مشخص نمودن پارامترهای مستقل و سطوح آنها می‌باشد. مرحله دوم، گزینش طرح آزمایشی و پیش‌بینی و ارزیابی رابطه مدل و مرحله نهایی، به دست آوردن و رسم نمودار رویه پاسخ و نمودار کنتور پاسخ به عنوان تابعی از پارامترهای مستقل و تعیین نقاط بهینه می‌باشد.

در فاز تولید درآهه غذایی عملگر، اثر متغیرهای مستقل، شامل X1 سطوح افزودن اینولین، X2 نشاسته اصلاح شده و یا مالتودکسترین، خواهد بود. متغیرها مطابق معادله‌ی زیر کدگذاری شدند:

$$x_i = (X_i - \bar{X}_i) / \Delta X_i$$

X_i مقدار بدون بعد متغیر مستقل فرایند، X_i مقدار واقعی متغیر مستقل فرایند، \bar{X}_i مقدار واقعی متغیر مستقل در نقطه‌ی مرکزی و ΔX_i تغییر پله‌ای است.

در مرحله بعد، طرح آماری گزینش شده و رابطه مدل مورد استفاده برای پیش‌بینی برآزش شده و مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. مدل مورد استفاده در RSM، عموماً رابطه درجه دوم کامل یا درجه دوم کاسته می‌باشند.

در این آزمایش (Y_i) به عنوان متغیر وابسته یا پاسخ و معادله درجه دوم زیر برای بررسی نتایج استفاده می‌شود:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3$$

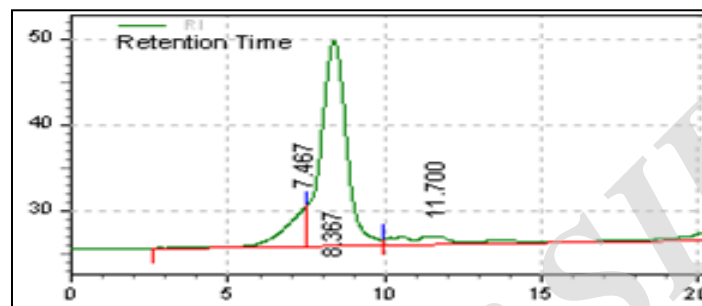
در معادله ذکر شده Y پاسخ پیش‌بینی شده β_0 ضریب ثابت، β_1 ، β_2 ، β_3 اثرات خطی، β_{11} ، β_{22} ، β_{33} اثر مربعات و β_{12} ، β_{13} ، β_{23} اثرات متقابل می‌باشند.

ویژگی‌های کیفی و عملکردی فرآورده‌های تولیدی، با آنالیز واریانس (ANOVA) در سطح اطمینان ۰/۰۱ و با استفاده از نرم افزار آماری Design Expert 6.0.2 مدل سازی گردید.

فصل چهارم
نتایج حاصل از پژوهش

۱-۴- ارزیابی کیفی اینولین استحصالی

مطابق نتایج میلانی و همکاران (۱۳۹۰) در روش استخراج آبی اینولین از سیب زمینی ترشی، اینولین بدست آمده پس از طی مراحل تصفیه و مطابق نتایج آنالیز کروماتوگرام HPLC، دارای درصد خلوص حدود ۵۷ درصد بوده است و در این تکنیک در پودر حاصله علاوه بر اینولین های کوتاه زنجیره، مقادیری از فروکتوالیگوساکاریدهای کوتاه زنجیره به همراه مقادیر جزئی گلوکز و فروکتوز مشاهده شده است. همچنین اینولین استاندارد HP-inulin از شرکت Orafit خریداری شد، HP-inulin دارای ۶۰-۱۰ DP= متوسط حدود ۲۵ می باشد.



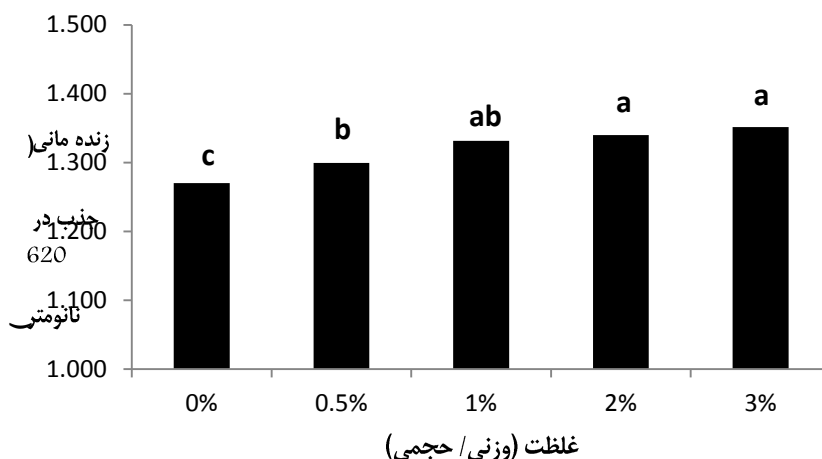
نمودار ۱-۴: کروماتوگرام اینولین حاصل از سیب زمینی ترشی

۲-۴- ارزیابی ویژگی های پری بایوتیکی اینولین استخراج شده از سیب زمینی ترشی در مقایسه با اینولین تجاری در شرایط *In vitro*

۱-۲-۴- بررسی تغییرات رشد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (تغییرات کدورت محیط) در کشت حاوی غلظت های مختلف از اینولین در شرایط

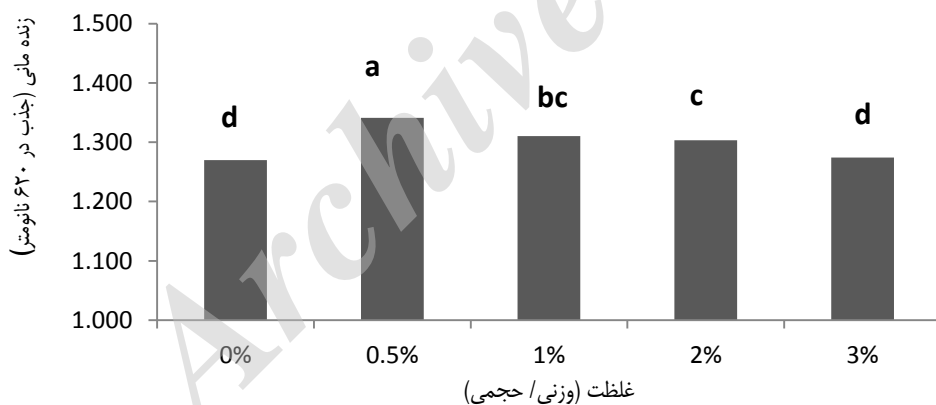
تعیین میزان کدورت محیط کشت ناشی از رشد سویه های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در حضور هر دو نوع پلی فروکتان، نشان داد که این باکتری توانایی مصرف فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی^{۱۰} (JA-Fr) و اینولین تجاری را دارد و این میزان به غلظت و زمان وابسته است. باکتری ها در حضور غلظت های مختلف JA-Fr نسبت به محیط کنترل فاقد فروکتوالیگوساکارید، رشد بیشتری داشتند. میزان کدورت محیط در حضور ۰/۵٪ (وزنی حجمی) از الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی حدود ۱/۲۹۰ بود و با افزایش غلظت تا ۳٪، به ۱/۳۵۲ رسید. این اختلاف در سطح $p < 0.05$ معنی دار ارزیابی گردید (نمودار ۲-۴).

¹⁰ Fructooligosaccharides derived from Jerusalem artichoke tubers



نمودار ۴-۲- رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف فروکتوالیگوساکارید سیب زمینی ترشی

*حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.
 نرخ رشد ویژه باکتری در فاز لگاریتمی (μ) برای غلظت ۳٪ (وزنی-حجمی) در جدول (۱) محاسبه شده است. μ به دست آمده برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ۰/۴۵۸ بود که در مقایسه با محیط کنترل و اینولین تجاری به طور معنی داری بالاتر بود ($p < 0.05$). این ویژگی نیز بالاتر بودن میزان رشد باکتری را در محیط حاوی فروکتان های سیب زمینی ترشی نسبت به محیط کنترل نشان داد.



نمودار ۴-۳- رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف اینولین تجاری.

*حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

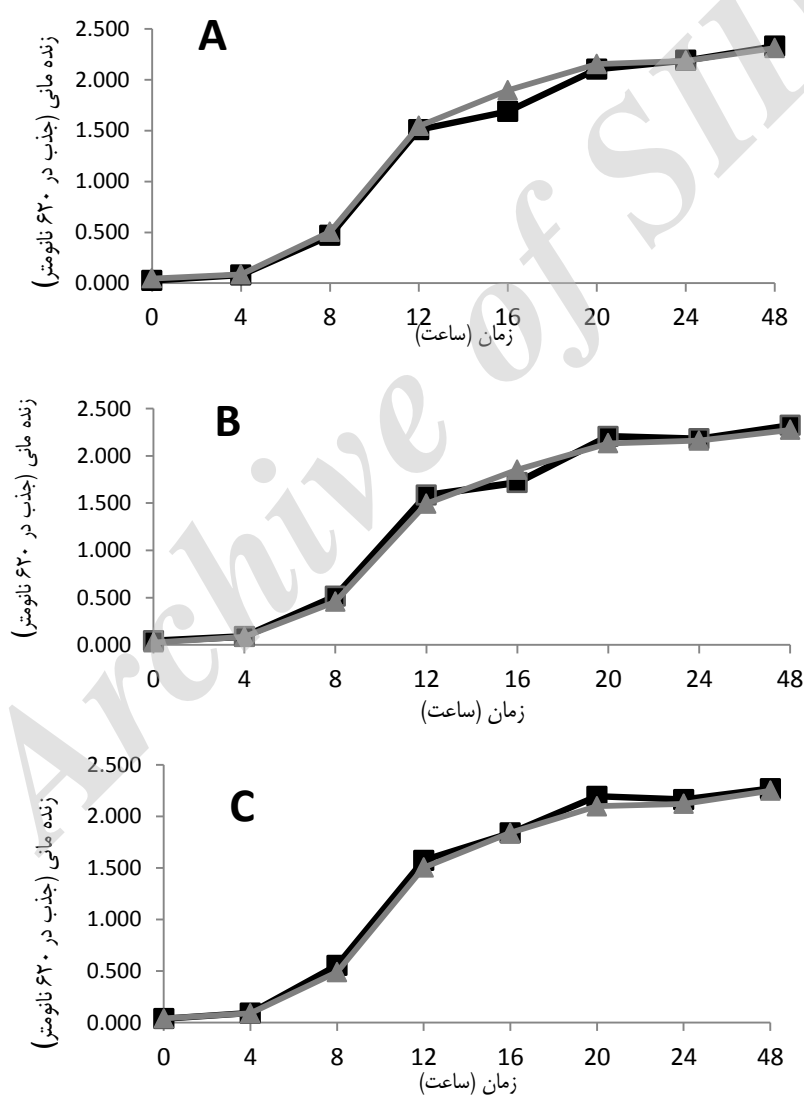
نتایج نمودار ۴-۳ نشان داد؛ باکتری ها در حضور اینولین تجاری نیز نسبت به نمونه کنترل رشد بهتری داشته اند که البته میانگین رشد نسبت به محیط حاوی JA-Fr به طور معنی دار کمتر بود
 لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حضور ۵٪/۰/۵-حجمی اینولین بالاترین میزان رشد را داشت و با افزایش غلظت تا ۳٪ کدورت ایجاد شده ناشی از رشد باکتری به طور معنی داری کمتر شد و به حدود ۱/۲۷۴ رسید.

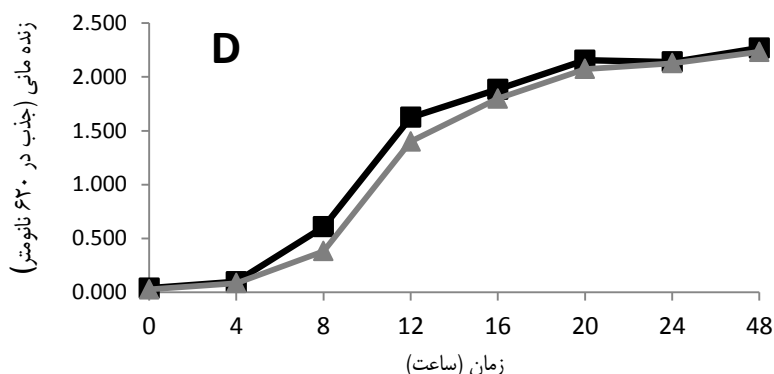
جدول ۴-۱ - مقایسه نرخ رشد ویژه (μ) و زمان دوبرابر شدن سلولی (t_g) باکتری های لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس در حضور فروکتان های مختلف

	کنترل	JA-Fr	اینولین تجاری
نرخ رشد ویژه	$b./0.02 \pm 0.397$	$a./0.05 \pm 0.458$	$b./0.05 \pm 0.380$
زمان دوبرابر شدن سلولی (h)	$a./0.02 \pm 1.746$	$b./0.05 \pm 1.513$	$a./0.05 \pm 1.824$

انحراف معیار استاندارد ذکر شده اند. t_g و μ مقادیر

حروف به کار رفته در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر (با توجه به آزمون آماری دانکن) می باشند ($P < 0.05$).





نمودار ۴-۴- منحنی رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵% (A)، ۱% (B)، ۲% (C) و ۳% (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در طول ۴۸ ساعت

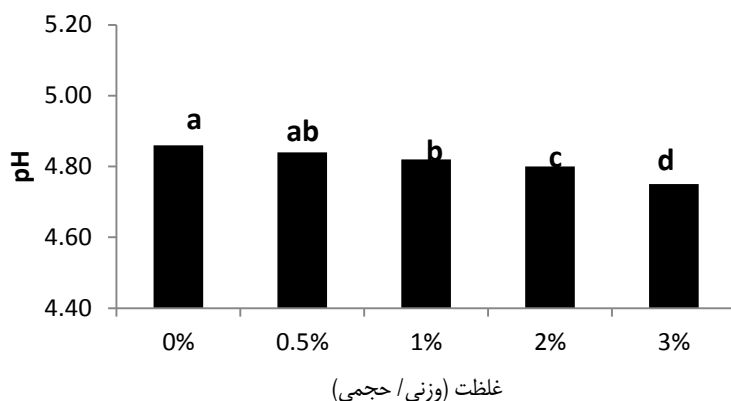
منحنی رشد باکتری در حضور غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین در طول ۴۸ ساعت در نمودار ۴-۴ قابل مشاهده است.

همانگونه که مشاهده می شود روند رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر دو محیط و نیز در غلظت های مختلف از فروکتان ها مشابه است. باکتری پس از حدود ۴ ساعت از آغاز کشت وارد فاز لگاریتمی رشد شده و سرعت تکثیر سلولی به ماکزیموم مقدار خود رسید. سپس نرخ رشد کاهش یافته و به تدریج ثابت گردید.

در طول ۴۸ ساعت کشت، میزان رشد باکتری ها در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵ ، ۱ و ۲ درصد (وزنی-حجمی) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی مشابه با غلظت های متناظر از اینولین بود و در فواصل زمانی ۴ ساعته، کدورت ایجاد شده در هر دو محیط اختلاف معنی داری با هم نداشتند؛ اما در غلظت ۳ درصد (وزنی-حجمی)، با وجود روند رشد مشابه، سرعت رشد باکتری در حضور الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی بیشتر بود (نمودار D ۳). بالاترین میزان رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط با ۳ درصد (وزنی-حجمی) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی مشاهده شد.

۴-۲-۲- بررسی تغییرات pH در محیط کشت

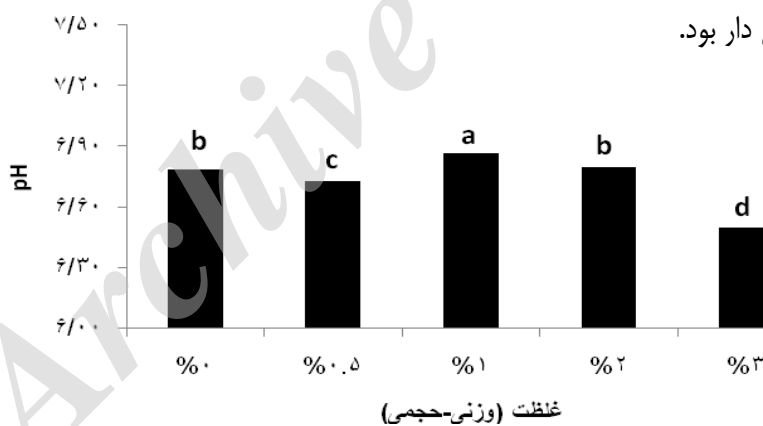
تاثیر افزایش اینولین استخراج شده از غده سیب زمینی ترشی و نیز اینولین تجاری بر pH سوسپانسیون های باکتریایی حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول ۴۸ ساعت آنکوباسیون در دمای ۳۷ بررسی گردید.



نمودار ۴-۵- میانگین pH در محیط حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف از فروکتان های سیب زمینی ترشی.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

همانگونه که در نمودارها قابل مشاهده است، میانگین pH محیط در طول ۴۸ ساعت به غلظت و نوع ترکیب فروکتان استفاده شده وابسته است. همزمان با افزایش غلظت فروکتوالیگوساکارید و رشد بیشتر باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، pH محیط کاهش یافت. بالاترین میزان pH مربوط به نمونه کنترل (۴/۸۶) و پایین ترین pH مربوط به نمونه حاوی ۳% (وزنی-حجمی) از الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی بود. تفاوت میان مقدار ماکزیموم و مینیموم در سطح $p < 0.05$ معنی دار بود.



نمودار ۴-۶- میانگین pH در محیط حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد. حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

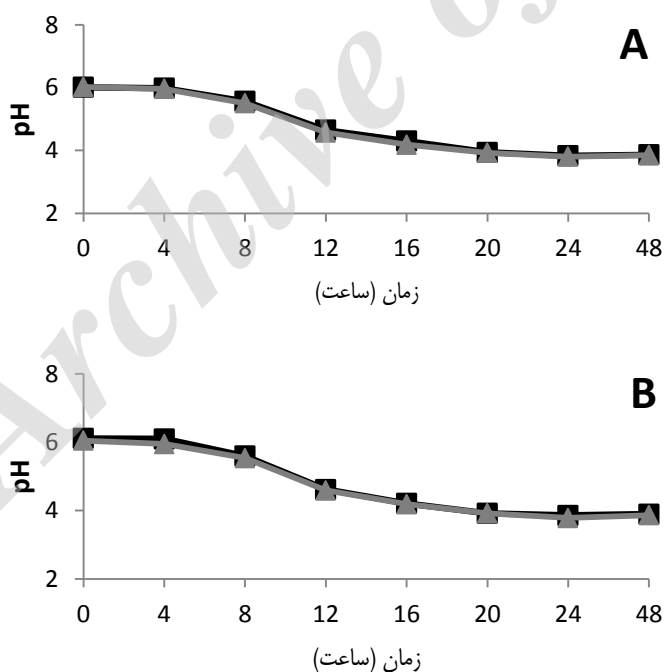
نمودار ۴-۶، میانگین pH را در محیط کشت حاوی غلظت های مختلف اینولین تجاری نشان می دهد. کمترین مقدار pH مربوط به غلظت ۰/۵% (وزنی-حجمی) اینولین بود. با افزایش غلظت مقدار pH نیز افزایش یافته و در غلظت ۳% (وزنی حجمی) به ۴/۷۷ رسید.

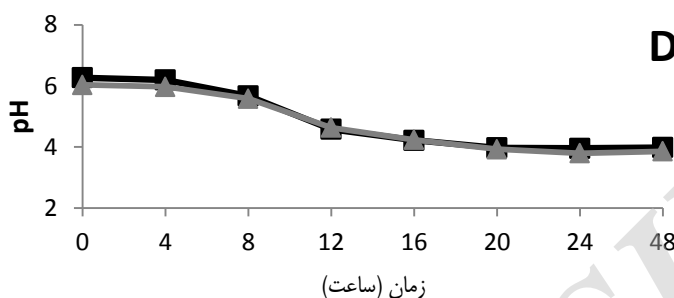
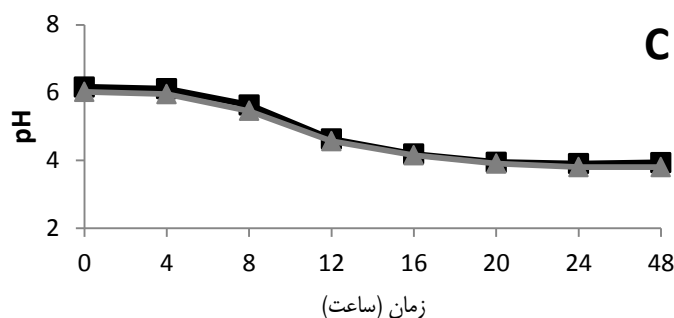
اختلاف pH در پایین ترین و بالاترین مقدار در سطح $p < 0.05$ معنی دار ارزیابی گردید. pH نمونه کنترل (فاقد اینولین) مشابه محیط حاوی ۳٪ (وزنی-حجمی) اینولین بود.

منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از فعالیت گونه باکتریایی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حضور غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین در نمودار ۴-۷ قابل مشاهده است. همانگونه که در نمودارها مشاهده می شود روند تولید اسید توسط باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و تغییرات pH در حضور هر دو نوع فروکتان ونیز در غلظت های مختلف از آنها مشابه است.

باکتری ها پس از ورود به فاز لگاریتمی رشد (حدود ۶-۴ ساعت از آغاز کشت)، با مصرف کربوهیدرات های موجود و تولید اسید موجب کاهش pH محیط کشت گردیدند. پس از ۲۴-۲۰ ساعت از آغاز کشت، باکتری ها وارد فاز سکون شدند و منحنی بدون تغییر و با مقادیر ثابت (تا ۴۸ ساعت بود.

میزان pH نهایی محیط کشت حاوی فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین در غلظت های ۰/۵ درصد و ۱ درصد (وزنی-حجمی) مشابه بود اما در غلظت های ۲ درصد و ۳ درصد اختلاف معنی دار (در سطح $p < 0.05$) وجود داشت.





نمودار ۴-۷. منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط های حاوی غلظت های ۵٪ (A)، ۱٪ (B)، ۲٪ (C) و ۳٪ (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در طول ۴۸ ساعت

۴-۳- بررسی تغییرات رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط حاوی غلظت های مختلف از اینولین در شرایط *In vitro*

۴-۳-۱- بررسی رشد باکتری

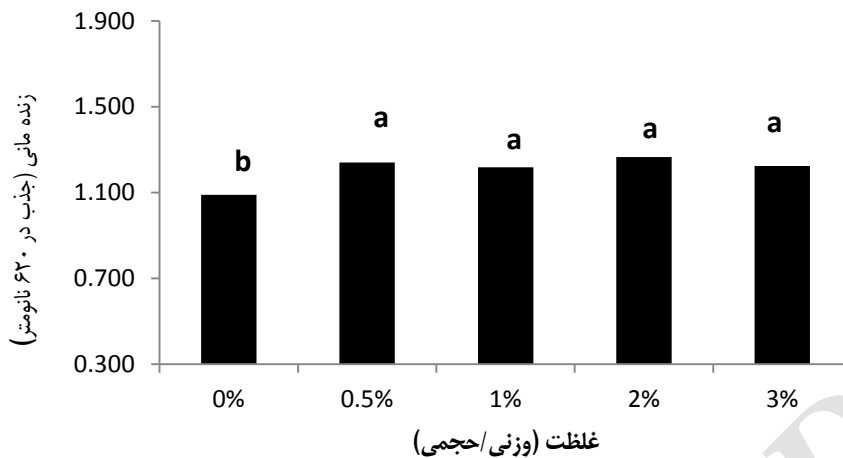
آنالیز نتایج حاصل از رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و کدورت ایجاد شده در محیط کشت های حاوی الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین نشان داد که این باکتری قادر است هر دو نوع فروکتان را به عنوان منبع کربنی مورد استفاده قرار دهد.

میزان مصرف این ترکیبات به غلظت و زمان وابستگی داشت هرچند تاثیر غلظت فروکتان های افزوده شده بر رشد بیفیدوباکتریوم نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کمتر بود.

نمودار ۴-۸- میانگین رشد باکتری را در غلظت های مختلف فروکتوالیگوساکارید سیب زمینی ترشی و نیز در نمونه کنترل نشان می دهد.

کدورت ایجاد شده در محیط ناشی از رشد باکتری ها در محیط های حاوی فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی نسبت به محیط کنترل به طور معنی دار ($p < 0.05$) بیشتر بود. در صورت افزایش فروکتوالیگوساکارید، بالاترین

میزان کدورت در محیط با غلظت ۲٪ (وزنی-حجمی)، به میزان ۱/۲۶۶ و کمترین کدورت به دست آمده مربوط به نمونه با غلظت ۱٪ (وزنی-حجمی) و به میزان ۱/۲۱۸ بود. نتایج دانکن نشان داد که این اختلاف معنی دار نیست.



نمودار ۴-۸- رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکارید سیب زمینی ترشی.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نرخ رشد ویژه باکتری ها در فاز لگاریتمی (μ) برای غلظت ۳٪ (وزنی-حجمی) محاسبه شده است. μ به دست آمده برای بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ۰/۱۵۳ بود که در مقایسه با محیط کنترل و اینولین استاندارد به طور معنی داری بالاتر بود ($p < 0.05$). این ویژگی بالاتر بودن میزان رشد باکتری را در محیط حاوی ۳٪ (وزنی-حجمی) از فروکتان های سیب زمینی ترشی نسبت به محیط کنترل نشان می دهد. نرخ رشد ویژه باکتری در محیط کنترل ۰/۱۲۷ بود.

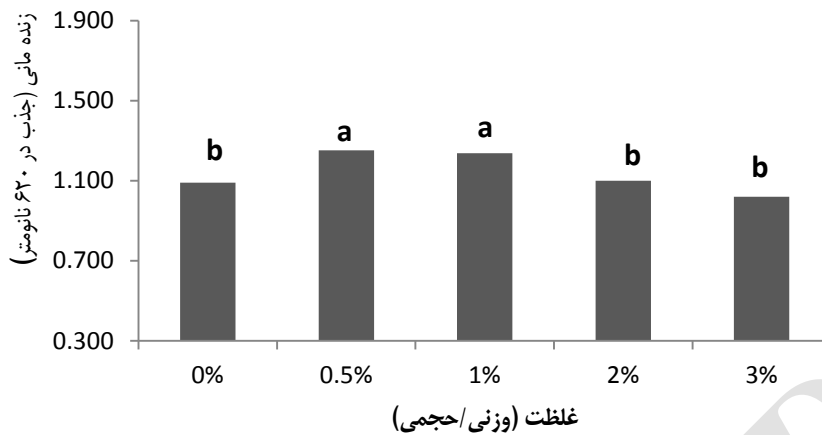
جدول ۴-۲- مقایسه نرخ رشد ویژه باکتری های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در حضور فروکتان های مختلف (t_g) و زمان دو برابر شدن سلولی (μ)

	کنترل	فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی	اینولین استاندارد
نرخ رشد ویژه (h^{-1})	۰/۱۲۷±۰/۰۰۵ b	۰/۱۵۳±۰/۰۰۲a	۰/۰۸۷±۰/۰۰۵c
زمان دو برابر شدن (h)	۵/۴۵۸±۰/۰۰۵ b	۰/۵۳۰±۰/۰۰۲a	۷/۹۶۷±۰/۰۰۵c

انحراف معیار استاندارد ذکر شده اند. t_g و μ مقادیر حروف به کار رفته در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر (با توجه به آزمون آماری دانکن) می باشند ($P < 0.05$).

