اثر الیگوفروکتوز و نوع کشت میکروبی بر میزان اسید لینولئیک کنژوگه و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک

مطهره بروغنی[1]، رضوان پوراحمد[2*]، علی اکبریان موغاری[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین- پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

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

۳. گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

نویسنده مسئول: *rjpourahmad@yahoo.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱

چکیده

هدف از این تحقیق بررسی اثر الیگوفروکتوز و نوع کشت میکروبی بر میزان اسید لینولئیک کنژوگه (CLA) و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک بود. از الیگوفروکتوز به میزان ۳ و ۵ درصد در ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یا *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* استفاده گردید (نمونه شاهد بدون افزودن پری‌بیوتیک در نظر گرفته شد). زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها، میزان CLA، pH، اسیدیته و ویژگی‌های حسی ماست پروبیوتیک در بازه‌های زمانی ۱، ۱۱ و ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. تعداد باکتری‌های پروبیوتیک و pH نمونه‌ها طی زمان به‌طور معنی‌داری کاهش ولی اسیدیته افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). میزان CLA در اکثر نمونه‌های مورد بررسی طی نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$). درحالی‌که با گذشت زمان نگهداری تغییر معنی‌داری در امتیاز پذیرش کلی اکثر نمونه‌ها مشاهده نشد. بالاترین جمعیت باکتری پروبیوتیک مربوط به تیمار حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۵ درصد الیگوفروکتوز بود. پس از نمونه شاهد ۱ (نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*)، نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۳ درصد الیگوفروکتوز بالاترین میزان CLA را داشت. بالاترین امتیاز حسی (پذیرش کلی) پس از تیمار شاهد ۱ مربوط به نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۳ درصد الیگوفروکتوز بود که در ضمن در پایان دوره نگهداری، جمعیت بالایی از باکتری پروبیوتیک را داشت ($۴/۶\times ۱۰^{۶}$ CFU/ml)؛ بنابراین می‌توان گفت ترکیبات پری‌بیوتیک با اثر مثبتی که بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و میزان CLA در نمونه‌های ماست پروبیوتیک می‌گذارند می‌توانند خواص سلامت‌بخش فرآورده‌های پروبیوتیک را بهبود بخشند.

واژگان کلیدی: اسید لینولئیک کنژوگه، الیگوفروکتوز، *کشت میکروبی*، ماست پروبیوتیک

مقدمه

امروزه گرایش زیادی به مصرف مواد غذایی فراویژه یعنی غذاهای دارای ارزش دارویی و تغذیه‌ای ویژه علاوه بر خواص تغذیه‌ای پایه به‌وجود آمده است. پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک‌ها و محصولات غنی شده تغذیه‌ای، همگی از جمله این مواد غذایی هستند. پروبیوتیک مکمل میکروبی است که از طریق متعادل‌سازی میکروب‌های بومی طبیعی روده، اثرات مفیدی بر بدن میزبان اعمال می‌کند. باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در فرآورده‌های غذایی بیشتر شامل گونه‌های مختلف جنس *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم* هستند. حفظ تعادل میکروفلور روده‌ای انسان، بهبود اختلالات گوارشی، درمان آسیب‌های کبدی، درمان و پیشگیری از بیماری‌هایی نظیر اسهال و اثرات سودمند دیگر است که موجب شده است تلاش برای جا دادن آن‌ها در رژیم غذایی انسان مستمرتر گردد (Conto et al., 2017). درحال حاضر، ماست مقبول‌ترین و پرمصرف‌ترین فرآورده پروبیوتیک در جهان است (خدارحمی و همکاران، ۱۳۹۱).

پری‌بیوتیک‌ها اجزاء یا ترکیبات غذایی غیرقابل‌هضم هستند که اثرات مفیدی بر میزبان از طریق تحریک انتخابی رشد و یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌ها در روده اعمال می‌کنند که می‌توانند سلامت میزبان را بهبود ببخشند. الیگوفروکتوز از فروکتوالیگوساکاریدها محسوب می‌شود. این ترکیب، فیبر غذایی و ماده‌ای پری‌بیوتیک است. این ترکیب شیرین و

با طعم مطبوع است و می‌تواند بدون اثرات منفی برای غنی‌سازی مواد غذایی مورد استفاده قرار گرفته و به بهبود طعم و آروما، بافت و مزه شیرینی ماده غذایی کمک کند. الیگوفروکتوز به‌واسطه عدم هضم در روده و ایجاد شرایط تخمیر انتخابی منجر به تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها در روده می‌شود و باعث تولید اسیدهای کوتاه زنجیر در نتیجه کاهش pH روده و کاهش رشد باکتری‌های پاتوژن و افزایش سلامت فرد مصرف کننده می‌گردد (نجفی و همکاران،۱۳۹۱).

شناسایی اسید لینولئیک به‌عنوان یک غذای فراویژه به دو دهه اخیر برمی‌گردد. اسید لینولئیک کنژوگه (CLA)[1] ترکیبی از ایزومرهای هندسی و موقعیتی اسید اکتا دکا دی انوئیک اسید با پیوندهای دوگانه کنژوگه شده به‌عنوان ترکیب ضد سرطان قوی در محصولات لبنی شناخته شده است. در سال‌های اخیر در علوم غذایی و دارویی به علت عملکردهای فیزیولوژیکی مهم از جمله کاهش بارز ریسک سرطان، کاهش غلظت LDL[2]، افزایش پروتئین بدن، کاهش چربی کل، پیشگیری از بیماری‌های قلبی و عروقی اهمیت زیادی یافته است (اقبال و همکاران، ۱۳۹۰).

