نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد نهم، شماره دوم، ۹۶
۳۳-۵۰
http://ejfpp.gau.ac.ir

بهینه‌یابی و ارزیابی ویژگی‌های بافتی و میکروبی ماست سین‌بیوتیک به روش سطح پاسخ

تهمینه نیکبخت کشکولی[۱]، حسین جوینده[۲*]، سعید تهموزی دیده‌بان[۳]

[۱]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، ایران
[۲]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، ایران
[۳]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲۴؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۷/۰۳

چکیده

سابقه و هدف: امروزه ماست به عنوان مهمترین فرآورده لبنی پروبیوتیک در سرتاسر دنیا تولید و به بازار عرضه می‌گردد. پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که درصورت مصرف در مقادیر کافی دارای اثرات مفید بر سلامت میزبان می‌باشند. همچنین، پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات کربوهیدراتی غیرقابل هضم برای انسان هستند که توانایی بهبود رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های پروبیوتیک (باکتری‌های روده‌ای) را دارند. ترکیب پری‌بیوتیک به همراه پروبیوتیک، سین‌بیوتیک نامیده می‌شود که اثرات سودمندتری بر سلامت میزبان می‌گذارد. هدف از این مطالعه ارزیابی برخی خصوصیات مهم فیزیکی و میکروبی ماست سین‌بیوتیک حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، اینولین و کتیرا می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نوع LA5 به عنوان باکتری پروبیوتیک استفاده گردید. جهت بهینه‌یابی فرایند تولید ماست سین‌بیوتیک، سه متغیر شامل غلظت اینولین (۲/۵-۰ درصد)، غلظت کتیرا (۰/۰۶-۰ درصد) و زمان نگهداری (۱۹-۱ روز) به عنوان متغیرهای مستقل در نظر گرفته شدند و تأثیر آن‌ها بر سفتی، آب‌اندازی، و شمارش پروبیوتیک‌ها بررسی گردید. روش سطح پاسخ بر اساس طرح باکس بنکن برای تعیین شرایط بهینه سازی متغیرهای فرآیند بر تولید ماست سین‌بیوتیک با هدف بیشینه کردن بافت و شمارش پروبیوتیک‌ها و کمینه نمودن آب‌اندازی مورد استفاده قرار گرفت.

یافته‌ها: آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که تمامی متغیرهای مستقل اثرات معنی‌داری ($p<0/05$) بر متغیرهای وابسته داشتند. ضریب تبیین کلی برای صفات سفتی، آب‌اندازی و شمارش پروبیوتیکی به‌ترتیب ۰/۹۸، ۰/۹۸ و ۰/۹۹ تعیین شدند. همچنین ضریب تبیین اصلاح شده و ضریب پراکندگی، توانایی و برازش مناسب مدل را نشان داد. شرایط بهینه جهت تولید ماست سین‌بیوتیک با حداکثر سفتی و شمارش پروبیوتیکی و حداقل آب‌اندازی با استفاده از ۲/۳۵ درصد اینولین و ۰/۰۴ درصد کتیرا در روز شانزدهم نگهداری تعیین گردید. با افزایش مقدار اینولین و زمان نگهداری، بافت ماست بهبود یافت درحالی‌که مقدار کتیرا اثر دوگانه‌ای داشت. با افزودن کتیرا تا میزان ۰/۰۳ درصد سفتی ماست افزایش یافت، اما افزودن مقدار بالاتر (۰/۰۶درصد) سبب کاهش کیفیت بافت محصول گردید. افزایش غلظت کتیرا و اینولین بر شمارش پروبیوتیکی محصول تأثیر مثبت داشت اما طی زمان نگهداری شمارش پروبیوتیکی کاهش یافت. مقدار هر یک از پاسخ‌ها در شرایط بهینه به‌ترتیب شامل سفتی ۱۷۷/۶۳ گرم، آب‌اندازی ۲۴/۵۶ درصد، شمارش پروبیوتیک‌ها ۷/۹۸ لگاریتم واحد کلنی در گرم و مطلوبیت ۰/۷۶ تعیین گردید.

[*]مسئول مکاتبه: hosjooy@ramin.ac.ir

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که می‌توان از ترکیب کتیرا و اینولین به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیکی در تولید محصولات لبنی تخمیری استفاده کرد. همچنین ماست پروبیوتیک تولید شده از تعداد باکتری‌های زنده بالایی در طی مدت ۱۹ روز نگهداری برخوردار بود به‌طوری‌که شمارش سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* همواره بیش از ۶/۹۰ لگاریتم واحد کلنی در گرم بود که مقدار قابل قبولی برای فراورده‌های تخمیری حاوی پروبیوتیک‌ها می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اینولین، روش سطح پاسخ، صمغ کتیرا، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، ماست سین‌بیوتیک

مقدمه

ماست از پرمصرف‌ترین فرآورده‌های تخمیری شیر است که به‌دلیل ارزش تغذیه‌ای بالا تأثیر مثبتی در سلامتی انسان و اهمیت ویژه‌ای در رژیم غذایی افراد دارد (۲۸). تمامی محصولات لبنی تخمیری شیر حاوی باکتری‌های لاکتیک اسید زنده می‌باشند مگر این‌که فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون بعد از تخمیر انجام گردد. همچنین اضافه کردن باکتری‌های پروبیوتیک به ماست باعث بهبود ویژگی‌های سلامتی و عملکردی ماست می‌گردد (۱۰). باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات تجاری لبنی به‌طور عمده از جنس *لاکتوباسیلوس* و *بیفیدوباکتریوم‌ها* می‌باشند (۵ و ۱۱). از جنبه عملی، فرآورده‌های پروبیوتیکی باید عمر مناسب داشته باشند، در زمان مصرف حاوی تعداد زیادی سلول‌های زنده بوده و غیر بیماری‌زا و غیر سمی نیز باشند. از جنبه تغذیه‌ای پروبیوتیک‌ها می‌توان به تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیره و بهبود تعادل میکروبی روده و در نتیجه مهار باکتری‌های پاتوژن و کاهش خطر ابتلا به سرطان روده بزرگ، بهبود سیستم ایمنی و کاهش سطح کلسترول خون اشاره کرد (۹ و ۲۸). تأثیر باکتری‌های پروبیوتیک بستگی به میزان افزوده شده و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در طول دوره نگهداری دارد. در واقع، لازمه بروز آثار مثبت پروبیوتیک‌ها، بقای آن‌ها تا رسیدن به محل فعالیت‌شان در بدن (روده بزرگ) می‌باشد. بنابراین باید روش‌هایی برای حفظ پروبیوتیک‌ها اتخاذ گردد. افزودن پری‌بیوتیک‌ها و همچنین ریزمغذی‌هایی نظیر پپتیدها و اسیدهای آمینه که زمان تخمیر را کاهش داده و بقای پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهند ازجمله آن‌هاست (۳۱). پری‌بیوتیک‌ها، ترکیبات کربوهیدراتی غیرقابل هضم برای انسان هستند. این مواد، در یک گروه کلی طبقه‌بندی می‌شوند و لزوماً شباهت ساختاری با یکدیگر ندارند. پری‌بیوتیک‌ها توانایی بهبود رشد یا فعالیت یک یا تعداد محدودی از باکتری‌های پروبیوتیک (باکتری‌های روده) که اثرات مفیدی در میزبان به جای می‌گذارند را دارند. در میان پری‌بیوتیک‌ها، فروکتوالیگوساکارید و اینولین از ترکیبات پری‌بیوتیک مهمی‌هستند که به منظور بهبود باکتری‌های زیست‌پذیر در طول نگهداری مواد غذایی تخمیری کاربرد دارند (۳ و ۴). محصول حاوی پروبیوتیک و پری‌بیوتیک، سین‌بیوتیک نامیده می‌شود (۴). علت استفاده گسترده از اینولین در صنایع غذایی براساس خواص تکنولوژیکی و تغذیه‌ای آن می‌باشد. نه تنها خاصیت فیبر رژیمی اینولین بلکه خاصیت پری‌بیوتیکی آن نیز مهم می‌باشد (۲۹). اینولین کربوهیدرات ساخته شده از دی-فروکتوز با درجه پلیمریزاسیون ۲ تا ۶۰ می‌باشد که توسط پیوندهای (۱→۲) بتا به یکدیگر متصل شده‌اند و معمولاً یک مولکول گلوکز به یک انتهای زنجیره فروکتوزی با پیوند (۴→۱)آلفا متصل و تشکیل یک مولکول ساکارز را می‌دهد. نتایج پژوهش‌های محققان نشان داده‌است که اینولین باعث افزایش تعداد سلول‌های پروبیوتیکی در محصولات لبنی تخمیری می‌شود (۶ و ۱۰). صمغ کتیرا از گیاه گون ترشح می‌شود. در ساختمان کتیرا گرانول‌های پروتئینی و پکتات به مقدار زیاد یافت می‌شود (۳۳) و با تجزیه آن موادی مانند دی-گالاکتوز، ال-فروکتوز، دی-زایلوز، ال-آرابینوز، فروکتوز، گالاکتورونیک اسید و گلوکورونیک اسید حاصل می‌شود (۱۲). صمغ کتیرا را می‌توان به دو جزء محلول و نامحلول تقسیم کرد. جزء نامحلول آن در آب حالت متورم پیدا کرده و به صورت ژل در می‌آید. این قسمت حدود ۶۰ تا ۷۰ درصد وزن کتیرا را تشکیل داده و باسورین خوانده می‌شود و در ساختار آن گالاکتورونیک اسید وجود دارد که به گالاکتوز و زایلوز اتصال دارد. خاصیت قوام‌دهندگی،