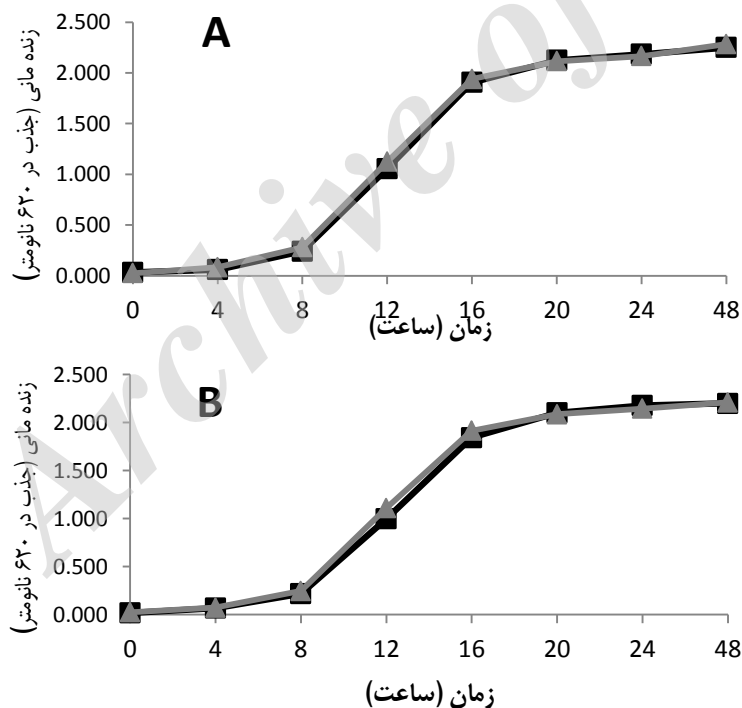
نمودار ۴-۹- نشان می دهد؛ رشد باکتری ها در حضور اینولین استاندارد وابستگی بیشتری به غلظت داشت. وجود ۰/۵٪ و ۱٪ (وزنی-حجمی) اینولین رشد بیفیدوباکتریوم را نسبت به نمونه کنترل به طور معنی داری در سطح

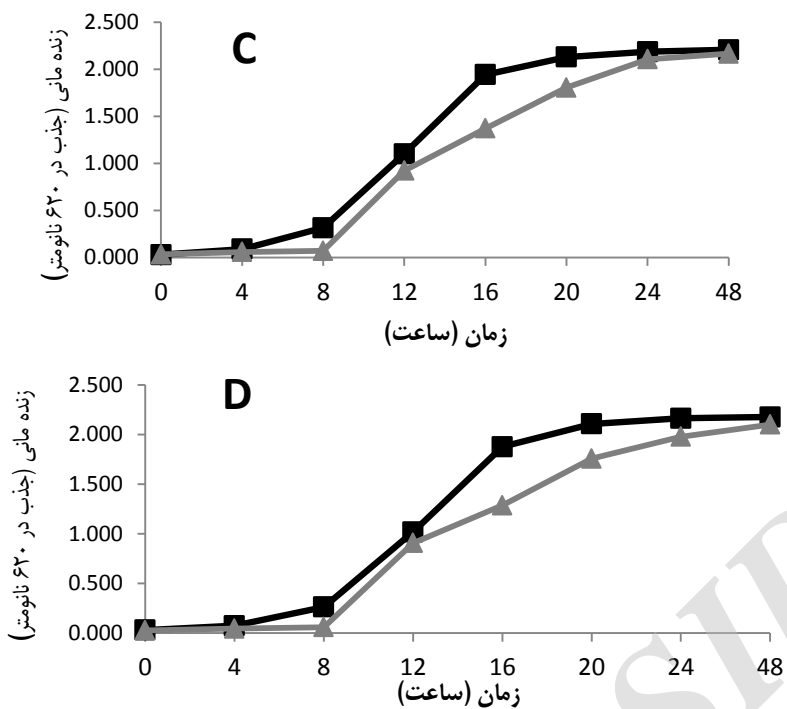
$p < 0.05$ افزایش داد در حالی که ۲٪ و ۳٪ (وزنی-حجمی) از اینولین استاندارد رشدی مشابه با نمونه کنترل را موجب گردید. بالاترین میزان کدورت ایجاد شده در این حالت ۱/۲۵۲ و مربوط به محیط های حاوی ۰/۵٪ بود.



نمودار ۴-۹- رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین تجاری. حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۰- منحنی رشد باکتری را در حضور غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد نشان می دهد.





نمودار ۴-۱۰- منحنی رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵٪ (A)، ۱٪ (B)، ۲٪ (C) و ۳٪ (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در ۴۸ ساعت

همانگونه که مشاهده می شود روند رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در دو محیط و در حضور فروکتان های سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد به غلظت وابسته است. در غلظت های ۰/۵٪ و ۱٪ (وزنی-حجمی)، روند رشد در حضور هر دو نوع فروکتان مشابه است. بیفیدوباکتریوم بیفیدوم بعد از حدود ۶-۸ ساعت پس از کشت وارد فاز لگاریتمی رشد گردید و سرعت رشد و تکثیر گونه افزایش محسوسی یافت. مقادیر کدورت هر دو محیط که در فواصل زمانی ۴ ساعته اندازه گیری می شد، اختلاف معنی داری با هم نداشتند (در طول ۴۸ ساعت). بعد از حدود ۲۲ ساعت از آغاز کشت، باکتری وارد فاز ثابت رشد گردید. در غلظت های ۲٪ و ۳٪ (وزنی-حجمی)، چگونگی رشد سویه ها در دو محیط با هم متفاوت بود. در حضور فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی، رشد لگاریتمی بیفیدوباکتریوم بعد از ۴-۶ ساعت (همانند غلظت های کمتر) آغاز شد در حالی که در محیط های حاوی اینولین استاندارد شروع رشد لگاریتمی سویه ها با تاخیرنسبی و پس از حدود ۸ ساعت مشاهده گردید. در طول ۴۸ ساعت نیز کدورت های تعیین شده برای دو محیط با هم اختلاف معنی داری داشتند ($p < 0.05$).

در این دو غلظت، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط حاوی الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی میانگین رشد بهتری داشت و میزان بقای نهایی باکتری نیز بالاتر بود.

تغییرات دانسیته نوری از جهله فاکتورهای مورد بررسی در شرایط رشد باکتری است که می توان نتایج آن را با نتایج حاصل از شمارش سلولهای زنده مقایسه کرد. در پژوهش درجانی و همکاران (۲۰۱۶)، بررسی اثر نوع کربوهیدرات بر تغییرات دانسیته نوری کشت های باکتریایی نشان داد که در باکتری لاکتوباسیلوس کارئی بیشترین افزایش در دانسیته نوری بر روی گلوکز و پس از آن اینولین تجاری رنجیر کوتاه (FOS) و اینولین حاصل از فاز تراوه اولترافیلتراسیون وجود داشت که بین این دو کربوهیدرات اختلاف معنی داری وجود نداشت. ساختار شیمیایی ساکاریدها (خطی یا انشعابی)، ترکیب واحدهای مونومر کربوهیدرات، حلالیت در آب و درجه پلیمریزاسیون، در میزان مصرف آنها توسط میکروارگانیسم ها موثر است لذا رشد باکتری در کربوهیدرات های با درجه پلی مریزاسیون بالا ضعیف تر می باشد (پاسیفون و شرکات ۲۰۰۹). نتایج حاصل با گزارس روبرفرئید (۱۹۹۹) موافق میباشد که بیان نمودند قابلیت تخمیر اینولین های رنجیر کوتاه نسبت به زنجیر بلند سریعتر است.

مطالعات انجام شده توسط سایر محققین و نیز نتایج به دست آمده در این پژوهش، موید این مطلب است که میزان رشد هر باکتری در حضور فروکتوالیگوساکاریدهای مختلف تا حد زیادی به گونه مورد استفاده وابسته است (مونسان و همکاران، ۱۹۹۵؛ کاپلان و همکاران، ۲۰۰۰).

با توجه به مطالعات پیشین، چنین به نظر می رسد که فروکتوالیگوساکاریدهای کوتاه زنجیره که درجه پلیمریزاسیون (DP) آنها در حدود ۲-۳ است، قابلیت مصرف بهتری توسط گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارند (روسو و همکاران، ۲۰۰۵؛ سالنیر و همکاران، ۲۰۰۷؛ از و همکاران، ۲۰۰۵؛ و کاپلان و همکاران، ۲۰۰۰).

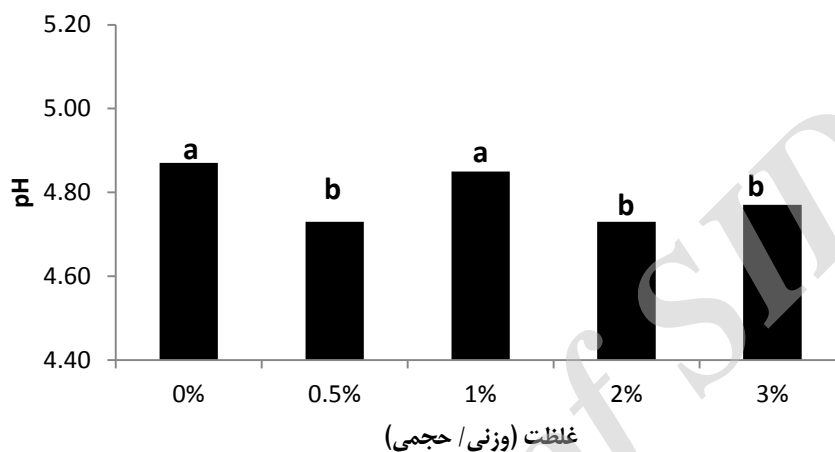
از آنجا که الیگوساکاریدهای استخراج شده از غده سیب زمینی ترشی نسبت به اینولین DP کمتری داشته و زنجیره های آنها کوتاه تر است، بیشتر توسط گونه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مصرف شده و در نتیجه کدورت ایجاد شده در محیط که ناشی از رشد باکتری می باشد بیشتر است.

ویچن شات و همکاران در سال ۲۰۱۰ نتایج مشابهی به دست آوردند. آنها الیگوساکاریدهای گیاه پی تایا (Pitaya) را استخراج کرده و گزارش دادند که این الیگوساکاریدها رشد باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی را به طور معنی داری تحریک میکند.

در این رابطه نتایج متناقضی نیز موجود است. گیسون و همکاران (۱۹۹۵) عنوان کردند که الیگوفروکتوز با DP 2-6، تاثیری بر تعداد باکتری های لاکتوباسیل ندارد در حالی که اینولین موجب افزایش تعداد این باکتری ها می شود؛ هرچند این اختلاف معنی دار نبوده است ($P = 0.075$).

۴-۳-۲- بررسی تغییرات pH محیط کشت

تاثیر افزایش الیگوساکاریدهای استخراج شده از غده سیب زمینی ترشی و نیز اینولین استاندارد بر pH محیط کشت حاوی باکترهای بیفیدوباکتریوم در طول ۴۸ ساعت کشت به صورت بی هوازی و در دمای ۳۷ بررسی گردید. متابولیسم فروکتانها توسط باکتری های اسیدلاکتیک غالباً با کاهش pH همراه بوده و بر تخمیر قندها توسط باکتری و تولید اسید دلالت دارد (لی و همکاران، ۲۰۰۸). همانگونه که در نمودارها قابل مشاهده است، میانگین pH محیط در طول ۴۸ ساعت به غلظت و نوع ترکیب فروکتان استفاده شده وابسته است.



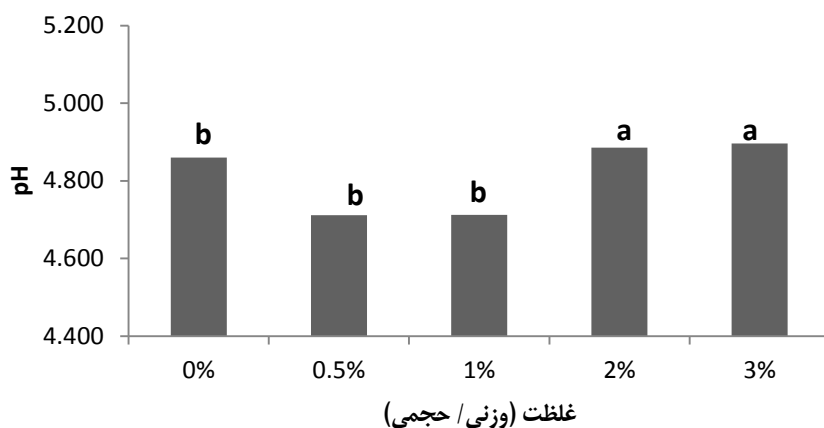
نمودار ۴-۱۱- میانگین pH در محیط حاوی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین سیب زمینی ترشی.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۲- میانگین pH محیط کشت های حاوی غلظت های مختلف از اینولین تجاری را نشان می دهد. کمترین مقدار pH مربوط به غلظت ۰/۵٪ و ۱٪ (وزنی حجمی)، به میزان ۴/۷۱ و بیشترین pH مربوط به ۳٪ (وزنی-حجمی) اینولین استاندارد و به میزان ۴/۹۰ بود.

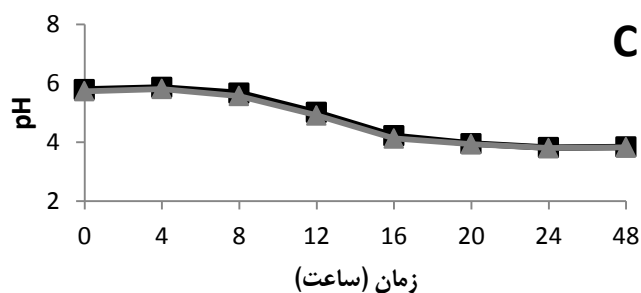
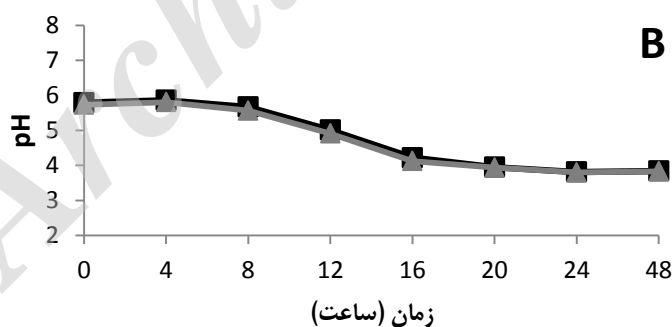
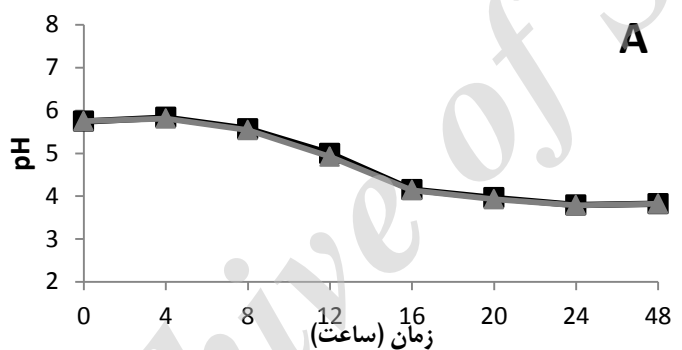
اختلاف pH در پایین ترین و بالاترین مقدار در سطح $p < 0.05$ معنی دار ارزیابی گردید. pH نمونه کنترل (فاقد اینولین) مشابه محیط حاوی ۲٪ و ۳٪ (وزنی-حجمی) اینولین استاندارد بود.

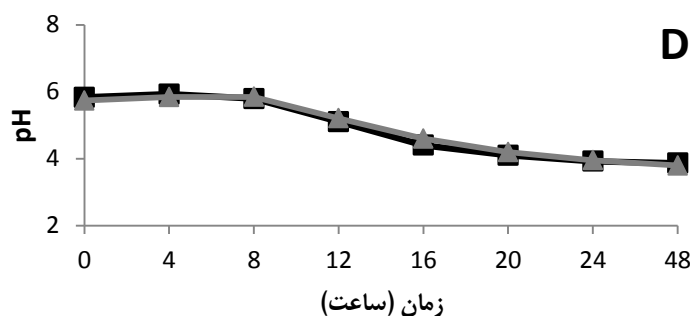
از این رو؛ میزان pH هر محیط تا حدودی تحت تاثیر رشد باکتری در آن محیط بوده و بسته به غلظت متغیر است. بالاترین میزان pH مربوط به نمونه کنترل (۴/۸۷) و پایین ترین pH مربوط به نمونه حاوی ۰/۵٪ و ۲٪ (وزنی-حجمی) از الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی بود. تفاوت میان مقدار ماکزیموم و مینیموم در سطح $p < 0.05$ معنی دار بود.



نمودار ۴-۱۲- میانگین pH در محیط حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد. در نمودار ۴-۱۳- منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از فعالیت باکتری های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط کشت های حاوی غلظت های مختلف فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد قابل مشاهده است.





نمودار ۴-۱۳- منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از رشد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵٪ (A)، ۱٪ (B)، ۲٪ (C) و ۳٪ (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در طول ۴۸ ساعت

همانگونه که در نمودارها مشاهده می شود روند تولید اسید توسط باکتری های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و تغییرات pH در حضور الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد و نیز در غلظت های مختلف از آنها مشابه است. pH محیط کشت در زمان t_0 (آغاز کشت) حدود ۶ بود. سپس با افزایش مصرف کربوهیدرات های موجود، توسط باکتری ها در فاز لگاریتمی رشد، تولید اسید افزایش و pH محیط کشت ها کاهش یافت. پس از ۲۰-۲۴ ساعت از آغاز کشت، و ورود باکتری ها به فاز سکون، مقادیر pH نیز ثابت گردید (در حدود ۳/۸۳). در در محیط، بین میزان نهایی pH اختلاف معنی داری در سطح $p < 0.05$ وجود نداشت.

متابولیسم فروکتان ها باعث کاهش pH محیط کشت می گردد که نشان دهنده تخمیر کربوهیدراتها توسط باکتری های تولیدکننده اسیدلاکتیک و و تولید اسید لاکتیک و اسیدهای چرب کوتاه رنجیر (استات، پروپیونات و بوتیرات) و گازهای CH_4 ، CO_2 و H_2 می باشد (لی و همکاران؛ ۲۰۰۶).

الیگوساکارید ها با زنجیره بلند به هیدرولیز آنزیمی بیشتری قبل از تخمیر کامل نیاز دارند که این مسئله می تواند بر سرعت تخمیر و تولید ترکیبات بازدارنده موثر باشد. متابولیت اصلی حاصل از تخمیر لاکتوباسیلوس ها استات و لاکتات است که منجر به کاهش pH محیط کشت می شود. منابع کربوهیدرات با بازدارندگی بیشتر pH کمتری نشان می دهند، که می تواند نشان دهنده ارتباط کاهش pH با فعالیت آنتی میکروبی باشد (فوک و گیسون، ۲۰۰۲). کاهش pH توسط تولید اسید لاکتیک منجر به اسیدی شدن و ایجاد شکاف در غشاء باکتری های گرم منفی می شود (هولگموث و همکاران، ۲۰۱۰). نتایج تحقیقات نشان داد؛ سوش های پروبیوتیک در حضور الیگوفروکتوز و مخلوط الیگوفروکتوز و گزیلوالیگوساکارید بیشترین اثر بازدارندگی را بر سوش های پاتوژن از جمله *شرشیاکلی* داشتند (بیشتر از گلوز)، در عین حال بهترین رشد و بیشترین کاهش pH در سوپرناتانت حاصل از این تیمارها مشاهده شد که در بین سوش های مختلف، متفاوت بود (فوک و گیسون، ۲۰۰۲).

محققین بر این باورند که تولید اسید بیشتر در بدن توسط باکتری های پروبیوتیک تاثیرات مثبتی بر سلامت

مصرف کننده دارد، چرا که موجب کاهش pH مجرای گوارشی شده و رشد و فعالیت بسیاری از ارگانیزم های پاتوژن را

محدود می نماید؛ اسید تولید شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به طور غالب، اسید لاکتیک و اسید استیک است (چارالامپوپولوس و همکاران، ۲۰۰۹).

به طور کلی، تخمیر کربوهیدرات ها توسط گونه های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شرایط بی هوازی، منجر به متابولیت هایی از جمله اسید لاکتیک، اسیدهای چرب کوتاه زنجیره (مانند استات، پروپیونات و بوتیرات) و نیز در مواردی انواعی از گازها (H_2 ، CO_2 و CH_4) می گردد (لی و همکاران، ۲۰۰۸). امروزه، مطالعات مختلفی بر روی گروه های انسانی انجام شده است. نتایج نشان داده است که سویه های بیفیدوباکتریوم با فعالیت در ناحیه گوارشی و تولید انواع متابولیت موجب تنظیم pH ناحیه گوارشی، بهبود بیوست، بهبود انواع اسهال و تنظیم سیستم ایمنی می گردند (آلاندرا و همکاران، ۲۰۰۱).

۴-۴- بررسی رشد/شیرشیا کلی در محیط حاوی غلظت های مختلف اینولین در شرایط *In vitro*

۴-۴-۱- بررسی رشد باکتری

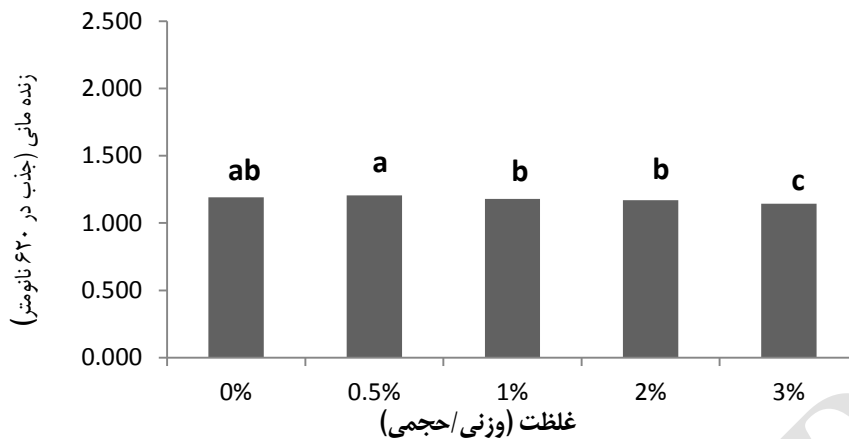
آنالیز نتایج حاصل از رشد باکتری اشیرشیا کلی و مقایسه کدورت ایجاد شده در محیط کشت های حاوی الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی، اینولین استاندارد و محیط کنترل نشان داد که میزان رشد این باکتری تحت تاثیر نوع پلی فروکتان مورد استفاده و غلظت آن می باشد.



نمودار ۴-۱۴- رشد باکتری اشیرشیا کلی در غلظت مختلف از فروکتوالیگوساکارید سیب ترشی. حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۴- نشان دهنده میانگین رشد باکتری اشیرشیا کلی در حضور غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی در مقایسه با نمونه کنترل است. همانگونه که مشاهده می شود، با افزایش غلظت تا ۲٪ (وزنی-حجمی)، میزان کدورت محیط روندی افزایشی داشت اما غلظت ۳٪ (وزنی-حجمی) موجب کاهش رشد گردید. در صورت افزایش فروکتوالیگوساکارید، بالاترین میزان کدورت در محیط با غلظت ۲٪ (وزنی-حجمی) مشاهده گردید.

حجمی)، به میزان ۱/۳۹۳ و کمترین کدورت به دست آمده مربوط به نمونه با غلظت ۰/۵٪ (وزنی-حجمی) و به میزان ۱/۲۷۳ بود. با توجه به نتایج دانکن این اختلاف در سطح $p < 0.05$ معنی دار ارزیابی شد.



نمودار ۴-۱۵- رشد باکتری اشیریشیا کلی در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۵- نشان می دهد که رشد باکتری های اشیریشیاکلی در حضور اینولین استاندارد نیز به غلظت فروکتان وابسته است. افزایش غلظت اینولین کاهش رشد باکتری را موجب گردید. به این ترتیب، غلظت ۰/۵٪ (وزنی-حجمی) بالاترین میانگین کدورت (۱/۲۰۶) و ۳٪ (وزنی-حجمی) پایین ترین میانگین (۱/۱۴۴) را نشان دادند. کدورت ناشی از رشد اشیریشیا کلی در محیط کنترل حدود ۱/۱۹۲ بود.

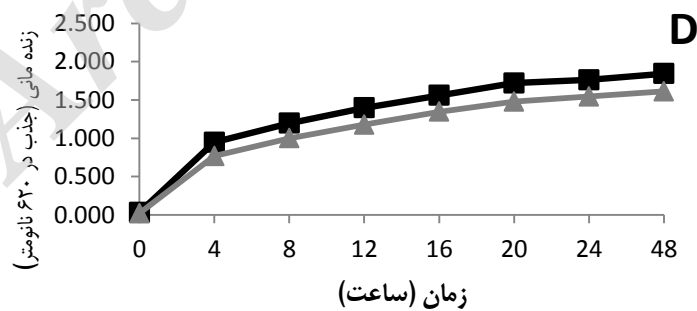
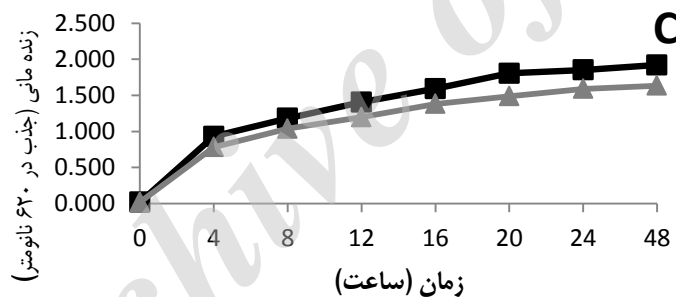
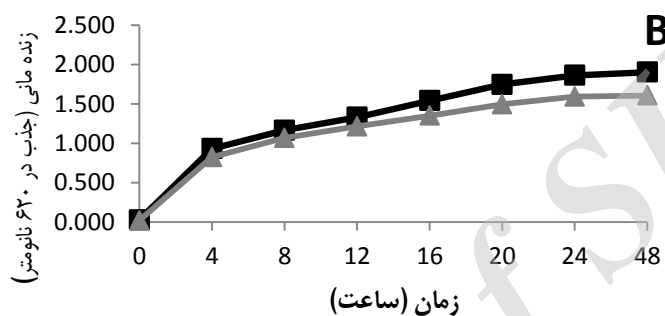
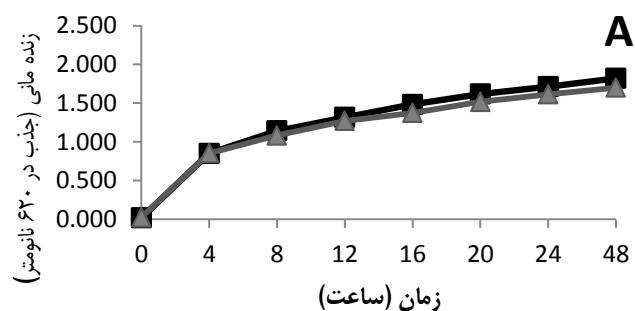
نتایج دانکن نشان داد که این میزان با ماکزیموم کدورت ایجاد شده توسط اینولین استاندارد اختلاف معنی داری ندارد ($p < 0.05$). زمان دو برابر شدن سلولی باکتری های اشیریشیا کلی که برای غلظت ۳٪ (وزنی-حجمی) محاسبه شده (۰/۸۹۸) سرعت رشد کمتر اینولین استاندارد را در مقایسه با محیط دیگر نشان داد. البته اختلاف این میزان با t_g مربوط به محیط کنترل بی معنی بود.

جدول ۴-۳- مقایسه نرخ رشد ویژه باکتری های اشیریشیا کلی در حضور فروکتان های مختلف (t_g) و زمان دو برابر شدن سلولی (μ)

	اینولین استاندارد	فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی	کنترل
نرخ رشد ویژه (h^{-1})	۰/۸۹۸±۰/۰۰۷	۰/۷۸۳±۰/۰۰۴a	۰/۹۰۸±۰/۰۰۳
زمان دو برابر شدن سلولی (h)	۰/۷۷۲±۰/۰۰۷	۰/۸۸۵±۰/۰۰۴a	۰/۷۶۳±۰/۰۰۳

انحراف معیار استاندارد ذکر شده اند. t_g و μ مقادیر حروف به کار رفته در هر ردیف نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر (با توجه به آزمون آماری دانکن) می باشند ($P < 0.05$).

نمودار ۴-۱۶- منحنی رشد باکتری اشریشیا کلی را در حضور غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد نشان می دهد.



نمودار ۴-۱۶- منحنی رشد باکتری اشریشیا کلی در محیط های حاوی غلظت های ۵% (A)، ۱% (B)، ۲% (C) و ۳% (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در طول ۴۸ ساعت

همانگونه که مشاهده می شود روند رشد باکتری در هر دو محیط و نیز در غلظت های مختلف از فروکتان ها مشابه است. پس از ورود به فاز لگاریتمی رشد، سرعت تکثیر سلولی باکتری ها به ماکزیموم مقدار خود رسید. در طول ۴۸ ساعت کشت، اینولین استاندارد تاثیر کمتری بر زنده مانی اشیریشیا کلی داشت. میزان رشد باکتری ها که در فواصل زمانی ۴ ساعته اندازه گیری می شد، در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ درصد (وزنی حجمی) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی با غلظت های متناظر از اینولین استاندارد در سطح $p < 0.05$ تفاوت معنی دار داشت. میزان بقای نهایی باکتری در محیط های حاوی فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی بالاتر بود.

