نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی/ جلد ۲۵ شماره ۱/ سال ۱۳۹۴

تأثیر آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و خواص کیفی ماست قالبی

نرجس نادعلی[۱]، اصغر خسروشاهی اصل[۲]* و شهین زمردی[۳]

تاریخ دریافت : ۹۲/۱۰/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۳/۲۶

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

[۲] استاد گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه ارومیه

[۳] استادیار بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی

*مسئول مکاتبات: Email: a.khosrowshahi@gmail.com

چکیده

با توجه به اهمیت تغذیه ای پروتیئن حبوبات در سلامتی انسان، در این تحقیق تأثیر افزودن آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و حسی ماست قالبی درطول زمان نگهداری با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. مقدار آرد عدس در محدوده ۵-۰ درصد، کنسانتره انگور در محدوده ۲۰/۲-۰ درصد و زمان نگهداری در محدوده ۲۵-۱ روز بود. نتایج تجزیه آماری داده ها مشخص کرد که با افزایش آرد عدس تا سطح ۲/۵ درصد و کنسانتره انگور تا سطح ۱۰/۱ درصد زنده مانی *بیفیدوباکتریم بیفیدوم* بطور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) افزایش یافت. همچنین میزان رطوبت نمونه‌ها با افزایش آرد عدس و کنسانتره انگور بطور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد. با افزایش آرد عدس تا ۲/۵ درصد اسیدیته افزایش یافت در حالی که در مقادیر بیشتر، اسیدیته کاهش پیدا کرد. در اثر افزایش مقدار کنسانتره انگور، اسیدیته نیز کاهش پیدا کرد. نتایج حاصل از ارزیابی رنگ نیز نشان داد که افزایش کنسانتره انگور قرمز به صورت معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) موجب کاهش اندیس‌های L* و b* و افزایش اندیس a* شد. افزایش آرد عدس نیز تا سطح ۲/۵ درصد موجب افزایش معنی دار اندیس b* گردید ولی افزایش بیشتر آرد عدس موجب کاهش این اندیس شد. با توجه به نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها، افزودن آرد عدس موجب بهبود قوام و افزودن کنسانتره انگور موجب بهبود طعم نمونه‌های ماست گردید. در نهایت میزان آرد عدس ۲/۴۳۹ درصد و مقدار کنسانتره انگور قرمز ۱۵/۳۴ درصد و زمان نگهداری ۱۳ روز به عنوان شرایط بهینه تعیین گردید.

واژگان کلیدی: آرد عدس قرمز، پروبیوتیک، *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، کنسانتره انگور قرمز، ماست

مقدمه

پیشرفت جوامع بشری همواره با پیشرفت در صنعت غذا همراه بوده است. همانگونه که بقراط می‌گوید اجازه بده غذا، داروی تو و دارویت غذایت باشد (خان و همکاران ۲۰۱۱). مردم غذا را نه تنها برای رفع نیاز طبیعی بلکه برای داشتن حس خوب و بهبود تندرستی مصرف می‌کنند. تقاضای مصرف کنندگان، صنعت غذا را بر آن داشت که محصولات جدید، منطبق با احتیاجات آنها را برآورده کنند. یک نمونه بارز از این نوآوری‌ها، غذاهای فراسودمند[1]می باشد. واژه فراسودمند اولین بار در ژاپن، سال ۱۹۸۰ برای محصولات غنی شده با ترکیبات ویژه‌ای که دارای اثرات فیزیولوژیکی سودمندی بودند مورد استفاده قرار گرفت. غذاهای فراسودمند می‌توانند خطر ابتلا به امراضی چون کلسترول بالا و یا بیماری‌های مربوط به دستگاه گوارش و مشکلات قلبی و عروقی را کاهش دهند (رودریگو و همکاران ۲۰۱۲). در کشورهای پیشرفته غذاهای فراسودمند حاوی پروبیوتیک به بازارهای خرید چیره شده‌اند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که چنانچه در حد کافی مورد استفاده قرار گیرند؛ اثرات سلامت‌بخش بالقوه‌ای را در فرد میزبان ایجاد می‌کنند (گراجک و همکاران ۲۰۰۵). در سال‌های اخیر از باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی مختلف استفاده شده و یکی از محبوب ترین محصولات لبنی برای انتقال پروبیوتیک‌ها، ماست می‌باشد. متأسفانه تعداد زیادی از پروبیوتیک‌ها قادر نیستند به‌سرعت در ماست رشد کنند. لذا مطالعات زیادی با هدف غنی‌سازی شیر با مکمل‌هایی که بتوانند رشد پروبیوتیک‌ها را تسریع کنند انجام گرفته است. یکی از روش‌های افزایش رشد پروبیوتیک‌ها، غنی‌سازی شیر می‌باشد (زارع و همکاران ۲۰۱۱).

حبوبات حاوی پروتئین بالایی هستند (۳۲-۱۸ درصد). خصوصیات عملکردی پروتئین‌های حبوبات مثل نگهداری آب، اتصال به چربی و ایجاد ژل، می‌تواند استفاده بالقوه از آن‌ها را در پیشبرد انواع مختلفی از موادغذایی گسترش دهد (روی و همکاران ۲۰۱۰). عدس حاوی ٦٥-٤٩ درصد پروتئین است وخصوصیات عملکردی پروتئین‌های آن مثل نگهداری آب، اتصال به چربی و ایجاد ژل، موجب افزایش استفاده بالقوه آن در انواع مختلفی از مواد غذایی شده است (بوی و همکاران ۲۰۱۰). مصرف منظم عدس به کاهش کلسترول، سرطان روده و دیابت نوع ۲ کمک می‌کند (باربانا و همکاران ۲۰۱۱).

