

بررسی امکان تولید ماست کاکائو (شکلات) پروبیوتیک

مونا شریفی سلطانی^۱، گیتی کریم^{۲*}، رضوان پوراحمد^۳

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲. استاد گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: gkarim@ut.ac.ir

(دریافت مقاله ۹۳/۱۲/۶ پذیرش نهایی: ۹۵/۳/۲۳)

چکیده

هدف این پژوهش بررسی امکان تولید ماست کاکائو کم‌چرب پروبیوتیک بود. برای این منظور از مخلوط باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس (به میزان ۰.۳٪ وزنی-وزنی) و نیز از مخلوط ۰.۰۸٪ پودر کاکائو همراه با ۰.۵٪ شکر و مخلوط ۰.۱۲٪ پودر کاکائو و ۰.۷٪ شکر (وزنی-وزنی) برای تهیه ماست سین‌بیوتیک با میزان چربی ۰.۵٪ و ۱.۵٪ استفاده شد. شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، خواص فیزیکوشیمیایی و ارزیابی حسی نمونه‌ها در روزهای ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ صورت گرفت. نتایج نشان داد کاکائو به‌عنوان یک پری‌بیوتیک می‌تواند سبب افزایش معنی‌دار ($p < 0.01$) قابلیت‌زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شود. هم‌چنین بین ماست‌های حاوی کاکائو و نمونه‌های فاقد آن تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده نشد. بالاترین تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده در روز هفتم حاصل شد و بعد از این مدت کاهش در تعداد پروبیوتیک‌ها مشاهده شد ولی هیچگاه تعداد آن‌ها به کمتر از 10^7 cfu/g نرسید. مقدار pH در تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان کاهش یافت و در نمونه‌های حاوی کاکائو نسبت به نمونه‌های شاهد، افزایش معنی‌دار ($p < 0.01$) در مقدار pH مشاهده شد. نتایج بررسی تغییرات میزان چربی، افزایش معنی‌داری بین نمونه‌های حاوی کاکائو با نمونه‌ی شاهد، نشان‌داد؛ اما میزان ماده خشک در نمونه‌های حاوی کاکائو به‌طور معنی‌داری بالاتر از شاهد بود ($p < 0.01$). بنابراین کاکائو علاوه بر خاصیت پری‌بیوتیکی برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با دارا بودن ارزش تغذیه‌ای بالا، سبب افزایش قابل‌ملاحظه‌ای در میزان کالری ماست کاکائو خواهد شد. به‌منظور دستیابی به خواص حسی مطلوب‌تر، لازم‌است تغییراتی در فرمولاسیون این محصول داده شود.

واژه‌های کلیدی: ماست پروبیوتیک، پودر کاکائو، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم لاکتیس

مقدمه

در مطالعات مختلف به اثرات افزودن مواد پری بیوتیک بر بقای میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک پرداخته شده است. مثلاً آکین و همکاران نشان دادند افزودن ۱۸٪ شکر باعث بقای پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های شیری می‌شود (Akin et al., 2007). هم‌چنین هوپرت و همکاران به این نتیجه رسیدند که پروبیوتیک‌ها برای رشد به قند نیاز دارند (Hoppert et al., 2013). در همین راستا مشخص شد میزان بقای پروبیوتیک‌ها در شکلات سه برابر بیشتر از ماتریس شیر و دوغ پروبیوتیک است (Rokka et al., 2010). در مطالعات دیگر مشاهده شد که پودینگ با کاکائو محیط مناسبی برای نگهداری باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشند (Irkin et al., 2011) و پودر کاکائو محیط رشد خوبی برای لاکتوباسیلوس‌هاست (Ricci et al., 2011). لذا هدف از این مطالعه، ارزیابی امکان تولید ماست کاکائو کم‌چرب پروبیوتیک و اثر افزودن کاکائو بر باکتری‌های پروبیوتیک و پذیرش کلی آن بود.

مواد و روش‌ها

- آزمایش‌های اولیه شیر

بررسی باقی مانده آنتی بیوتیک در شیر با استفاده از کیت بتا- استار طبق دستور شرکت سازنده (DSM, Netherlands) انجام شد (استاندارد ملی ایران، ۱۶۴). اندازه‌گیری چربی شیرخام با استفاده از روش ژربر (استاندارد ملی ایران، ۳۶۶) و اندازه‌گیری اسیدیته شیرخام با استفاده از روش تیتراسیون نمونه با سود ۰/۱ نرمال (Merck, Germany) در حضور معرف فنل فتالین انجام شد (استاندارد ملی ایران، ۲۸۵۲). جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌های شیر از محیط

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های غیربیماری‌زایی هستند که اگر به تعداد کافی و به‌صورت زنده مورد استفاده قرار گیرند، از طریق ایجاد تعادل میکروبی در روده اثرات مفید و سلامت‌بخشی برای میزبان خود دارند (Akin et al., 2007). باکتری‌های مولد اسید لاکتیک، به‌ویژه لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها به‌طور عادی جزئی از اکوسیستم دستگاه گوارش هستند و پروبیوتیک محسوب می‌شوند (Farnworth et al., 2007). باکتری‌های پروبیوتیک نه تنها در فرایند تولید ایجاد اشکال نمی‌کنند بلکه در ارتقای سلامت فرآورده و سودمندی آن تأثیر مثبت دارند (Dols et al., 2011). برخی از خواص مفید پروبیوتیک‌ها عبارتند از: کمک به درمان عدم تحمل لاکتوز، جلوگیری از اسهال، یبوست، آلرژی‌ها، بیماری‌های التهابی روده، سندرم روده تحریک‌پذیر و هم‌چنین تقویت سیستم ایمنی. تحقیقات نشان داده که استفاده از این محصولات در بیماران و به‌خصوص افراد مبتلا به ایدز دارای تأثیر مثبت بوده است (Lollo et al., 2013).