مطابق پژوهش واتسون و همکاران (۲۰۱۳)، ترکیب لاکتوز، مالتو دکسترین، فروکتوالیگوساکارید، گالاتوالیگوساکارید و نسبت ۹:۱ اینولین: گالاتوالیگوساکارید سبب تحریک رشد ۱۲ گونه مختلف بیفیدوباکتیریا شد؛ در حالیکه اینولین و پلی دکستروز سوسترای ضعیفی برای رشد بیفیدوباکتیرها بودند. مطابق نتایج ویگسانی و همکاران (۲۰۱۱)، دو گونه *Bifidobacterium longum* و *Bifidobacterium adolescentis* دارای قابلیت تخریب زنجیره خطی آرابینوالیگوساکارید (DP8) بود در حالیکه *Bifidobacterium breve* صرفا قابلیت هیدرولیز فروکتوالیگوساکارید و *B. bifidum* قابلیت تخریب فروکتوالیگوساکارید را ندارد. با این حال ویچن چات و همکاران (۲۰۱۰) در مقایسه اندیس پری بایوتیکی اینولین تجاری و الیگوساکارید استحصالی از میوه پیتایا بر رشد *B. bifidum* شاهد تاثیر بیشتر اینولین در رشد سویه مورد نظر بودند. اما افزایش از نظر آماری معنی دار نبود.

در پژوهش دیگر ونگ و همکاران (۲۰۰۶)، شاهد تاثیر بیشتر آلژینات الیگوساکارید در مقایسه با فروکتوالیگوساکارید بر رشد *B. bifidum* بودند.

به طور کلی، فروکتان های با منابع گیاهی مختلف، در درجه پلیمریزاسیون، تعداد شاخه های زنجیره و درجه خلوص با هم متفاوت اند. این امر می تواند بر خصوصیات پری بیوتیکی آنها تاثیر گزار باشد (لوپز مولینا و همکاران، ۲۰۰۵).

با توجه به گزارشات موجود، مشخص چنین به نظر می رسد که میزان رشد باکتری در حضور انواع مختلف فروکتوالیگوساکارید، به گونه باکتری مورد استفاده وابسته است (مونسان و همکاران، ۱۹۹۵؛ کاپلان و همکاران، ۲۰۰۰). همچنین، استفاده از فروکتوالیگوساکاریدها توسط بیفیدوباکتیريوم تا حد زیادی به DP زنجیره ترکیب بستگی

دارد. این باکتری قادر به مصرف اینولین و الیگوساکاریدهای کوتاه زنجیره با DP نسبتاً کم می باشد (لی و همکاران، ۲۰۰۸). نتایج به دست آمده با گزارشات روسو و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت داشت. این دانشمندان عنوان کردند که DP فروکتان ها، یک فاکتور کلیدی در میزان مصرف آنها توسط بیفیدوباکتریوم محسوب شده و می تواند بر سینتیک واکنش های میکروبی و فعالیت آنها اثر گذار باشد (واتسون، ۲۰۱۴).

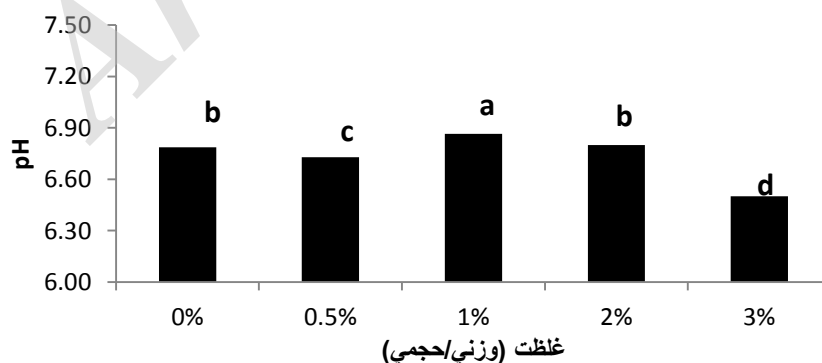
هاپکینز و همکاران (۱۹۹۸) عنوان کردند که ترکیباتی مانند FOS و GOS که DP کمتری دارند، سوبستراهای قوی تری برای رشد بیفیدوباکتریوم محسوب شده و رشد باکتری را بیشتر تحریک می کنند.

۴-۴-۲- بررسی تغییرات pH محیط کشت

تاثیر افزایش الیگوساکاریدهای استخراج شده از غده سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد بر pH محیط کشت حاوی باکترهای اشریشیا کلی در طول ۴۸ ساعت کشت در دمای ۳۷ بررسی گردید.

نمودار ۴-۱۷ میانگین pH محیط کشت های حاوی غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی را در مقایسه با محیط کنترل نشان می دهد.

همانگونه که در نمودار قابل مشاهده است، میانگین pH هر محیط در طول ۴۸ ساعت تحت تاثیر رشد باکتری در آن محیط بوده و بسته به غلظت فروکتان متغیر است. بالاترین میزان pH (معادل ۶/۸۶) مربوط به نمونه با غلظت ۱٪ (وزنی-حجمی) و پایین ترین pH (معادل ۶/۵۰) مربوط به نمونه حاوی ۳٪ (وزنی-حجمی) از الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی بود. تفاوت میان مقدار ماکزیموم و مینیموم در سطح $p < 0.05$ معنی دار بود.

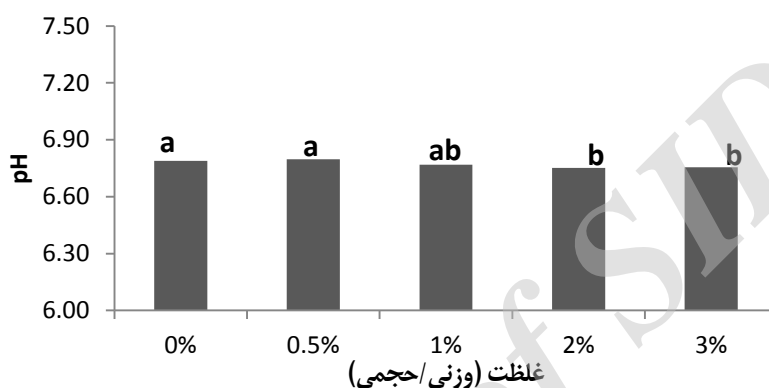


نمودار ۴-۱۷ میانگین pH در محیط حاوی اشریشیا کلی و غلظت های مختلف اینولین سیب زمینی ترشی.

حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۸- نشان دهنده میزان pH محیط در غلظت های مختلف اینولین استاندارد طی ۴۸ ساعت کشت هوازی می باشد.

میانگین pH در حضور اینولین استاندارد نسبت به فروکتان های سیب زمینی ترشی کمتر تحت تاثیر غلظت بود. کمترین مقدار pH مربوط به غلظت ۲٪ و ۳٪ (وزنی-حجمی)، به میزان ۶/۷۵ و بیشترین pH مربوط به ۰/۵٪ (وزنی-حجمی) اینولین استاندارد و به میزان ۶/۸۰ بود. اختلاف pH در پایین ترین و بالاترین مقدار در سطح $p < 0.05$ معنی دار ارزیابی گردید. pH نمونه کنترل (فاقد اینولین) مشابه محیط حاوی ۰/۵٪ (وزنی-حجمی) اینولین استاندارد بود.

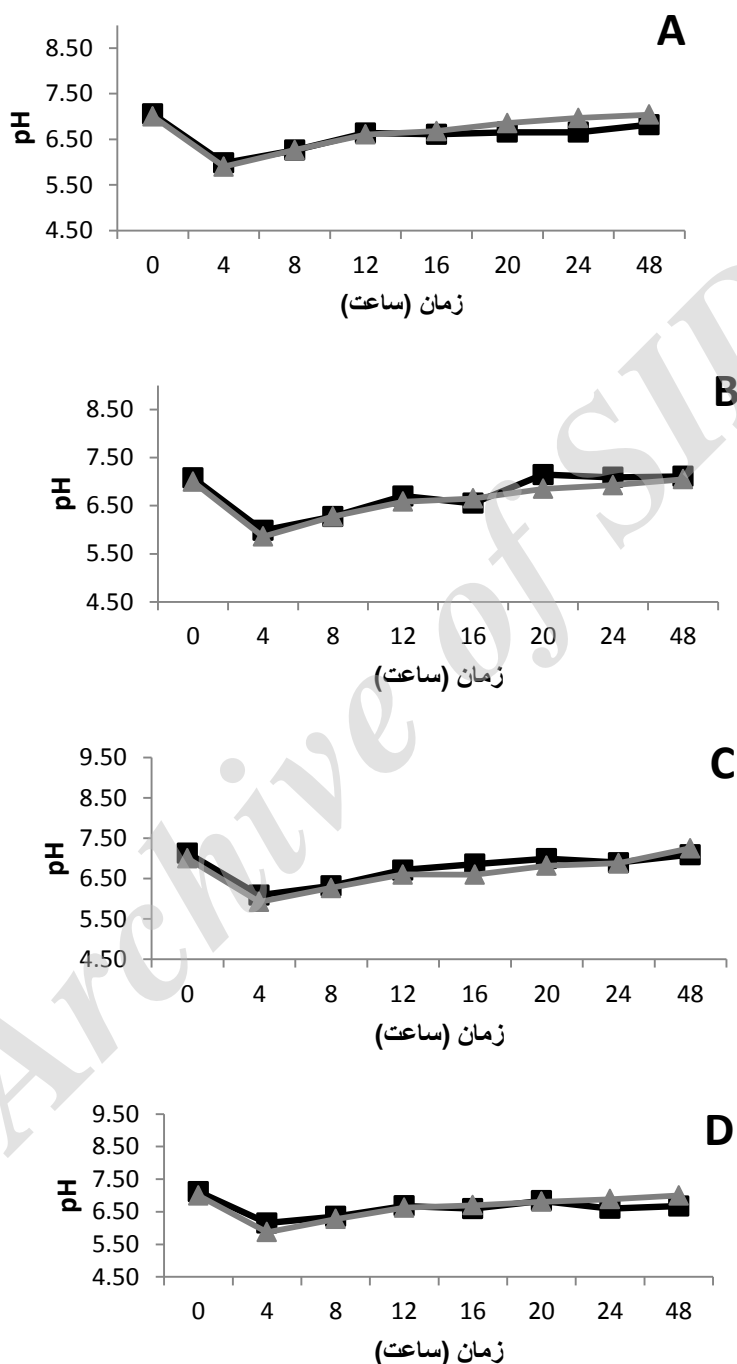


نمودار ۴-۱۸ میانگین pH در محیط حاوی باکتری *اشریشیا کلی* در غلظت های مختلف از اینولین استاندارد. حروف به کاررفته نشان دهنده معنی دار بودن مقادیر در سطح $P < 0.05$ (با توجه به نتایج آزمون دانکن) می باشد.

نمودار ۴-۱۹ نشان دهنده منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از رشد و فعالیت باکتری *اشریشیا کلی* در کشت های حاوی غلظت های مختلف فروکتوالیگوساکارید سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد می باشد. pH اولیه محیط کشت ها در حدود ۷ اندازه گیری شد. همانگونه که در نمودارها مشاهده می شود روند تغییرات pH در حضور الیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و اینولین استاندارد و نیز در غلظت های مختلف از آنها مشابه بود. محیط کشت به کار رفته برای کشت *اشریشیا کلی* محیط TSB broth بود که دارای انواعی از کربوهیدرات ها و نیز ترکیبات پروتئینی از جمله کازئین می باشد. باکتری ها بسته به فاز رشد و شرایط محیطی (مانند دمای محیط کشت، هوازی/بی هوازی بودن کشت، زمان و ...)، با مصرف ترکیبات موجود در سوبسترا و تولید انواع مختلف متابولیت ها، موجب می شوند که pH محیط به صورت افزایشی یا کاهششی تغییر پیدا کند (وینارتی و همکاران، ۲۰۱۳).

در غلظت های مختلف از هر دو محیط، در زمان های ۴-۰ ساعت پس از کشت، pH تا حدود ۵/۹ کاهش یافت؛ سپس با ادامه آنکوباسیون منحنی pH روندی صعودی داشته و به صورت تدریجی در هر دو محیط افزایش پیدا کرد. به جز غلظت ۱٪ (وزنی-حجمی)، در سایر نمونه ها pH نهایی در محیط های حاوی فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی پایین تر بود.

همانگونه که ذکر شد، تاثیر باکتری اشیریشیا کلی بر pH محیط کشت متغیر است. لیروی و همکاران (۲۰۱۰) طی تحقیقات خود عنوان کردند که این باکتری قادر است ترکیبات موجود در محیط از جمله اتانول آمین را تجزیه کند و به این ترتیب موجب تغییرات pH گردد.



نمودار ۴-۱۹- منحنی تغییرات pH محیط کشت ناشی از رشد باکتری اشیریشیا کلی در محیط های حاوی غلظت های ۰/۵% (A)، ۱% (B)، ۲% (C) و ۳% (D) از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی (■) و اینولین استاندارد (▲) در طول ۴۸ ساعت

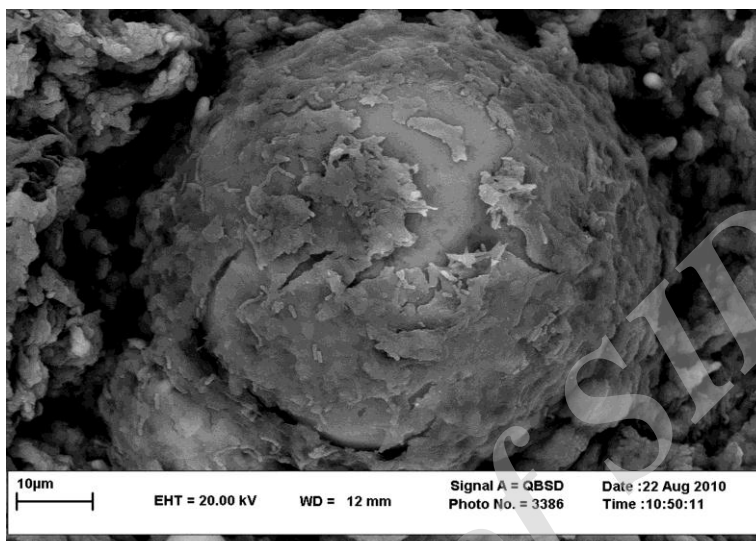
به طوری کلی، در ارتباط با گونه های باکتریایی کلی فرم و توانایی مصرف الیگوساکاریدهایی که به عنوان پری بیوتیک شناخته شده اند، اطلاعات متناقضی وجود دارد. نتایج حاصل از برخی پژوهشها نشان می دهد که فروکتان های نوع FOS (فروکتان با DP پایین) قادر به تحریک رشد کلی فرم هایی ازخمله اشیریشیا کلی، انتروباکتر و سالمونلا بوده اند (وانگ وهمکاران، ۱۹۹۵؛ هارتمینک وهمکاران، ۱۹۹۷). از سوی دیگر، گزارشاتی نیز موجود است که این فروکتان بر رشد باکتری اشیریشیا کلی بی اثر بوده است (هیداکا وهمکاران، ۱۹۸۶؛ میتسوکا وهمکاران، ۱۹۸۷؛ و مونسان وهمکاران، ۱۹۹۵). در سال ۲۰۰۵، لوپز-مولینا وهمکاران مصرف اینولین کاسنی وکنگرفرنگی را توسط باکتری های ناحیه کلون مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند که رشد اشیریشیا کلی در حضور این دو نوع پلی فروکتان نسبت به نمونه های کنترل (حاوی گلوکز) کندتر است اما بقای نهایی باکتری ها بالاتر می باشد.

۴-۵- نتیجه گیری فاز اول پژوهش:

- فروکتوالیگوساکاریدهای استخراج شده از گیاه بومی سیب زمینی ترشی (JA-Fr) به دلیل تاثیر بر رشد و فعالیت سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، قابلیت استفاده به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک را دارد.
- به کارگیری غلظت های مختلف از فروکتوالیگوساکاریدهای سیب زمینی ترشی و نیز اینولین تجاری بسته به طول زنجیره و درجه پلیمریزاسیون، ممکن است اثرات متفاوتی در رشد باکتری های اشیریشیا کلی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و میزان متابولیت تولید شده توسط آن ها داشته باشد.
- افزایش یا کاهش غلظت به صورت تدریجی و در طول زمان، می تواند به طور متناسب موجب افزایش یا کاهش رشد گردد و یا روند تغییرات رشد نامنظم بوده و با افزایش غلظت تناسب مشخصی نداشته باشد.
- کارایی منحصر به فرد ترکیبات پری بیوتیک بومی به عنوان جایگزین مطلوب و کارآمد ترکیبات تجاری
- بیفیدو باکتریوم بیفیدوم نسبت به تغییرات pH، حضور اکسیژن و کاهش فعالیت آبی حساس تر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس است.
- از آنجا که بیفیدو باکتریوم بیفیدوم یک باکتری بی هوازی مطلق است. شرایط نگهداری و حضور اکسیژن در بافت محصول منجر به کاهش بیشتر آن در طول مدت نگهداری می شود.
- بدلیل اثربخشی بیشتر اینولین های بومی بر رشد و فعالیت سویه های لاکتوباسیل (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) در مقایسه با بیفیدوباکتریوم بیفیدوم برای انجام مراحل بعدی پژوهش از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس استفاده شد.

۴-۶- ریخت شناسی دانک های ریز پوشینه

مطالعات نشان داد که کنترل اندازه ریز دانک‌های آلژینات با استفاده از سرعت هم‌زدن ۴۰۰ rpm برای ۲۰ دقیقه، امولسیون جهت تولید دانک‌هایی در محدوده ۱۰ تا ۳۰ میکرومتر را ممکن می‌سازد. مطابق اشکال ۴-۲۱ و ۴-۲۰، با روش امولسیونی می‌توان دانک یک شکل، منظم و کروی تولید کرد.



شکل ۴-۲۰- تصویر میکروسکوپ الکترونی از دانک های آلژینات-اینولین حاوی باکتری بدام افتاده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس



شکل ۴-۲۱- تصویر میکروسکوپ نوری از دانک های آلژینات-اینولین حاوی باکتری بدام افتاده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مطالعات نشان داد که کنترل اندازه ریز دانک‌های آلژینات با استفاده از سرعت هم‌زدن ۴۰۰ rpm برای ۲۰ دقیقه، امولسیون جهت تولید دانک‌هایی در محدوده ۱۰ تا ۳۰ میکرومتر را ممکن می‌سازد. در پژوهش رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۹) انجام دادند، مشاهده با روش SEM از نظر شکل ظاهری، کپسول‌هایی با ظاهری کاملاً کروی را نتیجه داد. این نتایج با آنچه در این تحقیق به دست آمد، مطابقت

داشته و همچنین با گزارش تراستراپ و همکاران (۲۰۰۲) که اظهار کرده بودند دانک‌های بزرگتر از یک میلی‌متر موجب خشن شدن بافت افزودنی‌های غذایی می‌شود، مطابقت دارد.

۴-۷- شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در دانک‌های تازه و خشک شده به روش انجمادی

نتایج بدست آمده نشان داد؛ تعداد سلول‌های زنده باکتریایی قبل از ریزپوشانی با آلژینات سدیم برابر Log cfu/ml ۱۲/۳۲-۱۲/۳۰ بود. در حالی که تعداد سلول‌های زنده باکتریایی بعد از فرایند ریزپوشانی برابر با Log cfu/ml ۱۱/۸۱-۱۲/۰۱ و بعد از ریزپوشانی و به دنبال آن انجام فرایند لیوفیلزه، برابر با Log cfu/ml ۱۱/۰۶۸ - ۱۱/۷۰ بود. بنابراین با مقایسه تعداد سلول‌های زنده قبل و بعد از فرایند ریزپوشانی، این نتیجه حاصل می‌گردد که فرایند ریزپوشانی با روش امولسیون، توانسته راندمان بالایی در به دام اندازی سلول پروبیوتیکی داشته باشد. سلطانا و همکاران (۲۰۰۰) بهبود در بازده کپسولاسیون لاکتو با سیلوس کازئی را در دانک‌های آلژینات، همانگونه که غلظت بیوپلیمر با افزایش نشاسته مقاوم در درصدهای وزنی از ۰ تا ۲ افزایش یافت، را گزارش کردند. بر اساس گزارشی، پروبیوتیک‌ها هنگامیکه در آلژینات کلسیم پوشش یافته بودند، ۳۰ درصد بیشتر از زمانی که پوشش نداشتند، زنده ماندند (احمدی و همکاران، ۲۰۱۱).

۴-۸- اثر متغیرهای فرمولاسیون درآزمه فراسومند بر ویژگی‌های اسنک حجیم

در جدول ۴-۴ - تیمار فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (درآزمه) و پاسخ‌های مورد آنالیز ارائه گردیده است.

جدول ۴-۴ - تیمار فرمولاسیون پوشش طعم دهنده (درآزمه) و پاسخ‌های مورد آنالیز

ردیف	اینولین (درصد)	نشاسته اصلاح شده (درصد)	روغن (درصد)	k	n	ظرفیت امولسیون کنندگی	پایداری امولسیون	سفتی بافت	زنده مانده Log CFU/g
۱	10	10	80	2.1389	0.868	33.33	1	2.089	6.78
۲	0	20	80	1.534	0.877	26.66	1.25	1.535	5.88
۳	10	0	90	0.591	0.9174	36.66	1.27	1.755	7
۴	0	0	100	0.3842	0.9442	50	1	1.798	7.33
۵	0	0	100	0.4038	0.9322	50	1	1.825	7.14
۶	20	0	80	1.997	0.881	30	1.11	1.966	5.9
۷	13.33	3.33	83.33	1.383	0.8852	33.33	1	1.883	6.92
۸	10	10	80	1.98	0.869	30	1	2.096	7.2
۹	0	20	80	1.365	0.8834	26.66	1.42	1.632	5.57
۱۰	6.66	6.66	86.66	1.1459	0.902	36.76	1.16	1.981	6.5
۱۱	0	10	90	1.098	0.8834	35.33	1.21	1.811	6.63
۱۲	20	0	80	2.219	0.868	32.11	1	1.914	6.13
۱۳	3.33	3.33	93.33	0.8708	0.915	42.66	1.12	1.795	7.1
۱۴	3.33	13.33	83.33	1.652	0.874	33.33	1.1	2.01	6.22

۹-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون درآژه فراسومند بر میزان زنده مانده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در فرم آزاد حین مدت زمان نگهداری اسنک حجیم

در جدول ۴-۵ نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون درآژه (اینولین، نشاسته اصلاح شده و روغن) بر میزان زنده مانده باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 قابل مشاهده است. بر اساس اطلاعات مندرج در جدول مدل آماری دو جمله‌ای برای کاهش سیکل لگاریتمی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در طی مدت ۲۱ روز نگهداری پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-روغن، نشاسته اصلاح شده-روغن و زمان بر میزان کاهش سیکل لگاریتمی معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۵ نتایج آنالیز واریانس اثر فرمولاسیون بر میزان زنده مانده باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
Log CFU/g	0.0012	0.3308	0.7730	***0.0016	0.88	0.80

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant

در جدول ۴-۶ تأثیر متغیرهای فرمولاسیون درآژه (اینولین، نشاسته اصلاح شده و روغن) بر میزان زنده مانده ارگانیسیم پروبیوتیک در فرم آزاد قابل مشاهده است، قابلیت زیستی و بقاء پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در درجه اول اهمیت قرار دارد. یکی از راه‌های تقویت رشد باکتری‌ها، تقویت ویژگی سوبسترا از طریق اضافه نمودن منابع انرژی می‌باشد (ساکسلین و همکاران، ۲۰۰۲). لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها توانایی استفاده از اینولین را دارند و همچنین اینولین بر رشد انتخابی این میکروارگانیسیم‌ها حالت محافظتی دارد (کریمی و همکاران، ۲۰۱۵). باکتری‌هایی مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها با داشتن یک مکانیسم آنزیمی پیچیده به خوبی قادر به بهره‌گیری از کربوهیدرات‌های پیچیده جهت رشد و فعالیت‌های حیاتی خود می‌باشند (سو و همکاران، ۲۰۰۷) و استفاده از مواردی مانند اینولین، گالاتوالیگوساکارید و فروکتوالیگوساکارید منجر به تقویت رشد آنها می‌گردد (تانگ و همکاران، ۲۰۱۵) به طور کلی یک کربوهیدرات زمانی می‌تواند به عنوان پری بیوتیک مورد ارزیابی قرار گیرد که توسط گونه‌های بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس با کارایی بیشتری نسبت به سایر میکروارگانیسیم‌ها مانند اشرشیاکلی مورد سوخت و ساز قرار گیرد (گیسون، ۲۰۰۴). استفاده از اینولین نه تنها باعث افزایش میزان رشد سویه‌های پروبیوتیک مانند لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکترها می‌شود بلکه به دلیل اینکه این ماده ساختار شبیه چربی ایجاد می‌نماید باعث افزایش ویسکوزیته شده و به عنوان یک نگهدارنده موثر در فرمولاسیون مواد غذایی نقش ایفا شده می‌کند (کریسپین ایزیدرو و همکاران، ۲۰۱۴).

حضور ترکیبات پری بیوتیکی از مهمترین دلایل بقاء بیشتر باکتری‌ها است (کریمی و همکاران، ۲۰۱۵). گزارشات متعددی در زمینه استفاده از اینولین به عنوان محرک رشد و فعالیت پروبیوتیکها توسط محققین ارائه شده است؛ به

عنوان مثال استفاده از اینولین در فرمولاسیون بستنی موجب تحریک رشد و بقاء لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس می‌شود (آکین، ۲۰۰۷).

نشاسته مقاوم به هضم به عنوان سوبسترای برای فلور میکروبی روده عمل کرده و منجر به تولید متابولیت‌هایی مانند اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌شود. بوتیریک اسید تولید شده توسط باکتری‌های روده متابولیزه شده و نقش مهمی در تامین غذا و انرژی سلول‌های روده ایفا می‌کند. حداقل سطح پریبیوتیکی این ترکیب ۲ گرم در روز است (کابزاس و همکاران، ۲۰۱۰).

در پژوهش کریمی (۱۳۹۰)؛ تأثیر اینولین بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 را در شیر بررسی و نشان داد که افزودن ۵٪ اینولین اثر مثبت و معنی‌داری در میزان افزایش و تعداد سلول‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 شد.

رولر و همکاران (۲۰۰۴) یکی از راه‌های تقویت رشد لاکتوباسیلوس رامنوسوس در فراورده‌های لبنی را اضافه کردن اینولین مطرح نمود. پینگ و همکاران (۲۰۰۷) نیز بیان نمودند که فروکتو اولیگوساکاریدها و اینولین باعث تحریک رشد لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم انیمالیس می‌شود.

عامل موثر در رشد لاکتوباسیلوس پاراکازئی ۱۱۹۵ در محیط محتوی اینولین را ترکیب موثر بین پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها اعلام شده است (هوبنر و همکاران، ۲۰۰۷). آلوز و همکاران (۲۰۱۳) با به کارگیری اینولین و تلقیح استریتوکوکوس ترموفیلوس، بیفیدوباکتریوم انیمالیز Bb-12 و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 اقدام به تولید پنیر خامه‌ای سین بیوتیک نمود و گزارش کرد؛ قابلیت زیستی باکتری‌های آزاد/استریتوکوکوس ترموفیلوس $6.66-9.38 \log$ cfu/mg، و بیفیدوباکتریوم انیمالیز Bb-12 در حدود $6 \log$ cfu/mg و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 در حدود $\log_{cfu/ml} 3/1$ در طی مدت ۴۵ روز نگهداری است (آلوز و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین در پژوهش دیگر نیز قابلیت زیستی باکتری آزاد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس از ۱۰ به $2/3 \log CFU/mg$ نزول یافته بود (شی و همکاران، ۲۰۱۳).

سویه‌هایی از بیفیدوباکتریوم توانایی چسبیدن به نشاسته را دارند؛ ظرفیت ایجاد اتصال با شکل، نوع و سطوح گرانول نشاسته مرتبط است (کریتندن و همکاران، ۲۰۰۱). نشاسته مقاوم با ایجاد اتصال و تشکیل سطح چسبناک روی دیواره سلولی باکتریها، در طی فرآوری و نگهداری ماده غذایی در مقابل عوامل مخرب محافظت قوی به عمل می‌آورد (آنال و سینگ، ۲۰۰۷).

همایونی و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش کردند که حضور نشاسته مقاوم ذرت در بستنی سین بیوتیک، علاوه بر داشتن خاصیت پری بیوتیکی، زنده ماننی پروبیوتیک‌ها را در طی ۱۸۰ روز به صورت منجمد ارتقا می‌بخشد. همچنین در نتایج بیگدلیان و رضوی (۲۰۱۴) استفاده از نشاسته مقاوم ذرت در فرمولاسیون سس مایونز بیش از ۲۲ درصد زنده‌ماننی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را در طی نگهداری افزایش داد

مطابق گزارش میرزایی و همکاران (۲۰۱۲) نیز افزایش زنده‌ماننی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس La5 در پنیر ایرانی و تحت تاثیر افزودن نشاسته اصلاح شده گزارش نمودند.

نتایج سوکولیس و همکاران (۲۰۱۶) نشان داد؛ نشاسته برنج باعث افزایش زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس GC می‌گردد، طوریکه کاهش سیکل لگاریتمی به میزان ($0.091 \log \text{CFU/day}$) در دمای ۴ درجه سانتیگراد و کاهش سیکل لگاریتمی به میزان $0.290 \log \text{CFU/day}$ در دمای اتاق گزارش شد.