شیر و محصولات لبنی اصلی‌ترین منابع طبیعی CLA و غنی‌ترین منبع آن در رژیم غذایی انسان هستند؛ بنابراین تلاش برای یافتن روش‌هایی است که منجر به افزایش CLA شیر و محصولات لبنی شود. CLA در محصولات لبنی توسط بعضی میکروارگانیسم‌های شکمبه به‌ویژه *Butyrivibrio fibrisolvens* از اسید لینولئیک تولید می‌شود (اسمیت، ۱۳۹۴). میزان CLA در محصولات لبنی نسبتاً کم است در ماست، پنیر و دیگر محصولات بین ۸-۳/۶ میلی‌گرم در گرم تغییر می‌کند؛ بنابراین تلاش‌های زیادی برای درک روش‌هایی که منجر به افزایش میزان CLA در شیر می‌شود انجام گرفته است که از جمله می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد: Ha و همکاران (۱۹۸۹) اظهار داشتند اگر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یا گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* برای تولید ماست و شیرهای تخمیری استفاده شوند، این محصولات غنی از CLA می‌گردند. Sieber و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی تأثیر کشت میکروبی بر میزان اسید لینولئیک کنژوگه در محصولات لبنی دریافتند که گونه‌های *لاکتوباسیلوس*، *پروپیونی باکتریوم*، *بیفیدوباکتریوم* و *انتروکوکوس* توانایی تولید CLA از لینولئیک اسید و افزایش مقدار آن در محصولات لبنی تخمیر شده مانند ماست و پنیر را دارند. Akalin و همکاران (۲۰۰۷) دریافتند که اضافه نمودن ترکیبات پری بیوتیک به شیر باعث افزایش میزان CLA در ماست پروبیوتیک تولیدشده به‌وسیله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌شود. Rahnama و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند میزان CLA در ماست سویا حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشتر از ماست سویا حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بوده است.

هدف از این تحقیق بررسی اثر الیگوفروکتوز و نوع کشت پروبیوتیک بر میزان اسید لینولئیک کنژوگه و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست پروبیوتیک بود.

مواد و روش کار

مواد مصرفی

مواد مصرفی شامل استارتر ماست (Xpress 1) حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* به‌صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS (شرکت کریستین هانسن، دانمارک)، استارترهای پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA5 و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* BB12 (شرکت تک ژن زیست، ایران)، شیر (شرکت پگاه تهران)، الیگوفروکتوز (شرکت بنو[3]، آلمان)، محیط کشت MRS agar (شرکت مرک، آلمان) بودند.

[1] -Conjugated Linoleic Acid
[2]-Low Density Lipoprotein
[3]-Beneo

تولید ماست پروبیوتیک

شیر پاستوریزه از کارخانه پگاه با ۳/۲ درصد چربی، ۶/۶ =pH و اسیدیته ۱۳/۵ درجه دورنیک تهیه گردید. شیر با میزان چربی ۲/۵ درصد و ماده خشک بدون چربی ۸/۶ درصد استاندارد شده و در ظروف استریل شده پر گردید. الیگوفروکتوز به میزان ۳ و ۵ درصد به آن اضافه و هموژن شد. شیر حاوی الیگوفروکتوز در دمای ۸۵ درجه سانتی-گراد به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه شد و تا رسیدن به دمای مناسب تلقیح استارتر (۴۰ درجه سانتی‌گراد) سرد گردید. سپس تلقیح هم‌زمان استارتر ماست و کشت پروبیوتیک (طبق جدول ۱) به شیر صورت گرفت. جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک هنگام تلقیح 10^8 cfu/ml بود. تلقیح در قالب ۶ تیمار صورت گرفت. پس از بسته بندی در گرمخانه ۴۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH= ۴/۷ نگهداری شد. سپس نمونه‌ها به سردخانه ۴ درجه سانتی-گراد منتقل گردید.

آزمون‌ها

اندازه‌گیری pH و اسیدیته

pH با استفاده از pH متر دیجیتال مطابق با استاندارد ملی به شماره ۲۸۵۲ اندازه‌گیری شد. اسیدیته با روش دورنیک مطابق با استاندارد ملی به شماره ۲۸۵۲ اندازه-گیری گردید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۵a).

اندازه‌گیری اسید لینولئیک کنژوگه

اندازه‌گیری اسید لینولئیک کنژوگه با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۸۸۱۹ (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۵b) انجام گرفت. برای این کار از دستگاه GC (مدل Younglin 6100) استفاده شد. ستون مورد استفاده، ستون موئین Dikmacap-2330 و دمای محل تزریق و آشکارساز FID به ترتیب ۲۶۰ و ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد بود.

شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

شمارش انتخابی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مطابق با دستورالعمل شماره ۱۱۳۲۵ استاندارد ملی ایران انجام گردید. پس از تهیه رقت مناسب از نمونه‌ها، کشت به روش پورپلیت[1] روی محیط کشت MRS bile agar صورت گرفت. گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی-گراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط هوازی انجام گردید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۷a).