انگور بویژه رقم قرمز آن حاوی ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدانی زیادی است. بعلاوه انگور قرمز منبع خوبی از آسکوربیک اسید، ترکیبات فنولی و کربوهیدرات‌های مناسب برای تخمیر توسط باکتری‌های اسید لاکتیک است (کودا و همکاران ۲۰۱۲). انگور قرمز می‌تواند محتوای فنولی ماست را افزایش دهد (کاراسلان وهمکاران ۲۰۱۱). عصاره انگور نقش مهمی در کاهش امراض روده و بیماری‌های قلبی ایفا می‌کند. کنسانتره انگور به دلیل داشتن مقدار زیادی آهن (۱۰-٥ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) برای بیمارانی که از کم‌خونی رنج می‌برند می‌تواند مفید واقع شود (اوزتورک و اونر ۱۹۹۹). امروزه مواد حاوی ترکیبات فنولی به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و کاهش بیماری‌های قلبی مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند (کودا و همکاران ۲۰۱۲). زارع وهمکاران (۲۰۱۱) تأثیر غنی‌سازی با انواع حبوبات را بر روی رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در ماست بررسی کرده و گزارش نمودند که غنی سازی، سرعت تولید اسید را افزایش می‌دهد، اما از نقطه نظر ویژگی‌های حسی، امتیاز چندان مطلوبی را به دست نیاورد. اوزتورک و اونر (۱۹۹۹) در تهیه ماست از کنسانتره انگور در غلظت‌های ٥، ۱۰ و ۱٥ درصد استفاده کردند و گزارش نمودند که استفاده از غلظت ۱۰ درصد شیرینی مطلوبی در ماست ایجاد

[1]-Functional Foods

می‌کند. اما استفاده از کنسانتره زمان تخمیر را طولانی تر نموده و ویسکوزیته را کاهش داد. چااوچولی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که غنی سازی ماست بدون چربی و پرچرب با عصاره دانه انگور تأثیری بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس‌ها نداشت اما زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس* در ماست بدون چربی بیشتر از ماست پرچرب بود. کاراسلان و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند ماست حاوی عصاره انگور قرمز نسبت به انگور سفید دارای مواد آنتی‌اکسیدانی و فنولی بیشتری بود.

تاکنون مطالعات زیادی در خصوص استفاده از حبوبات و کنسانتره آب انگور قرمز در محصولات لبنی و استفاده از اثرات بالقوه آن‌ها صورت نگرفته است. لذا هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر افزودن آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و حسی ماست کامل در طول زمان نگهداری با استفاده از روش سطح پاسخ می‌باشد.

مواد و روش ها

شیر خام کامل (شرکت شیر پاستوریزه آذربایجان غربی، پگاه)، استارتر تجاری ماست YC-X11 (کشت مخلوط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه بولگاریکوس، شرکت کریستین هانسن دانمارک)، باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (شرکت کریستین هانسن دانمارک)، محیط های کشت RCA[2] و PDA[3] (شرکت مرک آلمان)، عدس قرمز (فروشگاهی محلی در ارومیه)، کنسانتره انگور قرمز (شرکت کنسانتره و آبمیوه شهداب ارومیه) تهیه شد. ویژگی‌های شیمیایی شیر خام، آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز در جدول ۱ آورده شده است.

روش ها

این طرح با استفاده از طرح آزمایشی CCRD و روش سطح پاسخ (RSM)[4] بررسی گردید. متغیرهای مستقل هر کدام در ۵ سطح شامل آرد عدس قرمز در محدوده ۵-۰ درصد، کنسانتره انگور قرمز در محدوده ۲۰/۲-۰ درصد و زمان نگهداری در محدوده ۲۵-۱ روز بود. طراحی آزمون‌ها در جدول ۲ آورده شده است. تعداد نمونه‌های آزمایشی برابر ۲۰ عدد بود که در این میان ٦ آزمون تکرار در نقطه مرکزی قرار داشت که از این نقاط برای تعیین خطای آزمایش استفاده شد. داده‌های به دست آمده توسط نرم افزار SAS مدل سازی شده و شکلهای سه بعدی این طرح (منحنیهای سطح پاسخ) جهت بررسی رابطه میان پاسخ و متغیرهای مستقل رسم شدند. آنالیز رگرسیون با مدل درجه دوم زیر انجام گرفت:

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_{21} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{33}X_{23} + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3$$

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

روش تهیه ماست

ابتدا شیر خام تا دمای ٦٠ درجه سانتی گراد 'گرم شد. سپس طبق طرح آزمایشی (جدول ۲)، مقدار لازم از آرد عدس به شیر اضافه گردید و مدت ۱ دقیقه در مخلوط-کن بطور کامل مخلوط شد. سپس در دمای ۸۵ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه گردید و تا دمای ٤٣ درجه سانتی گراد سرد شد و استارتر ماست و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (مطابق دستور عمل شرکت تولید کننده) اضافه شد. پس از مخلوط شدن به ظروف ماست بندی استریل حاوی مقدار لازم از کنسانتره انگور قرمز (طبق جدول ۲) منتقل شد. نمونه‌ها در گرمخانه با دمای ٤٢ درجه سانتی گراد تا رسیدن به

[2]-Reinforced Clostridia Agar
[3]-Potato Dextrose Agar
[4]-Response Surface Method

pH=٤/٦ قرار گرفتند. سپس تا ٤ درجه سانتی گراد سرد و در یخچال نگهداری شدند.

روش‌های آزمایش

قبل از انجام آزمایشات نمونه‌ها به طور کامل هم زده شدند.

شمارش *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*

برای تهیه رقت اول مقدار ٥ گرم نمونه با ٤٥ میلی لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد رقیق شد. سری بعدی رقت ها با افزودن ۱ میلی لیتر از هر رقت به ۹ میلی لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد آماده شد. برای شمارش *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* از محیط کشت RCA به روش پورپلیت استفاده شد. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرمخانه گذاری شدند. پلیت های حاوی ۳۰۰-۳۰ کلنی شمارش گردیدند (کراسکوپ و همکاران ۲۰۰۳).

آزمایشات فیزیکی شیمیایی

رطوبت از طریق خشک کردن در آون (ممرت، آلمان)، در دمای ۱۰۳ درجه سانتی گراد و اسیدیته از طریق تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن pH به ۸/۳ اندازه‌گیری شد (AOAC ۱۹۹۷).