در میان فرآورده‌های شیری، بستنی و ماست بهترین حاملان پروبیوتیک‌ها به‌شمار می‌روند (Soukoulis et al., 2010). ماست پروبیوتیک پرفرودارترین فرآورده پروبیوتیکی در آمریکاست (Marafon et al., 2011). طعم‌دار کردن ماست می‌تواند آن را عامه‌پسندتر نماید (Erdem et al., 2013). یکی از طعم‌های مورد توجه بازار مصرف، طعم شکلاتی است که جوانان، نوجوانان و کودکان تمایل بیشتری به آن نشان می‌دهند (Possemiers et al., 2010). لذا می‌تواند حامل پروبیوتیکی مطلوبی برای مصرف‌کنندگان باشد.

است از استارترهای سنتی ماست همراه با باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس با نام تجاری (Chr.) ABY10 (Hansen, Denmark)، که به صورت خشک شده انجمادی (لیوفیلیزه) تهیه شد و تا زمان مصرف در شرایط انجماد (۱۸- درجه سلسیوس) نگهداری گردید. شیرهای تلقیح شده در لیوان‌های ۱۰۰ گرمی پر و دربندی شدند و به گرمخانه ۴۲ درجه سلسیوس منتقل شدند تا زمانی که اسیدیته به ۷۵ درجه دورنیک و pH به ۴/۶ برسد. سپس به سردخانه ۴ درجه سلسیوس منتقل و به مدت ۲۱ روز نگهداری شدند. هر کدام از تیمارها در سه تکرار تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت. کلیه آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی در روزهای ۱ (۲۴ ساعت پس از تولید)، ۷، ۱۴ و ۲۱ بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

کشت Skim Milk Agar (Merck, Germany) در دمای ۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۳-۵ روز استفاده شد (استاندارد ملی ایران، ۵۴۸۴).

- نحوه تولید ماست کاکائو

جهت تولید ماست کاکائو پروبیوتیک از شیر کم چرب ۰/۵ و ۱/۵ چربی استفاده شد. برای این کار ابتدا شیر خام ورودی مورد آزمایش قرار گرفت. سپس از صاف‌کننده (Clarifier) عبور داده شد و بعد از استاندارد کردن چربی (۰/۵ و ۱/۵ چربی)، با فشار استاندارد ۱۸۰-۲۰۰ بار هموژنیزه شد. سپس پودر کاکائو (ADM Schokinag, Turkey) و شکر (هفت‌تپه، ایران) مطابق با جدول (۱) اضافه شد. شیر کاکائوهای حاصل در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه پاستوریزه شده و تا دمای ۴۵ درجه سلسیوس خنک شدند. سپس ۳٪ استارتر پروبیوتیک به آن‌ها افزوده شد که ترکیبی

جدول (۱)- نمونه‌های ماست تولید شده و ترکیبات تشکیل دهنده آن‌ها

درصد (وزنی- وزنی)		نوع ماست	
پودر کاکائو	شکر	چربی	پروبیوتیک
۱/۲	۷	۰/۵	۱
۰/۸	۵	۰/۵	۲
۱/۲	۷	۱/۵	۳
۰/۸	۵	۱/۵	۴
-	-	۰/۵	۵ (شاهد ۱)
-	-	۱/۵	۶ (شاهد ۲)

ژربر (استاندارد ملی ایران، ۶۹۵) و ماده خشک با دستگاه رطوبت‌سنج (Adam, France) انجام شد. عدد قرائت شده از درصد چربی ماست کسر شده و ماده خشک به دست آمد (استاندارد ملی ایران، ۱۷۵۳).

- آزمایش‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری pH ماست با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm, Switzerland) اندازه‌گیری شد (استاندارد ملی ایران، ۲۸۵۲). اسیدیته ماست با روش تیتراسیون (استاندارد ملی ایران، ۲۸۵۲)، چربی با استفاده از روش

- آزمایش‌های میکروبی

برای شمارش بیفیدوباکتریوم لاکتیس از محیط کشت MRS Agar (Merck, Germany) غنی شده به وسیله محلول آبگوشت L-Cysteine hydrochloride (Merck, Germany) monohydrate و آبگوشت Mupirocin selective (Merck, Germany) استفاده شد. پلیت‌های حاصل، تحت شرایط بی‌هوازی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری و سپس با دستگاه کلنی‌کانت (Tokyo, Japan) شمارش گردیدند (استاندارد ملی ایران، ۱۱۳۲۵). برای شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس از محیط کشت MRS Bile Agar (Ibresco, Iran) استفاده شد. پلیت‌های حاصل تحت شرایط هوازی و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری و شمارش شدند (استاندارد ملی ایران، ۱۱۳۲۵). برای شمارش کلی‌فرم‌ها از محیط کشت VRB Agar (Merck, Germany) استفاده شد و پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت قرار داده شدند (استاندارد ملی ایران، ۹۲۶۳). برای جستجو/شریشیا کولای از محیط کشت Lauryl Sulfate Broth (Merck, Germany) استفاده شد. لوله‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و جهت آزمون تکمیلی کشت از محیط کشت‌های EC Broth و Peptone Water (Merck, Germany) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت، استفاده شد (استاندارد ملی ایران، ۲۹۴۶). برای شمارش استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت از محیط کشت Baird Parker Agar غنی شده به وسیله سوسپانسیون تخم‌مرغ تلوریت‌دار (Merck, Germany) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت

استفاده شد و جهت شناسایی کلونی‌های مشکوک، از آزمون کوآگولاز به روش لوله‌ای و با افزودن پلاسمای خرگوش (Merck, Germany) استفاده شد (استاندارد ملی ایران، ۶۸۰۶-۱). هم‌چنین برای شمارش کپک و مخمر از محیط کشت Yeast Extract Dextrose Chloramphenicol Agar (Merck, Germany) استفاده شد. پلیت‌ها در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس برای مدت زمان ۵ روز گرمخانه‌گذاری شدند (استاندارد ملی ایران، ۱۰۱۵۴).