افزایش ویسکوزیته و ایجاد ژل به وسیله کتیرا به میزان ماده باسورین در ساختمان آن بستگی دارد. جزء محلول کتیرا که حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد وزن آن را تشکیل می‌دهد، تراگاکانتین نامیده می‌شود و در ساختار آن گلوکورونیک اسید و آرابینوز وجود دارد (۱۲). در نوشیدنی‌های لبنی اسیدی، کمپلکس‌های پروتئین-پلی‌ساکارید بین کازئین یا بار مثبت و هیدروکلوئیدهای آنیونی نظیر پکتین، کتیرا و کربوکسی متیل سلولز ایجاد می‌شود (۷).

تاکنون تحقیقات مختلفی در زمینه بررسی تأثیر اینولین بر رشد باکتری‌های پروبیوتیک گزارش شده است اما پژوهشی در زمینه استفاده از کتیرا به عنوان پری‌بیوتیک در تولید ماست سین‌بیوتیک صورت نپذیرفته است. الیورا و همکاران (۱۹)، گوستاو و همکاران (۲) و دانکور و همکاران (۶) افزایش بقای پروبیوتیک‌ها را در حضور اینولین به عنوان ماده پری‌بیوتیک گزارش نموده‌اند. عزیزنیا و همکاران (۲) تأثیر صمغ کتیرا و کنسانتره آب پنیر را به عنوان جایگزین چربی بر ماست بدون چربی مورد بررسی قرار داده و گزارش نمودند که افزودن صمغ کتیرا تا حد مشخصی در ماست کم‌چرب سبب فشردگی بیشتر ساختار و افزایش سفتی بافت می‌گردد و افزایش بیش از حد غلظت کتیرا باعث ایجاد محصولی با سفتی کمتر و آب‌اندازی بیشتر می‌گردد. همچنین رحیمی و همکاران (۲۳) گزارش کردند که کتیرا تا میزان ۰/۷۵ گرم بر لیتر باعث بهبود بافت و خواص رئولوژیکی و همچنین ایجاد ساختار فشرده در پنیر می‌شود.

روش سطح پاسخ[1] مجموعه‌ای از تکنیک‌های ریاضی و تجربی مفید برای سازمان‌دهی مدل‌ها و بهینه‌سازی فرآیندها حتی در حضور واکنش‌های پیچیده می‌باشد (۱۶). این روش نه تنها رابطه بین پارامترها را تعیین می‌کند بلکه تعداد آزمایشات تجربی، زمان و هزینه‌های کلی را کاهش می‌دهد (۱۸). هدف اصلی از این مطالعه تولید ماست سین‌بیوتیک حاوی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* LA5 و استفاده از پری‌بیوتیک‌های اینولین و کتیرا و بهینه‌یابی شرایط تولید با روش سطح پاسخ می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد: شیر خام با ۳/۲ درصد چربی از ایستگاه دامپروی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان تهیه گردید. سویه‌های میکروبی مورد استفاده شامل باکتری‌های آغازگر ماست و کشت تک سویه پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نوع LA5 هر دو به صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS از نمایندگی شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه گردید. محیط کشت MRS حاوی نمک‌های صفراوی از نمایندگی شرکت مرک آلمان خریداری شد. ترکیبات پری‌بیوتیک شامل اینولین (Beneo TM، بلژیک) و کتیرا (با گونه *آستراگالوس گوسیپینوس*[2] تهیه شده از گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه شهید بهشتی) بودند.

تهیه هیدروکلوئید کتیرا: کتیرا با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی کاملاً خرد شد و به پودر تبدیل گردید. سپس پودر از صافی با مش ۳۰ گذرانده شد تا پودر نرم و یکنواختی با ذرات ریز حاصل شود. پس از انجام آزمون‌های مقدماتی و تولید نمونه‌های آزمایشی مشخص گردید که مخلوط کردن کتیرا با شیر و نگهداری آن به مدت ۲۴ ساعت در یخچال از لحاظ انحلال پذیری و ایجاد بافت نهائی نتیجه بهتری خواهد داشت. پودر کتیرا با نسبت ۱ به ۱۰۰ با شیر

1. Response Surface Methodology

2. *Astragulasgossipinus*

پاستوریزه (۷۴ درجه سانتی‌گراد بـه مـدت ۱۵ ثانیـه) تولید شده در کارخانه پگاه شوش خوزستان مخلـوط شده و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار داده شد و به عنوان محلول هیدروکلوئیدی در طول تحقیق مورد استفاده قرار گرفت (۳۲). سپس قبل از فرآیند حرارتی شیر، مقادیری از این محلول به شـیر افـزوده شـد تـا غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۶ کتیرا در محلول نهائی بـه‌دسـت آید و در نهایت مخلوط نهائی تحت تیمار حرارتی بـه مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. قابل ذکر است که درصـد کتیرای مورد استفاده جهت تهیه نمونـه‌هـا بـر اسـاس نتایج آزمون‌های مقدماتی تعیین گردید.

تهیه نمونه‌های ماسـت سـین‌بیوتیـک: بـرای تولیـد نمونه‌ها، شیر تا دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد و سپس ترکیبات پری‌بیوتیک با غلظـت‌هـای مشـخص اضافه گردید. علت افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک قبـل از فرایند حرارتی شیر هیدراتـه‌شـدن بهتـر اینـولین و کتیرا بود (۲ و ۱۰). در ادامه، شیر به مـدت ۱۵ دقیقـه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد (۳۰). پس از کاهش دمای شیر به دمای تلقیح ۴۵-۴۴ درجه سانتی‌گراد، مایه کشت آغازگر ماست و پروبیوتیک هر یک به مقدار ۲ درصد به‌طور هم‌زمان بـه شـیر اضـافه گردید. جهت تهیه مایه کشت‌های مذکور، استارترهای ماست و باکتری پروبیوتیک هر یک به مقدار ۰/۱ گرم در لیتر به شیر استریل اضـافه گردیـد و سـپس عمـل تخمیر در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۴ ساعت برای مایه کشت ماست و ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ ساعت جهت تهیه مایه کشت پروبیوتیـک صورت پذیرفت. گرمخانه‌گذاری نمونه‌های ماست در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن pH نمونه‌هـا بـه ۴/۵ ادامه یافت و سپس نمونه‌ها از گرمخانه خـارج و بـه سـردخانه بـا دمـای ۵ درجـه سـانتی‌گـراد منتقـل گردیدند. کلیه آزمون‌ها پس از یک روز نگهـداری در این دما صورت پذیرفتند.

