تحقیقات مهندسی صنایع غذایی/جلد ۲۰/ شماره ۷۱/پاییز و زمستان ۱۴۰۰/ص ۱۶-۱
سایت مجله: https://fooder.areeo.ac.ir

نوع مقاله: علمی-پژوهشی

تولید شیرکاکائو پروبیوتیک غنی‌شده با ویتامین D و بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

سنا پورسلیمانی[۱]، شیلا برنجی[۲*]، لیلا ناطقی[۳] و فاطمه زارعی[۴]

۱، ۲ و ۳- به ترتیب: کارشناس ارشد؛ استادیار؛ و دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین-پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۴-دکترای علوم و صنایع غذایی، سازمان غذا و دارو، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۱۳۹۷/۱۲/۸ ؛ تاریخ پذیرش:۱۴۰۰/۲/۱۱

چکیده

فراورده‌های لبنی با توجه به مصرف روزانه بالا در بین مردم به عنوان یک حامل ترکیبات سودمند و مواد پروبیوتیک می‌تواند نخستین گزینه در جهت غنی‌سازی به شمار آید. در این مطالعه، تولید فرآورده‌ای فراسودمند دارای ویتامین D_3 از شیرکاکائو در چهار سطح (۰ IU، ۳۰۰ IU، ۴۰۰ IU، ۵۰۰ و ۶۰۰ IU) همراه با باکتری‌های آغازگر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (10^8 CFU/ml) بررسی شد. نتایج به دست آمده نشان داد استفاده از ویتامین D_3 حتی در غلظت ۶۰۰ IU اثر معنی‌داری($p> 0.05$) روی رشد میکروبی تیمارهای شیرکاکائو ندارد. نتایج بررسی‌ها همچنین نشان داد طی دورهٔ نگهداری، میزان pH کاهش و اسیدیته افزایش ($p\leq 0.05$) می‌یابد. سایر شاخص‌های فیزیکوشیمیایی مانند مادهٔ خشک و میزان چربی (گرم در ۱۰۰ گرم) تیمارها تغییر معنی‌داری ($p\leq 0.05$) نشان نداد. با این حال، ویسکوزیتهٔ تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک در روز دهم به ۸/۴۶ میلی‌پاسکال ثانیه رسید. حساسیت به اکسیداسیون تیمارها نیز به دلیل میزان بالای اسیدهای چرب اشباع شیر، تغییر معنی‌داری ($p\leq 0.05$) از خود نشان نداد فقط، تیمارهای پروبیوتیک در روز دهم، میزان اندیس پراکسید بالاتری داشتند. نتایج ارزیابی حسی نشان می‌دهد غنی‌سازی تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک با ویتامین D_3 تأثیر معنی‌دار ندارد. با توجه به برآیند آزمون‌های اجراشده روی تیمارهای شیرکاکائو، تولید شیرکاکائوی پروبیوتیک غنی‌شده با ویتامین D_3 به میزان ۶۰۰ IU به عنوان تیمار برتر معرفی گردید.

واژه‌های کلیدی

شیرکاکائو، ویتامین D3، پروبیوتیک، اکسیداسیون، فراسودمند

مقدمه

امروزه نه‌تنها تأمین مواد مغذی و نیازهای پروتئینی، ویتامینی، کالریک و مواد معدنی اهمیت دارد، بلکه جنبه‌های دارویی (پیشگیری‌کننده و درمانی) مواد غذایی نیز مورد توجه است. این موضوع سبب افزایش پذیرش و مصرف غذاهای فراسودمند شده است. طی سه دههٔ گذشته بیشتر فرآورده‌های فراسودمند از شیر و مشتقات آن فرآوری شده است. در سراسر جهان، فرآورده‌های لبنی به‌طور مؤثری با پروبیوتیک‌ها پیوند یافته‌اند و