- ارزیابی حسی نمونه‌های

ویژگی‌های حسی ماست از قبیل قوام، طعم، رنگ، ظاهر از نظر یکنواختی، آب انداختن، دانه‌دار نشدن و پذیرش کلی، توسط ۲۰ نفر و با استفاده از آزمون هدونیک ۵ امتیازی، مورد ارزیابی قرار گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

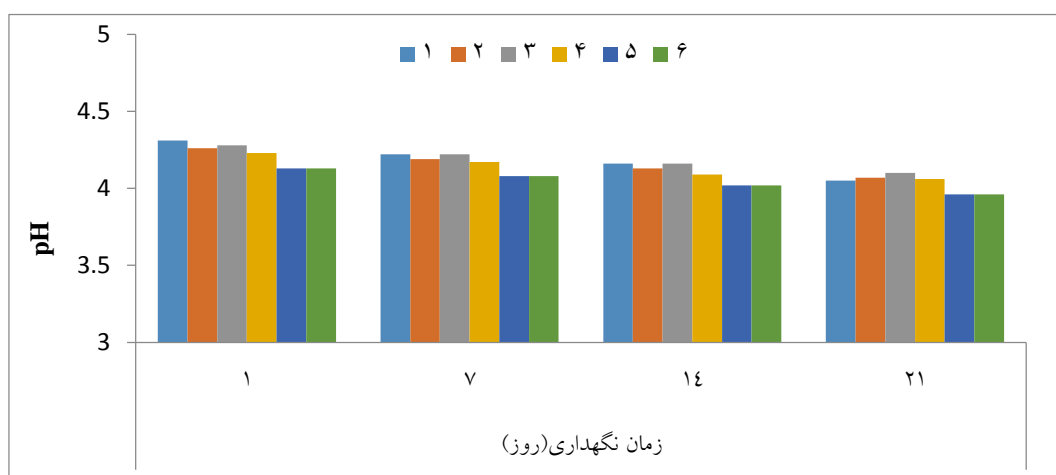
این مطالعه در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. داده‌های به‌دست آمده با نرم‌افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و سطح اختلاف ۱٪ معنی‌دار تلقی گردید. جهت مقایسه میانگین‌های داده‌ها و بررسی اثرات تیمارها از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) استفاده شد.

یافته‌ها

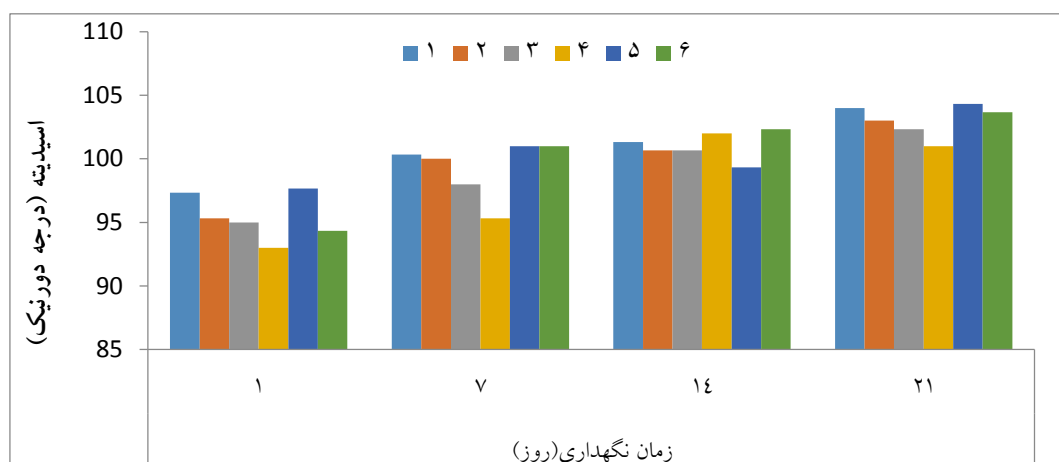
نتایج آزمایش‌های اولیه نمونه شیر نشان داد نمونه‌های شیر از نظر باقی‌مانده آنتی‌بیوتیک منفی بودند. هم‌چنین میزان چربی در نمونه‌های شیر، ۰/۵ و ۱/۵٪ و میزان اسیدیته ۱۵ درجه دورنیک به‌دست آمد. تعداد کلی میکروارگانیسم‌های کلیه نمونه‌های شیر در محدوده مجاز استاندارد ملی قرار داشت.

نکرد ($p > 0.01$). بر اساس یافته‌ها میزان اسیدیته در کلیه نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری افزایش یافت که این افزایش در نمونه‌های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه‌های شاهد معنی‌دار نبود ($p < 0.01$). همچنین فاکتور زمان تأثیر معنی‌داری را در تغییرات اسیدیته ایجاد کرد ($p < 0.01$). متغیر چربی تأثیر معنی‌داری را در تغییرات اسیدیته ایجاد نکرد ($p < 0.01$).

تغییرات pH در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۱) نشان داده شده است. بر اساس یافته‌ها میزان pH در کلیه نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری در سطح معنی‌داری ($p < 0.01$) کاهش یافت که این کاهش در نمونه‌های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه‌های شاهد بیشتر بود. همچنین فاکتور زمان تأثیر معنی‌داری را در تغییرات pH ایجاد کرد ($p < 0.01$). متغیر چربی تأثیر معنی‌داری را در تغییرات pH ایجاد



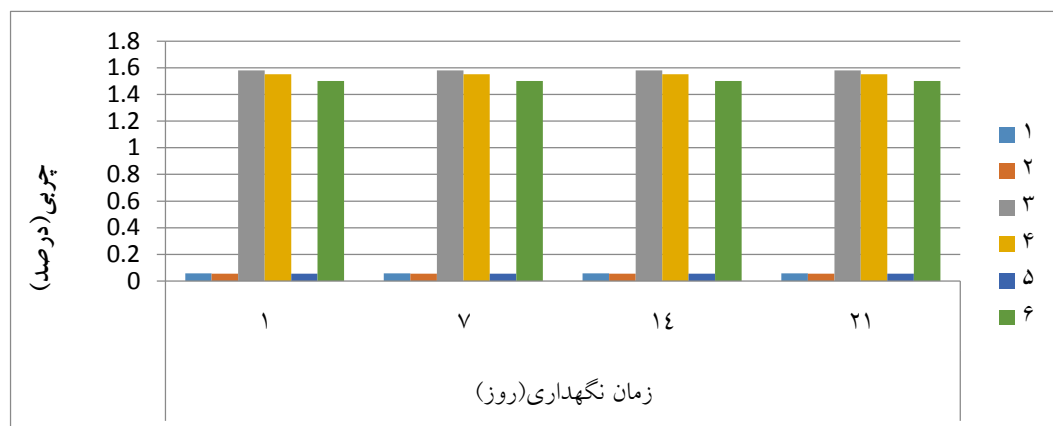
نمودار (۱) - تغییرات pH در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری؛ ۱ تا ۶ شامل نمونه‌های تیمار و شاهد مندرج در جدول (۱) تغییرات اسیدیته در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۲) نشان داده شده است.