فاکتورهای مورد آزمون

سفتی: برای این منظور از دستگاه بافت‌سنج[1] (Micro stable system، ساخت انگلسـتان)، اسـتفاده شـد و نیروی نفوذ پروب استوانه‌ای تا عمق ۱۰ میلی‌متـر بـا سرعت ۱ میلی‌متر بر ثانیه ثبت گردیـد. پـروب مـورد استفاده دارای قطر ۳۶ میلی‌متر و ارتفاع ۳/۵ میلی‌متـر بود و سرعت پروب قبل و هنگام تست ۱ میلی‌متر بر ثانیه و سرعت آن پس از تست ۱۰ میلی‌متـر بـر ثانیـه تعیین شد (۱۳).

سنجش آب‌اندازی یا جدا شـدن سـرم: میـزان آب-اندازی نمونه‌ها بـا اسـتفاده از سـانتریفیوژ یخچـال‌دار (مدل ۵۸۰۴R، ساخت آلمان) و مطابق روش فارنس-ورت و همکاران (۲۰۰۶) تعیین گردیـد (۸). بـه ایـن ترتیب که میزان ۳۰ گـرم از نمونـه درون فـالکون ۵۰ میلی‌لیتـری تـوزین شـد و سـپس در دمـای ۴ درجـه سانتی‌گراد با دور ۲۵۰۰ دور در دقیقـه بـه مـدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع بالایی جمع آوری شـده و توزین گردید.

شـمارش میکروبـی: بـرای شـمارش بـاکتری‌هـای پروبیوتیک در نمونه‌های ماست از محیط MRS آگـار حاوی نمک‌های صفراوی به روش پورپلیـت اسـتفاده گردید. برای این منظـور ابتـدا رقـت‌هـای مناسـبی از نمونه در محلول آب نمک استریل تهیه شد و بعـد از انجام کشت پلیت‌ها به گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گـراد درجه منتقل شدند. شمارش کلنی بعـد از ۷۲ سـاعت گرمخانه‌گذاری با اسـتفاده از جـار بـی‌هـوازی انجـام گردید و تعداد آن‌ها بر حسب لگاریتم واحد کلنی در گرم (log cfu/g) گزارش گردید (۱۴).

طرح آزمایشی و آنالیز آماری

بررسی آثار اصـلی و متقابـل فاکتورهـای غلظـت کتیرا، غلظـت اینـولین و زمـان نگهـداری بـر سـفتی،

1. Texture analyzer (TA.XT.PLUS)

آب‌اندازی و شمارش پروبیوتیکی از اهداف اصلی در این پژوهش بودند. برای این منظور از روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن با سه متغیر غلظت اینولین (X_1)، غلظت کتیرا (X_2) و زمان نگهداری (X_3) در ۳ سطح و ۵ تکرار در نقطه مرکزی استفاده گردید (جدول ۱).

با توجه به طرح مورد استفاده و تعداد متغیرها و سطوح آن‌ها، نقشه آزمایشات شامل ۱۷ آزمایش توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۷ ارائه گردید (جدول ۲). در این طرح ابتدا بر اساس آزمایش‌های مقدماتی، سطوح فاکتورهای غلظت اینولین ۲/۵-۰ درصد، غلظت کتیرا ۰/۰۶-۰ درصد و زمان نگهداری ۱۹-۱ روز انتخاب گردیدند.

جدول ۱- متغیرهای مستقل و سطوح مورد استفاده آن‌ها در طراحی سطح پاسخ

Table 1. Independent variables and levels used in response surface design

کد و سطوح-Codes and levels			نماد ریاضی	متغیرهای مستقل
1	0	-1	Mathematical symbol	Independent variables
2.5	1.25	0	X_1	اینولین (درصد) Inulin
0.06	0.03	0	X_2	کتیرا (درصد) Tragacanth gum
19	10	1	X_3	زمان نگهداری (روز) Storage time

جدول ۲- طرح دیزاین اکسپرت به‌کار رفته جهت تولید ماست سین‌بیوتیک

Table 2. Box-Behnken design used to produce synbiotic yogurt

زمان نگهداری (روز)	اینولین (درصد)	کتیرا (درصد)	آزمون
Storage time (Day)	Inulin (%)	Tragacanth gum (%)	Test
1	2.5	0.03	1
19	1.25	0.06	2
10	1.25	0.03	3
19	2.5	0.03	4
10	1.25	0.03	5
10	2.5	0.06	6
10	1.25	0.03	7
10	1.25	0.03	8
10	1.25	0.03	9
19	1.25	0	10
10	2.5	0	11
10	0	0	12
19	1.25	0.06	13
1	1.25	0	14
19	0	0.03	15
1	0	0.03	16
10	0	0.06	17

در روش سطح پاسخ، برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و اثرات متقابل احتمالی بین فاکتورها را بر هر ویژگی مورد مطالعه جداگانه بررسی می‌کند. مدل مورد استفاده در این تحقیق رابطه درجه دوم می‌باشد که به صورت زیر نمایش داده می‌شود.

رابطه ۱

$$Y= \beta_0+ \sum_{j=1}^{k}\beta_j x_j+\sum\sum_{i<j}\beta_{ij}X_j^2+ \sum_{j=1}^{k}\beta_{jj} X_j^2$$

در این معادله Y ویژگی مورد مطالعه، β. ثابت مدل، β_j ضریب خطی، X_i و X_j متغیرهای مستقل در شکل کد شده، β_{ij} اثر متقابل متغیرها و β_{jj} ضریب درجه دوم متغیرهای مستقل می‌باشد. نقشه آزمایشات با استفاده از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه ۷ طرح‌ریزی شد و بررسی‌های آماری و مدل‌سازی ریاضی نیز ترسیم شده و شکل‌های سه بعدی جهت بررسی روند تغییرات به کمک این نرم‌افزار انجام گرفت.

نتایج و بحث

بررسی صحت مدل پیشنهادی توسط مدل جهت

سفتی: مهمترین بخش در جداول تجزیه واریانس، پارامتری به نام آزمون عدم برازش[1] می‌باشد که در واقع نشان دهنده مناسب بودن یا نامناسب بودن مدل می‌باشد. آزمون عدم برازش برای مدل سطح پاسخ، در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد. این بدین معنی است که مدل برازش مناسبی را برای داده‌ها نشان می‌دهد. این فاکتور همیشه باید بی‌معنی باشد چرا که معنی‌دار بودن عدم برازش نشان دهنده آن است که مدل در مورد داده‌های تجربی که در معادله رگرسیونی آمده‌اند مناسب نمی‌باشد (۲۴). از طرف دیگر R^2 و R^2 برازش یا تنظیم شده[2] و ضریب پراکندگی (CV[3]) به‌منظور بررسی شایستگی مدل محاسبه شدند. ضریب تبیین کلی[4] یا R^2 به عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه تناسب برازش می‌باشد، بنابراین هر چه R^2 به یک نزدیک‌تر باشد قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد (۲۵). مقدار بالای R^2 همیشه حاکی از آن نیست که مدل رگرسیون مناسب است چرا که اضافه کردن یک متغیر به مدل بدون در نظر گرفتن این‌که آیا متغیر افزوده شده از نظر آماری معنی‌دار است یا نه، همیشه R^2 را افزایش می‌دهد. بنابراین بهتر است که از R^2 تنظیم شده برای ارزیابی مناسب بودن مدل استفاده کرد (۲۴). در جدول ۳ ملاحظه می‌شود که مقادیر R^2 و R^2 تنظیم شده برای سفتی به ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۶ بوده و نشان می‌دهد که مدل در برگیرنده جملات غیرمعنی‌دار نمی‌باشد. CV اشاره به پراکندگی نسبی نقاط تجربی از پیش‌بینی‌های مدل دارد و مقدار کمتر از ۱۰ نشان دهنده دقت بالا در آزمایش می‌باشد (۲۵). با توجه به نتایج ارایه شده در جدول ۳، مقادیر CV برای سفتی، آب‌اندازی و شمارش پروبیوتیکی ماست سین‌بیوتیک به‌ترتیب ۳/۶۴، ۲/۸۸ و ۱/۱۸ بدست آمد که نتایج قابل قبولی است.