* نگارنده مسئول: Email: Shila135071@yahoo.com

http://doi: 10.22092/fooder.2022.125485.1205

© 2021,The Author(s). Published by Agricultural Engineering Research Institute. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک بزرگ‌ترین بازار غذاهای فراسودمند را در بر می‌گیرد. بر همین اساس، مطالعات زیادی در زمینهٔ کاربرد و تولید پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی گوناگون صورت گرفته و در پژوهش‌های گوناگون میزان زنده‌مانی و اثرگذاری آنها بر فلور میکروبی سیستم گوارشی انسان بررسی شده است (Mazza *et al.*, 2016). شیرهای تخمیری طعم‌دار پروبیوتیک، به دلیل تنوع در خواص حسی، مصرف روزافزون و ارزش تغذیه‌ای مطلوب، امروزه برای استفاده به‌عنوان حامل میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، مورد توجه قرارگرفته‌اند. شیرکاکائو مطلوب‌ترین شیر طعم‌دار است که در مقیاس جهانی در زمره پرطرفدارترین و پرمصرف‌ترین محصولات لبنی غیر تخمیری قرار دارد. بنابراین، در صورت استفاده از آن به‌عنوان حامل میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک می‌توان این محصول را در سطح گسترده‌تری تولید و مصرف کرد (Levine, 2001). اگر چه ویتامینD، به‌عنوان یکی از ریزمغذی‌ها، برای رشد مناسب استخوان‌ها لازم است و نقش اساسی در تنظیم کلسیم سرمی و غلظت فسفر در بدن دارد، اصولاً به‌عنوان یک ماده مغذی ضروری در بدن طبقه‌بندی نمی‌شود زیرا این ویتامین در اثر تابش خورشیدی در پوست ساخته می‌شود. با این حال، در عرض‌های جغرافیایی بالاتر از ۴۰ درجه شمالی یا زیر ۴۰ درجه جنوبی، برای چند ماه از سال هیچ ویتامین D در پوست تولید نمی‌شود و برای جلوگیری از کمبود، مکمل ویتامین D نیاز خواهد بود.

دو فرم مهم برای انسان‌ها یکی ویتامین D_2 و دیگری ویتامینD_3 است که اولی توسط گیاهان و دیگری در پوست بدن انسان (در برابر نور آفتاب) ساخته می‌شود. خوراکی‌ها معمولاً با ویتامین D_2 یا D_3 غنی می‌شوند (Black *et al.*, 2012). مهم‌ترین مادهٔ غذایی که به کمک آن می‌توان غنی‌سازی کرد، لبنیات و ازجمله ماست، پنیر و شیر است. برای مثال، در یک تحقیق طولانی‌مدت (به مدت ۲۴ ماه)، معلوم شد افرادی که شیر غنی‌شده دریافت کرده‌اند، میزان پذیرندهٔ این ویتامین یعنی 25(OH) D، در بدن آنها افزایش یافته است (Calvo *et al.*, 2004). اما در زمینهٔ تولید شیرکاکائوی فراسودمند و دارای پروبیوتیک‌ها تحقیقات متعددی اجرا شده است. روحی و همکاران (Rohi *et al.*, 2016) به الگوی تخمیر قند ساکارز و D- تاگاتوز توسط سوش‌های مختلف پروبیوتیک و اثر آن روی خواص فیزیکی شیرکاکائو اشاره کرده‌اند. در این پژوهش اثر متغیرهای نسبت قند ساکارز به تاگاتوز و نوع کشت پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدیوم لاکتیس*) بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک، درصد قند باقیمانده، و رنگ شیرکاکائوی سین-بیوتیک طی ۱۰ روز نگهداری سرد در دمای یخچال بررسی شد. تیمارهای بدون تلقیح پروبیوتیک به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. یافته‌های این پژوهش نشان داد در پایان دورهٔ نگهداری سرد همهٔ تیمارها دارای قابلیت زیستی مناسبی (log CFU/ml ۷) هستند. با این همه، بیشترین قابلیت زیستی در پایان دورهٔ نگهداری سرد مربوط به تیمارهایR-T (تیمار دارای قندD -تاگاتوز و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) بود. همچنین مشخص شد که هر دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به ترتیب تمایل بیشتری به مصرف قندهای D-تاگاتوز، لاکتوز و ساکارز دارند. با وجود این، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به ترتیب D-تاگاتوز، ساکارز و لاکتوز را بیشتر تخمیر کرد و این ترتیب

برای *بیفیدیوم الکتیس* به ترتیب ساکارز، لاکتوز و D-تاگاتوز بود و حتی باعث کاهش معناداری در مقدار قند تاگاتوز نشد. در پژوهش دیگر ، صدق‌دار و همکاران (Sadaghdar *et al.*, 2012) زنده‌مانی و فعالیت ۵ گونهٔ پروبیوتیک از باکتری‌های لاکتوباسیلوس شامل *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، *لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در دو نوع شیر تخمیری طعم داده شده بررسی کردند. در بین سویه‌های باکتریایی به کار رفته، *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشترین میزان زنده‌مانی را در بازهٔ ۲۱ روزهٔ نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس نشان داد، در حالی که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* پایین‌ترین میزان زنده‌مانی را داشته است. همچنین، در اثر افزودن عصارهٔ توت فرنگی میزان سلول‌های باکتریایی شمارش شده بسیار کمتر از مقادیر به دست‌آمده در اثر افزودن عصارهٔ هلو به شیر تخمیری به دست آمد؛ بر همین اساس، شیر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس کازئی* و دارای عصارهٔ هلو به‌عنوان فرآوردهٔ مطلوب برگزیده شد.