نمودار (۲) - تغییرات اسیدیته در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری؛ ۱ تا ۶ شامل نمونه‌های تیمار و شاهد مندرج در جدول (۱)

تغییرات چربی در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۳) نشان داده شده است. براساس یافته‌ها افزایش میزان چربی در نمونه‌های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه‌های شاهد در سطح معنی‌داری نبود ($p > 0.01$). همچنین فاکتور زمان تأثیر معنی‌داری را در تغییرات چربی ایجاد نکرد ($p > 0.01$).

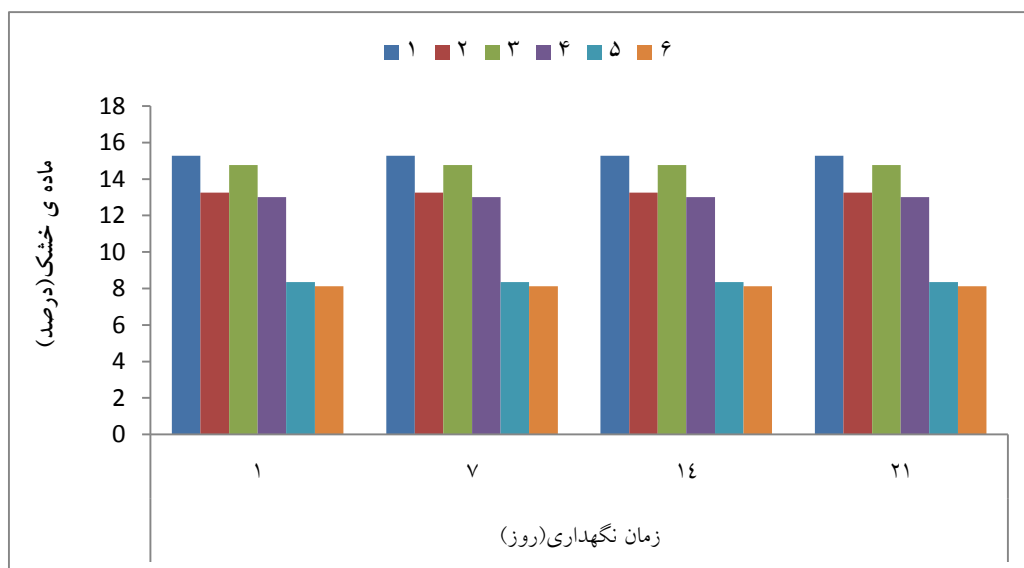
تغییرات ماده خشک در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۴) نشان داده شده است. براساس این یافته‌ها، افزایش میزان ماده خشک در نمونه‌های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه شاهد



نمودار (۳) - تغییرات میزان چربی در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری؛ ۱ تا ۶ شامل نمونه‌های تیمار و شاهد مندرج در جدول (۱)

تغییرات ماده خشک در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۴) نشان داده شده است. براساس این یافته‌ها، افزایش میزان ماده خشک در نمونه‌های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه شاهد

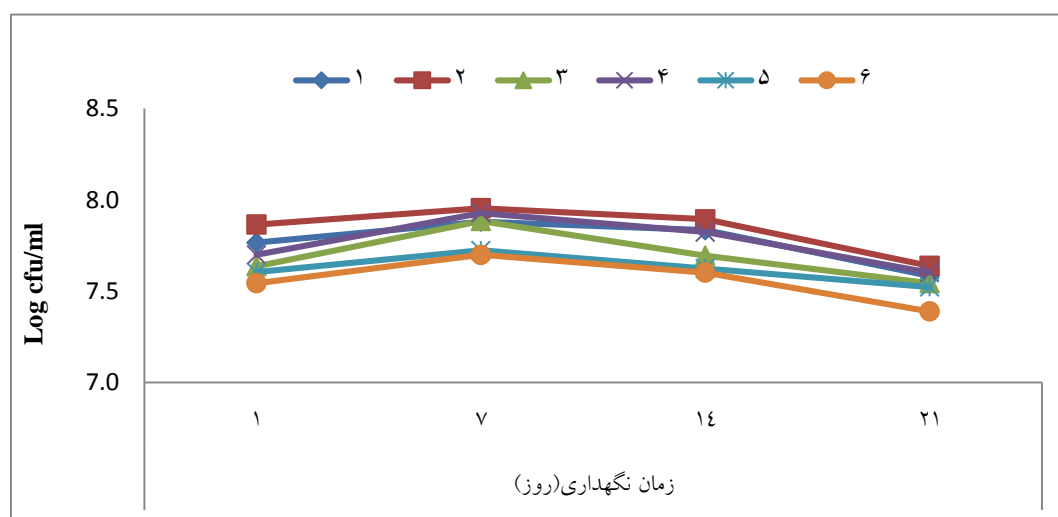
معنی‌دار بود ($p < 0.01$). همچنین فاکتور زمان تأثیر معنی‌داری را در تغییرات ماده خشک ایجاد نکرد ($p > 0.01$). متغیر چربی نیز تأثیر معنی‌داری را در تغییرات ماده خشک ایجاد نکرد ($p > 0.01$).