بررسی تأثیر متغیرهای مورد مطالعه بر سفتی: ماست محصول لبنی تخمیری با ویژگی‌های بافتی و رئولوژیکی خاص می‌باشد. درواقع از تجمع میسل‌های کازئین با پروتئین‌های دناتوره شده آب‌پنیر از طریق باندهای الکترواستاتیک و هیدروفوبیک، شبکه سه بعدی پروتئین‌ها گسترش پیدا کرده و بافت ماست شکل می‌گیرد (۲۱). همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که برای عامل سفتی معنی‌دار شدند شامل عبارات خطی و اثرات متقابل غلظت اینولین، غلظت کتیرا و زمان نگهداری و عبارات درجه دوم غلظت کتیرا و زمان نگهداری بودند. اما پارامتر درجه‌ی دوم غلظت اینولین معنی‌دار نبوده در نتیجه از مدل حذف شد. در رابطه با نحوه‌ی تأثیرگذاری کتیرا بر سفتی نمونه‌های سین‌بیوتیک باید اشاره کرد که تأثیرهای خطی، درجه دوم و بر هم‌کنش غلظت کتیرا با اینولین و زمان نگهداری معنی‌دار بودند (جدول ۳). بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که در شکل رویه پاسخ آن‌ها انحنا (غیرخطی) وجود دارد و همانطور که مشاهده

1. Lack of fit
2. Adjusted-R2
3. Coefficient of variation
4. Determination coefficient

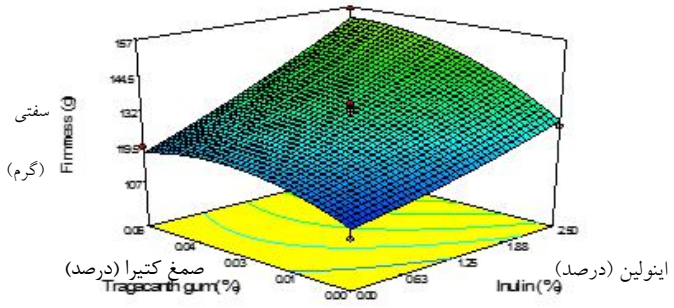
می‌شود اثرات درجه دومی متغیر مستقل اینولین در مدل معنی‌دار نبوده، لذا در مدل انحنا مشاهده نمی‌شود. اثر متقابل غلظت اینولین و کتیرا بر سفتی ماست سین‌بیوتیک با ثابت در نظر گرفتن زمان نگهداری در نقطه مرکزی (۱۰ روز) در شکل ۱ نشان داده شده است. بر این اساس افزایش غلظت کتیرا تا میزان مشخصی (۰/۰۳٪) باعث بهبود بافت نسبت به نمونه ماست پروبیوتیک شد. درحالی‌که در بالاتر از این مقدار اثر منفی روی بافت نمونه‌ها داشت. همچنین اینولین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش سفتی بافت نمونه‌ها گردید. در شکل‌های ۲ و ۳ اثر متقابل میزان اینولین و زمان نگهداری در غلظت ثابت از کتیرا در نقطه مرکزی (۰/۰۳٪) و اثر متقابل میزان کتیرا و زمان نگهداری در غلظت ثابت از اینولین در نقطه مرکزی (۱/۲۵ درصد) نشان داده شده است.

جدول ۳- نتایج آنالیز واریانس مدل برازش یافته بر داده‌های پاسخ در نمونه ماست تولید شده

Table 3. ANOVA analysis results of the fitted model on the response data in the prepared yogurt

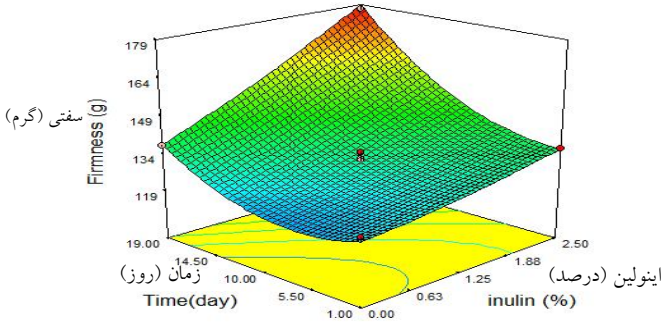
شمارش پروبیوتیک‌ها Probiotics count			آب‌اندازی Syneresis			سفتی Firmness			درجه‌آزادی Degrees of freedom	منبع Source
اندیس P	مجموع مربعات	ضرایب	اندیس P	مجموع مربعات	ضرایب	اندیس P	مجموع مربعات	ضرایب		
<0.0001	5	7.87	<0.0001	441.88	24.19	<0.0001	4433.03	132.75	9	مدل Model
										اثر خطی Linear effect
<0.0001	1.52	0.39	0.0003	46.42	-2.41	<0.0001	1420.68	13.33	1	X_1
<0.0001	2.37	041	<0.0001	235.88	5.43	0.0006	454.95	7.54	1	X_2
<0.0001	0.011	-0.49	0.018	9.75	-1.10	<0.0001	1626.10	41.26	1	X_3
										اثر متقابل Interaction effect
0.3030 ns	0.001	0.052	0.1412 ns	2.84	-0.84	0.0437	76.77	4.38	1	X_1X_2
0.0029	0.001	-0.21	0.5610 ns	0.38	-0.31	0.0054	199.93	7.07	1	X_1X_3
0.1888 ns	0.002	-0.069	0.4761 ns	0.59	0.38	0.0453	67.07	4.09	1	X_2X_3
										اثر درجه دوم Quadratic effect
0.0194	0.081	0.14	0.1040 ns	3.60	0.92	0.4208 ns	9.30	1.49	1	X_1^2
0.0057	0.14	-0.18	<0.0001	124.49	5.44	<0.0001	179.16	-6.52	1	X_2^2
0.0007	0.30	0.27	0.0166	10.12	1.55	0.0071	423.81	10.03	1	X_3^2
-	0.062	-	-	7.23	-	-	89.05	-	7	باقیمانده Residual
0.1684 ns	0.043	-	0.1552 ns	5.03	-	0.0620 ns	72.30	-	3	عدم برازش Lack of fit
-	0.020	-	-	2.20	-	-	16.75	-	4	خطای خالص Pure error
-	5.21	-	-	449.11	-	-	4522.08	-	16	تصحیح کلی Total correction
-	-	0.988	-	-	0.989	-	-	0.98	-	R^2
-	-	0.972	-	-	0.976	-	-	0.96	-	R^2 برازش/تنظیم شده Adjusted R^2
-	-	1.18	-	-	2.88	-	-	3.64	-	CV
	-	7.89		-	27.91		-	135.10	-	میانگین Mean
	-	0.47		-	83.86		-	1183	-	PRESS

ns = عدم معنی‌داری



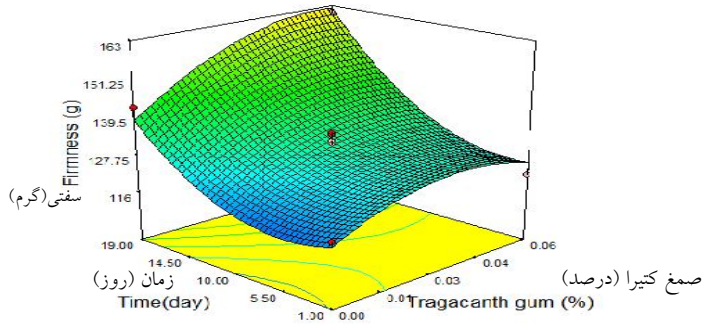
شکل ۱- نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت اینولین و کتیرا بر سفتی ماست سین‌بیوتیک