به طور کلی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس *La5* توانسته است به خوبی از اینولین بومی سیب 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 اصلاح شده نیز اثر محافظت‌کنندگی خوبی بر سلول‌های این باکتری نشان داد. که مجموعه این عوامل زنده مانی مطلوب این باکتری را در طی ۲۱ روز در درمای محیط به دنبال داشت.

محبی و همکاران (۱۳۹۵) به بررسی اثر پری بیوتیک‌های بتا گلوکان و نشاسته مقاوم، بر ویژگی‌های رئولوژیکی خمیر محصولات تخمیری پرداختند. در این پژوهش پری بیوتیک‌های بتا گلوکان در سطوح ۰/۸، ۱ و ۱/۲ درصد و نشاسته مقاوم در سطوح ۵/۵، ۸ و ۱۰/۵ درصد استفاده گردیدند.

آماکیری و همکاران (۲۰۱۰)، از ترکیب اینولین و فراورده‌های استخراج شده از منابع گیاهی به عنوان حامل ریزپوشانی بیفیدوباکتریوم لانگوم استفاده کرد. نتایج حاکی از تاثیر مطلوب ترکیب فوق بر افزایش ماندگاری پروبیوتیک‌ها در فرمولاسیون ماست و شرایط مجاری گوارش؛ بدون تاثیر نامطلوب بر خواص حسی ماست بود.

در پژوهش کابزاس و همکاران (۲۰۱۰)، تاثیر همزمان فروکتوالیگوساکارید و نشاسته مقاوم به هضم به عنوان ترکیب پری بیوتیک در تسریع رشد موش‌ها بررسی شد. بر این اساس افزایش بیومس مدفوعی، افزایش وزن و قابلیت تخمیر قندها توسط ارگانسیم‌ها همگی وابسته به طول زنجیره کربوهیدرات می‌باشد. طوریکه زنجیره کوتاه‌ها نظیر FOS به سرعت توسط ارگانسیم قابل تخمیر است و اینولین با طول زنجیره بلند و انواع نشاسته اصلاح شده به آهستگی قابل تخمیر می‌باشند. از این رو کاربرد همزمان دو ترکیب اخیر سبب بروز اثر سینرژیستی در طول مدت عبور از لوله گوارش شده و تاثیرات بهتری را بروز می‌دهد.

همایونی و همکاران (۲۰۰۸) نیز اثر افزودن نشاسته مقاوم را در ۱ درصد بر افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در دو فرم آزاد و ریزپوشانی شده بررسی نمودند. بر این اساس شدت کاهش سیکل لگاریتمی در طول ماه اول نگهداری برای ارگانسیم‌های تلقیح شده به فرم آزاد و ریزپوشانی شده به ترتیب معادل 0.7 و $0.3 \log$ و پس از گذشت ۶ ماه نیز به ترتیب معادل $3/4$ و $1/4 \log$ بود.

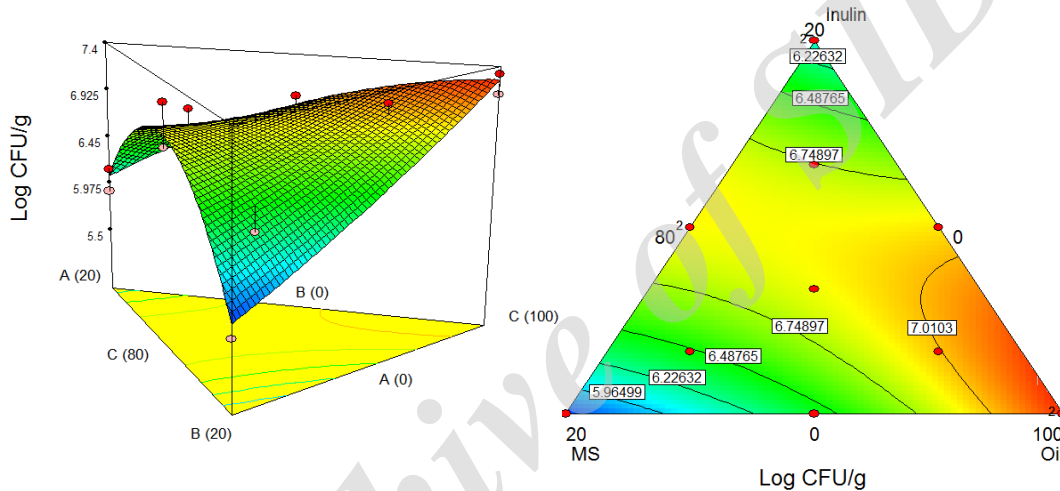
مطابق پژوهش چکشیان و همکاران (۲۰۱۷)، زیست نانوکامپوزیت‌های پری بیوتیک بر پایه ترکیب ۲۵% پوشش نشاسته با ۷۵% زیست نانوکامپوزیت نانوسلولز باکتریایی-پکتین و ۵۰% پوشش کربوکسی متیل سلولز با ۵۰% زیست نانوکامپوزیت نانوسلولز باکتریایی-پکتین، دارای بیشترین تاثیر بر رشد و فعالیت پروبیوتیکی باسیلوس کوآگولانس در طول شرایط تولید، نگهداری و محیط گوارش بود. در مرحله نهایی، ارزیابی این محصول به عنوان افزودنی سین بیوتیک به آب‌میوه هلو انجام شد. نتایج حاصل پس از ۵ هفته نگهداری این محصول در آب‌میوه با pH $3/6$ نشان دادند که تغییر دمای نگهداری از ۴ به ۲۵ درجه سلسیوس تاثیر چندانی بر میزان زنده‌مانی حاصل (۶۸%) نداشت. از جانب دیگر، نگه‌داری زیست نانوکامپوزیت در محیط آب‌میوه سبب کاهش عملکرد آن در حفظ زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی گوارش شد.

به طوری که زنده مانی آنها پس از گوارش (۵۸ درصد) در مقایسه با زنده مانی پروبیوتیک‌های نگه داری نشده در آب‌میوه (۷۱/۵ درصد)، حدود ۱۴٪ کاهش یافت.

جدول ۴-۶ تأثیر متغیرهای فرمولاسیون درآژه بر میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس

روز بیست و یکم cfu/ml	روز چهاردهم cfu/ml	روز هفتم cfu/ml	روز صفر cfu/ml	روز نگهداری تیمار	
				اینولین درصد	تیمار
$e^{2/2} \times 10^5$	$de^{5/5} \times 10^6$	$c^5 \times 10^9$	$a^{8/5} \times 10^{12}$	اینولین ۱۰ درصد	۱
				نشاسته ۱۰	
				روغن ۸۰	
$ef^{2/6} \times 10^5$	$de^{2/1} \times 10^7$	$bc^{1/2} \times 10^{10}$	$a^{8/6} \times 10^{12}$	اینولین ۰	۲
				نشاسته ۲۰	
				روغن ۸۰	
$e^{9/5} \times 10^5$	$d^{8/1} \times 10^7$	$c^8 \times 10^9$	$a^{4/1} \times 10^{12}$	اینولین ۱۰	۳
				نشاسته ۰	
				روغن ۹۰	
$ef^{1/5} \times 10^6$	$de^{1/2} \times 10^8$	$bc^{1/1} \times 10^{10}$	$a^{1/5} \times 10^{12}$	اینولین ۰	۴
				نشاسته ۰	
				روغن ۱۰۰	
$ef^{8/5} \times 10^5$	$cd^{9/6} \times 10^7$	$b^{1/9} \times 10^{10}$	$a^{9/5} \times 10^{11}$	اینولین ۰	۵
				نشاسته ۰	
				روغن ۱۰۰	
$ef^{2/1} \times 10^6$	$de^{1/1} \times 10^8$	$bc^{8/3} \times 10^{11}$	$a^{2/1} \times 10^{13}$	اینولین ۲۰	۶
				نشاسته ۰	
				روغن ۸۰	
$ef^{2/1} \times 10^6$	$d^{1/3} \times 10^8$	$c^{1/3} \times 10^{10}$	$a^{9/6} \times 10^{12}$	اینولین ۱۳/۳۳	۷
				نشاسته ۳/۳۳	
				روغن ۸۳/۳۳	
$ef^{2/2} \times 10^7$	$de^{1/6} \times 10^8$	$a^{8/5} \times 10^{12}$	$a^{1/9} \times 10^{13}$	اینولین ۱۰	۸
				نشاسته ۱۰	
				روغن ۸۰	
$ef^{1/3} \times 10^6$	$e^{8/4} \times 10^7$	$bc^{1/1} \times 10^{11}$	$a^{1/7} \times 10^{13}$	اینولین ۰	۹
				نشاسته ۲۰	
				روغن ۸۰	
$de^{4/3} \times 10^5$	$cd^{1/3} \times 10^8$	$1/4 \times 10^{10-b}$	$a^{3/3} \times 10^{11}$	اینولین ۶/۶۶	۱۰
				نشاسته ۶/۶۶	
				روغن ۸۶/۶۶	
$e^{1/0} \times 10^6$	$de^{6/6} \times 10^7$	$bc^{8/1} \times 10^{10}$	$a^{1/6} \times 10^{13}$	اینولین ۰	۱۱
				نشاسته ۱۰	
				روغن ۹۰	
$ef^{2/3} \times 10^5$	$de^{1/1} \times 10^8$	$c^{1/2} \times 10^{11}$	$a^{2/1} \times 10^{13}$	اینولین ۲۰	۱۲
				نشاسته ۰	
				روغن ۸۰	
$ef^{1/7} \times 10^6$	$d^{1/4} \times 10^8$	$bc^{9/3} \times 10^{10}$	$a^{1/2} \times 10^{13}$	اینولین ۳/۳۳	۱۳
				نشاسته ۳/۳۳	
				روغن ۹۳/۳۳	
$ef^{5/8} \times 10^5$	$d^{6/3} \times 10^7$	$bc^{1/1} \times 10^9$	$a^{3/9} \times 10^{11}$	اینولین ۳/۳۳	۱۴
				نشاسته ۱۳/۳۳	
				روغن ۸۳/۳۳	

با توجه به نمودار ۴-۲۲ میزان کاهش سیکل لگاریتمی بین $5.7/57-7/33$ Log CFU/mg محاسبه گردید. بر اساس نتایج زنده مانی می‌توان بیان داشت بیشترین کاهش لگاریتمی مربوط به نمونه شاهد و کمترین کاهش آن به ترتیب در نمونه حاوی (اینولین ۶/۶۶، نشاسته اصلاح شده ۶/۶۶، روغن ۸۶/۶۶)، (اینولین ۰، نشاسته اصلاح شده ۱۰، روغن ۹۰) و (اینولین ۱۰، نشاسته اصلاح شده ۱۰، روغن ۸۰) مشاهده شد. با این حال، در کلیه نمونه‌ها همزمان با افزایش میزان اینولین و نشاسته اصلاح شده، شدت کاهش سیکل لگاریتمی بسیار پایین بود. و در مقایسه با نمونه شاهد اختلاف معنی داری در کاهش لگاریتمی گزارش گردید. مدت زمان نگهداری قطعا باعث آسیب به میکروارگانیسم و مرگ آنها می‌گردد. قبل از نگهداری نمونه‌ها حاوی $10^{10} \times 9/4 - 10^{13} \times 2/27$ CFU/mg بودند. که پس از طی زمان ۲۱ روز نگهداری در دمای ۲۳ درجه سانتیگراد و رطوبت محیط این مقدار به $10^5 \times 2/4 - 10^7 \times 2/2$ CFU/g رسید. بر اساس تعریف (FAO/WHO (2002) ماده غذایی پروبیوتیک اطلاق می‌شود که حداقل محتوی 10^6-10^7 CFU/g باکتری فعال و زنده باشد.



نمودار ۴-۲۲ نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "میزان زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس"

۴-۱۰- اثر متغیرهای فرمولاسیون بر ظرفیت تشکیل و ثبات امولسیون درآژه فراسومند

بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۴-۷ اثر متغیرهای فرمولاسیون برای ظرفیت امولسیون کنندگی درآژه اسنک معنی دار نبود ($P > 0.05$).

جدول ۴-۷ نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر ظرفیت امولسیون کنندگی

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
Emulsifying Capacity	0.0598	0.5022	0.5653	0.0001	0.87	0.83

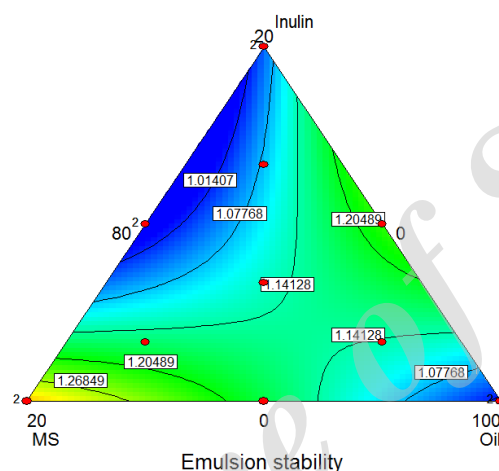
*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant

بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۴-۸- مدل آماری دو جمله‌ای برای ثبات امولسیون درآژه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل اینولین-نشاسته اصلاح شده و اینولین-روغن بر ثبات امولسیون معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۸- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر ثبات امولسیون

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
Emulsion Stability	0.0046	0.0151	0.8727	0.0051	0.83	0.73

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant



نمودار ۴-۲۳- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "پایداری امولسیون"

مطابق نمودار فوق، کمترین ثبات امولسیون در نمونه حاوی بیشترین درصد روغن و بیشترین ثبات امولسیون در نمونه حاوی بیشترین غلظت نشاسته اصلاح شده (۲۰ درصد)، گزارش گردید. به تدریج با کاهش غلظت نشاسته و افزایش درصد اینولین، میزان ثبات امولسیون نیز کاهش یافت و اختلاف کاهش نیز از نظر آماری معنی‌دار بود. با این حال تأثیر افزودن اینولین نیز به تنهایی بر افزایش ثبات امولسیون معنی‌دار گزارش گردید.

در مجموع می‌توان گفت که میزان دو فاز شدگی در تیمارهای مختلف خامه به استثنای نمونه فاقد نشاسته بسیار پایین و غیر قابل توجه بود. نشاسته از طریق افزایش فاز پیوسته و کاهش پیوستگی قطرات چربی می‌تواند موجب عدم جداسازی روغن از بافت گردد، پدیده اخیر سبب انسجام بیشتر بافت و افزایش پایداری درآژه می‌گردد.

مطابق گزارش تایدوم و همکاران (۲۰۱۱)، استفاده از نشاسته سدیم اکتیل سوکسینات به عنوان جایگزین چربی در سس مایونز در سطح ۲۵، ۵۰ و ۷۵٪ مانع از جداسازی فاز امولسیون شد.

حسینی و همکاران (۱۳۹۵)، تأثیر افزودن نشاسته خام و اصلاح شده ذرت را بر ویژگی‌های خامه کم چرب بررسی نمودند. در این پژوهش میزان چربی خامه از ۳۰ به ۱۵ درصد کاهش یافت. نتایج آنالیز نشان داد پایداری امولسیون با افزایش غلظت اصلاح شده نشاسته افزایش یافت.

نتایج نشان داد که استفاده از نشاسته اصلاح شده به عنوان جایگزین چربی به طور قابل ملاحظه ای درصد پس دهی روغن نمونه ها را در مقایسه با نمونه شاهد کاهش می دهد، اگرچه بین سه سطح جایگزینی نشاسته اصلاح شده از نظر پایداری امولسیون اختلاف معنی داری وجود نداشت، اما افزایش میزان پایداری امولسیون این سه سطح جایگزینی در مقایسه با نمونه شاهد معنی دار بود. به نظر می رسد دلیل این موضوع خاصیت پایدارکنندگی ترکیبات پلی ساکارییدی از جمله نشاسته اصلاح شده باشد.

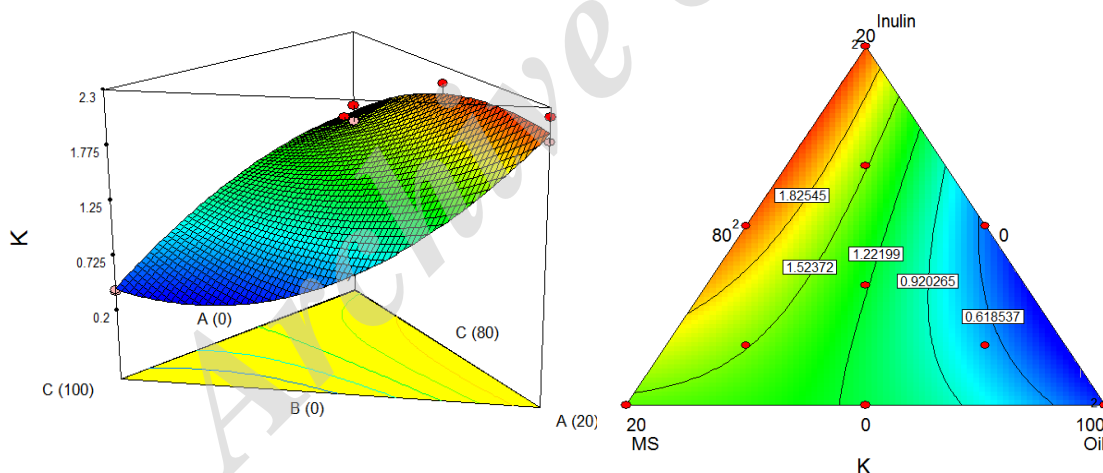
۱۱-۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون بر رفتار جریان درآزه فراسومند

بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۹-۴-۹ مدل آماری دو جمله ای برای شاخص قوام درآزه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل اینولین- نشاسته اصلاح شده و اینولین- روغن بر شاخص قوام معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۹-۴-۹ نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر شاخص قوام K

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
K	0.0390	0.0008	0.1214	0.0001	0.97	0.95

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant



نمودار ۴-۲۴- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "شاخص قوام K"

باتوجه به نمودار ۴-۲۴- کمترین شاخص قوام در نمونه شاهد فاقد جایگزین چربی مشاهده شد. بااین حال با افزایش اینولین و نشاسته اصلاح شده بصورت جداگانه در فرمولاسیون درآزه قوام مخصوص افزایش یافت بطوریکه در مقایسه با نمونه شاهد افزایش معنی دار بود. به تدریج با افزایش غلظت اینولین شاخص قوام افزایش بیشتری یافت. بطوریکه بیشترین میزان شاخص قوام بافت درآزه در محدوده غلظت های بالای اینولین مشاهده شد ۱/۸۹.

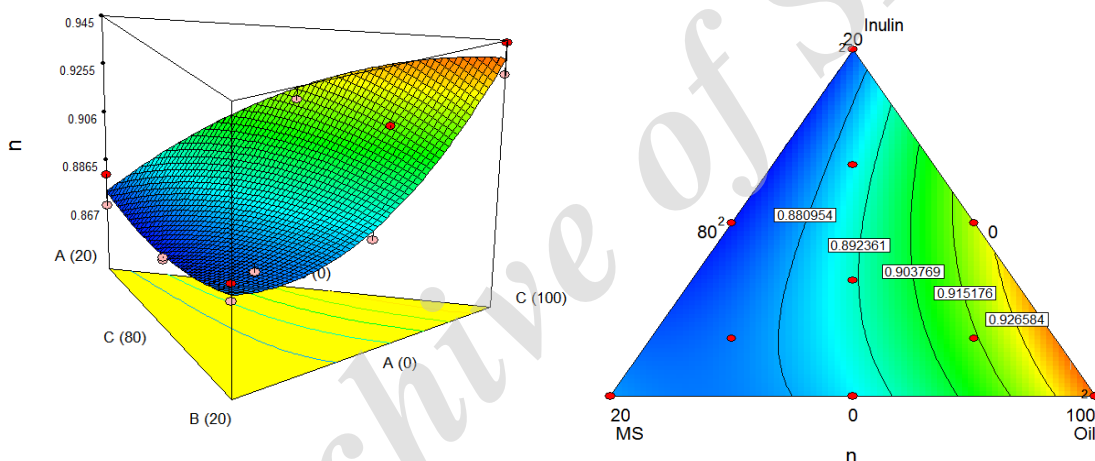
در مطالعه حاضر با افزایش غلظت جای نشین های چربی مورد بررسی در تمام نمونه ها ضریب قوام افزایش یافت. این نتایج مشابه سایر نتایج بدست آمده توسط محققین از جمله نیک و همکاران (۲۰۰۹)، کوچکی و همکاران (۲۰۰۹).

بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۴-۱۰- مدل آماری دو جمله ای برای شاخص رفتار جریان درآژه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل نشاسته اصلاح شده - روغن و اینولین - روغن بر شاخص رفتار جریان معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۱۰- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر شاخص رفتار جریان

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
n	0.2442	0.0421	0.0097	0.0001	0.95	0.93

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant



نمودار ۴-۲۵- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر شاخص رفتار جریان "n"

به منظور توصیف رفتار جریان نمونه های درآژه و بدست آوردن پارامترهای رئولوژیکی از دو مدل مشهور مستقل از زمان قانون توان (۱)، بینگهام (۲) به شرح ذیل استفاده شد (رضوی و اکبری، ۱۳۸۹).

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad (1)$$

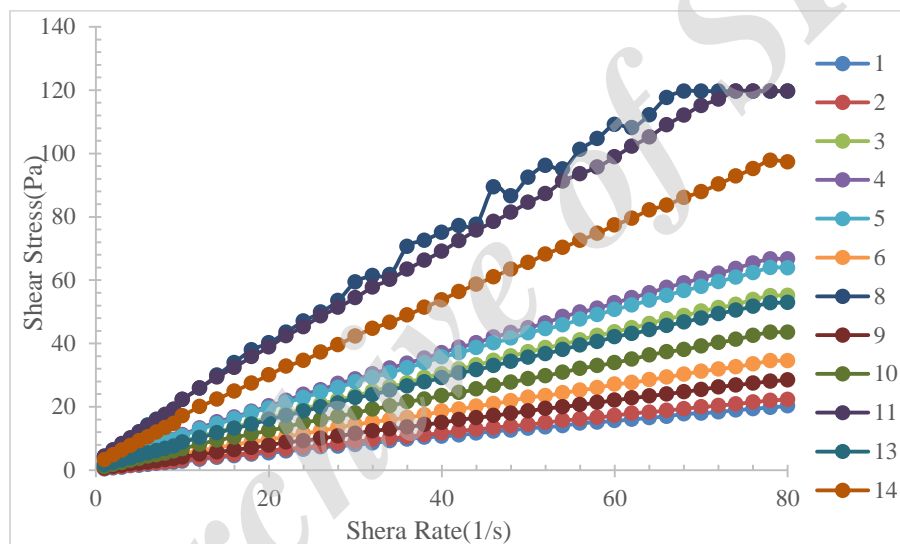
$$\tau = \mu_p \dot{\gamma} + \tau_0 \quad (2)$$

در مدل های فوق k ضریب قوام ($\text{Pa}\cdot\text{s}^n$)، n شاخص رفتار جریان، μ تنش تسلیم می باشند. از آنجایی که رابطه بین تنش برشی - درجه برش غیرخطی است، بنابراین نمونه های درآژه از نظر رئولوژیکی جزء سیالات غیرنیوتنی طبقه بندی می شوند. در این تحقیق از مدل های قانون توان و بینگهام برای توصیف رفتار جریان رئولوژیکی مستقل از زمان نمونه ها استفاده شد. در این پژوهش مشخص شد که مدل قانون توان به دلیل دارا

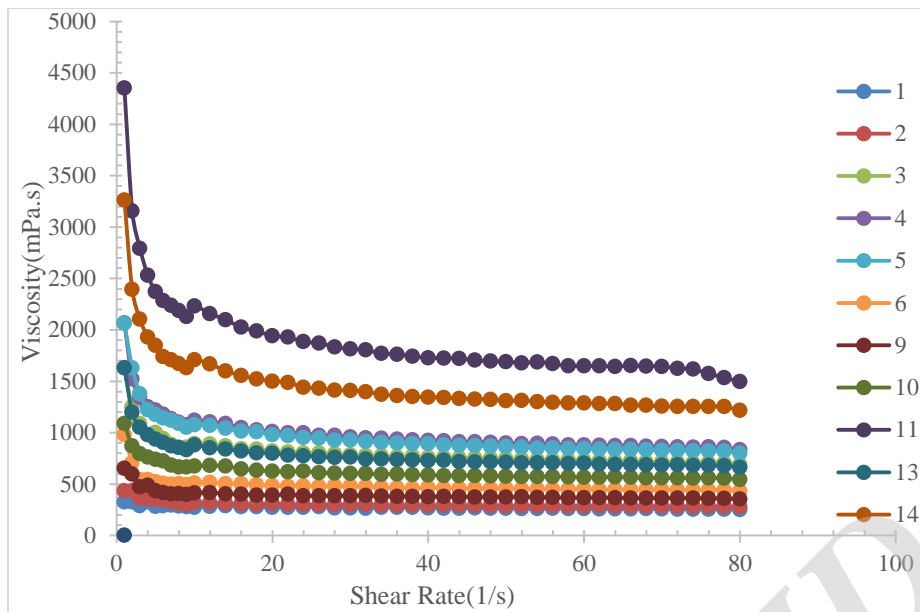
بودن ضریب همبستگی بالاتر $R^2 = 0.988$ در مقایسه با مدل بینگهام قادر به برازش بهتر داده های تنش برشی -درجه برش و تعیین رفتار جریان نمونه های درآژه بود.

همانطور که در نمودار ۴-۲۵ مشاهده می شود، کم ترین و بیش ترین اندیس رفتار جریان به ترتیب در نمونه های حاوی غلظت های بیشینه اینولین - نشاسته اصلاح شده و نمونه حاوی بیشترین غلظت روغن مشاهده شد. میتوان دریافت که شاخص رفتار جریان تمام نمونه ها با افزایش غلظت اینولین و نشاسته اصلاح شده از ۰ تا ۲۰ درصد کاهش پیدا کرده، نمونه های مخلوط هر دو کمترین شاخص رفتار جریان مدل قانون توان برای نمونه حاوی غلظت ۱۰-۱۰ درصد، بدست آمد.

رابطه بین ویسکوزیته ظاهری و درجه برش نمونه های درآژه کم چربی در نمودار ۴-۲۷ قابل مشاهده است. بر این اساس، در تمام نمونه ها با افزایش درجه برش کاهش ویسکوزیته ظاهری مشاهده شد که تاییدکننده رفتار غیرنیوتنی شل شونده با برش است (ماندالا و همکاران، ۲۰۰۴). در این تحقیق بیشترین ویسکوزیته ظاهری در نمونه ۱۱ و کمترین ویسکوزیته ظاهری مربوط به نمونه ۱ بود.



شکل ۴-۲۶- نمودار رابطه تنش برشی با درجه برش نمونه های درآژه کم چرب



نمودار ۴-۲۷- نمودار رابطه بین ویسکوزیته ظاهری و درجه برش نمونه های درآژه کم چرب

اندیس رفتار جریان n بیانگر رفتار جریان امولسیون است به طوری که در سیالات نیوتنی $n=1$ و در سیالات دایلاتانت $n > 1$ می باشد. تمامی نمونه های تهیه شده در این پژوهش اندیس رفتار جریان کم تر از ۱ داشتند از این رو، همه آن ها سیالات سودوپلاستیک بوده و رفتار رقیق شونده با برش از خود نشان می دهند. برای ایجاد ویسکوزیته بالا و احساس دهانی مناسب و دلخواه می بایست از ترکیباتی استفاده نمود که ضریب قوام بالا و شاخص رفتار جریان پایینی دارند (رضوی و همکاران، ۲۰۰۷).

شاخص رفتار جریان مدل قانون توان تمامی نمونه ها کمتر از ۱ بوده است. این خاصیت باعث بهبود پراکندگی ذرات روغن در فاز مایع شده و از بهم چسبیدن ذرات روغن و دو فاز شدن جلوگیری می نماید (کوچکی و همکاران ۲۰۰۹، نیک نیا و همکاران ۲۰۰۹).

شمسایی و همکاران (۱۳۹۶)، در پژوهشی اثر انواع صمغ های طبیعی را بر ویژگیهای فیزیکی و رئولوژیکی سس مایونز کم چرب بررسی نمودند. نتایج نشان داد؛ شاخص رفتار جریان مدل قانون توان و مدل هرشل-بالکلی تمامی نمونه ها کمتر از ۱ بوده است که نشان دهنده رفتار شل شونده با برش (سودوپلاستیک) مایونزها می باشد. لیو و همکاران (۲۰۰۷) نیز ضمن بررسی ویژگی های رئولوژیکی سس مایونز کم چرب تهیه شده با ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین با متوکسیل پایین، اثر رقیق شوندگی با افزایش سرعت برش را گزارش کردند. خاصیت رقیق شونده با برش سس مایونز باعث بهبود پراکندگی ذرات در فاز مایع شده و ویژگیهای رئولوژیکی از به هم چسبیدن ذرات روغن و دو فاز شدن سس در طی زمان جلوگیری می نماید.