رنگ نمونه‌ها بادستگاه رنگ سنج هانترلب (ساخت شرکت ژاپنی، مدل CR400) تعیین شد. قبل از انجام آزمون، دستگاه با کاشی سفید کالیبره شد. اساس رنگ سنجی دراین سیستم سنجش شاخص‌های L*، a* و b* بود که به ترتیب نشان‌دهنده روشنی، رنگ سبز تا قرمز وآبی تا زرد هستند. ارزیابی حسی شامل قوام، عطر و طعم نمونه‌ها با استفاده از روش هدونیک ٥ نقطه ای که درآن امتیاز ٥ به خیلی خوب و ۱ برای خیلی بد اختصاص داده شد، توسط ۱۵ نفر از کارکنان و دانشجویان کارشناسی ارشد صنایع غذایی ارزیابی شد. پانلیست‌ها با توجه به ذائقه شخصی فرم‌ها را تکمیل کرده و برای شستشوی دهان خود بین نمونه‌ها از آب استفاده کردند.

جدول ۱- ویژگی‌های شیمیایی شیر خام، آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز

نام ماده	چربی (٪)	پروتئین (٪)	اسیدیته (٪)	SNF (%)	pH	بریکس	رطوبت (٪)	خاکستر (٪)
شیر خام	۳/۳٥	۳	۱٥	۸/٦	٦/٥٤	-	-	-
آرد کامل عدس قرمز	۱/۱	۲٥/۷	٦/٤	-	٥/۸	-	٦/۹۸	۲/۳٤
کنسانتره انگور قرمز	۰	۰	۱/۳۹	-	۳/٥٥	٦۳/۲	-	-

جدول ۲- طراحی آزمون ها بر اساس مدل (CCRD) و سه متغیر (آرد عدس قرمز، کنسانتره انگور قرمز و زمان نگهداری)

RUN	آرد عدس	کنسانتره انگور	زمان نگهداری	آرد عدس (درصد)	کنسانتره انگور قرمز (درصد)	زمان نگهداری (روز)
۱	−۱	−۱	−۱	۱	٤/۱	٦
۲	−۱	−۱	۱	۱	٤/۱	۲۰
۳	−۱	۱	−۱	۱	۱٦/۱	٦
٤	−۱	۱	۱	۱	۱٦/۱	۲۰
٥	۱	−۱	−۱	٤	٤/۱	٦
٦	۱	−۱	۱	٤	٤/۱	۲۰
۷	۱	۱	−۱	٤	۱٦/۱	٦
۸	۱	۱	۱	٤	۱٦/۱	۲۰
۹	−۱/٦۸	۰	۰	۰	۱۰/۱	۱۳
۱۰	۱/٦۸	۰	۰	٥	۱۰/۱	۱۳
۱۱	۰	−۱/٦۸	۰	۲/٥	۰	۱۳
۱۲	۰	۱/٦۸	۰	۲/٥	۲۰/۲	۱۳
۱۳	۰	۰	−۱/٦۸	۲/٥	۱۰/۱	۱
۱٤	۰	۰	۱/٦۸	۲/٥	۱۰/۱	۲٥
۱٥	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳
۱٦	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳
۱۷	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳
۱۸	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳
۱۹	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳
۲۰	۰	۰	۰	۲/٥	۱۰/۱	۱۳

جدول ۳-تجزیه واریانس زنده‌مانی پروبیوتیک و خواص فیزیکی‌شیمیایی نمونه‌های ماست

منبع متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		B.bifidum (log cfu/g)	رطوبت (٪)	اسیدیته (٪)	L*	a*	b*
آرد عدس قرمز(A)	۱	۰/۰۶۹۰ ns	۱۷/۹۸۹۰*	۱۵۰/۹۲۰ ns	۰/۸۵۲۸ ns	۵/۰۷۸۵ ns	۱/۶۱۳۴ ns
کنسانتره انگور قرمز(B)	۱	۰/۰۴۱۹ ns	۷۴/۰۴۱۲*	۶۲۴/۲۹۹*	۱۷۸۱/۳۳*	۱۲۲/۲۵۸*	۱۴۷/۲۲۵*
زمان نگهداری (C)	۱	۰/۳۰۱۲*	۰/۰۱۳۵ ns	۳۰۲۵/۸۱*	۲۲/۵۰۵۱ ns	۳/۵۹۱۲ ns	۱/۲۷۱۳ ns
A^2	۱	۰/۰۹۴۶ ns	۰/۰۳۰۹ ns	۱۰۸۵/۷۴*	۱۶۶/۴۹۱ ns	۰/۰۹۹۹ ns	۲۱/۵۶۰۶*
AB	۱	۰/۱۷۴۰*	۰/۰۶۱۲ ns	۳۶/۹۸ ns	۲۲۲/۷۱۰ ns	۰/۲۸۵۰ ns	۱/۱۷۰۴ ns
AC	۱	۰/۰۲ ns	۰/۰۰۷۲ ns	۱۶/۸۲*	۷۱/۵۸۰۶ ns	۰/۱۵۴۰ ns	۱/۱۸۵۸ ns
B^2	۱	۰/۰۱۹۵ns	۱/۴۳۹۷*	۷/۵۷۲۴ ns	۴۶۶/۸۶۹*	۳۸/۷۰۹۰*	۳/۴۸۲۶ns
BC	۱	۰/۰۰۳۲ ns	۰/۰۰۹۸ ns	۶۲۶/۵۸*	۳۲۴/۹۹۷*	۱/۲۷۲۰ ns	۰/۵۹۴۰ns
C^2	۱	۰/۴۴۹۰*	۰/۰۳۴۷ ns	۲۱۵/۹۸۱ ns	۲۲۹/۱۵۵ns	۰/۰۷۲۴ ns	۶/۷۰۷۱ns
مدل	۹	۱۰/۴۰۶۵*	۰/۱۲۴۴*	۶۵۴/۹۳۹*	۳۵۰/۵۴۰*	۱۹/۰۶۰*	۲۰/۶۲۹۰*
خطی	۳	۳۰/۶۸۱۲*	۰/۱۳۷۳*	۱۲۶۷/۰۱*	۶۰۱/۵۶۲*	۴۳/۶۴۲*	۵۰/۰۳۶۶*
درجه دوم	۳	۰/۱۷۰۱*	۰/۵۱۲۳*	۴۷۱/۰۱۶*	۲۴۳/۶۲۹*	۱۲/۹۶۹*	۱۰/۸۶۷۱*
خطا	۱۰	۰/۰۲۱۷	۰/۱۲۵۱	۱۰۳/۹۷۲	۵۱/۰۱۶۸	۳/۱۸۴۰	۳/۴۵۹۱
عدم برازش	۵	۰/۰۲۷۷ ns	۰/۰۵۹۶ ns	۱۶۳/۵۷۱ ns	۱۹/۵۲۱۶ ns	۴/۴۸۹۴ ns	۲/۱۱۷۳ ns
Pure error	۵	۰/۰۱۵۶	۰/۱۹۰۶	۴۴/۳۷۵	۸۲/۵۱۱۹	۱/۸۷۸۲	۴/۸۰۰۹
R^2	–	٪۸۲/۷۵	٪۹۸/۶۸	٪۸۵/۰۱	%۸۶/۰۸	٪۸۴/۳۴	٪۸۴/۲۹
R^2_{adj}	–	٪۶۹/۱۳	٪۹۷/۴۹	٪۷۱/۵۱	%۷۳/۵۵	٪۷۰/۲۶	٪۷۰/۱۶
ضریب پراکندگی	–	۱/۹۷۵۱	۰/۴۳۱۱	۱۲/۵۸	۱۲/۷۴۷۸	۱۸/۱۸۶۶	−۱۰۸/۴۸