بیفیدوباکتریوم لاکتیس

شمارش *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* مطابق با دستورالعمل شماره ۱۳۷۷۲ استاندارد ملی ایران انجام گردید. پس از تهیه رقت مناسب از نمونه‌ها، کشت به روش پورپلیت روی محیط کشت TOS-Agar صورت گرفت. گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۰).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی طبق روش استاندارد ملی به شماره ۶۹۵ انجام گردید. از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای (۱=نامطلوب‌ترین و ۵=مطلوب‌ترین) توسط ۱۰ نفر پنلیست آموزش دیده جهت بررسی ویژگی‌های حسی (مزه، بو، بافت و پذیرش کلی) ماست پروبیوتیک قالبی استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۷b).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. برای تجزیه واریانس از آزمون F و برای کلاس بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. نرم افزار SAS 9.1 مورد استفاده قرار گرفت. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

pH و اسیدیته

[1]-Pour plate

مقادیر pH و اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جداول ۲ و ۳ مشخص شده است. با افزودن الیگوفروکتوز در کلیه نمونه‌ها pH کاهش و اسیدیته افزایش پیدا کرد. در روز اول نگهداری، بالاترین مقدار اسیدیته و پایین‌ترین مقدار pH مربوط به تیمار A_3 و پایین‌ترین مقدار اسیدیته و بالاترین مقدار pH مربوط به تیمار شاهد ۱ بود. همچنین میزان اسیدیته در تیمارهای A_4، A_3، A_2، A_1 در طول زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان pH به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<۰/۰۵$).

اسید لینولئیک کنژوگه

مقدار اسید لینولئیک کنژوگه نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جدول ۴ مشخص شده است. با افزودن الیگوفروکتوز در اکثر نمونه‌ها میزان اسید لینولئیک کنژوگه افزایش یافت. در روز اول نگهداری، بیشترین میزان اسید لینولئیک کنژوگه (CLA) مربوط به تیمار A_2 و پایین‌ترین میزان آن مربوط به تیمار A_4 بود. در تیمارهای شاهد ۱، شاهد ۲ و A_4 میزان اسیدلینولئیک کنژوگه در طول زمان نگهداری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). در تیمارهای A_1 و A_3 میزان اسید لینولئیک کنژوگه از روز اول تا روز یازدهم کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P<۰/۰۵$) و از روز یازدهم تا بیست و یکم افزایش معنی‌داری پیدا کرد ($P<۰/۰۵$). در تیمار A_2، میزان اسید لینولئیک کنژوگه از روز اول تا یازدهم به‌طور معنی‌داری افزایش و از روز یازدهم تا بیست و یکم، به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P<۰/۰۵$).

جدول ۱- معرفی تیمارهای تحقیق

C1 (شاهد۱)	نمونه حاوی استارتر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*
A1	نمونه حاوی استارتر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به همراه ۳ درصد الیگوفروکتوز
A2	نمونه حاوی استارتر ماست و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به همراه ۵ درصد الیگوفروکتوز
C2 (شاهد۲)	نمونه حاوی استارتر ماست و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*
A3	نمونه حاوی استارتر ماست و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به همراه ۳ درصد الیگوفروکتوز
A4	نمونه حاوی استارتر ماست و *بیفیدو باکتریوم لاکتیس* به همراه ۵ درصد الیگو فروکتوز

جدول ۲- مقادیر pH نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری *(میانگین ±انحراف معیار)

تیمار/ بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۴/۸۳±۰/۰۶^{aA}	۴/۲±۰ ^{cB}	۳/۹±۰ ^{bC}
A_1	۴/۷±۰^{bA}	۴/۵±۰ ^{aB}	۴±۰ ^{aC}
A_2	۴/۷±۰^{bA}	۴/۳۳±۰/۰۶^{bB}	۳/۸۳±۰/۰۶^{cC}
شاهد۲	۴/۷±۰^{bA}	۴/۳±۰ ^{bB}	۳/۹±۰^{bC}
A_3	۴/۶±۰^{cA}	۴/۲±۰^{cB}	۳/۷±۰^{dC}
A_4	۴/۷±۰^{bA}	۴/۵±۰^{aB}	۳/۹±۰^{bC}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر ($P<۰/۰۵$) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P<۰/۰۵$).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

جدول ۳- مقادیر اسیدیته (درجه دورنیک) نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری* (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار/ بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۳۴±۰ ^{Ce}	۵۴±۰ ^{Bf}	۹۲/۶۷±۰/۳۳ ^{Af}
A_1	۶۲±۰ ^{Cd}	۷۹/۳۳±۰/۳۳ ^{Be}	۹۵/۳۳±۰/۳۳ ^{Ad}
A_2	۸۳/۳۳±۰/۳۳ ^{Cc}	۵۴±۰ ^{Bf}	۱۰۱±۰ ^{Ab}
شاهد۲	۹۲/۶۷±۰/۳۳ ^{Bb}	۹۲/۳۳±۰/۳۳ ^{Bc}	۱۰۳±۰ ^{Aa}
A_3	۹۳/۳۳±۰/۳۳ ^{Ca}	۹۵±۰ ^{Bb}	۹۸±۰ ^{Ac}
A_4	۸۳±۰ ^{Cc}	۸۶±۰ ^{Bd}	۹۴/۶±۰ ^{Ae}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر (P<۰/۰۵) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (P<۰/۰۵).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

جدول۴- مقادیر اسید لینولئیک کنژوگه (mg/g) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری * (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار/بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۳۵/۳۳±۰/۶۷ ^{Cd}	۳۸/۳۳±۰/۶۷ ^{Bd}	۸۰±۰/۵۸ ^{Aa}
A_1	۴۸/۳۳±۰/۸۸ ^{Bc}	۳۶±۰/۵۸ ^{Cd}	۷۲±۱/۱۵ ^{Ab}
A_2	۶۳/۳۳±۰/۸۸ ^{Aa}	۶۴/۶۷±۰/۳۳ ^{Aa}	۵۷±۱/۱۵ ^{Bd}
شاهد۲	۳۱±۰ ^{Ce}	۴۸/۶۷±۰/۸۸ ^{Bc}	۶۷/۳۳±۰/۶۷ ^{Ac}
A_3	۶۰/۶۷±۰/۳۳ ^{Ab}	۴۹/۳۳±۰/۸۸ ^{Cc}	۵۴/۳۳±۰/۳۳ ^{Be}
A_4	۲۸/۳۳±۰/۶۷ ^{Cf}	۵۱/۳۳±۰/۸۸ ^{Bb}	۵۴/۳۳±۰/۶۷ ^{Ae}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر (P<۰/۰۵) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (P<۰/۰۵).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

در جدول شماره ۵ جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های ماست پروبیوتیک مشخص شده است. نتایج نشان داد که با افزودن الیگوفروکتوز، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در اکثر نمونه‌ها افزایش یافت. در روز اول نگهداری، بالاترین میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک مربوط به تیمار A_4 و پایین‌ترین میزان زنده‌مانی مربوط به تیمار شاهد۱ بود (P<۰/۰۵). در همه تیمارهای مورد بررسی از روز اول تا یازدهم میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P< ۰/۰۵).