پروتئین آب پنیر موجود در فرمولاسیون درآژه ممکن است دارای خاصیت امولسیفایری باشد. این خصوصیت سبب کاهش کشش بین سطحی و نهایتاً کاهش اندازه ذرات در درآژه می شود.

بر اساس اظهار پالامپر و همکاران (۲۰۰۵)، افزودن صمغ گزانتان به امولسیون در طی هموژنیزاسیون می تواند جذب پروتئین را روی سطح ذرات روغن افزایش داده و باعث تشکیل ذرات ریز در امولسیون شود. این امر احتمالاً بدین دلیل است که با افزایش ویسکوزیته فاز پراکنده، زمان لازم برای جذب پروتئین فراهم شده و در نتیجه ذرات روغن تثبیت و از ادغام شدن قطرات جلوگیری می شود.

ماندالا و همکاران (۲۰۰۴) و ایبانوگلو (۲۰۰۲) نیز نتایج مشابهی برای سس سفید پایدار شده با گزانتان و صمغ عربی گزارش کردند.

مطابق پژوهش امینی و همکاران (۱۳۹۶)، در فرمولاسیون سوسیس پری بیوتیک تاثیر ترکیب بتاگلوکان و نشاسته مقاوم بر روی خصوصیات ویسکوز بیشتر از خصوصیات الاستیک بوده است و باعث شده است که میزان ویسکوز بودن محیط افزایش یافته و منجر به تشکیل بافت نرمتری شود. در نهایت می توان این گونه نتیجه گیری کرد که می توان در غلظت های مناسب از اینولین و نشاسته اصلاح شده به عنوان جایگزین چربی استفاده کرد بدون این که تغییرات نامطلوبی در ویژگی های رئولوژیکی درازه ایجاد شود.

۴-۱۲- اثر متغیرهای فرمولاسیون درازه فراسومند بر مولفه های سنجش رنگ اسنک حجیم

رنگ درک مغز بعد از برخورد نور با یک شیء می باشد. رنگیکجسم تحت تاثیر سه عامل قرار دارد: ترکیب شیمیایی و فیزیکی آن جسم، ترکیب طیف منبع نوری که باعث دیده شدن آن جسم می شود و حساسیت چشم شخص بیننده به نور. رنگ محصولات غذایی یکویژگی مهم برای آنها به شمار رفته و حتی می تواند بر درک مصرف کننده از اجزای تشکیل دهنده غذا با توجه به میزان اثرگذاری هر جزء بر رنگ محصول موثر باشد (لالس، ۲۰۱۰).

در این آزمون مقادیر L ، a ، b تعیین گردید. مقادیر L که بین صفر (سیاه) تا ۱۰۰ (سفید) متغیر است شاخص روشنی، مقادیر مثبت a شاخص قرمزی و مقادیر منفی آن شاخص سبزی محصول می باشد. همچنین مقادیر مثبت b شاخص زردی و مقادیر منفی آن شاخص میزان آبی بودن محصول است (اوباتولو ورونیکا و همکاران، ۲۰۰۶).

در جدول ۴-۱۱ نتایج آنالیز واریانس اثر متغیرهای فرمولاسیون درازه فراسومند بر مولفه روشنایی رنگ اسنک حجیم قابل مشاهده است. بر اساس اطلاعات مندرج در جدول فوق مدل آماری دو جمله ای برای روشنی رنگ درازه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-نشاسته اصلاح شده بر روشنی رنگ معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۱۱- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر میزان روشنایی رنگ

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
L*	0.0109	0.0908	0.7730	0.0005	0.91	0.85

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant

در جدول ۴-۱۲ نتایج آنالیز واریانس اثر متغیرهای فرمولاسیون درازه فراسومند بر مولفه a رنگ اسنک حجیم قابل مشاهده است. بر اساس اطلاعات مندرج در جدول فوق مدل آماری دو جمله ای برای شاخص قرمزی درازه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-نشاسته اصلاح شده و اینولین-روغن بر شاخص قرمزی معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۱۲- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر میزان روش شاخص قرمزی

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
a*	0.0023	0.0002	0.0570	0.0005	0.91	0.85

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant
 بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۴-۱۳ مدل آماری دو جمله‌ای برای شاخص زردی درآزه اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء ترکیبات فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل میزان اینولین-نشاسته و اینولین-روغن بر شاخص قرمزی معنی‌دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۱۳- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر میزان روش شاخص زردی

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
b*	0.0016	0.0001	0.3176	0.0005	0.91	0.85

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant

مطابق نمودار ۴-۲۸ الف- به تدریج با افزایش جداگانه جانشین های چربی، شاخص روشنی و شفافیت محصول کاهش یافته و در نتیجه میزان تیرگی رنگ درآزه ها افزایش می‌یابد. با این حال میزان کاهش روشنی در نمونه های حاوی ۲۰ درصد نشاسته اصلاح شده معادل ۲۶/۹۲۴ و در نمونه شاهد فاقد نشاسته ۲۷/۴ گزارش گردید، که از نظر آماری اختلاف معنی دار نبود؛ اما به تدریج با افزایش غلظت اینولین در فراورده میزان اختلاف روشنی به طرز معنی داری افزایش یافت.

مطابق نمودار ۴-۲۸ ج- به تدریج با افزایش غلظت نشاسته در فرمول، شدت زردی نمونه ها افزایش یافت. به نحوی که بیشترین میان زردی معادل ۸۶/۸۳ و در نمونه با غلظت ۱۹ درصد نشاسته اصلاح شده و کمترین میزان در نمونه حاوی غلظت اینولین ۲۰ درصد مشاهده شد.

تغییرات اندیس روشنی متاثر از چند عامل است:

۱- واکنش های قهوه‌ای شدن مایلارد با افزایش اینولین و نشاسته اصلاح شده تشدید می‌شود، در نتیجه کاهش روشنی نمایان می‌گردد (یاگی، ۲۰۱۱ و آلتان و همکاران، ۲۰۰۸).

۲- به علت حضور پیگمان های موجود در اینولین و نشاسته اصلاح شده تیرگی بیشتری در محصول مشاهده می‌گردد (یاگی، ۲۰۱۱).

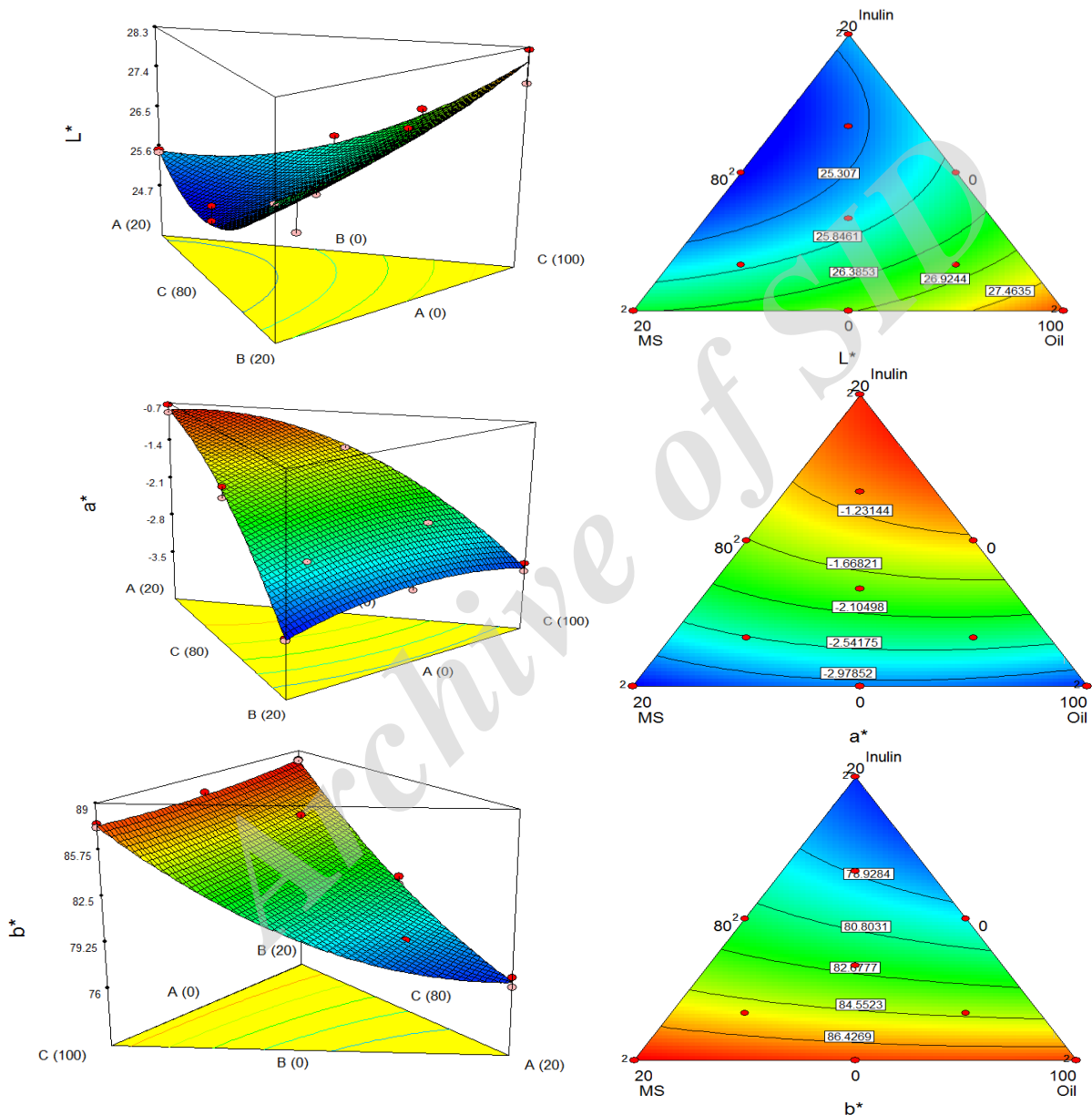
در پژوهش امینی و همکاران (۱۳۹۶)، اثر سرخ کردن بر رنگ سوسیس پری بیوتیک تولید شده با بتاگلوکان و نشاسته مقاوم به هضم بررسی گردید. بر این اساس؛ نشاسته مقاوم باعث کاهش فاکتور L گردید.

مطابق نمودار ۴-۲۸ ب- با افزایش میزان جانشین های چربی در فرمولاسیون درآزه، رنگ فراورده ب سمت سبز متمایل گردید. به نحوی که بیشترین میزان در نمونه های با غلظت های بالا از هرکدام بصورت مستقل و کمترین میزان در نمونه شاهد گزارش گردید.

واکنش قهوه ای شدن در اثر واکنش قند و پروتئین رخ می دهد. جذب روغن، دانسیته محصول، دما و زمان تماس با روغن، از فاکتورهای موثر بر رنگ فراورده تولیدی می باشند.

تاثیر نشاسته بر رنگ نمونه ها را می توان به رنگ سفید آن مربوط دانست. به طور کلی رنگ امولسیون ها تحت تاثیر رنگ فاز سبز-آبی آنها قرار دارد (لالس، ۲۰۱۰).

بطور کلی کاهش اندیس روشنی، افزایش اندیس قرمزی بدلیل انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن و افزایش اندیس زردی به علت تخریب برخی پیگمان‌ها و انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی می‌باشد (جزینویک و همکاران، ۲۰۱۲). بالا بودن درجه حرارت مورد استفاده در فرایند درآژه زنی (۵۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد) باعث تسریع واکنش میلارد و افزایش قهوه‌ای شدن می‌شود. به طور کلی به ازای هر ۱۰ درجه افزایش دما افزایش میزان قهوه‌ای شدن ۲-۳ برابر افزایش می‌یابد که مربوط به تشکیل ملانوئیدین‌ها می‌باشد (دمن، ۲۰۰۰).



نمودار ۴-۲۸- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر روشنی رنگ (الف) - شاخص قرمزی (ب) و شاخص زردی (ج) نمونه‌های اسنک حاوی درآژه فراسودمند

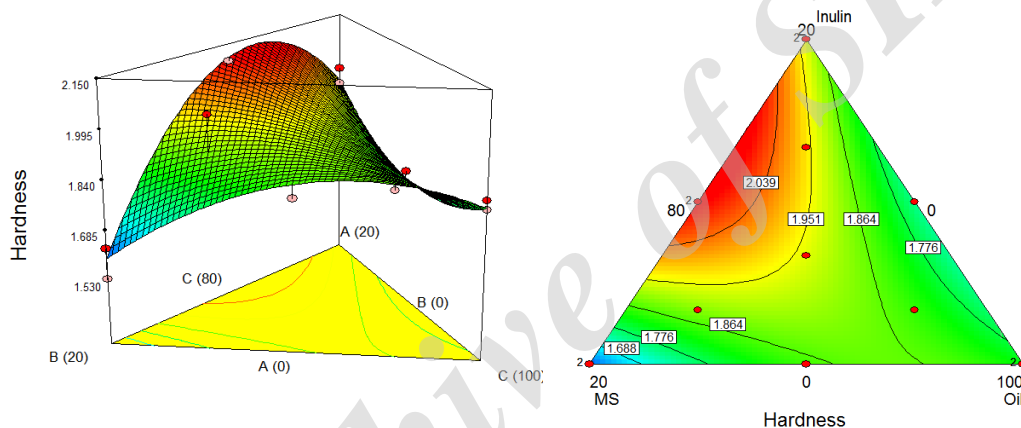
۴-۱۳- اثر متغیرهای فرمولاسیون درآژه فراسومند بر سفتی بافت نمونه های اسنک حجیم

بافت و رنگ از فاکتورهای مهمی هستند که بر روی پذیرش فراورده ها اثر قابل توجهی دارند. درآژه زنی با تاثیری که بر روی بافت می گذارد بر پذیرش محصول از طرف مصرف کننده اثرگذار است. چربی بر روی بافت، نرمی و طعم فراورده ها موثر است و طعم محصول و پذیرش نهایی آن را تحت تاثیر قرار می دهد. بر اساس اطلاعات مندرج در جدول ۴-۱۴ مدل آماری دو جمله ای برای سفتی بافت اسنک پیشنهاد گردید و همچنین بررسی میزان اثر اجزاء فرمولاسیون نشان داد که اثر متقابل اینولین و نشاسته اصلاح شده بر سفتی معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۴-۱۴- نتایج آنالیز واریانس (ANOVA) اثر فرمولاسیون بر میزان سفتی

Parameter	AB	AC	BC	F Value	R ²	Adj R ²
Term	Inulin×Ms	Inulin×Oil	Ms×Oil			
Hardness	0.0002	0.0738	0.0543	0.0008	0.90	0.83

*Significant at $P < 0.05$; ** significant at $P < 0.01$; *** significant at $P < 0.001$; ns, non-significant



نمودار ۴-۲۹- نمودار کانتور و سه بعدی نشان دهنده اثر اجزاء فرمولاسیون بر "سفتی"

بر اساس نمودار فوق بیشینه و کمینه مقدار سفتی نمونه های تولیدی به ترتیب متعلق به تیمار حاوی ۲۰ درصد اینولین و ۲۰ درصد نشاسته اصلاح شده بود. به نحوی که اختلاف معنی داری میان سفتی نمونه شاهد و نمونه حاوی ۲۰ درصد نشاسته مشاهده نشد. در این پژوهش میزان چربی درآژه از ۵۰ به ۴۰ درصد کاهش یافت. طی فرایند درآژه زنی روغن موجود در درآژه فرصت ورود به محصول متخلخل رایافته و سبب افزایش نرمی در فراورده می گردد. سختی بافت نشان دهنده حداکثر نیروی مورد نیاز جهت نفوذ یا سوراخ کردن محصول به وسیله پروب می باشد. سختی و تردی فرآورده های حجیم نتیجه ادراک انسان از بافت محصول می باشد که مرتبط با انبساط، تخلخل و ساختار سلولی اسنک ها است (آلتان و ماسکان، ۲۰۱۱). سختی بافت فراورده حجیم علاوه بر صفات حسی با ویژگی هایی چون دانسیته، ضریب انبساط و تخلخل در ارتباط است؛ اما به طور کلی سختی فرآورده های اکستروود شده به ویژگی الاستیسیته پوشش درآژه و ویسکوزیته آن نیز وابسته است (اوگنان و همکاران، ۲۰۰۶). طی درآژه زنی، آب بافت در اثر حرارت خارج می شود و بخشی از آن با روغن جایگزین میشود. بر اساس مطالعات انجام شده بین رطوبت و نرمی بافت رابطه مستقیمی برقرار است.

نمودارگیری کمپلکس چربی-نشاسته مسئول ایجاد بافت نرم می‌باشد که در شرایط رطوبت بالا نشاسته بیشتر ژلاتینه شده لذا بافت نرمتری ایجاد می‌گردد (بارینجر، ۲۰۰۰).

اینولین بدلیل داشتن گروه های هیدروفیل و هیدروفوب قابلیت جذب آب بیشتری داشته و موجب افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته شده و می تواند بافت سفت تری را در فراورده ایجاد نماید.

اثر سفت کنندگی اینولین احتمالاً به حضور ناخالصی های موجود در ترکیب مربوط میشود. بر اساس نتیجه مطالعه انجام شده توسط حضور ناخالصی ها از جمله نشاسته در ترکیب اینولین می تواند ژل حاصل از اینولین را سفت کند.

حسینی و همکاران (۱۳۹۵)، تأثیر افزودن نشاسته خام و اصلاح شده ذرت را بر ویژگی های خامه کم چرب بررسی نمودند. در پژوهش میزان چربی خامه از ۳۰ به ۱۵ درصد کاهش یافت. نتایج آنالیز بافت نشان داد که نشاسته اصلاح شده بافت سفت تری را نسبت به نشاسته خام ایجاد کرد. از نظر قوام، ویسکوزیته و ویژگی های حسی، نمونه حاوی ۳ درصد نشاسته اصلاح شده مشابه نمونه ۳۰ درصد چربی بود. نشاسته اصلاح شده تأثیر منفی بر حالت خامه ای بافت خامه نداشت. براین اساس؛ می توان نتیجه گرفت که نشاسته سدیم اکتیل سوکسینات به دلیل ایجاد بافت و طعمی قابل قبول می تواند به عنوان جایگزین چربی برای تهیه خامه کم چرب استفاده شود.

نشاسته ذرت اصلاح شده از طریق اتصالات عرضی زمانی که در ماده غذایی به کار می رود می تواند به شکل فیبر رژیمی عمل کند (جیوتی و همکاران، ۲۰۰۶).

مطابق پژوهش امینی و همکاران (۱۳۹۶)، ترکیب نشاسته گندم/نشاسته مقاوم در فرمولاسیون سوسیس پری بیوتیک اثر نرم کنندگی بر روی بافت داشته اند.

بررسی اثر نشاسته مقاوم طی فرایند پخت در نمونه های پنیر مصنوعی نشان داده است که در اثر فرایند پخت، سفتی بافت در حضور نشاسته مقاوم افزایش یافت. این اثر به آمیلوز مربوط می شود. طی فرایند پخت آمیلوز از بین گرانولهای نشاسته به بیرون نشت کرده و پس از آن طی سرد کردن باعث تشکیل باندهای هیدروژنی و افزایش سفتی بافت گردید. با این حال؛ واکنش بین نشاسته مقاوم / بتاگلوکان باعث کاهش سفتی بافت نمونه ها شد. این اثر به میانکنش بین این ترکیبات مربوط می شود. بتاگلوکان و نشاسته مقاوم اثر سینرژیستی بر روی کاهش سختی ژل نشان دادند. افزودن بتاگلوکان و نشاسته مقاوم منجر به تشکیل یک ژل ضعیف شد.

فاکتورهایی که نرمی بافت را افزایش دادند، میزان برش پذیری را کاهش دادند. هر چه سفتی بافت افزایش میابد باعث میشود نیروی لازم برای برش دادن نمونه ها نیز افزایش یابد. رابطه مستقیم بین فاکتورهای مختلف مربوط به پروفایل بافت و فاکتور برش پذیری در بررسی اثر افزودن فیبرهای رژیمی به فرانکفورتر نیز به دست آمده است.

خلیلی (۲۰۰۰)، نوعی محصول گوشتی کم چرب را با جایگزین نمودن سطوح مختلف چربی با آب یا ترکیب های آب/نشاسته در سطوح مختلف تولید نموده و ویژگی های محصول تولیدی را ارزیابی کردند. نمونه های دارای ترکیب آب/نشاسته دارای رطوبت بالاتر و ویژگی های بافتی بهتری در مقایسه با نمونه دارای آب به تنهایی بودند. همچنین نمونه های دارای نشاسته/آب دارای ویژگی های حسی بهتری از نظر آبدار بودن و تردی در مقایسه با نمونه کنترل بودند. به جز در مورد ترکیب آب/نشاسته در سطح ۱۰۰ درصد، میزان شدت طعم در سایر نمونه ها تفاوتی با یکدیگر نداشته است. همچنین نمونه های دارای ترکیب آب/نشاسته در تمام نسبت های مورد آزمایش از لحاظ نیروی برش، سختی، قابلیت ارتجاعی، رنگ و ویژگی های حسی تفاوتی با یکدیگر نداشتند.

۴-۱۴- اثر متغیرهای فرمولاسیون درآژه فراسومند بر پارامترهای حسی انواع اسنک حجیم

واضح است که پذیرش ظاهر و ساختار هموزن اسنک ها متأثر از خصوصیات هندسی و رنگ آنها می باشد. به همین دلیل انتظار می رود که متغیرهای مستقلی که بر رنگ، تخلخل و نسب انبساط فرآورده تأثیر معنی دار دارند، متعاقباً بر میزان پذیرش ظاهر محصول نیز تأثیر گذار باشند. در پیوست ۱ نمونه ای از فرم ارزیابی حسی ارائه گردیده است.

نتایج جدول ۴-۱۴- نشان داد بیشترین امتیاز پارامترهای حسی مربوط به نمونه شاهد بود اما پس از آن به ترتیب نمونه حاوی (اینولین ۳/۳۳، نشاسته ۱۳/۳۳ و روغن ۸۳/۳۳)، (اینولین ۳/۳۳، نشاسته ۳/۳۳ و روغن ۹۳/۳۳) و (اینولین ۰، نشاسته ۱۰ و روغن ۹۰) دارای بالاترین امتیاز حسی بودند.

بر اساس نتایج به دست آمده برای پذیرش کلی و پذیرش بافت نمونه ها زمانی که واکنش بین متغیرها باعث نرم شدن بافت شده و پذیرش کلی افزایش یافته است. این نشان می دهد بافت نرم تر از نظر ارزیابی های حسی پذیرش بالاتری داشته است.

لازوو همکاران (۲۰۱۰) با تحقیق بر خواص حسی اسنک های اکستروژ شده بر پایه ی ذرت و عدس، به این نتیجه رسیدند که افزایش درجه حرارت پوسته منجر به کاهش عطر و طعم آردی و افزایش عطر و طعم سوختگی می شود (لازوو همکاران، ۲۰۱۰).

آکالی و همکاران (۲۰۰۸)، تأثیر اضافه کردن ژلاتین، کربوکسی متیل سلولز و نشاسته ذرت را در مقادیر ۰ تا ۱ درصد به ماست به عنوان پایدار کننده مورد بررسی قرار دادند. نتایج حسی نشان داد که افزودن نشاسته ذرت، مطلوب ترین طعم و مزه را ایجاد کرد که به طور چشم گیری متفاوت از طعم و مزه ایجاد شده به وسیله ژلاتین بود. بر اساس نتایج آمینی و همکاران (۱۳۹۶)، افزودن بتاگلوکان و نشاسته مقاوم به هضم به سوسیس تأثیر نامطلوبی بر خواص حسی محصول ندارد و حتی در مقایسه با نمونه شاهد پذیرش کلی بالاتری دارد. لذا سوسیس پری بیوتیک می تواند به عنوان یک محصول جدید فراسومند در بازار عرضه شود.

کاپریلس و همکاران (۲۰۰۷)، اسنک کم چربی را با استفاده از نشاسته اصلاح شده به عنوان جایگزین چربی و عامل تثبیت کننده طعم تولید نمودند. محصول تولید شده دارای حدود ۴۷.۵ درصد کاهش کالری در مقایسه با نمونه های تجاری موجود در بازار بود. اسنک تولید شده از نظر بافت تفاوتی با نمونه های سنتی نداشته اما از لحاظ رنگی دارای مقداری تفاوت بود. همچنین اسنک کم چرب تولید شده دارای ویژگی های حسی بالایی بود و از لحاظ پذیرش تفاوتی با نمونه سنتی نداشت.

کاپریلس و همکاران (۲۰۰۸) اسنک ذرتی را تولید نمودند که در آن بخشی از روغن گیاهی هیدروژنه که به عنوان عامل تثبیت کننده طعم در فرمولاسیون اسنک استفاده می شود با محلول بدون چربی غنی شده با اینولین و الیگوفروکتوز ها جایگزین شده بود. اسنک حاصل دارای میزان چربی پایین (۰.۱ درصد) و حدود ۷ برابر فیبر رژیمی در مقایسه با انواع سنتی خود بود. غنی سازی با فروکتان ها همچنین اندیس گلیسمیک مورد انتظار را ۲۵ درصد کاهش داد. اسنک های غنی شده با فروکتان ها دارای قابلیت پذیرشی مشابه با انواع سنتی بودند.

کریسپین ایزیدرو و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر اینولین و فروکتان های مشخصی را در غلظت های ۲ و ۴ درصد بر ویژگی های ریزساختاری، رئولوژیکی و حسی ماست حاصل از شیر کم چرب در مقایسه با شیر پرچرب مورد مقایسه قرار دادند. نمونه های حاوی اینولین از نظر ویژگی های مذکور نسبت به نمونه کنترل بهتر بودند.

اینولین حاصل از نوعی کنگرفرنگی برای تولید کراکر مورد استفاده قرار گرفته است. 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 کراکر ها نشده است (همپل و همکاران، ۲۰۰۷).

همچنین در یک مطالعه دیگر از اینولین در سطح ۳ و ۶ درصد و الیگوفروکتوز ها در سطوح ۲۰ تا ۶۰ درصد برای تولید کیک کم چرب شکلاتی اسفنجی استفاده شده است. نتایج نشان داد که فرمول حاوی ۴۰ درصد آرد و ۶ درصد اینولین دارای ویژگی های مطلوبی بوده است (موسکاتو و همکاران، ۲۰۰۶).

لاگونا و همکاران (۲۰۱۴)، ویژگی های حسی و مولفه بافت بیسکویت های حاوی اینولین و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز (جایگزین ۱۵ - ۳۰ گرم چربی) را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که با جایگزین نمودن چربی تا ۱۵ گرم با اینولین یا HPMC بیسکویت های قابل قبولی تولید شده است اما جایگزین نمودن بیشتر از این مقدار منجر به کاهش پذیرش کلی بیسکویت ها شده است.

لوباتا کالروس و همکاران (۲۰۱۴)، تاثیر افزودن نشاسته های طبیعی و اصلاح شده را به عنوان جایگزین چربی بر ویژگی های ویسکوالاستیک ماست هم زده کم چرب بررسی نموده و بیان کردند که ماست نمونه کنترل دارای سینرسیس بیشتری در مقایسه با نمونه های کم چرب بوده و نمونه های کم چرب دارای اندکی تفاوت در ویژگی های جریان و ویسکوالاستیک در طی زمان نگهداری بوده اند. همچنین افزودن نشاسته های طبیعی و اصلاح شده منجر به تشکیل سیستم ژلی پایدار تری در ماست های تولیدی شده است.