*معنی دار در سطح ۰/۰۵ و nsغیرمعنی دار

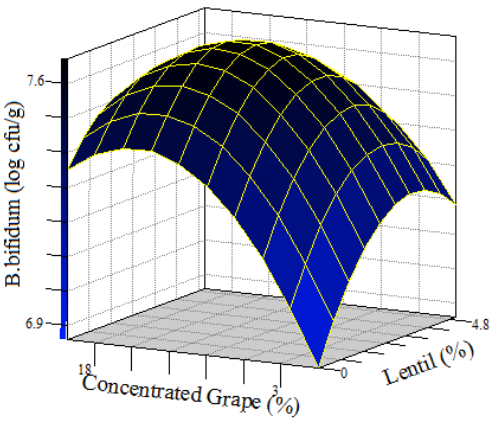
نتایج و بحث

در جدول ۳ تجزیه واریانس خواص میکروبی و فیزیکی-شیمیایی نمونه‌های ماست آورده شده است.

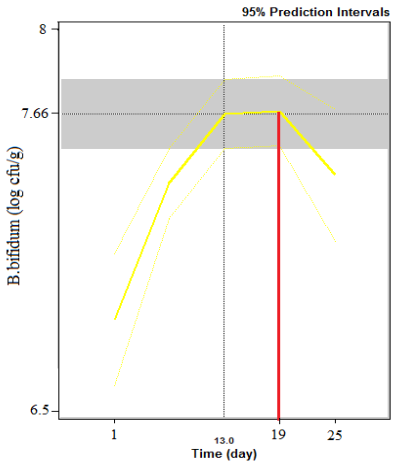
تغییرات *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طول نگهداری

تأثیر مقادیر مختلف آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* طی ۲۵ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به جدول ۳، تأثیر خطی و مربعی زمان نگهداری و اثر متقابل آرد عدس و کنسانتره بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* معنی‌دار بود ($P<0/05$). تأثیر متقابل آرد عدس و تأثیر متقابل آرد عدس و کنسانتره در شکل ۱ آورده شده است. همان طوری از شکل ۱ مشخص است با افزایش آرد عدس تا سطح ۲/۵ درصد تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* افزایش یافت، اما افزایش بیشتر آن موجب کاهش زنده‌مانی این باکتری گردید. وجود مواد مغذی از جمله قندهای رافینوز، استاکیوز و پروتئین‌های آرد عدس می‌تواند موجب افزایش تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* شود (زارع و همکاران ۲۰۱۱).

از طرفی افزایش بیشتر آرد عدس موجب افزایش ماده خشک و کاهش فعالیت آبی ماست می‌شود، در نتیجه رشد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* کاهش پیدا می‌کند (یوسف و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به نتایج با افزودن کنسانتره انگور تا ۱۰ درصد، جمعیت *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* افزایش و سپس کاهش یافت. دلیل افزایش تعداد پروبیوتیک می تواند وجود گلوکز در کنسانتره باشد که موجب دسترسی آسان پروبیوتیک به مواد قندی و افزایش رشد آنها می‌گردد (اوزتورک و اونر ۱۹۹۹).



شکل ۱-تأثیر متقابل افزودن آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*



شکل ۲-زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* طی نگهداری

اما با افزایش بیشتر مقدار کنسانتره، ماده جامد ماست افزایش یافته (یوسف و همکاران ۲۰۱۳) و مقدار گلوگز بالای کنسانتره موجب ایجاد فشار اسمزی بالا و کاهش ماندگاری پروبیوتیک شده است (اوزتورک و اونر ۱۹۹۹). همچنین افزایش بیشتر کنسانتره موجب کاهش pH می گردد، لذا رشد پروبیوتیک ها کاهش می یابد. به طورکلی اکثر گونه‌های بیفیدوباکتری‌ها به pH های کمتر از ٤/٦ حساس هستند (مودلر و همکاران ۱۹۹۰). بیفیدوباکتری‌ها در ماست‌های میوه‌ای به دلیل حساسیت آنها به pH، ماندگاری کمتری دارند. با توجه به شکل ۲ زنده‌مانی پروبیوتیک تا روز ۱۳ از زمان نگهداری افزایش یافت که می‌تواند به دلیل استفاده از منابع مغذی قندی و پپتیدها و آمینواسیدهای حاصل از پروتئولیز استارترهای ماست باشد. سپس تا روز ۱۹ ثابت و بعد از آن تا انتهای زمان نگهداری کاهش یافت ولی در حد سلامتی ($۱۰^{۶}$-$۱۰^{۸}$cfu/g) باقی ماند. کاهش ماندگاری باکتری پروبیوتیک در محصولا تخمیری می-تواند به دلیل آسیب ناشی از اسیدی باشد که به ارگانیسم وارد می‌شود (دونکر و همکاران ۲۰۰٦). تشکیل برخی متابولیت‌ها مثل هیدروژن پراکسید، اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و باکتریوسین‌ها توسط استارتر ماست برای سلول‌های پروبیوتیک بسیار مضرند (فردوسی و همکاران ۲۰۱۳). با توجه به جدول آنالیز واریانس (جدول ۳) معادله نهایی دارای عدد F معنی‌دار و R^2 (ضریب تبیین) و R^2_{adj} (ضریب تبیین اصلاح شده) بالاتر از ۷۰ درصد است که نشان دهنده تطبیق داده ها با مدل می باشد. معادله پیشگویی کننده زیر برای تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* نمونه‌های ماست با استفاده از برازش داده ها به دست آمد:

B.bifidum= I6.1025+0.3311 Lentil+0.0586 Grape +0.1077Time- 0.0360Lentil^2+ 0.0163LentilGrape + 0.0047LentilTime-0.0010 Grape^2 - 0.0004GrapeTime - 0.0036Time^2

ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳)، نشان داد که تأثیر خطی آرد عدس و تأثیر خطی و مربعی کنسانتره انگور بر مقدار رطوبت نمونه معنی دار بود ($P<۰/۰۵$). رطوبت نمونه‌ها با افزایش آرد عدس و کنسانتره انگور کاهش یافت (شکل۳) که می‌تواند به دلیل افزایش ماده جامد کل باشد. افزودن کنسانتره ظرفیت جذب آب پروتئین‌ها را کاهش می‌دهد (اوزتورک و اونر ۱۹۹۹). همچنین تأثیر خطی زمان نگهداری و مقدار کنسانتره انگور و تاثیر مربعی آرد عدس بر مقدار اسیدیته معنی-دار بود ($P<۰/۰۵$). اسیدیته نمونه‌ها با گذشت زمان به دلیل تخمیر قندها توسط باکتری‌های لاکتیکی افزایش می‌یابد (سالوا و همکاران ۲۰۰٤). همچنین، اسیدیته

نمونه‌های ماست با افزایش مقدار کنسانتره کاهش یافت. دلیل آن شاید افزایش فاز تأخیر استارترها در نتیجه‌ی افزایش مقدار کنسانتره باشد. بنابراین، اسیدلاکتیک تولیدی در ابتدای تخمیر نمونه ماست با درصد کنسانتره بالاتر، کمتر از بقیه بود (اوزتورک واونر ۱۹۹۹). آرد عدس تا سطح ۲/۵ درصد باعث افزایش اسیدیته ولی بعد ازآن به دلیل افزایش ماده جامد کل و ظرفیت بافری بیشتر به دلیل وجود مقادیر بالای پروتئین آرد عدس، موجب افزایش فاز تأخیر می شود (زارع و همکاران ۲۰۱۱). با توجه به جدول۳، ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده رطوبت واسیدیته قابل قبول بود. بنابراین، معادله پیشگویی کننده رطوبت و اسیدیته نمونه‌های ماست به شرح زیر است:

Moisture = 88.5922 - 0.7232Lentil - 0.5788Grape - 0.0060Time– 0.0205Lentil^{۲} + 0.0097LentilGrape - 0.0028LentilTime+ 0.00878Grape^{۲} - 0.0008GrapeTime + 0.0010Time^{۲}

Acidity = 87.42213 + 17.68991Lentil -2.862186Grape - 2.401202Time - 3.857713Lentil^{۲} - 0.238889LentilGrape + 0.138095LentilTime- 0.020136Grape^{۲} + 0.210714GrapeTime+ 0.079006Time^{۲}