همچنین از روز یازدهم تا بیست و یکم نگهداری نیز جمعیت این باکتری‌ها در همه تیمارهای مورد بررسی به‌جز تیمار A_2 به‌طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (P<۰/۰۵).

جدول ۵- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (cfu/ml) در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری * (میانگین ±انحراف معیار)

تیمار/بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	$۶/۱\times ۱۰^{۶}\pm ۶/۶\times ۱۰^{۵Ac}$	$۳/۸\times ۱۰^{۶}\pm ۴\times ۱۰^{۵ Ba}$	$۲/۲\times ۱۰^{۶}\pm ۵/۹\times ۱۰^{۵ Cbc}$
A_1	$۷/۵\times ۱۰^{۶}\pm ۷/۲\times ۱۰^{۵ Ab}$	$۵/۹\times ۱۰^{۶}\pm ۳/۵\times ۱۰^{۵ Ba}$	$۴/۶\times ۱۰^{۶}\pm ۳/۵\times ۱۰^{۵ Ca}$
A_2	$۶/۴\times ۱۰^{۶}\pm ۵/۷\times ۱۰^{۵Ac}$	$۵/۷\times ۱۰^{۶}\pm ۳/۶\times ۱۰^{۵ ABa}$	$5\times ۱۰^{۶}\pm ۷/۵\times ۱۰^{۵ Ba}$
شاهد۲	$۷/۵۳\times ۱۰^{۶}\pm ۱/۴\times ۱۰^{۵Ab}$	$۳/۸\times ۱۰^{۶}\pm ۴/۳\times ۱۰^{۵ Ba}$	$۱/۵\times ۱۰^{۶}\pm ۲/۰۲\times ۱۰^{۵ Cc}$
A_3	$۸\times ۱۰^{۶}\pm ۲/۷\times ۱۰^{۵ Aab}$	$۵/۶\times ۱۰^{۶}\pm ۲/۳\times ۱۰^{۵ Ba}$	$۳\times ۱۰^{۶}\pm ۱/۱\times ۱۰^{۵ Cb}$
A_4	$۸/۵\times ۱۰^{۶}\pm ۲/۸\times ۱۰^{۵Aa}$	$۳/۹\times ۱۰^{۶}\pm ۱/۲\times ۱۰^{۵ Bb}$	$۱/۴\times ۱۰^{۶}\pm ۱/۷\times ۱۰^{۵ Cc}$

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر ($P<۰/۰۵$) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P<۰/۰۵$).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

ویژگی‌های حسی

ویژگی‌های حسی نمونه‌های ماست پروبیوتیک در جداول ۶ الی ۹ مشخص شده است. مطابق با جدول ۶ نمونه‌های ماست پروبیوتیک به‌جز نمونه A_2 (نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به همراه ۵ درصد الیگوفروکتوز) اختلاف معنی‌داری از نظر مزه نداشتند. مطابق با جدول ۷ نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳ درصد الیگوفروکتوز و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* +۵ درصد الیگوفروکتوز از امتیاز بوی بالاتری برخوردار بودند. مطابق با جدول ۸ نمونه‌های حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به همراه ۳ درصد الیگوفروکتوز بالاترین امتیاز بافت را به خود اختصاص دادند. مطابق با جدول ۹ نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳ درصد الیگوفروکتوز بیشترین امتیاز پذیرش کلی را کسب نمود. باید متذکر شد با گذشت زمان نگهداری تفاوت معنی‌داری در امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های مورد بررسی بجز نمونه شاهد ۲ (نمونه حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) و نمونه حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به همراه ۳ درصد الیگوفروکتوز مشاهده نشد.

جدول۶- امتیازات مزه در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

تیمار/ بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	$۴\pm ۰/۳۲^{abA}$	$۴\pm ۰/۳۲^{aA}$	$۴/۲\pm ۰/۲^{aA}$
A_1	$۳/۶\pm ۰/۲۴^{bA}$	۴ ± ۰^{aA}	۴ ± ۰^{aA}
A_2	$۳/۸\pm ۰/۲^{CabA}$	۴ ± ۰^{aA}	۴ ± ۰^{aA}
شاهد۲	$۴/۲\pm ۰/۲۸^{aA}$	$۴\pm ۰/۲^{bA}$	$۴/۲\pm ۰/۲۴^{bA}$
A_3	$۴/۲\pm ۰/۲^{aA}$	$۳/۸\pm ۰/۲^{aAB}$	$۳/۸\pm ۰/۲^{abAB}$
A_4	$۴/۲\pm ۰/۳۷^{aA}$	$۳/۶\pm ۰/۲۴^{aB}$	$۳/۴/۰/۲۴^{bB}$

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر ($P<۰/۰۵$) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P<۰/۰۵$).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

جدول ۷- امتیازات بو در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری* (میانگین ± انحراف معیار)

تیمار/بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۴±۰^{cA}	۴±۰^{cA}	۴/۳±۰/۲^{bA}
A_1	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴/۰۷/۲^{aA}	۴/۷±۰^{aA}
A_2	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴±۰^{cB}	۴/۳±۰/۲^{bA}
شاهد۲	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴±۰/۳۳^{cB}
A_3	۴/۳±۰/۲^{bB}	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴±۰/۳۳^{cC}
A_4	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴±۰/۲^{cB}	۳/۷±۰/۲^{dB}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر (P<۰/۰۵) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (P<۰/۰۵).