جدول ۴-۱۵- نتایج آنالیزواریانس اثر متغیرهای فرمولاسیون درازه بر پارامترهای حسی انواع اسنک حجیم

صفات حسی تیمار	رنگ	ظاهر	عطر و طعم	بافت	پذیرش کلی		
						اینولین ۱۰ درصد	۱۰
اینولین ۱۰ نشاسته ۱۰ روغن ۸۰	cd _۴ ±۰/۲	d _۳ /۹±۱/۱	f _۲ /۹±۰/۹	e _۳ /۳±۰/۳۳	g _۳ /۴±۰/۶۹		۱
اینولین ۰ نشاسته ۲۰ روغن ۸۰	c _۴ /۲±۰/۵۱	b _۴ /۵±۱/۳	c _۳ /۹ ±۰/۲	c _۴ ±۰/۰۳	c _۴ /۴±۰/۴۴		۲
اینولین ۱۰ نشاسته ۰ روغن ۹۰	cd ۴±۰/۵۹	e _۳ /۷±۰/۹۱	h _۲ /۵±۰/۳۶	d _۳ /۵±۰/۲	h _۲ /۹±۰/۴۸		۳
اینولین ۰ نشاسته ۰ روغن ۱۰۰	a _۴ /۹±۰/۹	a _۴ /۸±۰/۸۱	a _۵ ±۱/۲	a _۵ ±۰/۶۱	a _۵ ±۰/۲		۴
اینولین ۰ نشاسته ۰ روغن ۱۰۰	e _۲ /۳±۰/۳	i _۲ /۹±۰/۹	h _۲ /۵±۱/۵	c _۴ /۱±۰/۱۸	h _۲ /۹±۰/۹۳		۵
اینولین ۲۰ نشاسته ۰ روغن ۸۰	cd _۴ ±۰/۵۹	h _۳ /۲±۰/۲	k _۲ ±۱/۲	e _۳ /۲±۰/۲	h _۳ ±۰/۶۶		۶
اینولین ۱۳/۳۳ نشاسته ۳/۳۳ روغن ۸۳/۳۳	c _۴ /۲±۰/۲	df _۳ /۷±۰/۷	e _۳ /۳±۱/۲	d _۳ /۶±۰/۹۱	e _۳ /۹±۰/۲۸		۷
اینولین ۱۰ نشاسته ۱۰ روغن ۸۰	d _۳ /۸±۰/۸۲	dc _۴ ±۰/۲۶	h _۲ /۵±۰/۲۳	e _۳ /۴±۰/۴۶	g _۳ /۳±۰/۲۶		۸
اینولین ۰ نشاسته ۲۰ روغن ۸۰	bc _۴ /۴±۴/۴	a _۴ /۷±۱/۲	cd _۴ /۱±۰/۱۱	c _۴ ±۰/۵۸	c _۴ /۴±۰/۲۱		۹
اینولین ۶/۶۶ نشاسته ۶/۶۶ روغن ۸۶/۶۶	cd _۴ ±۰/۸۱	dc _۴ ±۱/۲	g _۲ /۸±۰/۸۱	e _۳ /۹±۰/۱۹	c _۴ /۳±۰/۳۷		۱۰
اینولین ۰ نشاسته ۱۰ روغن ۹۰	ab _۴ /۷±۰/۲۳	ab _۴ /۷±۰/۳۳	bc _۴ /۴±۰/۹۸	a _۴ /۸±۱/۲	ab _۴ /۷±۰/۶۲		۱۱
اینولین ۲۰ نشاسته ۰ روغن ۸۰	cd _۴ ±۱/۲	h _۳ /۲±۰/۲۹	hi _۲ /۴±۰/۱۳	e _۳ /۲±۰/۲۸	h _۳ ±۰/۷۴		۱۲
اینولین ۳/۳۳ نشاسته ۳/۳۳ روغن ۹۳/۳۳	bc _۴ /۶±۰/۹۹	a _۴ /۷±۰/۵	b _۴ /۷±۰/۶۹	b _۴ /۳±۱/۸	ab _۴ /۷±۰/۰۱		۱۳
اینولین ۳/۳۳ نشاسته ۱۳/۳۳ روغن ۸۳/۳۳	a _۴ /۹±۴/۹	a _۴ /۸±۱/۳	ab _۴ /۸±۰/۷۱	a _۵ ±۰/۴۹	a _۴ /۸±۱/۶		۱۴

حروف کوچک یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار بین نمونه هاست.

۴-۱۵- بهینه سازی فرمولاسیون درازه سین بایوتیک کم چرب

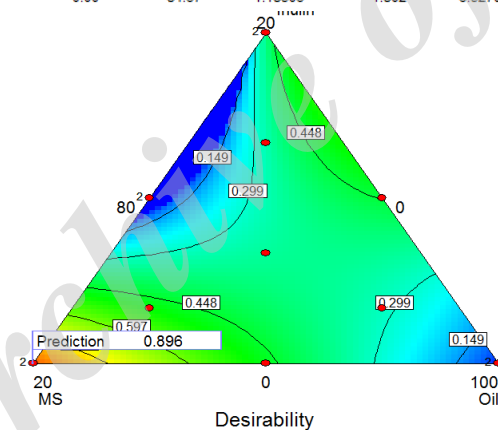
در این بخش، هدف از بهینه سازی دست یابی به فرمول بهینه درازه سین بایوتیک کم چرب بود. تنظیمات اعمال شده برای فرایند بهینه سازی، شامل قرارگیری متغیرهای فرمولاسیون (اینولین، نشاسته اصلاح شده) در محدوده آزمایش و تنظیم میزان روغن در کمترین مقدار بود. هدف گذاری پاسخ ها نیز شامل در نظر گرفتن بیشینه میزان زنده

مانی ارگانیسوم پروبیوتیک در طول دوره نگهداری؛ کمینه میزان چربی در فرمول، کمینه میزان سفتی بافت، بیشینه قوام، بیشینه ثبات امولسیون و بیشینه پذیرش کلی از سوی مصرف کنندگان بود. بر اساس ملاحظات فوق شرایط بهینه فرمولاسیون با منظور نمودن مقادیر کمینه کاهش جمعیت لگاریتمی، کمینه میزان چربی و سفتی بافت فراورده و مقادیر بیشینه ثبات امولسیون با ضریب اطمینان ۰/۸۹۶ شامل تیمار فاقد اینولین حاوی نشاسته ۲۰ درصد و روغن ۸۰ درصد و ضریب اطمینان ۰/۵۳۳ شامل تیمار حاوی ۱۵ درصد اینولین و روغن ۸۵ درصد تعیین گردید.

جدول ۴-۱۶- فاکتورهای مورد ارزیابی برای انتخاب نمونه بهینه

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
Inulin	is in range	0	20	1	1	3
MS	is in range	0	20	1	1	3
Oil	minimize	80	100	1	1	3
Emulsion stability	maximize	1	1.42	1	1	3
Hardness	minimize	1.5349	2.09602	1	1	3
Log CFU/g	minimize	5.57	7.33	1	1	3

Solutions	Number	Inulin	MS	Oil Emulsion stabi	Hardness	Log CFU/g	Desirability
	1	0.00	20.00	80.00	1.3321	5.70366	0.896
	2	15.33	0.00	84.67	1.18506	6.52707	0.533



نمودار ۴-۳- نمودار کانتور بهینه سازی فرمولاسیون درآژه سین بایوتیک کم چرب

۴-۱۶- ارزیابی و مقایسه زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک (آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک) در فرمولاسیون های منتخب درآژه فراسودمند

از آنجا که مهمترین بحث در فاز نهایی پژوهش، ارزیابی زنده ماننی باکتری در شرایط مختلف آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک به روش لیوفیلیزه بود، پس از تهیه فرمول های مختلف درآژه، باکتری های پروبیوتیک در ۲ فرم مختلف به نمونه ها افزوده شد و سپس عملیات درآژه زنی پیگیری گردید. همچنین، نتایج ارزیابی ویژگی

فیزکوشیمیایی اسنک حجیم شامل رطوبت ۲/۷ (درصد وزنی) نمک ۱/۲ (درصد وزنی بر مبنای ماده خشک) پروتئین ۸/۹ (درصد وزنی بر مبنای ماده خشک) چربی نمونه شاهد ۲۲ و نمونه بهینه کم چربی معادل ۱۴ (درصد وزنی بر مبنای ماده خشک) و خاکستر غیر محلول در اسید ۰/۰۷ (درصد وزنی) تعیین گردید.

نمونه های منتخب درآژه شامل موارد زیر فرموله شدند.

۱) باکتری آزاد + درآژه حاوی اینولین (۱۵ درصد) فاقد نشاسته

۲) باکتری آزاد + درآژه حاوی نشاسته (۲۰ درصد) فاقد اینولین

۳) باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده + درآژه حاوی اینولین (۱۵ درصد) فاقد نشاسته

۴) باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده + درآژه حاوی نشاسته (۲۰ درصد) فاقد اینولین

۵) ریزپوشانی شده خشک به روش لیوفیلیزه + درآژه حاوی (۱۵ درصد) فاقد نشاسته

۶) ریزپوشانی شده خشک به روش لیوفیلیزه + درآژه حاوی نشاسته (۲۰ درصد) فاقد اینولین

مطابق نتایج جدول ۴-۱۷ و ۴-۱۸ کمترین میزان کاهش لگاریتمی جمعیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طول دوره نگهداری ۲۱ روزه اسنک، متعلق به تیمار ۵ و ۶ حاوی باکتری ریزپوشانی شده و خشک به روش لیوفیلیزه بود. در حالیکه بیشترین کاهش لگاریتمی جمعیت در نمونه های حاوی باکتری آزاد مشاهده شد.

نتایج پژوهش با نتایج سایر محققین همخوانی داشت. وارد کردن باکتری پروبیوتیک به پوشش های خوراکی به ندرت بررسی شده است (سوکولیس، ۲۰۱۴).

در مطالعه تاپیا و همکاران (۲۰۰۷)، استفاده از پوشش های خوراکی بر پایه آلژینات و ژلان به عنوان حامل ارگانسیم بیفیدوباکتريا به منظور دستیابی به میوه های با پوشش پروبیوتیک بررسی شد. مطابق نتایج بیشتر از 10^6 Cfu/g باکتری *Bifidobacterium lactis* بر روی تکه های سیب و پاپایا بیش از ۱۰ روز نگهداری در دمای انجماد باقی ماندند. کاپلا و همکاران (۲۰۰۶) کارایی فرایند ریزپوشانی به همراه تاثیر حفاظتی پری بیوتیک ها در افزایش قابلیت زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و بیفیدوباکتریوم ها را در پودر ماست تولیدی توسط خشک کن انجمادی ارزیابی کردند. نتایج بدست آمده نشان داد که از بین سه ترکیب پری-بیوتیکی اضافه شده رافتیلوز، نشاسته مقاوم و اینولین، رافتیلوز قابلیت زنده ماندن ارگانسیم های پروبیوتیکی را در ماست بعد ۴ هفته از نگه داری بهتر حفظ نمود. مرگ سلول ها در مجموعه محتوی پروبیوتیک های ریزپوشانی شده در هر

سه دمای گرمخانه گذاری طی نگه داری پایین تر بود. در طول یک ماه نگه داری در ۳۷ درجه فقط پروبیوتیک های ریزپوشانی شده قابلیت زنده مانی خوبی داشتند (Log cfu/g 84/6).

نتایج مشابهی توسط دوا و همکاران (۲۰۱۴) در خصوص کاربرد اینولین در فرمول ریزپوشینه باکتری لاکتو باسیلوس پلانٹاروم و افزایش زنده مانی باکتری فوق تحت شرایط لیوفیلیزه و نگهداری در ۹۰ روز گزارش گردید.

آکین و همکاران (۲۰۰۷) اثرات سطوح مختلف شیرین کننده (۱۵٪، ۱۸٪ و ۲۱٪ w/w) و سطوح ۱٪ و ۲٪ اینولین را روی قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (LA-14) و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (BL-01) در بستنی پروبیوتیکی مورد ارزیابی قرار دادند. مطابق نتایج، بالاترین قابلیت زیستی در نمونه های با ۱۸٪ قند بود. آلتامیرانو فرتول و همکاران (۲۰۱۲)، پروبیوتیک ها را در قالب فیلم خوراکی روی سطح نان نیم پز اسپری نمودند. آنها با استفاده از تکنیک ریزپوشانی با دستگاه خشک کن پاششی، باکتری های پروبیوتیک را با ترکیبات مختلفی مانند اینولین، پکتین، کربوکسی متیل سلولز، ایزوله پروتئین آب پنیر ریزپوشانی کردند. سپس، ریزپوشینه ها را در ترکیب با محلول حاوی نشاسته ذرت مقاوم قبل از پخت به صورت پوشش، در چند لایه روی سطح نان نیم پز منجمد اسپری کردند و نان فراسودمند حاوی باکتری پروبیوتیک تولید کردند.

آلتامیرانو فرتول و همکاران (۲۰۱۲) نان پروبیوتیکی را با استفاده از باکتری انکپسوله شده *Lactobacillus acidophilus* با پوشش بر پایه نشاسته تولید نمودند. در نمونه های تولید شده، باکتری مورد نظر پس از پخت و طی کردن زمان نگهداری ۷ روزه همچنان زنده باقی ماند. با وجود اینکه پوشش مورد استفاده بر ویژگی های پوسته نان تاثیر گذار بوده است اما در مجموع پذیرش کلی نان از نظر ویژگی های حسی مطلوب گزارش شده است.

نوربخش و همکاران (۲۰۱۳)، امکان استفاده از نوعی تکنولوژی خشک کردن در خلاء برای تولید اسلایس های سیب غنی شده با باکتری پروبیوتیک *L. rhamnosus* را بررسی کردند. بر اساس یافته این محققان قابلیت بقای باکتری های پروبیوتیک در دمای ۲۵ درجه بستگی به نوع روش خشک کردن داشته اما نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد تا مدت ۱۸۰ روز تغییر مهمی را در جمعیت باکتری های پروبیوتیک ایجاد ننموده است.

تاورا کوئیروز و همکاران (۲۰۱۵)، میان وعده سیب پوشش داده شده با فیلم های متیل سلولز و حاوی فروکتوالیگوساکارید ها و باکتری های پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* را تولید نمودند. نتایج این بررسی نشان داد که ویژگی های جذب آب و تردی میان وعده تولید شده مشابه نمونه کنترل می باشد. بقای باکتری های پروبیوتیک

نیز پس از ۹۰ روز نگهداری میان وعده در شرایط مشخص دارای افت ناچیز بوده و بخش مهمی از باکتری ها بعد از شبیه سازی شرایط هضم در بدن زنده ماندند.

در پژوهش محمدی و همکاران (۱۳۹۳) تولید سس مایونز فرآویژه از تلقیح باکتری های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده با آلژینات و نشاسته مقاوم ذرت پیگیری شد. براین اساس؛ پروبیوتیک های ریزپوشانی شده نسبت به حالت آزاد زنده ماننی بیشتری در سس مایونز داشتند. تفاوت قابل ملاحظه ایی از نظر ساختار و شکل کپسول ها با نشاسته مقاوم توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی مشاهده نشد و ریزپوشانی پروبیوتیک ها ویژگی های حسی محصول را بهبود داد.

طالب پور و همکاران (۱۳۹۳)، چیپس سیب زمینی پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس را تولید کرده و سپس زنده ماننی باکتری های پروبیوتیک ذکر شده، در طول نگهداری در سه سطح دمایی ۴، ۲۱ و ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی های پلاستیکی معمولی (در مجاورت اکسیژن) و پوشش دار (عدم حضور اکسیژن) مورد بررسی قرار دادند. ریز پوشانی دو گونه ی باکتری در دانک هایی از جنس صمغ عربی در ترکیب با ژلاتین انجام گرفت. نتایج نشان داد حداکثر زنده ماننی در نمونه نگهداری شده در دمای ۳۸ درجه سانتیگراد و بسته بندی پلاستیکی پوشش دار بوده و تعداد پروبیوتیک زنده در هر گرم از چیپس سیب زمینی بالاتر از 10^6 CFU/g گزارش گردید که مطابق با مقدار توصیه شده از سوی سازمان جهانی غذا و دارو است.

مهربان رود و همکاران (۱۳۹۶)، زنده ماننی لاکتوباسیلوس کازئی را در مدت ۶ ماه انبارماننی شکلات پروبیوتیک بررسی نمودند. شکلات محیط مناسبی برای پروبیوتیک ها محسوب می شود. زیرا در این میزان فعالیت آبی، امکان رشد و تکثیر هیچ باکتری گرم مثبت از جمله پروبیوتیک ها وجود ندارد، لذا این باکتری ها در فاز آنابیوسیس رشد، باقی می ماند که در محصولات پروبیوتیک به عنوان شرایط ایده آل محسوب می شود. نتایج حاکی از حفظ زنده ماننی باکتری در طول مدت انبارماننی و دمای ۴ و ۲۱ درجه سانتی گراد بود. بطوریکه جمعیت باکتری ها 10^8 Cfu/g گزارش گردید.

حق شناس و همکاران (۲۰۱۵)، تاثیر افزودن اینولین و شنبلیله بر بقای باکتری انکپسوله شده *Enterococcus durans 39C* در مخلوط های پلی مری آلژینات-اسفرزه را در دستگاه گوارش شبیه سازی شده و ماست مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بقای سلول های زنده پروبیوتیک تحت شرایط مشابه سیستم گوارش در مقایسه با سلول های غیر کپسوله بیشتر بوده است. رهائش این باکتری ها پس از ۲ ساعت در شرایط روده ای اتفاق افتاده و تا ۱۲ ساعت پس از زمان انکوباسیون پایدار باقی مانده و افزودن اینولین و شنبلیله باعث افزایش خواص پروبیوتیکی گشته است.

جدول ۴-۱۷- مقایسه میزان زنده مانده لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در سه شکل آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک در طول دوره نگهداری

روز صفر cfu/ml	روز هفتم cfu/ml	روز چهاردهم cfu/ml	روز بیست و یکم cfu/ml	روز نگهداری تیمار		
				تیمار	روز نگهداری	
$^{d} 2/1 \times 10^6 \pm 0/61$	$^{bc} 1/3 \times 10^8 \pm 0/02$	$^{b} 1/3 \times 10^{10} \pm 1/1$	$^{a} 9/6 \times 10^{12} \pm 0/33$	اینولین ۱۰	باکتری آزاد	۱
				نشاسته ۰		
				روغن ۹۰		
$^{d} 6/5 \times 10^6 \pm 0/11$	$^{c} 1/2 \times 10^8 \pm 0/91$	$^{b} 1/1 \times 10^{10} \pm 0/03$	$1/5 \times 10^{12} \pm 0/07^a$	اینولین ۰	باکتری آزاد	۲
				نشاسته ۱۰		
				روغن ۹۰		
$^{c} 3/6 \times 10^6 \pm 0/61$	$^{b} 8/4 \times 10^8 \pm 0/02$	$^{a} 4/3 \times 10^6 \pm 0/26$	$^{a} 9/5 \times 10^6 \pm 1/3$	اینولین ۱۰	باکتری ریزپوشانی شده	۳
				نشاسته ۰		
				روغن ۹۰		
$^{b} 1/3 \times 10^6 \pm 0/23$	$^{ab} 1/9 \times 10^8 \pm 0/26$	$^{a} 3/3 \times 10^6 \pm 0/71$	$^{a} 8/1 \times 10^6 \pm 0/55$	اینولین ۰	باکتری ریزپوشانی شده	۴
				نشاسته ۱۰		
				روغن ۹۰		
$^{b} 3/3 \times 10^7 \pm 0/41$	$^{ab} 1/0 \times 10^8 \pm 0/22$	$^{a} 4/9 \times 10^8 \pm 0/12$	$^{a} 6/5 \times 10^8 \pm 0/52$	اینولین ۱۰	باکتری ریزپوشانی شده و خشک به روش لیوفیلیزه	۵
				نشاسته ۰		
				روغن ۹۰		
$^{ab} 7/5 \times 10^7 \pm 0/3$	$^{a} 1/9 \times 10^8 \pm 0/47$	$^{a} 8/5 \times 10^8 \pm 0/36$	$^{a} 1/0 \times 10^9 \pm 0/87$	اینولین ۰	باکتری ریزپوشانی شده و خشک به روش لیوفیلیزه	۶
				نشاسته ۱۰		
				روغن ۹۰		

جدول ۴-۱۸- مقایسه میزان کاهش لگاریتمی جمعیت لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در سه شکل آزاد، ریزپوشانی شده و ریزپوشانی شده خشک در طول دوره نگهداری

Log cfu/ml	تیمار		
$^{ef} 5/9 \pm 0/02$	اینولین ۱۰	باکتری آزاد	۱
	نشاسته ۰		
	روغن ۹۰		
$^{e} 5/57 \pm 1/1$	اینولین ۰	باکتری آزاد	۲
	نشاسته ۱۰		
	روغن ۹۰		
$^{b} 2/41 \pm 0/47$	اینولین ۱۰	باکتری ریزپوشانی شده	۳
	نشاسته ۰		
	روغن ۹۰		
$^{b} 2/76 \pm 0/50$	اینولین ۰	باکتری ریزپوشانی شده	۴
	نشاسته ۱۰		
	روغن ۹۰		
$^{a} 1/36 \pm 0/003$	اینولین ۱۰	باکتری ریزپوشانی شده و خشک به روش لیوفیلیزه	۵
	نشاسته ۰		
	روغن ۹۰		
$^{ab} 2/1 \pm 0/61$	اینولین ۰	باکتری ریزپوشانی شده و خشک به روش لیوفیلیزه	۶
	نشاسته ۱۰		
	روغن ۹۰		

فصل پنجم
بحث و نتیجه گیری

طبق آمارهای وزارت بهداشت ایران، تعداد زیادی از افراد کشور ما به دیابت و چاقی همچنین بیماریهای قلبی و عروقی مبتلا می باشند، که آمار رو به افزایش آن نگران کننده می باشد. مطالعات کاربردی نشان می دهد که تغییر در فرهنگ و عادات غذایی، بسیاری از هزینه های درمان را جبران میکند. با پیشرفت علم و دانش بشری، تمایلات عمومی در جهت تغییر در رژیم غذایی و مصرف مواد غذایی با کالری پایین و اندیس گلیسمیک پایین که دارای اثرات مفید و سلامت بخش در بدن به ویژه در سالمندان هستند، سوق پیدا کرده است

برای دستیابی به موفقیت در زمینه افزایش مصرف غذاهای فراسودمند پروبیوتیک، لازم است صنعت غذا رضایت مصرف کنندگان را فراهم سازد. از این رو همه غذاهای پروبیوتیک باید حاوی تعداد مشخصی از باکتری های پروبیوتیک در طی ماندگاری باشند. قبل از اینکه یک گونه پروبیوتیک بتواند به مصرف کننده منتقل شود باید تحت شرایط صنعتی قابل تولید بوده و در طی ذخیره سازی و همچنین در ماده غذایی، زنده مانده و بدون تاثیر نامطلوب بر طعم، مزه و بافت، عملکرد خود را حفظ نماید.

پروبیوتیک ها بیشتر به فرآورده های لبنی وارد می شوند، اما غلات نیز گزینه مناسبی برای تولید فرآورده های پروبیوتیک به شمار می روند. زیرا غلات بر خلاف فرآورده های لبنی، فاقد لاکتوز، ترکیبات حساسیت زا و کلسترول می باشند. با توجه به این که در کشور ما مصرف برخی از تنقلات غیر ضروری و مضر همچون اسنک حجیم (پفک) توسط مردم بویژه کودکان رواج یافته است، برشمردن معایب اینگونه محصولات و لزوم ورود فرمولاسیون های جدید و مغذی در این صنعت، منجر به آگاهی بیشتر مصرف کنندگان هنگام گزینش مواد غذایی خواهد شد.

رواج عدم تحرک در سبک زندگی مدرن و تمایل نسل جدید به مصرف غذاهای آماده، مصرف چربی و نمک زیاد، رنگ و افزودنی های خوراکی موجود در اسنک های رایج، ذائقه کودکان را به غذای چرب و شور هدایت می کند. استفاده از روغن با ترانس بالا در تهیه چیپس و پفک منجر به افزایش وزن، چربی خون و در نهایت بیماری های قلبی عروقی می شود. مصرف رنگ سنتزی در پفک باعث بروز اختلالات رفتاری، اضطراب، تندخویی و آلرژی کودکان می شود. از این رو جایگزینی ترکیبات مغذی با بخشی از روغن موجود در اسنک علاوه بر اثرات سلامتی زایی از بروز چاقی بیش از حد جلوگیری خواهد نمود.

در تحقیق حاضر نیز، از اسنک حجیم به عنوان بستر انتقال دهنده پروبیوتیک ها به بدن استفاده شده و سعی بر آن بود با استفاده از تکنیک ریزپوشانی و لیوفیلیزه، تعداد باکتری های زنده پس از فرآیند، به تعداد لازم برای ایجاد خواص پروبیوتیک در اسنک، حفظ شوند. روش امولسیون، یکی از رایج ترین روش های ریزپوشانی است. مزیت این روش، سهولت انجام در مقیاس صنعتی و حفظ بقای بالا برای پروبیوتیک هاست. با توجه به مصرف بالای اسنک حجیم توسط اقشار مختلف جامعه؛ سعی بر آن است که فرآیند تولید اسنک حجیم کم چربی (حامل ۱۰ درصد چربی کاهش یافته) فراسودمند حاوی باکتری های پروبیوتیک، به روش تولید اسنک های معمول در صنعت شبیه باشد و تا حد امکان با فرآیندها و ترکیبات در دسترس انجام گیرد.

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، می‌توان گفت که درآژه اسنک حجیم می‌تواند به عنوان یک حامل، برای تحویل میکروارگانسیم‌های پروبیوتیکی به بدن انسان در نظر گرفته شود. در تولید محصول از ترکیب پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، ترکیب پری‌بیوتیکی اینولین بومی و جایگزین چربی استفاده شد و در مجموع دانش فنی تولید فراورده سین‌بیوتیک کم چربی تدوین گردید که دارای خواص درمانی و سلامت بخش برای مصرف کننده می‌باشد. همین طور، در این تحقیق مشخص شد که افزودن لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، به شکل ریزپوشانی-لیوفیلیزه شده به فرمول درآژه، زنده‌مانی سلول باکتریایی را به گونه ای چشمگیر حفظ نمود. بعلاوه، استفاده از آلژینات-اینولین به عنوان یک پوشش دهنده مناسب، دارای کارایی بالایی برای محافظت باکتریهای پروبیوتیکی تحت شرایط تولید و فرآیند و نیز انبارمانی محصول بوده است. ترکیب پری‌بیوتیکی مورد استفاده، اثر معنی‌داری بر روی افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک نداشت، اما نمونه‌هایی که دارای بیشترین سطح اینولین تلقیحی بود، قابلیت زیستی بیشتری داشت. در این تحقیق مشاهده گردید که تعداد ابتدایی بالای سلول باکتریایی در محصول می‌تواند مقدار توصیه شده توسط فدراسیون بین‌المللی لبنیات (10^7-10^6) را فراهم کند.

۵-۲- پیشنهاد برای تحقیقات آتی

- الف) کاربرد سویه‌های مختلف و یا مخلوطی از پروبیوتیک‌های بومی برای تلقیح به محصول و بررسی زنده‌مانی آنها در طول انبارمانی
- ب) استفاده از ترکیبات پرکننده مختلف در دیواره دانک‌ها جهت مستحکم‌تر شدن دیواره.
- ج) استفاده از شرایط شبیه‌سازی شده معده‌ای و روده‌ای برای بررسی بقاء و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها موجود در فراورده در بدن انسان.
- د) استفاده از انواع جایگزین‌های چربی بومی
- ه) تاثیر روش‌های مختلف بسته‌بندی بر افزایش ماندگاری و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در اسنک حجیم فراسودمند
- ی) ارزیابی مطالعات بالینی

۵-۳- توجیه فنی و اقتصادی برای توسعه پژوهش

با عنایت به مصرف بالای اسنک های (میان وعده) اکستروژده (حجیم) و نگرانی های تغذیه ای در این خصوص هدف اصلی پژوهش، تولید محصولات مغذی به روش اکستروژن می باشد تا در ارتقای سلامت جامعه موثر باشد. این موضوع با توجه به جامعه هدف که عموماً کودکان و نوجوانان می باشد اهمیت می یابد زیرا در سن رشد نقش تغذیه در سلامت و کیفیت زندگی فرد تاثیر زیادی دارد.

امروزه افزایش دانش تغذیه ای افراد جامعه موجب شده است توسعه و تولید محصولات غذایی سلامتی زا روند روبه رشدی به خود گیرد و به این ترتیب پژوهش و نوآوری در این زمینه از اهمیت ویژه برخوردار گردد.

در این میان فراورده های غذایی سین بایوتیک که حاوی میکروارگانیسم های مفید پروبیوتیک و ترکیبات فعال پری بیوتیک می باشد حجم زیادی از بازار محصولات غذایی سلامتی را به خود اختصاص داده اند. اینولین یکی از مهمترین ترکیبات پری بیوتیک به شمار می رود. بنابراین با توجه به وجود بازار روبه رشد محصولات غذایی عملگر استخراج و تخلیص اینولین از منابع بومی می تواند به عنوان تکمیل کننده فرایند تحقیق و توسعه موجب نیل به اهداف تعیین شده در خصوص تجاری سازی یافته های پژوهشی محسوب شود. همچنین توسعه چنین فراورده های غذایی با تاثیر مثبت بر سلامتی افراد موجب کاهش هزینه های درمان و مشکلات اجتماعی حاصل از آن می شود. در خصوص مسائل زیست محیطی نیز باید گفت تولید سالم مواد غذایی و کاهش فاضلاب از جمله راهبردهایی است که در این طرح مورد توجه و تاکید قرار دارد.

طبق بررسی سوابق موضوع در کشور مشخص شده است تاکنون هیچ مرکز تحقیقاتی و پژوهشی به صورت جامع به فناوری اکستروژن در صنایع غذایی نپرداخته است و متولی مشخصی نیز در این زمینه وجود ندارد.