Figure 1. Plot of simultaneous effect of inulin and tragacanth gum concentration on the firmness of synbiotic yogurt



شکل ۲- نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت اینولین و زمان نگهداری بر سفتی ماست سین‌بیوتیک

Figure 2. Plot of simultaneous effect of inulin concentration and storage time on the firmness of synbiotic yogurt



شکل ۳- نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت کتیرا و زمان نگهداری بر سفتی ماست سین‌بیوتیک

Figure 3. Plot of simultaneous effect of tragacanth gum concentration and storage time on firmness of synbiotic yogurt

همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش میزان اینولین سفتی نمونه‌ها افزایش پیدا می‌کند و این روند افزایشی، طی دوره نگهداری نمونه‌ها بیشتر می‌شود. کتیرا نیز تا حد مشخصی باعث بهبود بافت می‌شود و سپس بر سفتی نمونه‌ها تأثیر منفی می‌گذارد. زمان نگهداری باعث بهبود بافت در نمونه‌های تیمار شده با کتیرا می‌شود. مطالعات بسیاری نشان داده است که همراه کردن اینولین با سایر ترکیبات پری‌بیوتیک نتیجه بهتری خواهد داد (۱). همچنین گزارش شده است که سفتی بافت شیر تخمیر شده در حضور اینولین

افزایش می‌یابد (۱۵). در مقابل پاسفل و همکاران (۲۱) گزارش کردند که در نمونه‌های ماست حاوی اینولین به‌دلیل قرار گرفتن مولکول‌های اینولین در میان میسل‌های کازئین و در نتیجه ایجاد تداخل در تشکیل شبکه سه بعدی پروتئین، ساختار میکروسکوپی درشت‌تری ایجاد می‌شود و این باعث کاهش میزان سفتی بافت می‌شود. همچنین نتایج این تحقیق با نتایج عزیزنیا و همکاران (۲۰۰۷) که گزارش کردند افزودن صمغ کتیرا تا حد مشخصی در ماست کم‌چرب سبب فشردگی بیشتر ساختار شده و در نتیجه می‌تواند سفتی بافت را افزایش دهد مطابقت داشت (۲). این افراد بیان کردند افزایش بیش از حد غلظت کتیرا باعث ایجاد محصولی با سفتی کمتر و آب‌اندازی بیشتر می‌گردد. همچنین رحیمی و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کتیرا تا میزان ۰/۷۵ گرم بر لیتر باعث بهبود بافت و خواص رئولوژیکی و همچنین ایجاد ساختار فشرده در پنیر می‌شود (۲۳).

با استفاده از تجزیه و تحلیل رگرسیون چند گانه در داده‌های آزمایش، متغیر پاسخ و متغیر آزمون توسط معادله چند جمله‌ای درجه دوم زیر به هم مرتبط شدند (رابطه ۲).

رابطه ۲

$$Y(\text{سفتی}) = ۱۳۲/۷۵ + ۱۳/۳۳X_۱ + ۷/۵۴X_۲ + ۴۱/۲۶X_۳ + ۴/۳۸X_۱X_۲ + ۷/۰۷X_۱X_۳ + ۴/۰۹X_۲X_۳ - ۶/۵۲X_۲^۲ + ۱۰/۰۳X_۳^۲$$

بررسی صحت مدل پیشنهادی توسط مدل جهت آب‌اندازی: ضریب تبیین کلی $R^۲$=۰/۹۸ نشان می‌دهد که مدل رگرسیونی تأثیر متغیرهای مستقل را به خوبی توصیف می‌کند و می‌تواند تغیرات کلی را درون محدوده مقادیر مورد مطالعه توضیح دهد. همچنین آزمون عدم برازش در مدل معنی‌دار نبود و نشان داد که مدل از تناسب خوبی بر اساس داده‌های به‌دست آمده برخوردار است. مقدار بالای $R^۲$ تنظیم شده (۰/۹۷) نیز بیانگر قدرت بالای مدل درجه دوم در پیش‌بینی بود. همچنین، ضریب تغییرات برابر با ۲/۸۸ که برازش مناسب مدل را نشان داده‌اند. با معنی‌دار نبودن آزمون عدم برازش می‌توان دریافت، مدل به خوبی می‌تواند بر داده‌های مورد بررسی برازش شود، بنابراین مدل به خوبی روند داده‌ها را نشان می‌دهد.

بررسی تأثیر متغیرهای مورد مطالعه بر آب‌اندازی: همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که برای آب‌اندازی معنی‌دار شدند شامل، میزان کتیرا، میزان اینولین، زمان نگهداری و عبارت‌های درجه دوم میزان کتیرا و زمان نگهداری بودند. عبارت‌های مربوط به اثرات متقابل معنی‌دار نبودند و از مدل حذف شدند. به عبارت دیگر هیچ گونه اثر متقابلی میان متغیرهای مستقل دیده نشد. نتایج حاصل از مجموع مربعات مدل نشان داد که تغییرات آب‌اندازی نمونه‌های سین‌بیوتیک بیشتر تحت تأثیر میزان کتیرا قرار می‌گیرد. همچنین با توجه به معنی‌دار بودن اثر متغیرهای مستقل در ماست سین‌بیوتیک می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که تغییرات آب‌اندازی نسبت به غلظت کتیرا، غلظت اینولین و زمان نگهداری حساسیت نشان می‌دهد.

کتیرا نیز تا غلظت مشخصی دارای تأثیر مثبت بود. با افزایش غلظت صمغ کتیرا تا حدود ۰/۰۳ درصد میزان آب‌اندازی روند نزولی داشت که به علت ایجاد شبکه ژلی متراکم‌تر، همچنین حضور هیدروکلوئید در نمونه و خاصیت جذب آب آن می‌باشد. اما افزودن صمغ در غلظت‌های بالاتر باعث افزایش آب‌اندازی شد. این تفاوت را می‌توان به وسیله اختلاف در ریز ساختارهای شبکه پروتئینی توضیح داد چرا که ساختارهای باز با شبکه درشت‌تر دارای آب‌اندازی بیشتری نسبت به ساختارهای ریز می‌باشد (۲۲). نمونه‌های ماست حاوی غلظت ۰/۰۳ درصد کتیرا دارای بافت متراکمی بودند که می‌تواند به علت تجمع

کازئین با صمغ باشد، اما با افزایش غلظت صمغ دانسیته ماتریکس ماست کاهش پیدا کرده و به همین دلیل حلقه و فضای بزرگتر در شبکه ماست ایجاد می‌شود (۲۶). به طور کلی هیدروکلوئیدهای آنیونی دارای گروه‌های کربوکسیل و یا سولفات می‌باشند (۲۶). صمغ کتیرا از جمله پلی‌ساکاریدهای آنیونی بوده که دارای گروه کربوکسیلیک می‌باشد(۳۱). پلی‌ساکاریدهای آنیونی که می‌توانند با بار مثبت میسل‌های کازئینی واکنش دهند به عنوان پلی‌ساکاریدهای جاذب عمل می‌کنند (۷). با کاهش pH در طول اسیدی شدن و در نتیجه حل شدن فسفات کلسیم، این پلی‌ساکاریدها می‌توانند به میسل‌های کازئینی متصل شوند و در نتیجه منجر به افزایش حساسیت کازئین به نوآرایی گسترده و تشکیل منافذ بزرگ‌تر و ساختار درشت گردد. بر این اساس برخی محققین گزارش نموده‌اند که استفاده از صمغ کتیرا سبب بهبود بافت و کاهش سینرسیس در ماست کم‌چرب نمی‌گردد (۳۱). نتایج بدست آمده با نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های عزیزنیا و همکاران (۲) مطابقت داشت. در پژوهشی دیگر، آقاجانی و همکاران (۲۰۱۱) اثر ترکیبات پری‌بیوتیک لاکتولوز، اینولین و الیگوفروکتوز بر ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* را مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که نمونه ماست محتوی لاکتولوز-اینولین، کمترین درصد آب‌اندازی را در پایان دوره نگهداری دارد (۱).