A_1: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس A_3: بیفیدو باکتریوم لاکتیس+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: بیفیدو باکتریوم لاکتیس+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: بیفیدو باکتریوم لاکتیس

جدول۸- امتیازات بافت در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری*(میانگین ± انحراف معیار)

تیمار/بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴/۳±۰/۲^{bA}
A_1	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴/۷±۰/۲^{aA}
A_2	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴/۳±۰/۲^{bA}	۴/۳±۰/۲^{bA}
شاهد ۲	۴±۰^{cA}	۴±۰^{bA}	۴±۰/۳۳^{cA}
A_3	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴/۷±۰/۲^{aA}	۴/۷±۰/۲^{aA}
A_4	۴±۰^{cA}	۴±۰^{bA}	۳/۷±۰/۲۷^{dB}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر (P<۰/۰۵) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (P<۰/۰۵).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

جدول۹- امتیازات پذیرش کلی در نمونه‌های مورد بررسی در طول زمان نگهداری* میانگین ± انحراف معیار

تیمار/ بازه زمانی	روز اول	روز یازدهم	روز بیست و یکم
شاهد ۱	۴/۷±۰/۲۷^{aA}	۴/۳±۰/۲۷^{bB}	۴/۷±۰/۲۷^{aA}
A_1	۴/۷±۰/۲۷^{aA}	۴/۷±۰/۲۷^{aA}	۴/۷±۰/۲۷^{aA}
A_2	۴/۳±۰/۲۷^{bA}	۴/۳±۰/۲۷^{bA}	۴/۳±۰/۲۷^{bA}
شاهد ۲	۴±۰^{cA}	۴±۰/۲۷^{cA}	۳/۷±۰/۲۷^{dB}
A_3	۴/۳±۰/۲۷^{bA}	۴±۰/۲۷^{cB}	۴±۰ ^{cB}
A_4	۴±۰^{cA}	۴±۰/۲۷^{cA}	۴±۰/۲۷ ^{Af}

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر (P<۰/۰۵) و حروف کوچک غیرمشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است (P<۰/۰۵).

A_1: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳٪ الیگوفروکتوز A_2: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۱: *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* A_3: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۳٪ الیگوفروکتوز A_4: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*+۵٪ الیگوفروکتوز شاهد ۲: *بیفیدو باکتریوم لاکتیس*

بحث

pH و اسیدیته

با افزودن الیگوفروکتوز در کلیه نمونه‌ها pH کاهش و اسیدیته افزایش پیدا کرد. نتایج این تحقیق با مطالعات Donker و همکاران (۲۰۰۷) نیز مطابقت داشت؛ آن‌ها بیان نمودند که افزودن اینولین موجب افزایش تولید اسید لاکتیک و کاهش زمان تخمیر در ماست پروبیوتیک می‌شود. همچنین Yeganehzad و همکاران (۲۰۰۷) و Oliveira و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که در حضور ترکیبات پری بیوتیک مانند اینولین اسیدسازی در ماست افزایش می‌یابد.

با گذشت زمان نگهداری اسیدیته کلیه تیمارها به‌طور معنی‌داری افزایش و pH نمونه‌ها کاهش معنی‌داری یافت ($P<۰/۰۵$). علت آن است که با افزایش زمان نگهداری و نیز ادامه فرآیند تخمیر توسط باکتری‌های استارتر ماست و پروبیوتیک، اسیدیته به دلیل تجمع اسیدهایی نظیر اسید لاکتیک، اسید فرمیک و غیره افزایش می‌یابد (Jounge et al., 2016). نتایج مطالعات عده‌ای از محققین افزایش معنی‌دار اسیدیته ماست پروبیوتیک در طول نگهداری را به اثبات رسانده است (یگانه زاد و همکاران، ۱۳۸۸؛ آقاجانی و همکاران، ۱۳۸۹).

اسید لینولئیک کنژوگه

با توجه به نتایج این پژوهش باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* توانایی تبدیل اسیدلینولئیک موجود در شیر به اسید لینولئیک کنژوگه را دارا بوده و منجر به افزایش معنی‌دار میزان اسید لینولئیک کنژوگه نسبت به نمونه شاهد گردیدند ($P<۰/۰۵$). علت این افزایش به اثر هم افزایی باکتری‌های ماست و باکتری پروبیوتیک نسبت داده شده است (Lin et al., 2008). همچنین محققین دیگر نیز گزارش نمودند که مقدار اسید لینولئیک کنژوگه پس از تخمیر شیر افزایش می‌یابد (Ha et al., 1989). در مورد اثر نوع کشت میکروبی بر میزان تولید اسید لینولئیک کنژوگه مشخص شد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در طی دوره نگهداری، اسید لینولئیک کنژوگه بیشتری تولید می‌کند. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بالاترین سطح تولید اسید لینولئیک کنژوگه را در هر محیط حاوی اسید لینولئیک دارد (Kishino, 2002). محققین دیگر نیز اظهار داشتند مقدار اسید لینولئیک کنژوگه در ماست پروبیوتیک بیشتر از ماست معمولی است. در واقع فعالیت آنزیم اسید لینولئیک ایزومراز باکتری پروبیوتیک می‌تواند مقدار اسید لینوئیک کنژوگه را در ماست افزایش دهد (اقبال و همکاران، ۱۳۹۰).