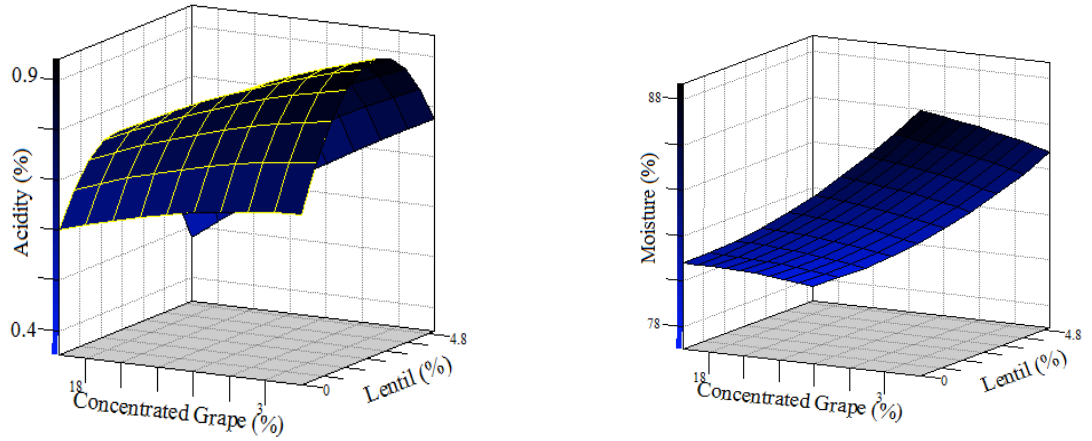
رنگ سنجی

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر کنسانتره انگور بر اندیس‌های L^*، a^* و b^* و تاثیر آرد عدس بر اندیس b^* معنی‌دار بود($P<۰/۰۵$). شکل ٤ تأثیر آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز را بر اندیس‌های رنگ نمونه های ماست نشان می‌دهد. همانطوریکه از شکل ٤ مشخص است با افزایش مقدار کنسانتره انگور قرمز میزان اندیس های L^* و b^* کاهش و اندیس a^* افزایش یافت که با نتایج چاوچولی و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت. اندیس a^* پارامتری است که مقادیر آن از منفی برای ته رنگ سبز تا مثبت برای ته رنگ سرخ متغیر است. با توجه به شکل ٤، فاکتور a^* در محدوده مثبت بوده و فقط با افزایش مقدار کنسانتره شدت قرمزی بیشتر شد که به دلیل وجود مواد آنتی اکسیدانی رنگی مثل آنتوسیانین‌ها و رنگ قرمز کنسانتره انگور قرمز می‌باشد. کاهش اندیس L^* و b^* نیز به دلیل افزایش مواد رنگی طبیعی کنسانتره است که بر انعکاس نور و افزایش سفیدی نمونه های ماست غلبه کرده که این تغییرات رنگی در ماست های میوه ای به دلیل وجود مواد رنگی معمول است. افزایش مقدار آرد عدس قرمز تا سطح ۲/۵٪ روی میزان b^* تأثیر افزایشی داشت که با نتایج زارع و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد. این مسئله می‌تواند به دلیل انعکاس نور پروتئین‌ها باشد که با افزایش آرد عدس بیشتر شده است. ولی با افزایش آرد عدس قرمز میزان b^* کاهش و رنگ آبی افزایش یافت که نشان دهنده کمتر شدن نقش کازئین، چربی و مواد جامد در ایجاد رنگ سفید می‌باشد. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که افزودن آرد عدس در سطح ۲/۵٪ رنگ طبیعی ماست را بهتر حفظ می کند. با توجه به جدول آنالیز واریانس، اندیس‌های L^*، a^* و b^* (جدول ۳)، معادله های نهایی دارای عدم برازش غیرمعنی‌دار و ضریب تبیین و ضریب اصلاح شده قابل قبول بودند.لذا معادله‌های نهایی به دست آمده، کارآمد بوده و قادر است تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند و در مراحل بعدی پیشگویی و بهینه‌سازی بعنوان شاخص‌های اصلی مورد استفاده قرار گیرد. معادله‌های پیشگویی کننده برای اندیس‌های L^*، a^* و b^* به قرار زیر است:

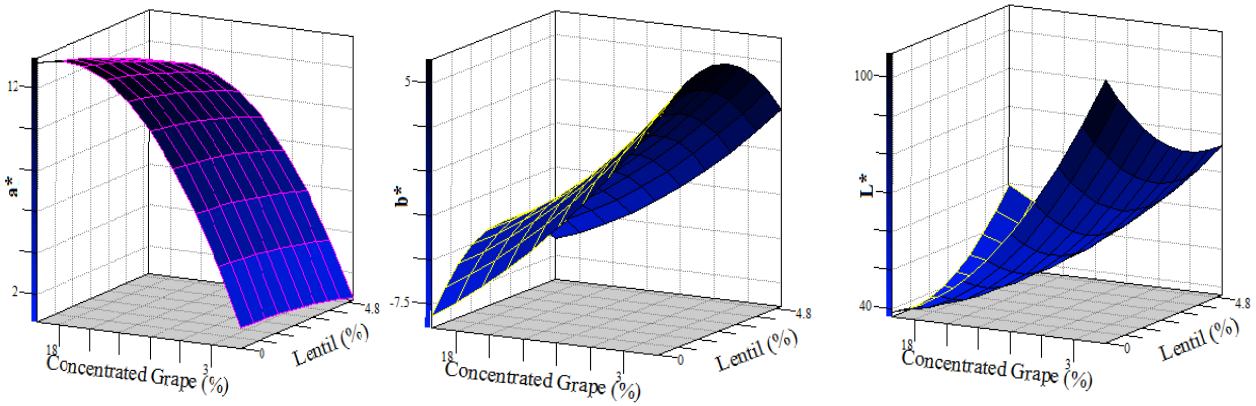
L* = 133.0849 - 9.6043Lentil - 8.5356Grape - 3.1198Time + 1.5106Lentil^{۲} + 0.58625LentilGrape - 0.2848LentilTime + 0.1581Grape^{۲} +0.1517Grape.Time + 0.0813Time^{۲}

a* = 1.2310 + 0.1621Lentil + 1.3472Grape+ 0.0480Time - 0.0370Lentil^{۲} - 0.0209LentilGrape –0.013214LentilTime - 0.045525Grape^{2} + 0.009494GrapeTime- 0.001447Time^{2}

b* = 1.159821 + 2.536382Lentil - 1.013655Grape + 0.431713Time - 0.543621Lentil^{2} + 0.0425LentilGrape - 0.036667LentilTime + 0.013655Grape^{2} + 0.006488GrapeTime - 0.013923 Time^{2}



شکل ۳- تأثیر آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر رطوبت (الف) و اسیدیته (ب) نمونه‌های ماست



شکل ۴-تأثیر آرد عدس قرمز و کنسانتره انگور قرمز بر اندیس‌های رنگ (L^*، a^* و b^*) نمونه های ماست