رابطه (۳) معادله ریاضی درجه دوم بین متغیرهای ورودی و آب‌اندازی در ماست سین‌بیوتیک را نشان می‌دهد. در جدول ۳ نیز عبارت‌های اثر متقابل و عبارت درجه دوم میزان اینولین معنی‌دار نبودند و از مدل حذف شدند و رابطه نهایی زیر به دست آمد: رابطه ۳

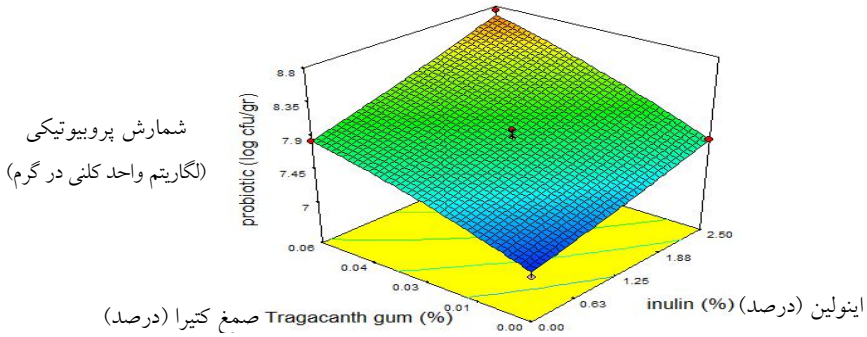
$$Y(\text{آب‌اندازی}) = ۲۴/۱۹ - ۲/۴۱X_1 + ۵/۴۳ X - ۱/۱ {}_۲X_۳ + ۵/۴۴X_۲^۲ + ۱/۵۵ X_۳^۲$$

بررسی صحت مدل پیشنهادی توسط مدل جهت شمارش جمعیت پروبیوتیک‌ها: با توجه به جدول ۳، فاکتور عدم برازش برای مدل سطح پاسخ در سطح اطمینان ۰/۹۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشد و این بدین معنی است که مدل داده‌های رضایت‌بخشی را نشان می‌دهد. مقدار R^2 و R^2 تنظیم شده به‌ترتیب ۰/۹۸ و ۰/۹۷ می‌باشد که نشان می‌دهد این دو فاکتور اختلاف چندانی با یکدیگر ندارند و این موضوع به معنی آن است که شرایط غیر معنی‌دار در این مدل گنجانده نشده است. در واقع با مقادیر بالای R^2 شاهد برازش مناسب داده‌ها توسط مدل‌های انتخابی هستیم. CV مبین اندازه انحراف معیار به عنوان درصدی از میانگین می‌باشد و مقدار پایین‌تر CV تکرارپذیری[1] بهتری را نشان می‌دهد (۲۴). CV بزرگتر از ۱۰ به تغییرات بالا در میانگین اشاره دارد و این موضوع برای گسترش مدل، رضایت بخش نمی‌باشد (۲۵). در نتیجه، CV بسیار پایین (۱/۱۸) در ماست سین‌بیوتیک دلیل دیگری است که مدل‌ها برازش مناسبی بر داده‌ها داشتند.

بررسی تأثیر متغیرهای مورد مطالعه بر شمارش جمعیت پروبیوتیک‌ها: قابلیت زیستی و بقای پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در طی دوره نگهداری محصول در درجه اول اهمیت قرار دارد. گزارشات متعدد نشان می‌دهد، که حداقل جمعیت پروبیوتیک‌های زنده در زمان مصرف فرآورده پروبیوتیکی باید $۱۰^۶$ سلول در میلی‌لیتر یا گرم باشد (۲۷). همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، عبارت‌های مدل که برای شمارش پروبیوتیک‌ها معنی‌دار شدند شامل اثرات خطی متغیرهای مستقل،

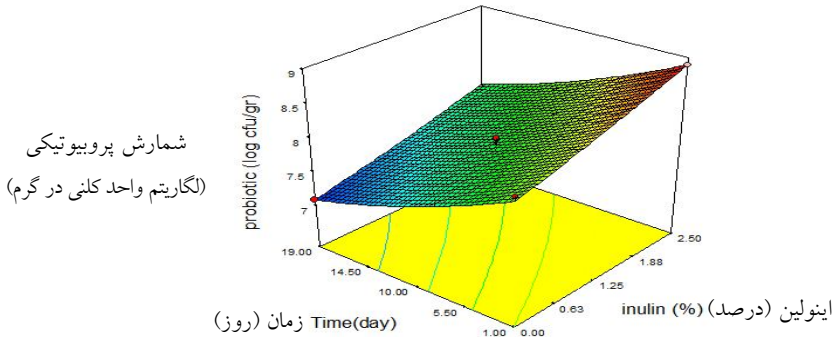
1.Reproducibility

اثر متقابل اینولین و زمان نگهداری (X_1X_3)، اثر درجه دوم کتیرا (X_2^2) و همچنین زمان نگهداری (X_3^2) در سطح اطمینان ۹۹ درصد و اثر درجه‌ی دوم اینولین (X_1^2) در سطح اطمینان ۹۵ درصد می‌باشد. تغییرات در شمارش باکتری‌های پروبیوتیکی در ماست سین‌بیوتیک در شکل‌های ۴ تا ۶ نشان داده شده است. حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی بدلیل تحریک رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها، از مهمترین دلایل بقا بیشتر باکتری‌هاست. به‌عنوان مثال گزارش شده که ترکیب لاکتولوز-اینولین موجب تحریک رشد و بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌شود (۱۷). به علت افزایش فعالیت پروتئولیتیکی، اسیدیته زیاد می‌شود و از طرفی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تمایل به افزایش بیشتر اسیدیته دارد. همچنین پری‌بیوتیک‌ها باعث کنترل فرآیند پس اسیدسازی پروبیوتیک‌ها می‌شوند و از اسیدیته‌ی بیش از حد جلوگیری می‌کنند (۲۰) و معمولاً ماندگاری پروبیوتیک‌ها در اسیدیته‌ی پایین بالاتر است. اینولین به عنوان پری‌بیوتیک باعث تحریک رشد LA5 می‌شود و کاهش رشد LA5 در طول زمان در نتیجه تجمع اسیدهای آلی ناشی از رشد، تخمیر و کاهش میزان مواد مغذی نیازمند برای رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (۶). مطابق با پژوهش حاضر الیورا و همکاران (۲۰۱۲)، گوستاو و همکاران (۲۰۱۱) و دانکور و همکاران (۲۰۰۷) افزایش بقای پروبیوتیک‌ها به واسطه‌ی حضور اینولین به‌عنوان پری‌بیوتیک را گزارش کردند (۱۹، ۱۰ و ۶)، اما تاکنون گزارشی مبنی بر افزایش رشد باکتری‌های پروبیوتیک در حضور کتیرا گزارش نشده است. شکل ۴ نشان داد که در انتهای دوره نگهداری در نسبت‌های ۱/۲۵ درصد اینولین و ۰/۰۶ درصد کتیرا در ماست سین‌بیوتیک میزان رشد LA5 در سطح بالایی حفظ شد. همچنین شکل‌های ۵ و ۶ نشان دهنده تأثیر منفی گذشت زمان بر شمارش پروبیوتیک‌ها می‌باشد. در واقع، همانطور که مشاهده می‌شود اگر چه افزایش در میزان کتیرا و اینولین باعث افزایش در شمارش پروبیوتیک‌ها می‌شود اما با گذشت زمان جمعیت پروبیوتیک‌ها کاهش پیدا می‌کند.