با به‌کارگیری باکتری پروبیوتیک و ترکیب پری‌بیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۳ درصد الیگوفروکتوز و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۵ درصد الیگو فروکتوز) می‌توان به تولید قابل توجهی از اسید لینوئیک کنژوگه دست‌یافت. الیگو فروکتوز به‌عنوان یک ترکیب پری بیوتیک باعث افزایش رشد و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌شود (اقبال و همکاران، ۱۳۹۰). Akalin و همکاران (۲۰۰۷) نیز به نتایج مشابهی دست یافتند. در تحقیق حاضر، زمان تأثیر معنی‌داری در تولید اسید لینوئیک کنژوگه در تیمارهای مورد بررسی داشت ($P<۰/۰۵$). افزایش مقدار اسید لینوئیک کنژوگه طی زمان نگهداری نشان می‌دهد که آنزیم اسید لینوئیک ایزومراز باکتری‌های پروبیوتیک برای تولید CLA نیاز به زمان دارد (اقبال و همکاران، ۱۳۹۰).

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک

نتایج حاصل از تحقیق حاکی از آن است که افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک، به ماست پروبیوتیک (*حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یا *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) موجب افزایش معنی‌داری در زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک

نسبت به ماست شاهد (ماست فاقد الیگوفروکتوز) می‌گردد (P<۰/۰۵). حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی به دلیل تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها، از مهم‌ترین دلایل بقای بیشتر باکتری‌هاست (Ghoddusi, Mohebi and 2008). پری‌بیوتیک‌ها مواد مغذی هستند که به‌عنوان منبع کربن به‌وسیله باکتری‌های خاصی مصرف می‌شوند بنابراین می‌توانند جهت افزایش رشد و بقا باکتری‌ها به محیط افزوده گردند (Tamime, 2005). برخی محققین گزارش نمودند که افزودن اینولین و الیگو فروکتوز باعث افزایش زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در ماست طی نگهداری در شرایط یخچالی می‌شود (Aryana and McGrew, 2007). همچنین Mazloomi و همکاران (۲۰۱۱) گزارش نمودند که در تولید ماست سین‌بیوتیک، افزودن اینولین به شیر میزان زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس* را افزایش می‌دهد. استفاده از مواد پری-بیوتیکی باعث افزایش بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ماست می‌شود (آقاجانی و همکاران، ۱۳۸۹).

جمعیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در پایان نگهداری در کلیه تیمارها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۵)؛ که علت آن می‌تواند تجمع اسید در نتیجه تولید اسید لاکتیک و سایر اسیدهای آلی نظیر اسید استیک، اسید فرمیک و غیره توسط باکتری‌های آغازگر ماست باشد که منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌گردد. همچنین افزایش پتانسیل اکسیداسیون احیا (E_h) و نیز افزایش غلظت هیدروژن پر اکسید حاصل از فعالیت متابولیکی باکتری‌ها از عوامل کاهش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در ماست طی زمان نگهداری است (Dave and Shah, 1997; Joung et al., 2016).

ویژگی‌های حسی

نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳ درصد الیگوفروکتوز بیشترین امتیاز پذیرش کلی را کسب نمود. با گذشت زمان نگهداری تفاوت معنی‌داری در امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های مورد بررسی به‌جز نمونه شاهد ۲ (نمونه حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*) و نمونه حاوی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به همراه ۳ درصد الیگوفروکتوز مشاهده نشد. ویژگی‌های حسی ماست مهم‌ترین دلیل محبوبیت این فرآورده نزد مصرف کننده است (Mattils-Sandholm and Saarela, 2003). تولید عطر و طعم در فرآورده‌های شیری تخمیری، به‌عنوان مجموعه واکنش-های مربوط به متابولیسم اسید لاکتیک، لیپولیز، اکسیداسیون و پروتئولیز است که در این واکنش‌ها، میکروارگانیسم‌ها از طریق سیستم خود عمل کرده، با متابولیزه کردن پیش سازهای مختلف که عمدتاً لاکتوز است، ترکیبات مؤثر در آرومای فرآورده را فراهم می‌کنند (Seydim et al., 2000). بررسی‌های متعددی نقش مؤثر ترکیبات پری‌بیوتیک را در فرآورده‌های شیری تخمیری نظیر ماست به اثبات رسانده است (Matjevic et al., 2009; Tabatabaei and Mortazani, 2008). افزودن پری‌بیوتیک‌هایی نظیر اینولین موجب افزایش طعم و مزه و همچنین بهبود احساس دهانی می‌شود (Golob et al., 2004). کیفیت حسی ماست پروبیوتیک نسبت به ماست معمولی در طول دوره نگهداری کاهش می‌یابد مگر اینکه از ترکیبات پری‌بیوتیکی استفاده شود (Hekmat and Reid, 2006). نتایج حاصل از این تحقیق نیز مؤید این مطلب است. استفاده از مقادیر بالای پری‌بیوتیک‌ها نیز موجب کاهش ویژگی‌های حسی به‌ویژه طعم فرآورده می‌شود. به‌عنوان مثال افزودن مقادیر زیادی از اینولین به ماست پروبیوتیک، موجب تولید گاز و کاهش خواص حسی محصول نهایی می‌گردد (Mattils-Sandholm and Saarela, 2003). افزودن اینولین و الیگوفروکتوز باعث بهبود خواص حسی کفیر می‌گردد (Zielinska and Glibowski, 2015). بررسی‌ها نشان داده که