نمودار (۴) - تغییرات میزان ماده خشک در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری

در کلیه نمونه‌های ماست تعداد کلی فرم،/شریشیا کولای، استافیلوکوکوس اورئوس کوآگولاز مثبت و هم‌چنین کپک و مخمر منفی گزارش شد. تغییرات میزان رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های مختلف ماست طی دوره نگهداری در نمودار (۵ و ۶) نشان داده شده است. براساس این یافته‌ها بطور کلی میزان رشد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه‌های ماست، بالاتر از میزان رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ارزیابی شد. براساس داده‌های نمودار (۵)، بین نمونه‌های ماست حاوی پودر کاکائو و نمونه‌های شاهد، تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد ($p < 0.01$) به طوری که تعداد این پروبیوتیک در نمونه‌های ماست حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه‌های شاهد بیشتر بود و این افزایش در سطح معنی‌داری بود

($p < 0.01$). در رابطه با روند تغییرات قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، در تمام نمونه‌های ماست کاکائو و ماست شاهد طی دوره نگهداری، قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تا روز هفتم افزایش یافت و سپس تا روز بیست و یکم کاهش یافت. بیشترین کمترین قابلیت زیستی به ترتیب در روزهای هفتم و بیست و یکم مشاهده شد. بنابراین با افزایش زمان انبارداری، قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کمتر شد. با این وجود میزان این پروبیوتیک در کل محصولات در محدوده یاد شده بوده و هیچگاه از ۱۰ میلیون در هر گرم پایین‌تر نیامد.

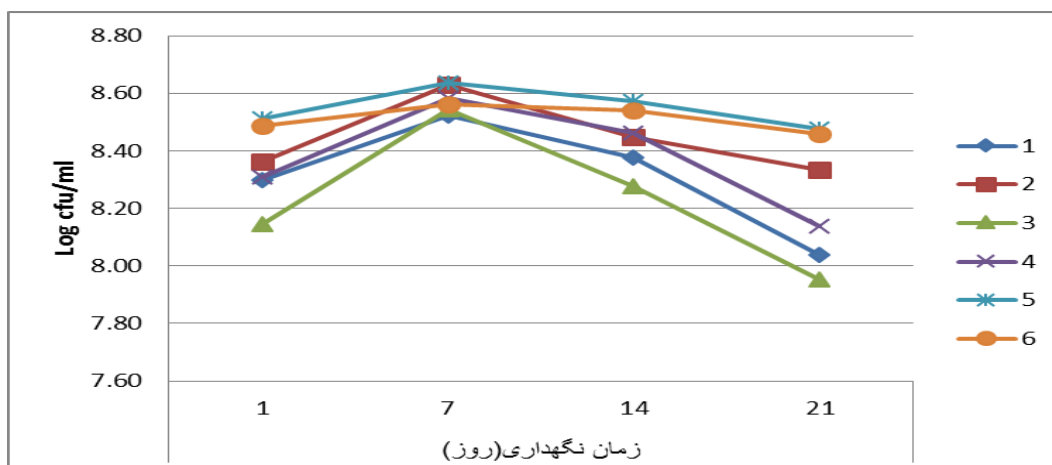


نمودار (۵) - تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری

کاکائو، تفاوت معنی‌داری از نظر تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده نشد ($p > 0.01$) و رشد این باکتری

همان‌طور که در نمودار (۶) نشان داده شده است بین ماست‌های کاکائو و نمونه‌های ماست شاهد فاقد

نمونه‌های شاهد بهتر بود. بهترین نمونه از نظر تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس، نمونه شماره ۵ برآورد شد.



نمودار (۶) - تغییرات تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه‌های ماست طی دوره نگهداری

لاکتیس نسبت به لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بیشتر بود و این افزایش معنی‌دار بود ($p < 0.01$). با این حال میزان هر دو باکتری پروبیوتیک در کل محصولات در محدوده یاد شده بوده و هیچگاه از ۷ واح دلگاریتمی در هر گرم پائین‌تر نیامد. هم‌چنین نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تعداد پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه‌های ماست دارای ۰/۵ درصد چربی بیشتر است. ارزیابی حسی در نمونه‌های مختلف ماست در نمودار (۷) نشان داده شده است. بر اساس این یافته‌ها نمونه‌های شاهد نسبت به نمونه‌های حاوی کاکائو از خواص حسی بالاتری برخوردار بودند ($p < 0.01$). در بین نمونه‌های ماست حاوی کاکائو، نمونه شماره حاوی ۰/۵٪ چربی، ۰/۸٪ کاکائو و ۰/۵٪ شکر (نمونه شماره ۲) از ویژگی‌های حسی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار بود، هر چند تفاوت امتیازات حاصل از ارزیابی این نوع ماست با سایر نمونه‌های حاوی کاکائو، معنی‌دار نبود ($p > 0.01$).

در رابطه با روند تغییرات قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، در تمام نمونه‌های ماست کاکائو و ماست شاهد طی دوره نگهداری، قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم لاکتیس تا روز ۷ افزایش یافت و سپس تا روز ۲۱ کاهش یافت. بیشترین و کمترین قابلیت زیستی به ترتیب در روزهای ۷ و ۲۱ مشاهده شد. بنابراین با افزایش زمان انبارداری، قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس کمتر شد. با این وجود میزان این پروبیوتیک در کل محصولات در محدوده یاد شده بوده و هیچگاه از ۷ واحد دلگاریتمی در هر گرم پایین‌تر نیامد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان انبارداری، قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها کمتر شد و این کاهش در ارتباط با قابلیت زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم لاکتیس بیشتر از لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بود. بنابراین تأثیر زمان نگهداری در کاهش قابلیت زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم

جدول (۲) - میانگین نمرات حاصل از آزمون ارزیابی حسی نمونه‌های ماست

ترکیبات ماست	زمان نگهداری (روز)	آب اندازی	یکنواختی بافت	قوام	طعم	رنگ	پذیرش کلی
	۱	۲/۸۱±۰/۹۷ ^a	۳/۱۸±۰/۹۶ ^a	۲/۸۱±۰/۹۶ ^a	۲/۳۰±۱/۰۳ ^a	۳/۰۲±۱/۱۱ ^a	۲/۷۷±۰/۷۸ ^a
۰/۰۵٪ چربی، ۷٪ شکر	۷	۲/۷۸±۰/۸۸ ^a	۳/۱۸±۰/۸۶ ^a	۲/۹۱±۰/۹۴ ^a	۲/۳۴±۰/۹۹ ^a	۳/۰۰±۱/۰۶ ^a	۲/۷۵±۰/۷۹ ^a
۰/۱۲٪ پودر کاکائو	۱۴	۲/۷۴±۰/۸۷ ^a	۳/۰۵±۰/۸۵ ^a	۲/۸۴±۰/۹۵ ^a	۲/۳۴±۰/۹۳ ^a	۲/۹۸±۰/۹۹ ^a	۲/۷۱±۰/۶۸ ^a
	۲۱	۲/۷۷±۰/۷۹ ^a	۳/۰۸±۰/۷۶ ^a	۲/۸۸±۰/۸۳ ^a	۲/۳۱±۰/۹۵ ^a	۲/۹۶±۱/۰۰ ^a	۲/۷۰±۰/۷۲ ^a
	۱	۳/۰۸±۰/۸۷ ^a	۳/۱۱±۰/۸۵ ^a	۳/۱۰±۰/۸۰ ^a	۲/۴۸±۳/۱۴ ^a	۲/۸۸±۱/۰۳ ^a	۳/۱۱±۰/۶۸ ^a
۰/۰۵٪ چربی، ۵٪ شکر	۷	۳/۰۷±۰/۷۹ ^a	۳/۲۰±۰/۷۷ ^a	۳/۱۷±۰/۸۲ ^a	۲/۴۷±۱/۱۴ ^a	۲/۹۰±۰/۹۱ ^a	۳/۰۲±۰/۷۳ ^a
۰/۰۸٪ پودر کاکائو	۱۴	۲/۹۴±۰/۹۱ ^a	۳/۱۶±۰/۷۶ ^a	۳/۰۸±۰/۸۷ ^a	۲/۵۱±۱/۰۸ ^a	۲/۹۰±۰/۹۰ ^a	۲/۹۳±۰/۷۶ ^a
	۲۱	۳/۰۰±۰/۸۲ ^a	۳/۲۰±۰/۷۵ ^a	۳/۱۱±۰/۷۷ ^a	۲/۵۳±۱/۰۶ ^a	۲/۹۱±۰/۹۱ ^a	۲/۹۱±۰/۷۷ ^a
	۱	۳/۷۶±۰/۹۹ ^b	۳/۹۶±۰/۹۳ ^b	۳/۷۷±۰/۸۴ ^b	۳/۸۴±۰/۸۵ ^b	۳/۹۶±۰/۹۵ ^b	۴/۰۸±۰/۷۱ ^b
۰/۰۵٪ چربی، فاقد شکر و پودر کاکائو	۷	۳/۷۸±۰/۹۰ ^b	۳/۹۱±۰/۹۲ ^b	۳/۸۱±۰/۸۷ ^b	۳/۷۳±۰/۹۰ ^b	۳/۹۶±۰/۹۱ ^b	۴/۰۵±۰/۷۲ ^b
	۱۴	۳/۸۲±۰/۸۲ ^b	۳/۹۴±۰/۷۵ ^b	۳/۸۰±۰/۸۸ ^b	۳/۹۰±۰/۸۰ ^b	۴/۰۷±۰/۸۹ ^b	۴/۰۴±۰/۶۸ ^b
	۲۱	۳/۸۵±۰/۷۹ ^b	۳/۹۴±۰/۷۴ ^b	۳/۸۱±۰/۸۴ ^b	۳/۸۸±۰/۷۵ ^b	۴/۰۷±۰/۸۶ ^b	۳/۹۱±۰/۶۶ ^b
۰/۱۰٪ چربی، ۷٪ شکر	۱	۲/۸۷±۰/۹۷ ^a	۳/۰۸±۰/۸۶ ^a	۴/۰۲±۶/۱۶ ^a	۲/۴۲±۱/۰۳ ^a	۲/۷۵±۰/۹۲ ^a	۲/۸۰±۰/۷۷ ^a
۰/۱۲٪ پودر کاکائو	۷	۲/۹۰±۰/۹۲ ^a	۳/۲۴±۰/۸۳ ^a	۳/۱۵±۰/۹۵ ^a	۲/۴۵±۱/۰۳ ^a	۲/۷۵±۰/۹۲ ^a	۲/۷۶±۰/۷۹ ^a
	۱۴	۲/۹۵±۰/۸۵ ^a	۳/۰۸±۰/۷۴ ^a	۳/۲۰±۰/۹۲ ^a	۲/۴۳±۰/۸۷ ^a	۲/۶۵±۰/۸۷ ^a	۲/۶۵±۰/۷۵ ^a
	۲۱	۲/۹۲±۰/۸۳ ^a	۳/۱۳±۰/۷۶ ^a	۳/۲۱±۰/۸۴ ^a	۲/۳۵±۰/۹۴ ^a	۲/۶۳±۰/۸۸ ^a	۲/۵۳±۰/۷۴ ^a
۰/۱۰٪ چربی، ۵٪ شکر	۱	۳/۰۱±۱/۰۳ ^a	۳/۱۶±۰/۹۸ ^a	۳/۲۳±۱/۰ ^a	۲/۲۶±۱/۰۰ ^a	۲/۶۳±۰/۷۹ ^a	۲/۸۶±۰/۸۲ ^a
۰/۰۸٪ پودر کاکائو	۷	۳/۰۶±۰/۹۵ ^a	۳/۳۳±۰/۸۷ ^a	۳/۳۱±۰/۹۶ ^a	۲/۲۷±۱/۰۱ ^a	۲/۶۰±۰/۸۸ ^a	۲/۸۵±۰/۸۲ ^a
	۱۴	۳/۰۷±۰/۹۲ ^a	۳/۲۴±۰/۸۳ ^a	۳/۳۴±۰/۹۰ ^a	۲/۳۱±۱/۰۳ ^a	۲/۵۶±۰/۸۸ ^a	۲/۷۶±۰/۸۲ ^a
	۲۱	۳/۰۶±۰/۸۶ ^a	۳/۲۲±۰/۸۵ ^a	۳/۳۰±۰/۹۰ ^a	۲/۳۴±۱/۰۸ ^a	۲/۵۸±۰/۹۶ ^a	۲/۶۸±۰/۸۶ ^a
۰/۱۰٪ چربی، فاقد شکر و پودر کاکائو	۱	۳/۹۰±۰/۹۴ ^b	۳/۹۳±۰/۹۰ ^b	۳/۸۱±۰/۹۰ ^b	۳/۷۷±۰/۸۹ ^b	۴/۱۷±۰/۸۱ ^b	۳/۹۶±۰/۷۹ ^b
	۷	۳/۹۳±۰/۸۸ ^b	۳/۹۴±۰/۸۱ ^b	۳/۸۸±۰/۸۷ ^b	۳/۸۸±۰/۸۴ ^b	۴/۲۳±۰/۷۶ ^b	۴/۰۸±۰/۸۱ ^b
	۱۴	۳/۹۶±۰/۸۲ ^b	۳/۹۰±۰/۷۱ ^b	۳/۸۸±۰/۷۹ ^b	۴/۰۷±۰/۷۲ ^b	۴/۲۳±۰/۷۳ ^b	۴/۰۳±۰/۶۸ ^b
	۲۱	۳/۹۰±۰/۸۸ ^b	۳/۹۲±۰/۷۳ ^b	۳/۹۵±۰/۸۴ ^b	۴/۰۰±۰/۸۳ ^b	۴/۱۸±۰/۷۷ ^b	۴/۱۲±۰/۶۷ ^b