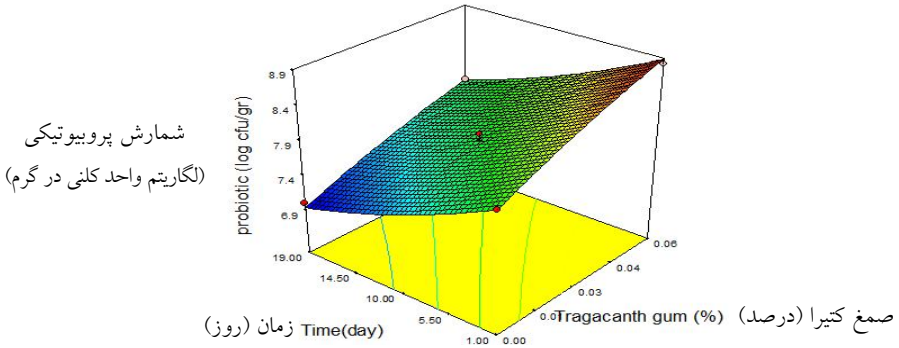
شکل ٤- نمایش سه بعدی تأثیر هم‌زمان غلظت کتیرا و اینولین روی شمارش پروبیوتیکی ماست سین‌بیوتیک

Figure 4. Plot of simultaneous effect of inulin and tragacanth gum concentration on probiotic counts of synbiotic yogurt



شکل ۵- نمایش سه بعدی اثرات متقابل زمان نگهداری و غلظت اینولینبر شمارش پروبیوتیکی ماست سین‌بیوتیک

Figure 5. Plot of intraction effects of inulin concentration and storage time on probiotic counts of synbiotic yogurt



شکل ٦- نمایش سه بعدی اثرات متقابل زمان نگهداری و غلظت کتیرا بر شمارش پروبیوتیکی ماست سین‌بیوتیک

Figure 6. Plot of intraction effects of tragacanth gum concentration and storage on probiotic counts of synbiotic yogurt

با توجه به آنالیز داده‌ها مدل نهایی بقای پروبیوتیک‌ها در ماست سین‌بیوتیک تعیین شد (رابطه ۴). در واقع پارامترهای مؤثر در مدل‌های به‌دست آمده با توجه به آنالیز واریانس انجام شده انتخاب و در مدل نهایی جای‌گذاری شدند.

رابطه ۴

$$Y(\text{شمارش پروبیوتیک}) = ۷/۸۷ + ۰/۹۳X_۱ + ۰/۴۱X - ۰/۴۹ {}_۲X_۳ - ۰/۲۱ X_۱X_۳ + ۰/۱۴X_۱^۲ - ۰/۱۸ X_۲^۲ + ۰/۲۷ X_۳^۲$$

بهینه‌سازی: به منظور بهینه سازی، پارامتر بافت در حداکثر، آب‌اندازی در حداقل و تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در حداکثر در نظر گرفته شد. همچنین متغیرهای مستقل شامل غلظت اینولین و کتیرا و مدت زمان نگهداری در محدوده مورد مطالعه تعریف شدند. نتیجه حاصل از مدل در جدول ۳ آورده شده است.

برای تعیین اعتبار نتایج حاصل از مدل، آزمایش‌ها تحت شرایط بهینه در آزمایشگاه با ۳ تکرار انجام شد که مقادیر آن در جدول ۴ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود نتایج آزمایشات تجربی با نتایج حاصل از مدل اختلاف معنی‌داری ندارند و در نتیجه اثبات می‌کند مدل ارائه شده توسط نرم‌افزار مناسب بوده و می‌تواند برای تخمین نتایج در شرایط عملی قابل کاربرد باشد. شرایط بهینه با توجه به نتایج به‌دست آمده از انجام آزمایش بهینه‌سازی، غلظت ۲/۳۵ درصد اینولین به همراه ۰/۰۴ درصد کتیرا و در روز نگهداری ۱۶ بود. مقدار هر یک از پاسخ‌ها در شرایط بهینه به ترتیب شامل سفتی ۱۷۷/۶۳ گرم، آب-اندازی ۲۴/۵۶٪، شمارش پروبیوتیک‌ها ۷/۹۸ لگاریتم سلول در میلی‌لیتر و مطلوبیت ۰/۷۶ تعیین گردید.

جدول ٤- مقایسه نتایج حاصل از آزمون بهینه انجام شده و نتایج تجربی

Table 4. Comparison between the optimized test and experimental results

ماست سین‌بیوتیک Synbiotic yogurt	سفتی(گرم) Firmness (g)	آب‌اندازی (درصد) Synersis (%)	شمارش پروبیوتیکی (لگاریتم واحد کلنی در گرم) Probiotic count (logcfu/g)	مطلوبیت Desirability
نتایج حاصل از مدل Optimized results	177.06	24.56	7.98	0.76
نتایج حاصل از آزمایش Experimental results	165.36±13.02	23.89±2.79	7.92±0.45	-

نتیجه‌گیری کلی

روش سطح پاسخ برای تعیین شرایط بهینه‌سازی متغیرهای فرآیند بر تولید ماست سین‌بیوتیک با هدف بیشینه کردن بافت و شمارش پروبیوتیک‌ها و کمینه نمودن آب‌اندازی مورد استفاده قرار گرفت. در ارتباط با سفتی و آب‌اندازی محصول، افزایش غلظت اینولین و زمان نگهداری باعث بهبود بافت گردید. همچنین، افزایش میزان کتیرا تا غلظت مشخصی باعث بهبود بافت شد درحالی‌که در غلظت‌های بالاتر اثر معکوسی مشاهده شد. افزایش غلظت کتیرا و اینولین تأثیر مثبتی بر شمارش پروبیوتیکی محصول داشت، اما در طی زمان شمارش پروبیوتیکی کاهش یافت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که می‌توان از ترکیب کتیرا و اینولین به‌عنوان ترکیبات پری‌بیوتیکی در تولید محصولات لبنی تخمیری استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان مراتب سپاس خود را از مسئولین شرکت پگاه خوزستان بویژه مدیر تحقیق و توسعه این شرکت آقای مهندس فرهنگ بابت همکاری صمیمانه در انجام این پژوهش و همچنین از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان بابت پشتیبانی مالی اعلام می‌دارند.

منابع

1. Aghajani, A.S., Pourahmad, R. and Mahdavi, H.D. 2014. The effect of oligofructose, lactulose and Inulin mixture as prebiotic on physicochemical properties of synbiotic yogurt. Journal of Food Biosciences and Technology. 4(2): 33-40.
2. Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A. and Rahimi, J. 2007. Whey protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: chemical, physical and microstructural properties. Journal of Dairy Science. 91: 2545–2552.
3. Buriti, F.C.A., Cardarelli H.R., Filisetti, T.M.C.C. and Saad, S.M.I. 2007. Synbioticpotential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracaseiin* coculture with *Streptococcus thermophillus*. Food Chemistry. 104: 1605-1610.
4. Cardarelli, H.R., Saad, S.M.I., Gibson, G.R. and Vulevic, J. 2007. Functional petit-Suisse cheese: measure of the prebiotic effect. Anaerobe. 13: 200-207.
5. Csutak, E. 2010. Effect of various prebiotics on LA-5 and BB-12 probiotic bacteria multiplication and on probiotic yoghurt production. Acta Universitatis. Sapientiae, Alimentaria. 3: 35-52.
6. Donkor, O.N., Nilmini, S.L.I., Stolic, P., Vasiljevic, T. and Shah, N.P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal. 17: 657–665.
7. Everett, D.W. and McLeod, R.E. 2005. Interactions of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. International Dairy Journal. 15:1175–1183.
8. Farnsworth, J.P., Lia, J., Hendricks, G.M. and Guo, M.R. 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. Small Ruminant Research. 65: 113–121.