علاوه بر پری بیوتیک‌ها، نوع نژاد استارتر بکار رفته یا باکتری پروبیوتیک و طول دوره نگهداری نیز می‌توانند نقش مهمی در خواص حسی ماست ایفا کنند (Mohebbi and Ghoddusi, 2008). به‌کارگیری پری-بیوتیک‌ها در فرمولاسیون ماست پروبیوتیک، بهبود بافت آن را موجب می‌شود، اگرچه به مرور زمان و با افزایش تولید اسید و کاهش معنی‌دار pH، ویژگی‌های حسی محصول نهایی کاهش می‌یابد (Heenan et al., 2004). در یک بررسی مشابه مشخص شد که ترکیبات پری-بیوتیک نظیر فروکتوالیگوساکاریدها موجب بهبود ساختار و بافت ماست سین‌بیوتیک می‌شوند (Tungland, 2003). نتایج بسیاری از مطالعات با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Tamime, 2005; Olivera et al., 2009; Matjevic et al., 2009).

نتیجه‌گیری

با افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک به ماست پروبیوتیک، میزان زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نسبت به ماست شاهد (فاقد الیگوفروکتوز) افزایش پیدا کرد. در میان کشت‌های پروبیوتیک اضافه شده، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تأثیر بیشتری در افزایش میزان اسید لینولئیک کنژوگه داشت. افزودن الیگوفروکتوز به ماست پروبیوتیک، موجب افزایش اسیدیته و کاهش pH گردید. بالاترین امتیاز حسی (پذیرش کلی) پس از تیمار شاهد۱ مربوط به تیمار A_1 (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* +۳ درصد الیگوفروکتوز) بود که در پایان دوره نگهداری، جمعیت بالایی از باکتری پروبیوتیک ($۴/۶\times ۱۰^{۶}$ cfu/ml) را داشت ضمن آنکه بالاترین میزان اسید لینولئیک پس از تیمار شاهد مربوط به A_1 بود. به این دلیل این تیمار به-عنوان تیمار برتر برگزیده شد؛ بنابراین می‌توان گفت ترکیبات پری‌بیوتیک با اثر مثبتی که بر زنده‌مانی باکتری-های پروبیوتیک و میزان اسید لینولئیک کنژوگه نمونه-های ماست پروبیوتیک می‌گذارند می‌توانند به بهبود خواص سلامت‌بخش فرآورده‌های پروبیوتیک کمک نمایند.

منابع

۱. آقاجانی، عبدالرضا.، پوراحمد، رضوان و مهدوی عادلی، حمیدرضا. (۱۳۸۹). اثر ترکیبات پری‌بیوتیک بر روی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی. علوم غذایی و تغذیه، سال هشتم، شماره ۴، صفحه ۷۳-۸۲.

۲. اسمیت، گریت. (۱۳۹۴). فرآوری شیر، بهبود کیفیت فرآورده‌های لبنی. ترجمه: پوراحمد، رضوان و فدائی، وجیهه، انتشارات دانش پرور.

۳. اقبال، نوشین.، صفری، محمد.، رضوی، سید هادی و رضایی، کرامت اله. (۱۳۹۰). بررسی اثر اینولین بر بیوسنتز میکروبی اسید لینولئیک کنژوگه در ماست پروبیوتیک. بیستمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی.

۴. خدارحمی، مریم.، بغدادی، مهرداد و اسدی دزکی، سیامک. (۱۳۹۱). پروبیوتیک‌ها ماده غذایی هدفمند و سلامت بخش، دومین سمینار ملی امنیت غذایی.

۵. سازمان ملی استاندارد ایران (a ۱۳۸۵). شیر و فرآورده های آن– تعیین اسیدیته و pH - روش آزمون. استاندارد شماره ۲۸۵۲.

۶. سازمان ملی استاندارد ایران (b ۱۳۸۵). چربی شیر- اندازه گیری ترکیب اسیدهای چرب با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی - روش آزمون. استاندارد شماره ۸۸۱۹.

۷. سازمان ملی استاندارد ایران (a ۱۳۸۷). ماست پروبیوتیک ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد شماره ۱۱۳۲۵.

۸. سازمان ملی استاندارد ایران (b ۱۳۸۷). ماست- ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد شماره ۶۹۵.

۹. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۰) فرآورده های شیر- شمارش احتمالی بیفیدوباکتریوم - روش شمارش کلنی در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد. استاندارد شماره ۱۱۷۷۲

۱۰. نجفی، ویدا.، قیافه داوودی، مهدی و احمدزاده قویدل، ریحانه. (۱۳۹۱). روش های تولید میکروبی فروکتوالیگوساکارید. سومین همایش ملی کشاورزی و صنایع غذایی.

۱۱. یگانه‌زاد، سمیرا.، مظاهری تهرانی، مصطفی و شهیدی، فخری. (۱۳۸۸). بررسی اثر سیر سویا بر زنده ماندن باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ارگانولپتیک ماست پروبیوتیک، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، سال شانزدهم، شماره ۱، صفحه ۱۶۵-۱۷۳.