پنگ و همکاران (Peng *et al.*, 2015) اثر متابولیت‌های تولیدشده توسط باکتری‌های پروبیوتیک در شیر دارای پودر کاکائو را بررسی کردند. تحریک رشد باکتری‌های مفید موجود در شیر مانند لاکتوباسیلوس‌ها و دیگر باکتری‌های مقاوم موجود در شیر در غلظت ۳ درصد از کاکائو در شیر مشاهده شد. در مدت‌زمان ۹ ساعت از انکوباسیون، رشد باکتری‌ها متوقف شد و تحریک رشدی در مدت‌زمان بالاتر انکوباسیون مشاهده نشد. این نتایج می رساند که افزودن کاکائو در محصولات لبنی، با توجه به رشد نیافتن باکتری‌های پاتوژن موجود در شیر و با توجه به تحریک رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، به بهبود تأثیر پروبیوتیک‌ها می‌انجامد. در پژوهشی دیگر در این زمینه، لاریجانی و همکاران (Larijani *et al.*, 2004)، اثربخشی شیر غنی‌شده با ویتامین D را در بالا بردن میزان سرمی این ویتامین بررسی کردند. مطالعات اخیر در ایران نشان دهندهٔ شیوع بالای کمبود ویتامین D است. با توجه به فقر غذایی از نظر این ویتامین، غنی‌سازی در اولویت برنامه‌های مقابله با کمبود ویتامین D قرار می‌گیرد. از این رو این مطالعه به‌منظور بررسی اثربخشی این غنی‌سازی و انتقال تکنولوژی متناسب با نیازهای جامعه صورت پذیرفته است. هدف از تحقیق حاضر تولید شیرکاکائو پروبیوتیک غنی‌شده با ویتامین D و اثر آن بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* است.

مواد و روش‌ها

شیر کامل بز (چربی ۲/۵ درصد، pH= ۶/۶-۶/۷، دانسیته ۱۰/۲۸۰-۱۰/۰۳۰، پروتئین ۳/۹ درصد، مادهٔ خشک ۱۳/۰۴ درصد، اسیدیته ۰/۱۳ درصد بر حسب اسید لاکتیک) از شرکت کاله ایران، استارتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ساخت شرکت* Natural Factors، کانادا، کاپا-کاراگینان و ویتامین D3 از شرکت ایساتیس، ایران، تهیه شد.

فرآیند تولید شیرکاکائوی پروبیوتیک غنی شده با ویتامین D_3

به منظور تولید شیرکاکائوی غنی شده طبق پژوهش (Hanson & Metzger, 2010) با اندکی تغییرات رفتار شد. در ابتدا، شیر خام در حمام آب‌گرم تا دمای ۲۰ درجه سلسیوس گرم شد، مخلوط ۱/۵ درصد پودر کاکائو، ۷ درصد شکر، ۰/۰۲ درصد کاپا-کاراگینان و پودر ویتامین D_3 منطبق با ضوابط غنی‌سازی مواد خوراکی و آشامیدنی (Anon, 1388) به آرامی به شیر اضافه و با همزن

مغناطیسی هم‌زده شد. برای رسیدن به واحدهای بین‌المللی[1] (IU) مورد نظر هر IU از ویتامین D (در این پژوهش D3 یا کوله‌کلسیفرول[2]) طبق پژوهش Hanson and Metzger, 2010 با معادل بیولوژیکی ۰/۰۲۵ میکروگرم بر لیتر سیال (در این پژوهش شیر)، در نظر گرفته شد. مخلوط به‌دست آمده تا دمای ۵۰ °C به مدت ۲۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس آن را به حجم کل شیر اضافه کرده به مدت ۲۰ دقیقه با هم‌زن مغناطیسی هم‌زده شد (۴۰۰ rpm، دمای ۵۰ درجه سلسیوس)؛ سپس آن را تا دمای ۳۸ درجه سلسیوس خنک کرده باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌صورت کپسول لیوفیلیزه تجاری به آن اضافه شد (طبق دستورالعمل ارائه شده در این آغازگر تجاری، هر کپسول به ۵ لیتر شیر اضافه شد که پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری به جمعیت میکروبی 10^8 CFU/ml رسید)، و پس از آن محصول در دمای ۴ °C برای اجرای آزمایش‌ها نگهداری شد (Hanson & Metzger, 2010).