ارزیابی حسی

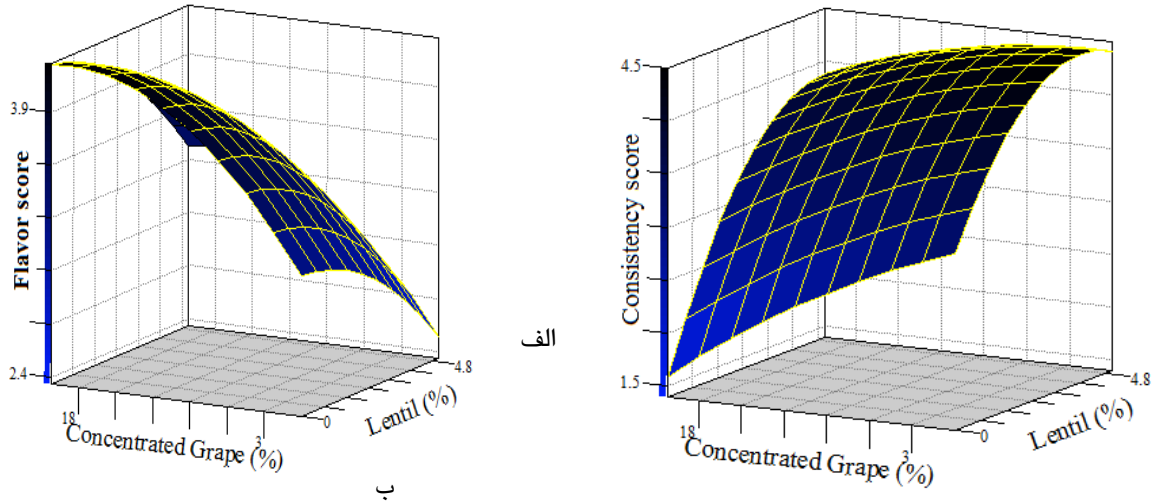
با توجه به اهمیت ارزیابی حسی در کسب رضایت و پذیرش آن، نباید بررسی خواص حسی را از نظر دور داشت (زارع و همکاران ۲۰۱۱). نتایج حاصل از ارزیابی حسی نمونه‌ها نشان داد که آردعدس، کنسانتره انگور و زمان نگهداری بر امتیاز قوام ماست تأثیر معنی‌دار داشتند (P<۰/۰۵). مطابق شکل ۵ قوام ماست با افزایش آرد عدس افزایش یافت. دلیل آن می تواند مشارکت اجزاء آرد با میسل های کازئین در تشکیل ژلی با استحکام باشد (زارع و همکاران ۲۰۱۱). علت کاهش قوام نمونه‌های ماست با افزایش کنسانتره انگور می‌تواند به دلیل کاهش ظرفیت اتصال به آب پروتئین‌ها باشد (اوزتورک و اونر ۱۹۹۹). همچنین نتایج، تأثیر خطی آرد عدس و کنسانتره انگور و اثر متقابل کنسانتره انگور و زمان نگهداری بر امتیاز طعم معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مطابق شکل ۵ با افزایش آرد عدس امتیاز حسی طعم ماست کاهش یافت که با نتایج زارع وهمکاران (۲۰۱۱) همخوانی داشت. با افزایش کنسانتره تا سطح ۱۵٪ امتیاز طعم بیشتر شد. شاید کنسانتره در مقادیر بالا به دلیل ایجاد شیرینی بیش از حد، چندان مطلوب نباشد (اوزتورک واونر ۱۹۹۹). با گذشت زمان تا روز ۱۳ امتیاز طعم نمونه‌ها بیشتر شد ولی از روز ۱۳ به بعد به دلیل مصرف قندها و تخمیر بیش از حد آن‌ها، امتیاز طعم نمونه‌ها کاهش یافت (شکل ٦).

با توجه به جدول ۳ و معادله‌های نهایی، عدد F دارای سطح معنی‌دار و دارای عدم برازش غیر معنی‌دار و

ضریب تبیین و ضربی تبیین اصلاح شده بالایی هستند. معادله های پیشگویی کننده زیر برای امتیاز طعم و بافت نمونه‌های ماست توسط برازش داده ها به شرح زیر است:

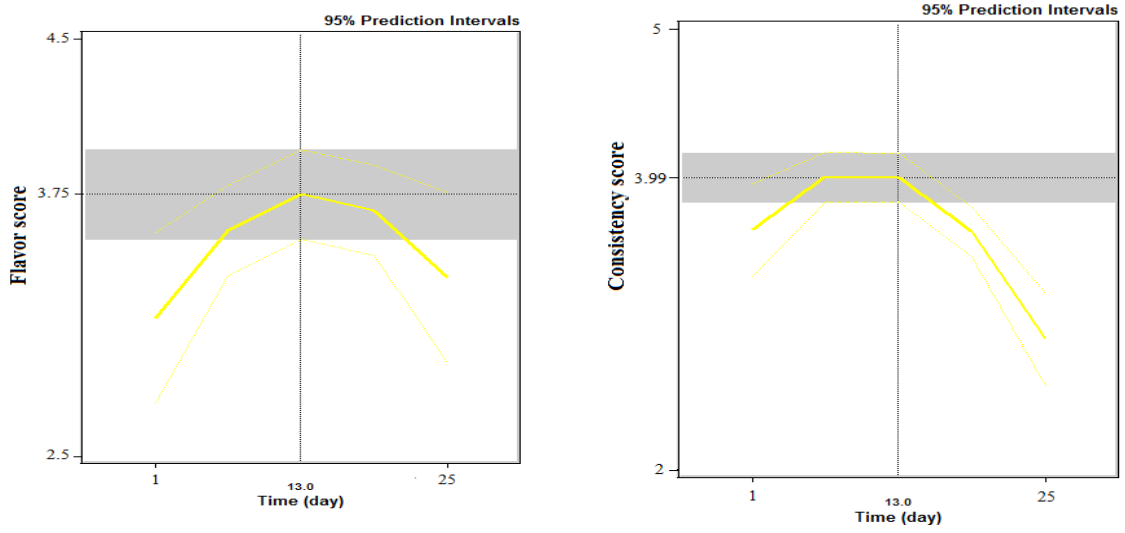
Flavor score = 3.2235 - 0.3323Lentil + 0.1208Grape + 0.0407Time - 0.0300Lentil^2 - 0.0013LentilGrape + 0.025LentilTime - 0.0033Grape^2 - 0.0002GrapeTime - 0.0035Time^2

Texture score = 1.9744 + 0.8723Lentil - 0.0085Grape + 0.1525Time - 0.1061Lentil^2 + 0.0111 LentilGrape - 0.0071 LentilTime - 0.0017Grape^2 - 0.0029GrapeTime - 0.0052Time^2



الف ب

شکل ۵- تأثیر متقابل آرد عدس و کنسانتره انگور بر امتیاز قوام (الف) و امتیاز طعم (ب) نمونه‌های ماست