تولیدکنندگان مواد غذایی در کشورهای پیشرفته، به دنبال ایجاد تنوع و عرضه محصولات جدید م یباشند. بر این اساس انواع مختلف فرآورده های اسنک و اکستروژده نیز تولید شده است که از این بین می توان به اسنک های پف داده شده بر پایه برنج پوشش-دار شده با آب پنیر، ذرت و پنیر چدار طبیعی و اسنک های اکستروژده بر پایه سویا، ذرت و پنیر چدار طبیعی رسیده اشاره کرد. یکی از مهمترین مواد اولیه تهیه اسنک ها ذرت می باشد. در خصوص حجم تولید اسنک از ذرت باید گفت در سال ۱۹۹۹، حدود ۰۱۵ / ۲ میلیارد ۲ میلیارد پوند (وزن) تورتیلا، چیپس توستادای ذرت است

و فرآورده های پف داده آن به ارزش ۵۱۲ / ۵ میلیارد دلار در ایالات متحده به فروش رفته است. که ارزش آن بالغ بر ۱/۷۳۱ میلیارد دلار بوده است.

با اینکه برآورد دقیق و قابل اعتمادی از حجم جهانی فروش اسنک ها وجود ندارد اما در کتاب فرآوری اسنک های غذایی این مقدار برای سال ۲۰۰۲ بین ۳۰ تا ۳۵ میلیارد دلار برآورده شده است (لوساس و رونی، ۲۰۰۳). در مجموع اطلاعات بازار نشان می دهد میزان فروش انواع اسنک ها در سطح جهان رو به افزایش می باشد.

نتایج بررسی آماری فوق، حاکی از تولید روز افزون آن در داخل کشور، فارغ از بحث فرهنگ سازی و ممنوعیت تبلیغ این قبیل فرآورده های غذایی می باشد.

با توجه به خصوصیات بافتی و نیز استفاده از مواد طعمی و رنگ های جذاب، مصرف این نوع از فرآورده ها در بین اقشار مختلف جامعه به ویژه کودکان و نوجوانان از جاذبه زیادی برخوردار است. شواهد موجود از قبیل میزان تولید و فروش، نشان می دهد جامعه از این گونه فرآورده ها استقبال می کند و این استقبال به شدت رو به گسترش است. مطلب اخیر متضمن روند صعودی افزایش قیمت فرآورده های اکسترود و مواد خام مرتبط با آن است. با این حال وظیفه متخصصین صنعت غذا؛ تلاش برای بهینه سازی فرمولاسیون و تولید اسنک حجیم سالم و باارزش افزوده می باشد. با توجه به کمبود کارهای پژوهشی مستند در این زمینه، دستاورد عینی پژوهش حاضر، امکان تولید انواع اسنک حجیم فراسودمند با ارزش غذایی افزوده (سین بایوتیک) و محتوی کلسترول و چربی پایین را فراهم می کند.

لازم به ذکر است، استفاده از منابع عظیم گیاهان داروئی کشور با روشهای اقتصادی همواره مورد نظر بوده است. برای به استفاده درآوردن بفعول و عملی از این امکانات بالقوه، در این طرح پژوهشی کاربرد اینولین استحصالی از منابع بومی به عنوان جایگزین چربی و پری بیوتیک پیگیری خواهد شد. در صورت موفقیت طرح از نظر کیفیت و هزینه تمام شده می توان علاوه بر تامین مصارف داخلی نسبت به صدور آن اقدام و از این طریق به اقتصاد کشور کمک نمود.

۱. امیری عقدایی، س.س.، اعلمی، م.، صادقی ماهونک، ع.، و جعفری، س.م. ۱۳۹۱. تأثیر بتاگلوکان جو بدون پوشینه به عنوان مقلد چربی بر ویژگی های فیزیکی، شیمیایی، بافتی و حسی سس مایونز کم چرب. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، ۲۲ (۲).
۲. امیری عقدایی، س.س.، اعلمی، م.، و دارایی گرمه خانی، ا. ۱۳۹۱. تأثیر استفاده از صمغ کنیرا به عنوان جایگزین چربی بر ویژگی های رئولوژیکی، حسی و بافت سس مایونز کم چرب. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، ۸ (۲): ۱۸۰ تا ۱۸۹.
۳. امینی سرتشنیزی، ر. حسینی، ه. امیری، ز. کمیلی، ر. عظیمی، ع. ۱۳۹۶. بررسی اثر سرخ کردن بر بافت و رنگ سوسیس پری بیوتیک تولید شده با استفاده از بتاگلوکان و نشاسته مقاوم به هضم. علوم و صنایع غذایی. ۶۶(۱۴): ۱۶۵-۱۷۶
۴. آزاد، ع.س.، نورجاه، ن.، نوروزی، ف. (۱۳۸۶). بررسی الگوی مصرف غذا در دانش‌آموزان مدارس ابتدایی شهر لنگرود. مجله دانشگاه علوم پزشکی گیلان، دوره شانزدهم، شماره ۶۲، ص ۳۶-۴۱.
۵. آزادبخت، ل.، میرمیران، پ.، مومنان، ا.ع.، عزیزی، ف. (۱۳۸۲). ارزیابی آگاهی، نگرش و عملکرد دانش‌آموزان مقاطع راهنمایی و دبیرستان منطقه ۱۳ تهران در زمینه تغذیه سالم. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، سال پنجم، شماره ۴، ص ۴۱۶-۴۰۹.
۶. حسینی، ف. رفتنی امیری، ز. ۱۳۹۵. بررسی تأثیر نشاسته خام و اصلاح شده ذرت مومی بر ویژگی های فیزیکی شیمیایی و حسی خامه کم چرب. نشریه ی نوآوری در علوم و فناوری غذایی. ۱۸(۱): ۱۱۵-۱۲۴
۷. رضایی مکرر، مرتضوی، س. ع. حبیبی نجفی، م. ب. شهیدی، ف. خمیری، ۱۳۸۸. اثر میکروانکسپولاسیون آلژینات کلسیم بر قابلیت زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ptcc1643 در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران. مشهد.
۸. زرگری، ع. ۱۳۷۲. گیاهان دارویی. انتشارات دانشگاه تهران، چاپ پنجم، جلد سوم، صفحه ۸۹۰.
۹. شمسایی، س. رضوی، م. ع. عمادزاده. ب. عطای صالحی. الف. ۱۳۹۶. اثر صمغ های دانه ریحان و گزانتان بر ویژگی های فیزیکی و رئولوژیکی سس مایونز کم چرب. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران. ۱۳(۱): ۷۸-۶۵
۱۰. طالب پور حسنا، رضوی سید هادی، هاشمی روان مهناز، افسر علی. ۱۳۹۳. بررسی فاکتور های زنده ماندن باکتری در دوره نگهداری چیپس سیب زمینی پروبیوتیک. فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران ۱۱، (۴۴)، ۱۱۵-۱۰۵.
۱۱. فانو، (۲۰۱۲). بانک اطلاعات تولیدات کشاورزی. <http://faostat3.fao.org>.
۱۲. کریمی دره‌آبی، ۱۳۹۰. مطالعه تأثیر اینولین، مقدار تلقیح و دماهای مختلف بر سرعت رشد و متابولیسم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La 5 در شیر. مجله بهداشت مواد غذایی. ۱۱(۱): ۱۳-۲۴.
۱۳. مجذوبی، م.، فرحناکی، ع. (۱۳۸۹). تکنولوژی اکستروژن در صنایع غذایی ایران. نشر علم کشاورزی ایران.
۱۴. محبی زه، همایونی راد، ع. عزیزی م. ح. اصغری جعفرآبادی م. افشین پژوه ر. ۱۳۹۵. بررسی اثر پری بیوتیک های بتاگلوکان و نشاسته مقاوم به هضم بر ویژگی های رئولوژیکی خمیر. مجله علوم و صنایع غذایی. ۱۳(۵۰): ۱۸۳ - ۱۹۳.
۱۵. محمدی، ن. فهیم دانش، اهری، م. خسروی زنجانی، م. ۱۳۹۳. تولید سس مایونز فرآورده از تلقیح بکتری های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده با آلژینات و نشاسته مقاوم ذرت. مجله علوم غذایی و تغذیه. ۱۱(۱): ۷۳-۸۰
۱۶. مقصودی، ش. ۱۳۸۴. تکنولوژی نوین تولید انواع سس. انتشارات مرز دانش، تهران.
۱۷. میلانی، الف. پورآذرنگ، ه و وطن خواه، ش. ۱۳۸۹. بهینه سازی استخراج اینولین از غده ی سیب زمینی ترشی به کمک روش سطح پاسخ (RSM). مجله علمی - پژوهشی پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، دانشگاه فردوسی مشهد ۶(۳): ۲۳-۳۱
۱۸. میلانی، الف. پورآذرنگ، ه. وطن خواه، ش. و کیلیان، ح. ۱۳۸۹. بررسی کارایی امواج فراصوت در استخراج اینولین از غده سیب زمینی ترشی و بهینه یابی شرایط استخراج به روش سطح پاسخ. پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد ۶، شماره ۲، ص ۱۱۳ تا ۱۲۰.
۱۹. نوربخش لادن، محمدی ثانی علی، میلانی ناز، منصوره الهه. ۱۳۹۲. ارزیابی تأثیر بتافروکتان استخراج شده از ریشه شنگ بر رشد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و اشرشیاکلی در شرایط آزمایشگاهی. نشریه پژوهش های صنایع غذایی ۲۳، (۴): ۴۵۶-۴۴۵.
۲۰. نهاردانی، م.، حسینی نژاد، م.، الهامی راد، الف. ح. ۱۳۹۰. بررسی اثرافزایشی رشد *Lactobacillus casei* تحت تاثیر اینولین استخراج شده از کاسنی چندساله در محیط آزمایشگاهی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران (ویژه نامه نخستین کنگره ملی

- پروبیوتیک و پری بیوتیک ایران). ۶۱: ۹۵
۲۱. نهاردانی، م، حسینی نژاد، م، پورفلاح، ز. ۱۳۹۰. بررسی اثر پری بیوتیکی اینولین استخراجی از گیاه کاسنی بر روی لاکتوباسیلوس های انتخابی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران (ویژه نامه نخستین کنگره ملی پروبیوتیک و پری بیوتیک ایران). ۶(۱): ۲۹
۲۲. نهاردانی منیره، حسینی نژاد مرضیه، الهامی راد امیرحسین. ۱۳۹۱. ارزیابی اثرات پری بیوتیکی و ویژگی های کیفی اینولین استخراج شده از کاسنی غیربومی ایران. نوآوری در علوم و فناوری غذایی (علوم و فناوری غذایی). ۴(۴): ۸۷-۹۶
۲۳. وزارت صنعت و معدن تجارت. (۱۳۹۲). لوح فشرده بانک اطلاعات
۲۴. همایونی راد ع، امینی الف، خداوردی وند کشتیبان ع، محمدی م. ۱۳۹۵. بررسی اثر افزودن نشاسته مقاوم نوع دو بر خواص فیزیکیوشیمیایی، رئولوژیکی، حسی و پخت ماکارونی پری بیوتیک حاصل. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۱۰(۱): ۸۱-۸۸
۲۵. همایونی، عزیز. ۱۳۸۷. خواص سلامت بخش غذاهای فراسودمند، پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک. تبریز. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز.
۲۶. یوسفی، ه. سلیمانیان زاد، ص. شاهدی باغ خندان. م. ۱۳۹۵. ریزپوشانی پروبیوتیکها با روش امولسیون در تولید نان پروبیوتیک. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. ۱۱(۴): ۹۹-۱۰۶

27. Afshin pajouh R, Vakili Nezami A, Yahyavi M. Using the Microencapsulation in strengthening of Probiotic bacteria in Pasta Production. The 2nd National Congress of Probiotic and Functional Foods; 2012 Nov 20-22; Tehran.
28. Ahmadi, A., Milani, E., Madadlou, A., Mortazavi, S. A., Rezaei Mokarram, R. Salarbashi, D. 2011. Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated lactobacillus acidophilus (la-5) and fructooligosaccharide. *Journal of Food Science and Technology*. 2014, 51(8):1568-1574
29. Akalin AS, Erisir D (2008) Effect of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in lowfat probiotic ice cream. *J Food Sci* 73:184-188
30. Akin, M. B., Akin, M. S., & Kirmaci, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. *Food Chemistry*, 104, 93-99.
31. Alakali, J. S., Okonkwo, T. M. and Iordye, E. M. 2008. Effect of stabilizers on the physicochemical and sensory attributes of thermized yoghurt. *African Journal of Biotechnology*. 7(2): 158-163.
32. Allan-Wojtas P, Truelstrup HL, Paulson AT (2008) Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. *LWT-Food Sci Technol* 41:101-108
33. 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 Hydrocolloids* 2012; 29: 166-174
34. Altan, A., McCarthy, K.L., and Maskan, M. (2008). Evaluation of snack foods from barley-tomato pomace blends by extrusion processing. *Journal of Food Engineering*, 84(2): p. 231-242.
35. Álvarez D, Barbut S. 2013. *Meat Sci*. Effect of inulin, β -Glucan and their mixtures on emulsion stability, color and textural parameters of cooked meat batters. 94(3):320-7.
36. Anal, A. K. and Singh, H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science & Technology* 18:240-251.
37. Aqilah, M. A. 2010. Enhancement of probiotics survival by microencapsulation with alginate and prebiotics MMG 445. *Basic Biotechnology*, 6, 13-18.
38. Arcia, P. L., Costell, E., & Tárrega, A. (2011). Inulin blend as prebiotic and fat replacer in dairy desserts: Optimization by response surface methodology. *Journal of Dairy Science*, 94, 2192-2200.
39. Association of Official Analytical Chemists (2005) Official methods of analysis of AOAC International (18th ed) Maryland, USA.

40. Aziznia S, Khosrowshahi A, Madadlou A, Rahimi J (2008) Whey Protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: chemical, physical, and microstructural properties. *J Dairy Sci* 91:2545–2552
41. Azorin-ortuno M, Urban C, Ceron J, Tecles F, Allende A, Tomas-Barberan F, Espin J (2009) Effect of low inulin doses with different polymerization degree on lipid metabolism, mineral absorption, and intestinal microbiota in rats with fat-supplemented diet. *Food Chem* 113:1058–1064
42. Baig MI, Prasad V (1995) Biochemical characteristics and stability of *Bifidobacterium bifidum* in frozen yogurt supplemented with condensed cheese whey. *J Dairy Foods Home Sci* 15:99–108
43. Banchathanakij, R. and Suphantharika, M., Effect of different β -glucans on the gelatinisation and retrogradation of rice starch. *Food chemistry*, 2009. 114(1): p. 5-14.
44. Banuelos, O., Fernandez, L., Corral, J. M., Valdivieso-Ugarte, M., Adrio, J. L., Velasco, J. 2008. Metabolism of prebiotic products containing β (2-1) fructan mixtures by two *Lactobacillus* strains. *Anaerobe*, 14:184– 189.
45. Baodong Zheng, Yi Zhang, Hongliang Zeng. 2016. Chapter 13 – Structural Characteristics and Prebiotic Effects of Lotus Seed Resistant Starch. *Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics (Bioactive Foods in Health Promotion)*. 195–211
46. Barringer. S. Hand book of food science ,Technology and Engineering-WH yuhi 169 chapter coating snack foods - Department of food science and technology, The Ohio State University.
47. Beatriz, H. Bernal, Jario Calle, Elcy Q. Duarte, Roberto Pinzon, Mario Velasquez. (2005). Inulin from tubers of *Dahlia imperialis* Roetz. *Rev. Col. Cienc. Quim. Farm.* 34(2): 122-125 .
48. Bekers, M., Grube, M., Upite, D., Kaminiska, E., Linde, R., Scherbaka, R., & Danilevich, A. (2007). carbohydrate from Jerusalem artichoke powder suspension. *Nutrition and food science*, 37(1): 42-49.
49. Berset, C. (1989). *Color. Extrusion cooking*: p. 371-385.
50. Bhaskaran, S. (2006). Trends and market prospected for snack food in Australia. *International palm oil trade fair & seminar: Kuala Lumpur, Malaysia*.
51. Biedrzycka E, Bielecka M. 2004. Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization. *Trends Food Sci Technol.* 15:170-5.
52. Bigdelian E, Razavi SH (2014) Evaluation of Survival Rate and Physicochemical Properties of Encapsulated Bacteria in Alginate and Resistant Starch in Mayonnaise Sauce. *J Bioprocess Biotech* 4: 166 doi: 10.4172/2155-9821.1000166
53. Bohm, A., Kaiser, I., Trebstein, A., & Henle, T. 5. (2005). Heat-induced degradation of inulin. *European Food Research and Technology*, 220: 466-71.
54. Bosnea LA, Kourkoutas Y, Albantaki N, Tzia C, Koutinas AA, Kanellaki M. 2009. Functionality of freeze-dried *L. casei* cells immobilized on wheat grains. *LWT-Food Sci Technol.* 42: 1696 –1702 .
55. Bouhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P. 1999. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal biobacteria in healthy humans. *Journal of Nutrition*;129: 113–6.
56. Brennan, C. S., & Tudorica, C. M. (2008). Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt: Comparativestudy of the utilisation of barley beta-glucan, guar gum and inulin. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 824–833.
57. Buddington, RK., Kelly, Quagliana K., Buddington, K. K., Kimura, Y. 2002. Non-digestible oligosaccharides and defence functions: lessons learned from animal models. *British Journal of Nutrition*; 87:S231–9.
58. Buriti, F. C. A., Cardarelli, H. R., Filisetti, T. M. C. C., & Saad, S. M. I. (2007). Symbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophiles*. *Food Chemistry*, 104,1605–1610.
59. Buriti, F. C. A., Castro, I. A., Saad, S. M. I. 2010. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 137, 121- 129.

60. Burkus, Z., & Temelli, F. 2000. Stabilization of emulsions and foams using barley β -glucan. *Food Research International*. 33, 27–33.
61. Cabezas, A. Camuesco, D. Arribas, B. Garrido-Mesa, N. 2010. The combination of fructooligosaccharides and resistant starch shows prebiotic additive effects in rats *Clinical Nutrition* 29 (2010) 832e839
62. CAMIRE, M. E. 2011. Nutritional Changes during Extrusion Cooking. In *Advances in Food Extrusion* (M, Maskan & A, Altan) pp.87-102, CRC Press, New York.
63. Capela, P. Hay, T. K. C., Shah, N.P. 2006, Effect of cryoprotectants, prebiotics and micro encapsulation on survival of probiotic organisms in yogurt and freeze- dried yogurt, *Food Research International*, 39, 203-211.
64. Capela, P., Hay, T. K. C., & Shah, N. P. (2007). Effect of homogenisation on bead size and survival of encapsulated probiotic bacteria. *Food Research International*.
65. Capriles, V. D., Soares, R. A. M., Areas, J. A. G. 2007. Development and assessment of acceptability and nutritional properties of a light snack. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, 27(3): 562-566.
66. Capriles, V. D., Soares, R. A. M., Silva, M. E. M. P., Areas, J. A. G. 2008. Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1895–1901.
67. Cardarelli, H. R., Buriti, F. C. A., Castro, I. A., & Saad, S. M. I. (2008). Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially symbiotic petit-suisse cheese. *LWT – Food Science and Technology*, 41, 1037–1046.
68. Chackoshian Khorasani, A. Shojaosadati, S.A. 2017. Starch- and carboxymethylcellulose-coated bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposite as novel protective prebiotic matrices. *Food Hydrocolloids*. 63: 273-285.
69. Chan d. V., Kailasapathy, K., Peireis, J. M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. *Journal of microbiological methods* 56, 27-35.
70. Chanlat, N., Songsermpong, S., Charunuch, C., and Naivikul, O. (2011). Twin-Screw Extrusion of Pre-Germinated Brown Rice: Physicochemical Properties and γ -Aminobutyric Acid Content (GABA) of Extruded Snacks. *International Journal of Food Engineering*, 7.(4). 69-81
71. Charalampopoulos D, Wang R, Pandiella SS, Webb C. 2002. Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 79: 131-141
72. Charalampopoulos, D., & Rastall, R.A. 2009. *Prebiotics and Probiotics Science and Technology*. Springer Science, LLC, 163-170.
73. Charalampopoulos, D., Pandiella, S. S. 2003. Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions. *International Journal of Food Microbiology*; 82 (2):133–41.
74. Chen, C.M. and Yeh, A.I. 2001. Effect of amylose content on expansion of extruded rice pellet. *Cereal chemistry*, 78(3): p. 261-266.
75. Chen, J., Serafin, F.L., Pandya, R.N., and Daun, H. 1991. Effects of extrusion conditions on sensory properties of corn meal extrudates. *Journal of Food Science*, 56(1): p. 84-89.
76. Chong, E. 2014. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: Review of possible mechanisms of action. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30, 351–374.
77. Cook M. Tzortzis, G., Charalampopoulos, D., & Khutoryanskiy, V. 2012. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. *Journal of Controlled Release*, 162: 56–67.
78. Crispín-Isidro, G., Lobato-Calleros, C., Espinosa-Andrews, H., Alvarez-Ramirez, J., Vernon-Carter, E.J. 2014. Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural and sensory properties of reduced-fat stirred yogurt. *LWT - Food Science and Technology*, 1-7.

79. Crittenden, R., Laitila, A., Forssell, P., Matto, J., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T. and Myllarinen, P. 2001. Adhesion of bifidobacteria to granular starch and its implications in probiotic technologies. *Appl Environ Microbiol* 67:3469-3475
80. Darjani P, Hosseini Nezhad M, Kadkhodae R, Milani E. 2016. Influence of prebiotic and coating materials on morphology and survival of a probiotic strain of *Lactobacillus casei* exposed to simulated gastrointestinal conditions. *LWT - Food Science and Technology* 73: 162-167
81. Dave, P. (2012). Rheological properties of low-fat processed cheese spread made with inulin as a fat replacer. USA: University of Wisconsin-Stout.
82. Davidson RH, Duncan SE, Hackney CR, Eigel WN, Boling JW (1999) Probiotic culture survival and implications in fermented frozen yogurt characteristics. *J Dairy Sci* 83:666–673
83. DeMan, J.M., Principles of food chemistry. 1999: Springer.
84. Desmond E. M., Troy, D. J. and Buckley, D. J. 1998. The Effects of Tapioca Starch, Oat Fiber and Whey Protein on the Physical and Sensory Properties of Low-fat Beef Burgers, *Lebensm.-Wiss.u.-Technol* 31:653-657.
85. Dhewa T, Pant S, Mishra V (2012) Development of freeze dried symbiotic formulation using a probiotic strain of *Lactobacillus plantarum*. *J Food Sci Technol*. doi:10.1007/s13197-011-0457-2
86. Ding, Q.-B., Ainsworth, P., Plunkett, A., Tucker, G., and Marson, H. (2006). The effect of extrusion conditions on the functional and physical properties of wheat-based expanded snacks. *Journal of Food Engineering*, 73(2): p. 142-148.
87. Donkor ON, Nilmini SLI, Stolic P, Vasiljevic T, Shah NP (2007) Survival and activity of selected probiotic organisms in set-Type yogurt during cold storage. *Int Dairy J* 17:657–665
88. Drago, S., Velasco-González, O., Torres, R., Gonzalez, R., and Valencia, M. (2007). Effect of the extrusion on functional properties and mineral dialyzability from *Phaseolus vulgaris* bean flour. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62(2): p. 43-48.
89. El-Nagar, G., Clowes, G., Tudorica, C. M., & Kuri, V. 2002. Rheological quality and stability of yog-icecream with added inulin. *International Journal of Dairy Technology*, 55, 89–93 .
90. Emam-Djome Z, Ebrahimzadeh-mousavi M, Gorbani AV, Madadlou A (۲۰۰۸) Effect of whey protein concentrate addition on the physical properties of homogenized sweetened dairy creams. *Int J Dairy Technol* 61:183–191
91. Faraj, A., Vasanthan, T., and Hoover, R., 2006. The influence of α -amylase-hydrolysed barley starch fractions on the viscosity of low and high purity barley β -glucan concentrates. *Food chemistry*. 1(96): 56-65 .
92. Farnworth E. R. 2004. The beneficial health effects of fermented foods—potential probiotics around the world. *Journal of Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*, 4:93–117.
93. Faraj, A., Vasanthan, T., and Hoover, R., 2006. The influence of α -amylase-hydrolysed barley starch fractions on the viscosity of low and high purity barley β -glucan concentrates. *Food chemistry*. 96(1): p. 56-65.
94. Farrag, A. F. (2008). Emulsifying and foaming properties of whey protein concentrates in the presence of some carbohydrates. *International Journal of Dairy Science*, 3, 20–28.
95. Felisberto, M. Esteves Lopes, M. X Picone, c, Cunha, R. 2015. Effect of prebiotic ingredients on the rheological properties and microstructure of reduced-sodium and low-fat meat emulsions. *LWT - Food Science and Technology* 60 : 148-155
96. Fooks, L. J., Gibson, G. R. 2002. In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiology Ecology* 39, 67-75.
97. Franck, A.M.E., & De Leenheer, L. (2005). Inulin. In: Steinbuchel A, Rhee SK, editors. *Polysaccharides and polyamides in the food industry: Properties, production, and patents*. Weinheim: Wiley-VCH. 281-322.
98. Frank, A. and L. D. Leenheer. 2006. Inulin. Available at: http://www.wiley-vch.de/books/biopoly/pdf_v06/bpol6014_439_448.pdf.

99. Fritzen-Freire, C. B., Prudêncio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Pinto, S. S., Negrão-Murakami, A. N., & Murakami, F. S. 2012. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. *Food Research International*, 45, 306–312.
100. Gadekar, Y.P. Shinde, A.K. Karim, S.A. 2016. WITHDRAWN: Effect of inulin on physico-chemical, textural and sensory characteristics of reduced fat lamb nuggets. *Veterinary and Animal Science*. doi.org/10.1016/j.
101. Garcia, E. and Totosaus, A. 2008. Low-fat sodium-reduced sausages: Effect of the interaction between locust bean gum, potato starch and Kcarrageenan by a mixture design approach. *Meat science*. 78(4): 406-413.
102. Garcia, M. A., Ferrero, C., Bertola, N., Martino, M., Zaritzky, N. 2002. Edible coatings from cellulose derivatives to reduce oil uptake in fried. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 3, 391–397.
103. Ghoddusi, H.B., Grandison, M.A., Grandison, A.S., & Tuohy, K.M. (2007). In vitro study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. *Anaerobe* 13, 193–199.
104. Gibis, M. Schuh, V. Weiss, J. 2015. Effects of carboxymethyl cellulose (CMC) and microcrystalline cellulose (MCC) as fat replacers on the microstructure and sensory characteristics of fried beef patties
105. Gibson, G. R., McCartney, A. L., & Rastall, A. 2005. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections. *British Journal of Nutrition*, 93(1): S31–S34.
106. Gibson, G. R., Rastall, R. A., & Fuller, R. 2003. The Health Benefits of Probiotics and Prebiotics. In R. Fuller & G. Perdigon (Eds.), *Gut flora, nutrition, immunity and health* (1st ed., pp. 52–76). Oxford: Blackwell Publishing.
107. Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., & Cummings, J.H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology*, 108: 975-982.
108. Giovani L. Zabet, Eric Keven Silva, Viviane M. Azevedo, M. Angela A. Meireles. 2016. Replacing modified starch by inulin as prebiotic encapsulant matrix of lipophilic bioactive compounds. *Food Research International*. 85: 26–35
109. Ghoddusi, HB. Grandison, MA. Grandison, AS. Tuohy. KM. 2007. In vitro study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. *Anaerobe* 13 (5), 193-199
110. Gonzalez, Toma L. s, J. Coll-Marques, E. Costell. 2008. Viscoelasticity of inulin–starch-based dairy systems. Influence of inulin average chain length. *Food Hydrocolloids* (Article in Press)
111. Guarner, F. Inulin and oligofructose: impact on intestinal diseases and disorders . *Br J. Nutr.* 2005. 93, 1, 61-65.
112. Guarner, F., Schaafsma, G. J. 1998. Probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 39, 237-238.
113. Haile, M., Zhongli, P., Baoguo, L., Griffiths, G.A., Donald A, O., Marisa M, W., and Tara H, M. (2012). Properties of extruded expandable breadfruit products. *LWT-Food Science and Technology*, 46(1): p. 326-334.
114. Hartemink, R. & Rombouts, F.M. (1997). Gas formation from oligosaccharides by the intestinal microflora. In *International Symposium on Pre and Probiotics* ed. Boehm, G. pp. 57–66. Wageningen: Wageningen Graduate School.
115. Haynes IN, Playne MJ (2002) Survival of probiotic cultures in low fat ice cream. *Aust J Dairy Technol* 57:10–14
116. Heidenreich, S., Jaros, D., Rohm, R. & Ziens, A. 2004. Relationship between water activity and crispness of extruded rice crisps. *Journal of Texture Studies*, 35, 621–633.
117. Hekmat S, McMahon DJ (1992) Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *J Dairy Sci* 75:1415–1422
118. Hempel, S., Jacob, A. & Rohm, H. 2007. Influence of inulin modification and flour type on the sensory quality of probiotic wafer crackers. *European Food Research and Technology*, 224, 335-341.