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری pH و اسیدیته

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر دیجیتال (Methrom- سوئیس) اندازه‌گیری شد. اسیدیته به روش دورنیک، به روش تیتراسیون با سود یک دهم نرمال در حضور فنل فتالئین اندازه‌گیری شد (De Marchi *et al.*, 2009).

اندازه‌گیری چربی و مادهٔ خشک

میزان چربی نمونه‌های شیر به روش ژربر (DeMarchi *et al.*, 2009) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مادهٔ خشک، از روش دی مارچی و همکاران (DeMarchi et al., 2009) استفاده شد.

اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیتهٔ ظاهری نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد مدل NDJ-8S- ساخت کشور امریکا در دمای اتاق، ۲۵ °C، اندازه‌گیری شد. بعد از آزمایش‌های مقدماتی، اسپیندل شمارهٔ ۲ به عنوان مناسب‌ترین اسپیندل و ۳۰ دور در دقیقه به عنوان سرعت چرخشی مورد نظر انتخاب شد. ویسکوزیته برحسب میلی پاسکال ثانیه گزارش شد (Rouhi *et al.*, 2015).

شمارش زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

برای تهیهٔ رقت اول مقدار ۱۰ گرم نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد رقیق شد. سری بعدی رقت‌ها با افزودن یک میلی‌لیتر از هر رقت به نه میلی‌لیتر آب پپتونه استریل ۰/۱ درصد آماده شد. برای شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از محیط کشت de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) آگار حاوی سوربیتول به روش پورپلیت استفاده شد (۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد سوربیتول، استریل شده توسط فیلتر سر سرنگی، به ۹۰ میلی‌لیتر محیط کشت قبل از ریختن در پلیت‌ها اضافه شد). سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک Anaerocult A از شرکت مرک آلمان گرمخانه گذاری شد (Kailasapathy *et al.*, 2008).

ارزیابی حسی

برای ارزیابی حسی نمونه‌ها از ۱۰ نفر ارزیاب آموزش دیده، و به روش هدونیک ۵ امتیازی برای پارامترهای طعم، قوام، رنگ و پذیرش کلی استفاده شد. امتیازدهی به نمونه‌ها با انتخاب یکی از گزینه‌های بسیار ضعیف، ضعیف، متوسط، خوب و

1- International unit

2- Cholecalciferol

بسیار خوب توسط داوران که به ترتیب از ۱ تا ۵ امتیاز داده شده بودند انجام گرفت (Staffolo *et al.*, 2004).

آنالیز آماری

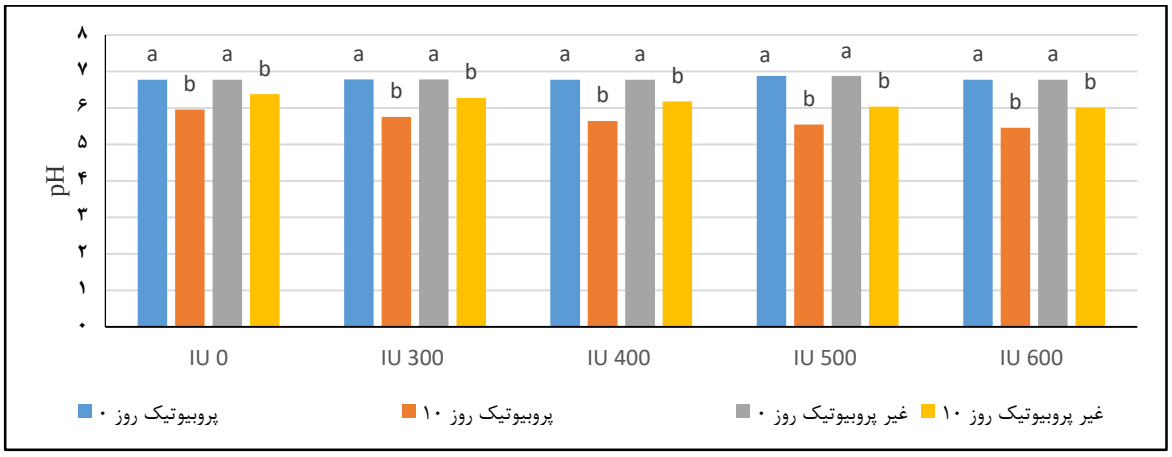
تمام آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار دنبال شد. داده‌های حاصل از سنجش‌ها بر اساس روش آنالیز واریانس یک‌طرفه دانکن با ۹۵ درصد اطمینان با استفاده از نرم‌افزار مینی تب ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. برای رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