الف ب

شکل ۶- امتیاز بافت (الف) و امتیاز طعم (ب) نمونه‌های ماست در طول نگهداری

بهینه سازی

مبنای بهینه سازی به حداکثر رساندن زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*، زمان نگهداری و امتیاز بافت و طعم نمونه‌های ماست بود. نمودارهای مختلف کانتور بر روی هم قرار گرفت و منطقه‌ای که مشخصات تمامی پاسخ ها را برآورد کرد، به عنوان منطقه بهینه معرفی شد. در شرایط بهینه، میزان آرد عدس ۲/٤۳۹ درصد و مقدار کنسانتره انگور قرمز ۱۵/۳٤ درصد و زمان نگهداری ۱۳ روز تعیین گردید. در این شرایط تعداد *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ۷/٦۹ سیکل لگاریتمی، رطوبت ۸۰/۱۸ درصد و امتیاز قوام و طعم به ترتیب ۳/٦ و ۳/۹۳ از نمره ۵ بود.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج حاصله، استفاده از آرد عدس و کنسانتره انگور قرمز تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و خواص فیزیکی‌شیمیایی ماست داشت. آرد عدس تا سطح ۲/۵٪ باعث افزایش اندیس*b و افزایش اسیدیته نمونه‌ها شد. کنسانتره انگور نیز موجب افزایش اندیس‌های *L و*b و اسیدیته نمونه‌ها شد. آرد عدس ضمن داشتن تأثیر مثبت روی قوام نمونه‌های ماست، طعم چندان نامطلوبی را ایجاد نکرد هرچند نمونه‌هایی که درصد کنسانتره بیشتری داشتند توانستند احساس دهانی مطلوبتری را القاء کنند. لذا می‌توان از آرد عدس قرمز به مقدار ۲/۵ درصد همراه با ۱۵ درصد کنسانتره آب انگور قرمز با موفقیت در تولید ماست پروبیوتیک استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

Barbana C, Boucher AC and Boye JI, 2011.In vitro binding of bile salt by lentil flours, lentil protein concentrates and lentil protein hydrolysates. Food Research International 44: 174-180.

Chouchouli V, Kalogeropoulos N, Konteles SJ and Karvela E, 2013. Fortification of yoghurts with grape (Vitisvinifera) seed extracts. LWT - Food Science and Technology 53: 522-529.

Coda R, Lanera A, Trani A, Gobbetti M and Di Cagno R, 2012. Yogurt-like beverages made of a mixture of cereals, soy and grape must: Microbiology, texture, nutritional and sensory properties. International Journal of Food Microbiology 155: 120-127.

Donkor ON, Nilmini SLI Stolic P, Vasiljevic T and Shah NP, 2006. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal 17:657-665.

Ferdousi R, Rouhi M, Mohammadi R, Mortazavian AM, Khosravi-Darani K and Homayouni-rad A, 2013. Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. Iranian Journal of Pharmaceutical Research 12:139-144.

Grajek W, Olejnik A and Sip A, 2005. Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. Acta Biochimica Polonica 52: 665-671.

Karaaslan M, Ozden M, Vardin H and Turkoglu H, 2011. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. LWT - Food Science and Technology 44: 1065-1072.

Khan M, Arshad M, Anjum F, Sameen S, Rehman A and Gill W, 2011. Meat as a functional food with special reference to probiotic sausage, Food Research International 44: 3125-3133.

Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. International Dairy Journal. 13: 3–13.

Öztürk BA, Öner MD, 1999. Production and evaluation of yogurt with concentrated grape juice. Journal of Food Science 64: 530-532.

Rodrigues D, Rocha-Santos T, Freitas A, Gomes A, and Duarte A, 2012. Analytical strategies for characterization and validation of functional dairy foods. Trends in Analytical Chemistry 41: 27-44.

Roy F, Boye JI and Simpson BK, 2010. Bioactive proteins pulse crops: pea, chickpea and lentil. Food Research International 43: 432−442.

Salwa AA, Galal EA and Neimat AE, 2004. Carrot yoghurt: sensory, chemical, microbiological properties and consumer acceptance. Pakistan Journal of Nutrition 3:322-330.

Yousef M, Nateghi L and Azadi A, 2013. Effect of different concentration of fruit additives on some physicochemical properties of yoghurt during storage. Annals of Biological Research 4: 244-249.

Zare F, Boye JI, Orsat V, Champagne C and Simpson BK, 2011. Microbial, physical and sensory properties of yogurt supplemented with lentil flour. Food Research International 44: 2482-2488.

Effect of red lentil flour and red grape concentrate on viability of *Bifidobacterium bifidum* and qualitative properties in set yoghurt

N Nadali[1], A Khosrowshahi Asl[2*] and Sh Zomorodi[3]

Received: January 18, 2014 Accepted: June 16, 2014
[1]MSc Student, Department of Food Science, Urmia University, Urmia, Iran
[2]Professor, Department of Food Science, Urmia University, Urmia, Iran
[3]Assistant Professor, Department of Engineering, Agricultural Research Center, West Azerbijan, Urmia, Iran
[*]Corresponding author: Email: a.khosrowshahi@gmail.com

Abstract
Due to importance of legumes proteins on human health, in this study the effect of red lentil flour and red grape concentrate on *Bifidobacterium bifidum* viability, physicochemical and sensorial properties in set yoghurt was examined during storage, using response surface method (RSM). Amounts of red lentil flour, red grape concentrate and storage time were in the range of 0-5%, 0-20.2% and 1-25 days, respectively. The results of statistical analysis showed that with increasing of red lentil flour up to 2.5% level and red grape concentrate to 10.1% level, *Bifidobacterium bifidum* viability increased significantly ($P<0.05$). As well, with increasing of lentil flour and grape concentrate, the amount of moisture content of samples reduced significantly ($P<0.05$). Acidity increased by addition of lentil flour up to 2.5% level; whereas higher amounts of flour caused a reduction of acidity. The higher the concentrate, the lower was the acidity ($P<0.05$). Results of colorimetric assessment showed that, red grape concentrate decreased L* and b* values and increased a* value significantly ($P<0.05$). Furthermore, increasing in red lentil flour to 2.5% level resulted significantly enhancement of b* value, but in more amounts, caused b* value to decrease. With respect to the results of sensorial evaluation of samples, addition of lentil flour caused an improvement effect on consistency and grape concentrate caused also better flavor in yoghurt samples, significantly ($P<0.05$). In conclusion, using of 2.439% of lentil flour and 15.34% of grape concentrate with storage period of 13 days was determined as optimum conditions.

Keywords: Red lentil flour, Probiotic, *Bifidobacterium bifidum*, Red grape concentrate, Yoghurt