اعداد میانگین سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشد.

مقادیری که در هر ستون با حروف کوچک متفاوت نشان داده شده است، به طور معنی داری با یکدیگر تفاوت دارند ($p < 0/01$).

مقادیری که در هر ردیف با حروف کوچک متفاوت نشان داده شده است، به طور معنی داری با یکدیگر تفاوت دارند ($p < 0/01$).

بحث و نتیجه گیری

در این پژوهش در طی دوره نگهداری pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته را می توان فعالیت باکتری های لاکتیکی و تولید اسید دانست. این نتایج با یافته های مادهو و همکاران (Madhu et al., 2012) مطابقت داشت. همچنین نتایج نشان دهنده رشد بیشتر بیفیدوباکتریوم لاکتیس نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود که احتمالاً به دلیل افزایش غلظت اسیداستیک تولید شده نسبت به اسیدلاکتیک می باشد که موجب کاهش رشد سویه های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شده است (Donkar et al., 2007). تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه های شاهد بیشتر بود که به دلیل افزودن پودر کاکائو و خاصیت پری بیوتیک آن است. تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه های حاوی پودر کاکائو نسبت به نمونه شاهد کمتر برآورد شد که نشان دهنده عدم تأثیر پودر کاکائو در افزایش تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس در نمونه های ماست می باشد. قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت. علت آن را می توان کاهش ترکیبات مغذی و پری بیوتیکی محیط و همچنین کاهش pH ماست دانست. این یافته ها با نتایج مطالعه آلکالین و همکاران

(Alkalin et al., 2004) مطابقت داشت. کاهش معنی دار در تعداد بیفیدوباکتریوم لاکتیس نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با گذشت زمان نگهداری مشاهده شد که علت آن می تواند افزایش اثر کشندگی افزایش اسیدیته بر باکتری بیفیدوباکتریوم لاکتیس نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باشد که با یافته های شاه و همکاران (Shah et al., 2000) مطابقت دارد. همچنین ماتو و همکاران بیان نمودند که ویژگی های بیفیدوباکتریوم ها از نظر تحمل نسبت به اسید و اکسیژن وابسته به سوش است و ارتباطی با گونه میکروب ندارد و مطلوب سازی شرایط کشت میکروب برای بقا و زنده ماندن آن ضروری است تا بتوان محصولات پروبیوتیکی پایدارتری به دست آورد (Matto et al., 2004).

نمونه های حاوی پودر کاکائو از خواص حسی کمتری برخوردار بودند که عدم مقبولیت می تواند به دلیل فرمولاسیون محصول تولید شده و همچنین خصوصیات ذائقه ای ارزیابان شرکت کننده در آزمون باشد، بنابراین با کمی تغییر در فرمولاسیون می توان به نتیجه مطلوبی دست یافت که امکان آن در پژوهش حاضر به دلیل محدودیت های موجود، میسر نبود. لذا پیشنهاد می گردد به منظور دستیابی به خواص حسی مطلوب تر، تغییراتی در فرمولاسیون محصول ایجاد گردد.

منابع

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۷). ماست پروبیوتیک - ویژگی ها و روش آزمون. استاندارد شماره ۱۱۳۲۵.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۷). ماست - ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد شماره ۶۹۵.

- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۶). شیر و فرآورده‌های آن - شمارش واحدهای تشکیل دهنده کلی کپک و یا مخمر- شمارش کلی در پلیت در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد. استاندارد شماره ۱۰۱۵۴.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۶). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام-روش جامع برای شمارش کلی فرم‌ها - روش شمارش کلی. استاندارد شماره ۹۲۶۳.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۵). شیر و فرآورده‌های آن-تعیین اسیدیته و pH. استاندارد شماره ۲۸۵۲.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۴). روش جستجو و شمارش اشرشیا کلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی. استاندارد شماره ۲۹۴۶.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۴). میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- شمارش استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت (استافیلوکوکوس /رئوس و سایر گونه‌ها) - روش آزمون، قسمت اول، روش استفاده از محیط کشت برد - پارکر آگار. استاندارد شماره ۶۸۰۶-۱.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۳). شیر و فرآورده‌های آن - شیر خام- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد شماره ۱۶۴.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۱). پنیر و پنیرهای فرآیند شده - تعیین مقدار ماده خشک کل (روش مرجع) - روش آزمون (تجدیدنظر). استاندارد شماره ۱۷۵۳.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۸۱). شیر و فرآورده‌های آن - روش شمارش کلی پرگنه‌های میکروارگانیسم‌ها در ۳۰درجه سلسیوس. استاندارد شماره ۵۴۸۴.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران (۱۳۷۰). اندازه‌گیری چربی شیر. استاندارد شماره ۳۶۶.
- Akalın, A.S., Unal, G., Dinkci, N., and Hayaloglu, A.A. (2012). Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. *Journal of Dairy Science*, 95: 3617–3628.
- Akin, M.B., Akin, M.S., and Kırmacı, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*, 104: 93–99.
- Dols, J.A.M., Boon, M.E., Monachese, M., Chagalucha, J., Butamanya, N., Varriano, S., Vihant, O., Hullege, Y., van Tienen, A., Hummelen, R., and Reid, G. (2011). The impact of probiotic yogurt on HIV positive women in Tanzania. *International Dairy Journal*, 21: 575–577.
- Donkar, 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 yogurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 16: 1181–1189.
- Erdem, O., Gultekin-ozguven, M., Berktaş, I., Ersan, s., Tuna, H.E., Karadağ, A., and Ozcelik, B. (2013). Development of a Novel Synbiotic Dark Chocolate Enriched with *Bacillus indicus* HU36, Maltodextrin and Lemon Fiber: Optimization by Response Surface Methodology. *Food Science and Technology*. 56 (1): 187–193.
- Farnworth, E.R., Mainville, I., Desjardins, M.P., Gardner, N., Fliss, I., and Champagne, C. (2007). Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation. *International Journal of Food Microbiology*, 116: 174–181.