9. Fooks, L.J., Fuller, R. and Gibson, G.R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal. 9: 53-61.
10. Gustaw, W., Kordowska-Wiater, M. and Kozioł, J. 2011. The Influence of selected prebiotics on the growth of lactic acid bacteria for bio- yoghurt production. Acta Scientiarum Polonorum. Technology Aliment. 10(4): 455-466.
11. Heller, K.J. 2001. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. American Journal of Clinical Nutrition.73: 374–9.
12. Balaghi, S., Mohammadifar, M.A., Zargaraan, A., Gavlighi, H. A. and Mohammadi, M. 2011. Compositional analysis and rheological characterization of gum tragacanth exudates from six species of Iranian Astragalus. Food Hydrocolloids, 25(7): 1775-1784.
13. Kesenkas, H. 2010. Effect of using different probiotic cultures on properties of Torba (strained) yoghurt. Mijekarstvo, 60(1): 1-19.
14. Lima, K.G.D.C., Kruger, M.F., Behrens, J., Destro, M.T., Landgraf, M. and Gombossy de Melo Franco, B.D. 2009. Evaluation of culture media for enumeration of *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium animalis* in the presence of *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*. LWT-Food Science and Technology, 42: 491–495.
15. Matijevic, B., Bozanic, R. and Tratnik, L. 2009. The influence of lactulose on growth and survival of probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animali subsp. Lactis* BB-12 in reconstituted sweet whey. Mljekarstvo. 59(1): 20-25.
16. Mir Hosseini, H., Tan, C., Hamid, N. and Yusof, S. 2008. Optimization the contents of Arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, poly dispersity index and density in orange beverage emulsion. Journal of Food Hydrocolloids. 22: 1212-1223.
17. Mohebbi, M. and Ghoddusi, H.B. 2008. Rheological & sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures. Journal of Agriculture Science and Technology. 10: 147-155.
18. Myers, R.H. and Montogomery, R.C. 2002. Response Surface Methodology: Process and product optimization using design experiment. New York, Wiley.
19. Oliveira, R.P.S., Oliveira, P.P.M.N. and Converti, A. 2012. Prebiotic Effect of Inulin on the Growth and Organic Acid Profile of *Bifidobacterium lactis* in Co-culture with *Streptococcus thermophiles*. Chemical Engineering Transactions. 27: 1-6.
20. Oliveira, R.P.S., Perego, P., Converti, A. and De Oliveira, M.N. 2009. Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with *Streptococcus thermophilus*. Journal of Food Engineering. 91: 133–139.
21. Paseephol, T., Small, D. and Sherkt, F. 2008. Rheology and texture of set yogurt as affected by inulin addition. Journal of Texture Studies. 39: 617–634.
22. Puvanenthiran, A., Williams, R.P.W. and Augustin, M.A. 2002. Structure and viscoelastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. International Dairy Journal. 12: 383–391.
23. Rahimi, J., Khosrowshahi, A. Madadlou, A. and Aziznia, S. 2007. Texture of low-Fat Iranian white cheese as influenced by gum tragacanth as a fat replacer. Journal of Dairy Science. 90(9): 4058-4070.
24. Samavati, V. 2013. Polysaccharide extraction from Abelmoschus: Optimization by response surface methodology. Journal of Carbohydrate Polymers. 95: 588-597.
25. Samavati, V. and Manoochehrizadeh, A. 2013. *Dodonaeaviscosa var. angustifolia* leaf: New source of polysaccharide and its anti-oxidant activity. Journal of carbohydrate polymer. 13: 1020-1048.
26. Syrbe, A., Bauer, W.J. and Klostermeyer, H. 1998. Polymer science concepts in dairy systems and overview of milk protein and food hydrocolloid

streptozotocin-induced diabetes in rats. Journal Dairy Research. 75: 189-95.
31. Yeganehzad, S., Mazaheri-Tehrani, M. and Shahidi, F. 2007. Studying microbial, physiochemical and sensory properties of directly concentrated probiotic yoghurt. African Journal of Agricultural Research. 2(8): 366-369.
32. Zargaraan, A., Mohammadifar, M. and Balaaghi, S. 2009. Comparison of some chemical and rheological properties of Iranian gum tragacanth exudate from two Astragalus species (*A. floccosus* and *A. rahensis*). Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology. 3(4): 9-17. (In Persian)
33. Zarinkamar, F. 1996. Anatomical and ecological studies of 14 gum tragacanth-producer *Astragalus* species in Iran. Project report, Research Institute of Forests and Rangelands of Iran, 98P. (In Persian).

interaction. International Dairy Journal. 8:179–193.
27. Tamime, A.Y. 2005. Probiotic dairy products. Blackwell Publishing, Oxford.
28. Tamime, A.Y. and Robinson, R.K. 2007. Tamime and Robinson's Yoghurt Science and Technology. Woodhead Publishing, Cambridge.
29. Tungland, B.C. 2003. Fructo-oligosaccharides 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.
30. Yadav, H., Jain, S. and Sinha, P.R. 2008. Oral administration of dahi containing probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* delayed the progression of

EJFPP, Vol. 9 (2): 33-50
http://ejfpp.gau.ac.ir

Optimization and evaluation of textural and microbial properties of synbiotic yogurt using Response Surface Methodology

Tahmine Nikbakht Kashkouli [1], Hossein Jooyandeh[*2] and Saeed Tahmoozi Dideban[3]
[1]Graduated M.Sc., Department of Food Science and Technology, Ramin Agricultural Sciences and Natural Resources University, Ahvaz, Iran
[2]Associate Professor., Department of Food Science and Technology, Ramin Agricultural Sciences and Natural Resources University, Ahvaz, Iran
3Assistant Professor., Department of Food Science and Technology, Ramin Agricultural Sciences and Natural Resources University, Ahvaz, Iran
Received: 2015/11/15; Accepted: 2016/09/24

Abstract

Background and objectives: Nowadays yogurt is produced as the most important probiotic dairy product around the world. Probiotics are alive microorganisms that when consumed in sufficient quantities on a regular basis, have beneficial effects on the health of their host. Also, prebiotics are indigestible carbohydrate compounds for human that have ability to improve growth or activity of one or a limited number of probiotic bacteria (Enteric bacteria). Combination of prebiotic and probiotic is called synbiotic that consult more health benefits. The aim of this study was to investigate physical and microbial properties of synbiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus*, inulin and gum tragacanth.

Materials and methods: *Lactobacillus acidophilus* type LA5 was used as probiotic culture. To determine optimal conditions of synbiotic yogurt production, three factors including inulin concentration (0-2.5%), gum tragacanth concentration (0-0.06%) and shelf life (1-19 day) was considered as independent variables and their effects on hardness, syneresis and probiotic count were evaluated. To optimize process variables in synbiotic yogurt production, Response surface methodology (RSM) based on Box Behnken method was uses in order to get the highest value for texture and probiotic counts and the least syneresis value.

Results: Analysis of variances of data showed that all independent variables had significant effects ($p<0.05$) on measured parameters. The overall coefficients of determination (R2) for hardness, syneresis and probiotic count characteristics were 0.98, 0.98 and 0.99 respectively. Adjusted R^2 and Coefficient of variation showed the proper fitness of the mode. Optimum conditions to produce synbiotic yogurt with a maximum hardness and probiotics count and the least syneresis was determined as 2.35% inulin and 0.04% tragacanth gum in 16 days of storage. The yogurt texture was improved as inulin concentration and storage time were increased, while tragacanth gum had bilateral effects. Yogurt hardness was enhanced as tragacanth gum concentration was increased up to 0.03% while addition of higher amount of gum (0.06%) reduced the yogurt quality. The increasing tragacanth gum and inulin concentration had positive effect on the probiotic count, but by passing the storage time the probiotic count was reduced. Defined values for hardness, syneresis, probiotic count and desirability in optimized situation were 177.63 g, 24.56%, 7.98 log cfu/g and 0.76, respectively.

Conclusion: Our results showed that Inulin and tragacanth can be used as prebiotic component in fermented dairy products. Probiotic yogurt had high viable cell counts during a 19-day storage period so that the viable cell counts of *L. acidophilus* were always higher than 6.90 log cfu/g, which is a good value for fermented products containing probiotics.

***Keywords*:** Inulin, RSM, Tragacanth gum, *Lactobacillus acidophilus*, Synbiotic yogurt

[*] Corresponding author: hosjooy@ramin.ac.ir