119. Heydari S, Mortazavian AM, Ehsani MR, Mohammadifar MA, Ezzatpanah H, Sohrabvandi S (2012) Biochemical, microbiological and sensory characteristics of probiotic yogurt containing various prebiotic or fiber compounds. *Ital J Food Sci* 23:153–163
120. Holt, S.M., Miller-Fosmore, C.M., & Cote, G.L. (2005). Growth of various intestinal bacteria on alternansucrase-derived Oligosaccharides. *Letters in Applied Microbiology* 40, 385–390.
121. Holzapfel, W. H., Geisen, R., Schillinger, G.U., 1995. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. In *t. J. Food Microbiol.* 24, 343- 362.
122. Homayouni A, Azizi A, Ehsani MR, Yarmand MS, Razavi SH (2008) Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry* 111: 50-55.
123. Homayouni A, Azizi A, Ehsani MR, Yarmand MS, Razavi SH (2008) survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chem* 111:50–55
124. Homayouni-Rad, A., Delshadian, Z., Arefhosseini, S. R., Alipour, B., & Asghari-Jafarabadi, M. (2012). Effect of inulin and stevia on some physical properties of chocolate milk. *Health Promotion Perspectives*, 2, 42–47.
125. Hu, B., Gong, Q., Wang, Y., Ma, Y., Li, J., Yu, W. 2006. Prebiotic effects of neoagaro-oligosaccharides prepared by enzymatic hydrolysis of agarose. *Anaerobe*, 12:260–266.
126. Johnson, B.R. 2000. *Whey protein concentrates in low-fat applications*. Applications 403 Monograph. OK, USA: FS&T Consulting.
127. Jozinovic, A. Šubaric, D. Ackar, J. Babic, D. 2012. Effect of screw configuration, moisture content and particle size of corn grits on properties of extrudates. *Croat. J. Food Sci. Technol.* 4 (2) 95-101
128. Juan, B., Zamora, A., Quintana, F., Guamis, B., & Trujillo, A. J. (2013). Effect of inulin addition on the sensorial properties of reduced-fat fresh cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 66, 1–6.
129. Jyothi, A. N., Moorthy, S. N., & Rajasekharan, K. N. (2006). Effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava starch. *Manihot esculenta Starch/Stärke*, 58(6), 292-299.
130. Kahyaoglu T. and S. Kaya. 2003. Effects of heat treatment and fat reduction on the rheological and functional properties of Gaziantep cheese. *International Dairy Journal*. 13: 867-875 .
131. Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT. Food Science and Technology*. 39. 10:1221-1227.
132. Kalyani, N. K., Kharb, S., & Thompkinson, D. K. (2010). Inulin dietary fiber with functional and health attributes. A review. *Food Reviews International*, 26, 189–203.
133. Kaplan, H., & Hutkins, R.W. 2000. Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol*, 66: 2682–4.
134. Karaca OB, Guven M, Yasar K, Kaya S, Kahyaoglu T. 2009. The functional, rheological and sensory characteristics of ice creams with various fat replacers. *Int J Dairy Technol* 62:93–99
135. Karimi, R, Azizi, M. H, Ghasemlou, M, Vaziri, M. 2015. Application of inulin in cheese as prebiotic, fat replacer and texturizer: A review. *Carbohydrate Polymers* 119: 85–100
136. Kaur, N. and A. K. Gupta. 2002. Application of inulin and oligofructose in health and nutrition. *Journal of Bioscience*, 27: 703–714.
137. Kelly, N. D. G. 2009. Inulin-type prebiotics: A review. *Alternative Medicine Review*, 14, 36–55.
138. Khalil, A. H. 2000. Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. *Food Chemistry* 68, 61-68.
139. Kim, M. 2000. The water-soluble extract of chicory reduces cholesterol uptake in gut-perfused rats. *Nutrition Research*, 20: 1017–1026.
140. Kita. A.M. 2011. Reducing Saturated Fats in Foods. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Reducing saturated fat in savoury snacks and fried foods. 266–282.

141. Kolida, S., Tuohy, K., Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effect of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*; 87(Suppl. 2): 193–197.
142. Koocheki, A., Kadkhodae, R., Mortazavi, S.A., Shahidi, F., Taherian, A.R. (2009). Influence of alysson homolocarum seed gum on the stability and flow properties of o/w emulsion prepared by high intensity ultrasound. *Food Hydrocolloids*, 23 (8), 2416-2424.
143. Korus J GD, Achremowicz B. 2006. The influence of extrusion on chemical composition of dry seeds of bean (*Phaseolus vulgaris*L.). *Journal of polish agriculture*.9(1):36-41.
144. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H (2003) Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yogurt. *Int Dairy J*. 13:3–13
145. Krasaekoopt W, Watcharapoka S. 2014. Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT-Food Sci Technol*. 57(2):761e766.
146. Krasaekoopt, Wunwisa., Bhesh Bhandari and Hilton C. Deeth. 2006. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *LWT. Food Science and Technology*, Volume 39, Issue 2: 177-183
147. Kurien, A., Puniya, A.K., Singh, K., 2005. Selection of prebiotic and *Lactobacillus acidophilus* for synbiotic yoghurt preparation. *Indian Journal of Microbiology* 45,45–50.
148. Laguna, L., Primo-Martín, C., Varela, P., Salvador, A., Sanz, T. 2014. HPMC and inulin as fat replacers in biscuits: Sensory and instrumental evaluation. *LWT - Food Science and Technology* 56, 494-501.
149. Lawless, H.T., and Heymann, H. 2010. *Sensory evaluation of food: principles and practices*. Springer, 283-303.
150. Lazou, A. And Krokida, M. (2011). Thermal characterisation of corn–lentil extruded snacks. *Food Chemistry*, 127(4): p. 1625-1633.
151. *Leather Food Intl*. 2006. *Leatherhead Food International*. The international market for functional foods. *Functional Food Market Report*.40 (10), 1261–1269.
152. Lee, Y. K. salminin, S .2009. *Hand book of probiotics and prebiotics*, wiley, J. & sons, Inc, 609.
153. Leroy G, Grongnet JF, Mabeau S, Corre DL, Baty-Julien C. 2010. Changes in inulin and soluble sugar concentration in artichokes (*Cynara scolymus* L.) during storage. *J Sci Food Agric*; 90: 1203-9.
154. Li Li. M. 2010. Assessing prebiotic effects of resistant starch on modulating gut microbiota with an in vivo animal model and an in vitro semi-continuous fermentation model. *Iowa State University*
155. Li, D., Kim, M., Zhengyu, J., Zhou, J. 2008. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe* 14, 29–34.
156. Li, Dandan. Kim, Jin M. Zhengyu Jin and Jie Zhou. 2008. Prebiotic effectiveness of inulin extracted from edible burdock. *Anaerobe*. 14, (1): 29-34
157. Lindsay, R. D. 2000. *Aditivos alimentarios*. In Owen R. Fennema (Ed.), *Química de los alimentos* (2a Edición) (p. 949). Acribia.
158. Lingyun, W., Jianhua, W., & Xiaodong ZhandYalin, F. 2007. Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* 79, 1087–1093.
159. Lio S BE. 1999. Kinetics of colour changes during extrusion cooking of maize grits. *Journal of food Engineering*; 39(1):73-80.
160. Liu, H., Xu, X. M., & Guo, Sh. D. 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT*, 40, 946–954.
161. Lobato-Calleros, C., Ramírez-Santiago, C., Vernon-Carter, E.J., Alvarez-Ramirez, J. 2014. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt. *Journal of Food Engineering* 131, 110–115.
162. Lobo, A. Colli, C., Alvares, E. Filisetti, T. 2007. Effects of fructans-containing yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp & Endl.) on caecum mucosal morphometry, calcium and magnesium balance, and bone calcium retention in growing rats. *British Journal of Nutrition* 97:776–785.

163. Lopez-Molina D, Navarro-Martinez MD, RojasMelgarejo F, Hiner AN, Chazarra S, Rodriguez-Lopez J N. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.). *Phytochem.* 2005; 66: 1476–1484.
164. Lyer BK, Singhal RS, Ananthanaryan L (2013) Characterization and in vitro probiotic evaluation of lactic acid bacteria isolated from idli batter. *J Food Sci Technol.* 201; 50(6): 1114–1121.
165. Mandala, I.G, Savvas, T.P., Kostaropoulos.A.E, (2004). , Xanthan and locust bean gum influence on the rheology and structure of a white model-sauce. *Journal of Food Engineering*, 64,335-342
166. Manley. D. 2011. *Manley's Technology of Biscuits, Crackers and Cookies* (Fourth edition). A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. 298–302.
167. Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A., & Costell, E. (2011). Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 1-10.
168. Milani, E., Koocheki, A., & Golimovahhed, Q. A. Extraction of inulin from Burdock root (*Arctium lappa*) using high intensity ultrasound. *International Journal of Food Science & Technology*, 2011; 46, 1699-1704.
169. Mirzaei H, Pourjafar H, Homayouni A. 2012. 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* 132(4):1966–70.
170. Moerman, F.T., Van Leeuwen, M.B., & Delcour, J.A. (2004). Enrichment of higher molecular weight fractions in inulin. *J. Agric. Food Chem.* 52, 3780–3783.
171. Mohammadi R, Mortazavian AM (2010) Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. *Food Rev Int* 27:192–212
172. Molina, D. M. Martinez; F. Mregarejo; A. Hiner; S. Chazarra and J. Lopez. 2005. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolimus* L.). *Phytochemistry*, 66: 1476–1484.
173. Monsan, P. and Paul, F. 1995. Enzymatic synthesis of oligosaccharides. *FEMS Microbiol Rev* 16, 187–192.
174. Morin.L.A.and et al. 2002.Physical and Sensory characteristics of Reduced-Fat Breakfast Sausage Formulated with Barley B-Glucan.*Journal of Food Science* 61(6):2391-2396.
175. Moscatto, J. A., Borsato, D., Bona E., Oliveira A. S. & Ohveira, H. M.C. 2006. The optimization of the formulation for a chocolate cake containing inulin and yacon meal. *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 181-188.
176. Moscatto, J. A.; Prudêncio, S. H.; Haully, M. C. O. 2004. Yacon meal and inulin as ingredients in chocolate cake preparation. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 24(4): 634-640.
177. Moscicki, Leszek. 2011. *Extrusion-Cooking Techniques: Applications, Theory and Sustainability*. Wiley-VCH Verlag GmbH
178. Mounsey, J. and O'riordan, E. 2001. Characteristics of imitation cheese containing native starches. *Journal of food science.* 66(4): p. 586-591.
179. Mountzourisa, K. C., Balaskasb, Christos. Favac, F., Tuohyc, K. M., Gibsonc, G. R., Fegerosa, K. 2006. Profiling of composition and metabolic activities of the colonic microflora of growing pigs fed diets supplemented with prebiotic oligosaccharides. *Anaerobe* 12: 178–185.
180. Nazzaro, F., Fratianni, F., Sada, A., & Orlando, P. (2008). Symbiotic potential of carrotjuice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides.*Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88, 2271–2276.
181. NikNia, S, Razavi, S. M. A, Koocheki, A. 2009. Effect of selected stabilizers (basil seed gum, sage seed gum and guar gum) on the physical, sensory and rheological properties of mayonnaise. MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
182. Noorbakhsh, R., Yaghmaee, P., & Durance, T. 2013. Radiant energy under vacuum (REV) technology: A novel approach for producing probiotic enriched apple snacks. *Journal of Functional Foods*, 5, 1049–1056

183. Nourbakhsh Ladan, Mohamadi Sani Ali, Milani Elnaz. 2012. Prebiotic effectiveness of α -fructan extracted from salsify on growth of *B.bifidum* and *E.coli*. *BioTechnology:An Indian Journal*. BTAIJ, 6(11):341-346.
184. Ognean, C. Darie, N. Ognean, M. 2006. FAT REPLACERS – REVIEW. *Journal of Agroalimentary Processes and Technologies*, 5(2): 433-442.
185. Okuro, P. K., Thomazini, M., Balieiro, J. C. C., Liberal, R. D. C. O., & Fávares-Trindade, C. S. 2013. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Research International*, 53, 96–103.
186. Okuro, P., Thomazini, M., Balieiro, J., Liberal, R., Fávares-Trindade, C. 2013. Co-encapsulation of *Lactobacillus acidophilus* with inulin or polydextrose in solid lipid microparticles provides protection and improves stability. *Food Research International* 53: 96–103
187. Oliveira, R. Perego, P., Oliveira, M. Convert, A. 2006. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering*. 107 (1): 36–40
188. Ouwehand, A. C., Kurvinen, T., Rissanen, P. 2004. Use of a probiotic *Bifidobacterium* in a dry food matrix, an in vivo study. *International Journal of Food Microbiology*, 95, 103– 106.
189. Ozer, D., Akin, S., & Ozer, B. (2005). Effect of Inulin and Lactulose on Survival of *Lactobacillus Acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium Bifidum* BB-02 in *Acidophilus-Bifidus* Yoghurt. *Food Sci Tech Int*, 11(1): 019–6.
190. Ozlem, T. and M. K. Unal. (2003). Fat Replacers in Meat Products. *Pakistan Journal of Nutrition* 2 (3): 196-203
191. Paseephol, T., Small, D., and Sherkat, Frank. 2007. Process optimization for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using response surface methodology. *Food Chemistry*, 104: 73–80.
192. Paula, A. M. 2014. Texture profile and correlation between sensory and instrumental analyses on extruded snacks. *Journal of Food Engineering*; 121:9-14.
193. Penhasi A, Zorea Y, Zorea C. 2010. Process for preparing bakeable probiotic food. US 2010/0303962 A1
194. Phillips, M., Kailasapathy, K., Lai Tran, 2006. Viability of commercial probiotic cultures (*L. acidophilus*, *Bifidobacterium* sp., *L. casei*, *L. paracasei* and *L. rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology* 108, 276-280.
195. Picot, A., Lacroix, Ch. 2004. Encapsulation of bifido bacteria in whey protein- based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt. *International Dairy Journal* 14, 505-515.
196. Playne, M. J., Crittenden, R. 1996. Commercially available oligosaccharides. *Bulletin of International Dairy Federation*; 313:10–22.
197. Rada V., Nevoral J., Trojanová I., Tománková E., Šmečilová M., Killer J. 2008. Growth of infant faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in in vitro conditions. *Anaerobe*, 14: 205–208.
198. Rada, V., Nevoral, J., Trojanova, I., Tomankova, E., Smehilova, M., & Killer, J. (2008). Growth of infant faecal bifidobacteria and clostridia on prebiotic oligosaccharides in in vitro conditions. *Anaerobe*, 14: 205– 208.
199. Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., Adams, M. C. 2010. Importance of food in probiotic efficacy. *Food Research International* 43, 1–7.
200. Rao, V. A. 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutrition Research*. 21(6): 843-848.
201. Rastall, R. A., Maitin, V. 2002. Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Current Opinion in Biotechnology*; 13:490–6.
202. Razavi, S.M.A, Akbari, R. 1388, Biophysical properties of agricultural & food materials Ferdowsi university of Mashhad publication.

203. Reilly, C. M. Man. D. 2010. Shelf Life Evaluation of Foods. Potato crisps and savoury snacks. Springer US. 202-215.
204. Ricardo pinheiro De souza oliveira, patrizia perego, Attilio converti, Marice Nogueira De oliveira, (2009). Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria. *Journal of food Engineering* 91. 133-139.
205. Ringo, E., Olsen, R.E., Gifstad, T.O., Dalmo, R.A., Hemre, G.I., & Bakke, A.M. (2010). Prebiotics in aquaculture: a review. *Aquaculture Nutrition*, 16: 117–136.
206. Roberfroid M, Inulin-Type Fructans: Functional Food Ingredients. CRC Press, 2004: 88-95.
207. Roberfroid, M. B. 1993. Dietary fiber, inulin, and oligofructose: a review comparing their physiological effects. *Critical Review in Food Science*; 33: 103–48.
208. Roberfroid, M.B. 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93:S13-25.
209. Rokka S, Rantamäki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *Eur Food Res Technol* 2010; 231:1–12.
210. Rosseau V., Lepargneur, J.P., Roques, C., Remaud-Simeon, M., & Paul, F. 2005. Prebiotic effects of oligosaccharides on selected vaginal lactobacilli and pathogenic microorganisms. *Anaerobe*, 11: 145–53.
211. Saulnier, D.M.A., Molenaar, D., de Vos, W.M., Gibson, G.R., & Kolida, S. 2007. Identification of prebiotic fructooligosaccharide metabolism in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 through micro arrays. *Appl Environ Microbiol*, 73: 1753–65.
212. Selani, M. M., Dos santos dias, C. T., Ratnayake, W., Flores, R., Bianchini, A. 2014. Characterisation and potential application of pineapple pomace in an extruded product for fibre enhancement. *Food Chemistry*; 163(1):23-30.
213. Shah NP, Ravula RR (2000) Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Aust J Dairy Technol* 55:139–144
214. Shah, N.P. (2000). Functional foods. Probiotics and prebiotics. *Food technology*, 55. 46-53.
215. Shen, R., Luo, S., & Dong, J. 2011. Application of oat dextrine for fat substitute in mayonnaise. *Food Chemistry*, 126, 65–71.
216. Shi LE, Li ZH, Zhang ZL, et al. 2013. Encapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* in carrageenan-locust bean gum coated milk microspheres with double layer structure. *LWT-Food Sci Technol*. 54(1):147-151.
217. Singh RS, Singh RP. 2010. Production of fructooligosaccharides from inulin by endoinulinases and their prebiotic potential. *Food Technol Biotechnol*. 48(4): 435–450.
218. SINGH, B. RACHNA. HUSSAIN, S. Z. and SHARMA, S. 2014. Response surface analysis and process optimization of twin screw extrusion cooking of potato-based snacks. *J. Food Process. Preserv.* 15(1), 1-12.
219. Soukoulis C, Chandrinou I, Tzia C. 2008. Study of the functionality of selected hydrocolloids and their blends with k-carrageenan on storage quality of vanilla ice cream. *LWT-Food Sci Technol* 41:1816–1827
220. Soukoulis C, Tzia C .2008. Impact of the acidification process, hydrocolloids and protein fortifiers on physical and sensory properties of frozen yogurt. *Int J Dairy Technol* 61:170–177
221. Soukoulis C., Yonekura L., Gan H.H., Behboudi-Jobbehdar S., Parmenter C., Fisk I. 2014. Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids*. 39:231–242
222. Soukoulis, C, Singh, P, Macnaughtan, W, Parmenter, C and Fisk, I.D . 2016. Compositional and physicochemical factors governing the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG embedded in starch-protein based edible films. *Food Hydrocoll.* 52: 876–887. doi: 10.1016/j.foodhyd.2015.08.025
223. Stojceska, V. A. P., Plunkett, A., Ibanoglu, S. 2010. The advantages of using extrusion processing for increasing dietary fibre level in gluten free products. *Food Chemistry*; 121(1):156-64.

224. Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., and İbanoğlu, Ş. (2009). The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. *Food Chemistry*, 114(1): p. 226-232.
225. Stojceska, V., Ainsworth, P., Plunkett, A., and İbanoğlu, Ş.(2009). The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. *Food Chemistry*, 114(1): p. 226-232.
226. Su, H.P., Lien, C.P., Lee, T.A., & Ho, R.S. 2010. Development of low-fat mayonnaise containing polysaccharide gums as functional ingredients. *J Sci Food Agric*.
227. Tadros, Th.F. Vandamme, A. Leveck, B. K. Booten, C.V. Stevensc. 2004. Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin. *Advances in Colloid and Interface Science Volumes 108-109*: 207-226
228. Taper H S and Roberfroid M .1999. Influence of inulin and oligofructose on breast cancer and tumor growth; *J. Nutr. (Suppl.)* 129 1488–1491
229. Tapia M.S., Rojas-Graü M.A., Rodríguez F.J., Ramírez J., Carmona A., Martín-Belloso O. 2007. Alginate and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. *Journal of Food Science*;72:E190–E196.
230. Tapia, M. S., Rodríguez, F. J., Rojas-Graü, M. A., Martín-Belloso, O. 2005. Formulation of alginate and gellan based edible coatings with antioxidants for fresh-cut apple and papaya. IFT Annual Meeting. New Orleans, LA. Paper 36–43.
231. Tavera-Quiroz, M. J., Romano, N., Mobili, P., Pinotti, A., Gomez-Zavaglia, A., Bertola, N. 2015. Green apple baked snacks functionalized with edible coatings of methylcellulose containing *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Functional Foods* 16, 164–173 .
232. Thaiudom, S. Khantarat, K. 2011. Stability and rheological properties of fat-reduced mayonnaises by using sodium octenyl succinate starch as fat replacer. *Procedia Food Science*. 1: 315-321
233. Truelstrup Hansen, L., Allan-Wojtas, P. M., Jin, Y. L., & Paulson, A. T. 2002. Survival of Calcium alginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19, 35–45.
234. Vaughan, E. E., Mollet, B. 1999. Probiotics in the New Millenium. *Übersichtsbeiträge/ Reviews*, 43 (3), 148-153.
235. Vesterlund, S., Salminen, K., Salminen, S. 2012. Water activity in dry foods containing live probiotic bacteria should be carefully considered: A case study with *Lactobacillus rhamnosus* GG in flaxseed. *International Journal of Food Microbiology* 157, 319–321.
236. Vignas LK, Holck J, Meyer AS, Licht TR. 2011. In Vitro Fermentation of Sugar Beet Arabino-Oligosaccharides by Fecal Microbiota Obtained from Patients with Ulcerative Colitis To Selectively Stimulate the Growth of *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus* spp. *Appl Environ Microbiol*. 77(23): 8336-8344.
237. Vinderola CG, Bailo N, Reinheimer JA. 2000. Survival of probiotic microfelora in Argentinian yogurts during refrigerated storage. *Food Res Int* 33:97–102
238. Vulevic, Jelena. Rastall, Robert A., Gibson, Glenn R. 2004. Developing a quantitative approach for determining the in vitro prebiotic potential of dietary oligosaccharides. *FEMS Microbiology Letters* 236: 153–159.
239. Wada, K. 1990. In vitro fermentation of oligofructose and inulin by some species of human intestinal flora. Technical report of Calpis intestinal flora laboratory, available from ORAFI, Aandorenstraat 3, B-3300 Tienen, Belgium.
240. Wang, X., Gibson, G. R. 1993. Effects of the in vitro fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestine, *Journal of Applied Bacteriology.*, 75: 373–380
241. Wang, Y. & Zhang, J. 2006. A novel hybrid process, enhanced by ultrasonication, for xylan extraction from corncobs and hydrolysis of xylan to xylose by xylanase. *Journal of Food Engineering*, 77, 140–145.

242. Wang, Y., Han, F., Hu, B., Li, J., & Yu, W. 2006. In vivo prebiotic properties of alginate oligosaccharides prepared through enzymatic hydrolysis of alginate. *Nutrition Research*, 26: 597–603.
243. Watson D, Motherway M, Schoterman M, van Neerven R, Nauta A, and Sinderen D. 2013. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. *J Appl Microbiol.* 114(4): 1132–1146.
244. Weinbreck, F., Bodnár, I., Marco, M. L. 2010. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products. *International Journal of Food Microbiology.* 136, 364–367.
245. Wendin, K., & Hall, G. 2001. Influences of Fat, Thickener and Emulsifier Contents on Salad Dressing: Static and Dynamic Sensory and Rheological Analyses. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 34, 222–233.
246. Wichienchot, S. Jatupornpipat, M. Rastall. R.A. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. *Food Chemistry.* 120(3): 850–857
247. Winarti S, Harmayani E, Marsono Y, Pranoto Y. 2013. Effect of inulin isolated from lesser yam (*Dioscorea esculenta*) on the growth of probiotics bacteria and SCFA formation during fermentation. *Int Res J Microbiol.* 2: 53-63.
248. Worrasinchai, S., Suphantharika, M., Pinjai, S., & Jamnong, P. 2006. b-Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Food Hydrocolloids*, 20, 68–78.
249. Yadav, H. Jain, S. and Sinha. P. R. 2007. Formation of oligosaccharides in skim milk fermented with mixed dahi cultures, *Lactococcus lactis* ssp *diacetylactis* and probiotic strains of lactobacilli,” *Journal of Dairy Research*, vol. 74, no. 2, pp. 154–159.
250. YAĞCI, S. GOĞUS. 2011. Quality Control Parameters of Extrudates and Methods for Determination. In *Advances in Food Extrusion*. 297-326, CRC Press, New York.
251. Yeo, S. K., Ewe, J. A., Tham, C. S. CH., Liong, M. T. 2011. Carriers of Probiotic Microorganisms in: *Probiotics, Microbiology Monographs* 21, DOI 10.1007/978-3-642-20838-6_8, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
252. Yoon K Y, Woodams E, Hang Y. 2004. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *J Microbiol.* 4: 318-315.
253. Yoon KY, Woodamns EE, Hang YD. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Biores Technol* 9:1427–30.
254. Zamora-Vega, R., Montañez-Soto, J. L., Venegas-González, J., Bernardino-Nicanor, A., Cruz, L. G., & Martínez-Flores, H. E. 2013. Development and characterization of a symbiotic cheese added with *Saccharomyces boulardii* and inulin. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 2828–2834.
255. Zhang L, Huang S, Kristina Ananingsih V, Zhou W, Dong Chen X. 2014. A study on *Bifidobacterium lactis* Bb12 viability in bread during baking. *J. Food Eng.* 122: 33-37.
256. Zheng. w, Wang. R. Li. B, Lin. L. Zheng. B. 2016. Characterization and Prebiotic Effect of the Resistant Starch from Purple Sweet Potato. *Molecules* 21, 932.

پیوست الف: فرم ارزیابی حسی

ضمن تشکر از همکاری صمیمانه شما خواهشمند است ارزیابی خود را از خصوصیات حسی محصولی که در اختیار شما قرار گرفته است - اسنک حجیم- در فرم زیر به صورت امتیاز از صفر (نامطلوب) تا پنج (مطلوب) مشخص فرمایید.

نام داور حسی محترم کد نمونه تاریخ

رنگ و ظاهر	-----
احساس دهانی	-----
عطر و طعم	-----
بافت	-----
پذیرش کلی	-----

Abstract:

Target: Nowadays, regarding to human need to functional and probiotic foods and the extend use of these foods, considerable attention is donated to production and development of probiotic products which eventually can play an important role in improvement of society health. Inulin is widely used in functional foods throughout the world due to its beneficial nutritional attributes as prebiotic ingredient and technological properties. One of the best way in order to improvement of functional foods, would be combination of prebiotic and biological compound e.g. probiotic bacteria in food stuff. Strong demand for snacks with optimal functional and nutritional properties has a dramatic increased hence researching in this regard is considered as an essential task. Fortification of extruded snacks leads to preparation of functional, low calorie and low cholesterol products. Flavor coating of snack would be a proper carrier for probiotics.

Methodology: In first part of this study, prebiotic potential of poly-fructans extracted from native Jerusalem artichoke tubers on the survivability and activity of *Bifidobacterium bifidum*, *L. acidophilus*, *Escherichia coli* were investigated and compared with HP-Inulin (a high molecular-weight fraction of chicory derived inulin) Under In vitro Conditions. In the second step, Effect of different concentration of flavored coating containing inulin (0-10%), modified starch (0-10%) as prebiotic compound and fat replacer, edible oil (80-100%) on survivability of selected bacteria and physicochemical, rheological, functional, texture, color and sensory properties were studied. to improve the survival and stability of probiotic *L. acidophilus*, native inulin (NI) was incorporated into alginate beads during the microencapsulation of bacteria.

Results: Results showed that, the growth of *B. bifidum* and *L. acidophilus* improved significantly in the presence of NI to the control. The pH decreased in both media during 48 hours incubation time. Specific rate of growth and doubling time determined for *E. coli* demonstrated that the efficacy of various carbon sources in stimulating bacterial growth were influenced by the concentration and DP (degree of polymerization) of fructan chains in the media. In this project, fat content was decreased from 50 to 40 %. Different results were observed in Flavored Coatings properties due to fat replacers. Addition of NI to the coatings decreased emulsion stability, whereas, hardness of extruded snacks increased. Additionally, by enhancement of modified starch in formulations, all of the results are in contrast with results which affected by inulin. The indices used for optimization of formulation were maximum viable count of probiotic bacteria, emulsion stability and overall acceptability, minimum content of fat and hardness during storage of products. Optimum formulation conditions were found to be 10% modified starch without inulin and 33/15 % inulin without modified starch. Survivability of encapsulated probiotic bacteria (in fresh and freeze dried beads) in comparison with free cells was carried out during storage time (21 days) of optimum formulations. Based on experiments the best viable count was recorded for extruded snack containing 10% modified starch and freeze dried encapsulated bacteria. The results indicated that, addition of modified starch to flavored coating formulation enhanced the quality of in low fat Synbiotic flavored coating of extruded snack and freeze drying of encapsulated lactobacillus could significantly ($p < 0.05$) improve its survivability in a higher levels than the investigated levels by the World Health Organization (10^7 cfu g^{-1}).

Keywords: Synbiotic, coating, encapsulation, fatreplacer, extruded snack



Final report

Formulation of low fat Synbiotic flavored coating in order to production of functional extruded snack

Code: 2353

Research group:

Food Processing

Principal Investigator (BY):

Elnaz Milani

Date: October 2017