-
- Hoppert, K., Zahn, S., Jänecke, L., Mai, R., Hoffmann, S., and Rohm, H. (2013). Consumer acceptance of regular and reduced-sugar yogurt enriched with different types of dietary fiber. *International Dairy Journal*, 28: 1–7.
 - Irkin, R., and Guldaz, M. (2011). Evaluation of cacao-pudding as a probiotic food carrier and sensory acceptability properties. *Acta agriculturae Slovenica*, 97: 223-232.
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2008). Probiotic yogurt - Characteristics and test methods. Standard No. 11325. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2008). Yoghurt-Characteristics and test methods. Standard No. 695. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2007). Milk and dairy products - Enumeration of colony forming units mold or yeast - colony count at 25 ° C in the plate. Standard No. 10154. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs - Comprehensive method for counting coliforms - colony count method - national standard of 9263. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2006). Determination of acidity titratable and potentiometric ph in milk and milk products, 1st Edition, Standard No. 2852. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2005). Detection and enumeration of presumptive *Escherichia coli* in foods - most probable number technique, 1st Revision, 3rd Edition, Standard No. 2946. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2005). Microbiology of food and animal feeding stuffs - enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Test Method, Part I, using medium-range Culture medium Bard - Parker agar. Standard No. 1-6806. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2004). Milk and dairy products - raw milk specifications and test methods. Standard No. 164. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2002). Cheese and processed cheese - Determination of total dry matter (Reference method) - Test Method (revised). Standard No. 1753. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (2002). Milk and dairy products - total count of colonies of microorganisms at 30 degrees Celsius. Standard No. 5484. [in Persian]
 - Institute of Standards and Industrial Research of Iran (1991). Measurement Milk fat. Standard No. 366. [in Persian]
 - Jayeola, C. O., Yahaya, L. E., and Igbinalolor, R. O. (2010). Cocoa powder supplementation in yoghurt production. *Journal of Food Technology*, 3: 82-85.
 - Lollo P.C.B., de Moura, C.S., Morato, P.N., Cruz, A.G., and Castro, W.F. (2013). Corrigendum to “Probiotic yogurt offers higher immune-protection than probiotic whey beverage. *Food Research International*, 54: 923.
 - Madhu, A.N., Amrutha, N., and Prapulla, S.G. (2012). Characterization and antioxidant property of probiotic and synbiotic yogurts. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 4: 90-97.
 - Marafon A.P., Sumi, A., Granato, D., Alcântara, M.R., Tamime, A.Y., and Nogueira de Oliveira, M. (2011). Effects of partially replacing skimmed milk powder with dairy ingredients on rheology, sensory profiling, and microstructure of probiotic stirred-type yogurt during cold storage. *Journal of Dairy Science*, 94: 5330–5340.
 - Matto, J., Malinen, E., Suihko, M. L., Alander, M., Palva, A. and Saarela, M. (2004). Genetic heterogeneity and technological properties of intestinal bifidobacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 97: 459–470.
 - Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., and Van de Wiele, T. (2010). Bacteria and chocolate, A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*, 141: 97–103.

-
- Ricci, G., Borgo, F., Ferrario, C., and Fortina, M. G. (2011). Cocoa powder as delivery medium for probiotic Lactobacillus strains. *Advances in Microbiology*, 1: 1-6.
 - Rokka, S., and Rantamäki, P. (2010). Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. *European Food Research and Technology*, 231: 1-12.
 - Shah, N.P.(2000). Symposium: prodiotic bacteria selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83: 894-907.
 - Soukoulis, C., Lyroni, E., and Tzia, C. (2010). Sensory profiling and hedonic judgement of probiotic ice cream as a function of hydrocolloids, yogurt and milk fat content. *Food Science and Technology*, 43: 1351–1358.

Possibility of the production of probiotic chocolate yogurt

„

Sharifi Soltani, M.¹, Karim, G.^{2*}, Pourahmad, R.³

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Professor, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran,

*Corresponding author email: gkarim@ut.ac.ir
(Received: 2015/2/25 Accepted: 2016/6/12)

Abstract

The aim of study was to produce a low-fat cacao containing probiotic yogurt. For this reason a combination of probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* (3% w/w) together with 0.8% cacao powder, 5% sugar as a well as 1.2% cacao powder with 7% sugar were used to produce a synbiotic yogurt (0.5% and 1.5% fat). Populations of probiotics bacteria, physiochemical and sensory properties of the yogurt samples were evaluated throughout the storage period (1, 7, 14, and 21 days). Result showed that cacao as prebiotic could significantly increase the viability of *L. acidophilus* ($P < 0.01$); besides no significant difference was observed between the populations of *B. lactis* in the chocolate yogurt and control samples. The highest quantity of the probiotic bacteria was observed at day 7, followed by a decrease in their number; however their populations remained above 7 log cfu/g. Moreover, pH value of the samples decreased over the time of storage, but pH value of the cacao-containing samples increased significantly ($P < 0.01$). In comparison with the control group, no significant increase was recorded in the lipid content of the samples with cacao and sugar, meanwhile the amount of dry matter was higher than control samples ($P < 0.01$). It could be concluded that apart from the prebiotic properties of cacao on *L. acidophilus*, it can improve the nutritional value of probiotic yogurt and increases the calorie of the product. However for achieving better sensory properties, changes should be considered in the formulation.

Keyword: probiotic yogurt, cacao powder, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*