12. Akalin, A.S., Tokoshoghlu, O., Gonch, S. 2007. Occurance of conjugated linolric acid in probiotic yoghurts supplemented with fructooligosaccharids. Int Dairy J. 227: 1089-1095.
13. Aryana, K.J., McGrew, P. 2007. Quality and various Prebiotics. Food Sci Technol. 40: 1808-1814.
14. Conto, F., Del Nobile, M.A., Faccia, M., Zambrini, A.V., Conte, A. 2017. Advances in Dairy Products, John Wiley & Sons Ltd.
15. Dave, R.I., Shah, N.P. 1997. Viability of yogurt and probiotic bacteria in yogurts made from commercial starter cultures. Int Dairy J. 7(1): 31-41.
16. Donkor, O., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasilgevic, T.,Shah, N.P. 2007. Survival and activity if selected probiotic organism in set – Type Yoghurt during cold storage. Int Dairy J. 17: 92-151.
17. Glibowski, P., Zielinska, E. 2015. Physicochemical and sensory properties of kefir containing inulin and oligofructose. Int Dairy J. 68: 602-607.
18. Golob, T., Micovic, E., BERTONCELY, J., Jamnik, M. 2004. Sensory acceptability of chocolate with inulin. Acta Agric Slov. 83(2): 221-231.
19. Ha, L.Y., Grimm, N.K., Pariza, M.W.1989. Newly Recognized Anticarcinogenic fatty Acid: Identification and quantification in Natural and Processed Cheeses. J Agri Food Chem. 37: 75-81.
20. Heenan, C.M., Adams, M.C., Hosken, R.W., Fleet, G.H. 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a non-fermented frozen vegetarian dessert. Food Sci Technol. 37:461-466.
21. Hekmat, S., Reid, G. 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. Nutr Res. 26: 163-166.
22. Joung, J.Y., Lee, J.Y., Ha, Y.S., Shin, Y.K., Kim, S.H., Oh, N.S. 2016. Enhanced Microbial, Functional and Sensory Properties of Herbal Yogurt Fermented with Korean Traditional Plant Extracts. Korean J Food Sci An. 36(1): 90-99.
23. Kishino, S., Ogawa, J., Omura,Y., Matsumura, K., Shimizu, S. 2002. Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. JACOS 7(2):159-163.
24. Mazloomi, S., Shekarforoush, S., Ebrahimnejad, H., Sajedianfard, J. 2011. Effect of adding inulin on microbal and physic-chemical properties of Low fatProbioticyogurt. IJVR 12: 93-98.
25. Matijevic, B., Bozanic, R., Tratnik, L. 2009.The influence of lactulose on growth and survival of probiotic bacteria *Lactibacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in reconstituted sweet Whey. Mljekarstvo 59(1): 20-27.
26. Mattila-Sandholm, T., Saarela, M. 2003. Functional dairy products. CRC Press, New York, 1-400.
27. Mohebbi, M., Ghoddusi, H. B. 2008. Rheological and sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures. J Agri Sci Technol. 10: 147-155.
28. Oliveira, R.P.S., Florence, A.C.R.M., Silva, R.C., Perego, P., Converti, A., Gioielli, L.A. 2009. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acid profiles in nonfat symbiotic fermented milk. Int J Food Microbol. 128: 467-472.
29. Rahnama, F., Pourahmad, R., Piravi Vanak, Z. (2013) Production of probiotic soy yogurt containing conjugated linoleic acid. Ann Biol Res. 4(6): 182-187.

30. Seydim, Z.B., Seyddim, A.C., Greene, A.K., Bodine, AB. 2000. Determinati of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. J Food Comp Anal. 13: 35-43.
31. Sieber, R., Collomb, M., Aeschlimann, A., Jelen, P., Eyer H. 2004. Impact of microbial cultures on conjugated linoleic acid in dairy products - a review. Int Dairy J. (14): 1–15.
32. Tabatabaei, F., Mortazavi, A. 2008. Influence of Lactulose on the survival of probiotic strains in Yoghurt. World Appl Sci J. 3(1): 88-90.
33. Tamime, A.Y. 2005. Probiotic dairy products. Blackwell Publisahing, Oxford.
34. Tungland, B.C. 2003. Fructooligosaccharids and other fructans: structures and occurrence, Production, regulatory aspects, food applications and nutritional health significance, oligosaccharides in food and agriculture symposium series, American Chemical Society, Washington, 135-152.
35. Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M., Shahidi, F. 2007. Studying microbial,physicochemical and sensory properties of directly concentration probiotic yogurt. Afr J Agric Res. 2 (8): 369-366.

Effect of oligofructose and type of microbial culture on conjugated linoleic acid content and viability of probiotic bacteria in probiotic yogurt

Broughani M[1], Pourahmad R[2*], Akbarian Moghari A[3]

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
3. Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Tehran University, Karaj, Iran.

***Corresponding author:** *rjpourahmad@yahoo.com, rezvanpourahmad@iauvaramin.ac.ir*

Received: 2 November 2017 Accepted: 1 January 2018

Abstract

The purpose of this study was to investigate the effect of oligofructose and type of microbial culture on conjugated linoleic acid (CLA) and viability of probiotic bacteria in probiotic yogurt. The amounts of 3 and 5 percent of oligofructose were used in probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* or *Bifidobacterium lactis*. (The control sample was considered without adding the prebiotic compound). The viability of probiotic bacteria, CLA content, pH, acidity and sensory properties of probiotic yogurt were investigated at intervals of 1, 11 and 21 days. During storage, the number of probiotics and pH of the samples decreased but acidity increased significantly ($P<0.05$). The amount of CLA increased significantly in the majority of samples during storage ($P<0.05$). However, the score of overall acceptance of the majority of the samples did not change significantly during storage. The highest population of probiotic bacteria was belonged to sample containing *Lactobacillus acidophilus* + 5% oligophroctase. After control 1 sample (sample containing *L. acidophilus*), sample containing *L. acidophilus* + 3% oligofructose had the highest concentration of CLA. After control 1 sample, sample containing *L. acidophilus* + 3% oligophroctase had the highest sensory score (overall acceptance) which also had a high population of probiotic bacteria (4.6×10^6 CFU/ml) at the end of the maintenance period. Therefore, it can be said that prebiotics have a positive effect on survival of probiotics and CLA content in probiotic yogurt so can improve health properties of probiotic products.

Keywords: probiotic yogurt, oligofructose, conjugated linoleic acid, microbial culture.