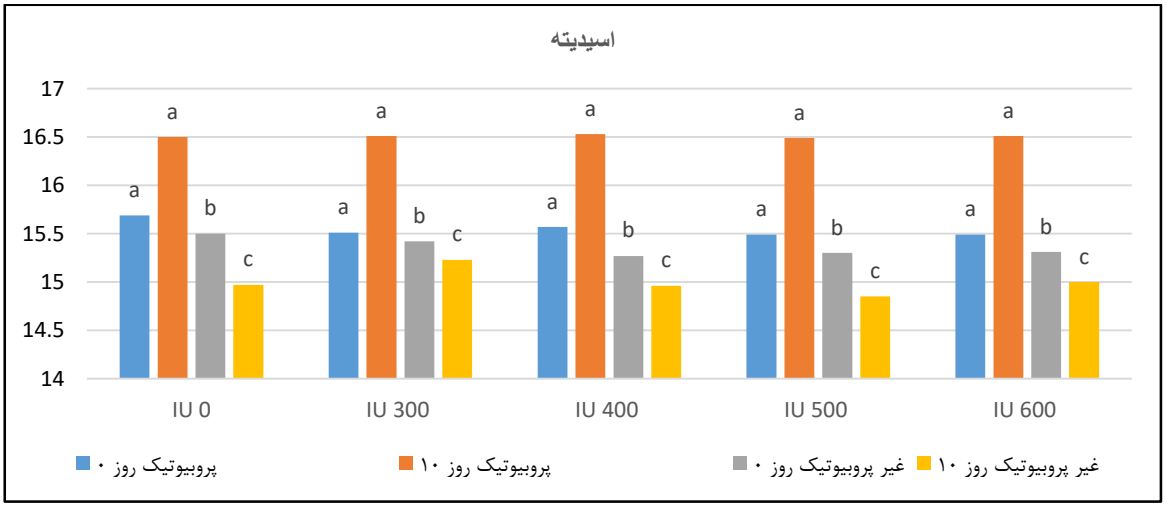
pH و اسیدیته

شکل ۱ و ۲ به ترتیب تغییرات میزان pH و اسیدیتهٔ نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری میزان pH و اسیدیته در نمونه‌های شیر کاکائو نسبت به نمونهٔ شاهد، به ترتیب کاهش و افزایش یافت ($p\leq 0.05$). لازم است گفته شود این تغییرات در نمونه‌های شیرکاکائو پروبیوتیک شدیدتر بود. فرآیند غنی‌سازی با ویتامین D3 در غلظت‌های گوناگون، با توجه به اینکه روی رشد میکروبی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* اثرگذار نبوده است، روی پارامترpH نیز نخواهد توانست دگرگونی را اعمال کند و بنابراین نتایج به‌دست آمده حکایت از نبود تفاوت ($p>0.05$) در pH و اسیدیتهٔ نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در غلظت‌های گوناگون این ویتامین دارد. کاهش pH و افزایش اسیدیته در فرآورده‌های تخمیری، به‌واسطهٔ تولید اسید در هنگام نگهداری این فرآورده‌ها بوده است که می‌توانند تولید اسید کنند. اساساً میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مانند جنس لاکتوباسیلوس دارای آنزیم‌های بتا-گالاکتوزیداز یا بتا-فسفوگالاکتوزیداز هستند که می‌توانند از لاکتوز موجود در محیط طبیعی شیر استفاده کنند و در دسترس قرار دهند؛ حتی پس از مرگ سلول باکتری، حضور این آنزیم‌ها و تجزیهٔ لاکتوز، شرایط را برای رشد سایر میکروارگانیسم‌های باقی‌مانده مناسب‌تر خواهد کرد (Kulkarni *et al.*, 2017). این شرایط با افزودن ساکارز به فرمولاسیون شیرکاکائوها بیشتر خواهد شد و بنابراین میزان کاهش pH و تولید اسید توسط پروبیوتیک‌ها بالاتر خواهد رفت. گولر آکین و همکاران (Güler-Akın *et al.*, 2016) تولید ماست نوشیدنی پروبیوتیک دارای استارتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را بررسی کردند که نگهداری ۲۱ روزه از نمونه‌ها موجب شد اسیدیته قابل تیترکردن و pH در تیمارها افزایش یابد.

جیانگ و بنسمیرا (Jiang & Bensmira, 2012) افزودن شیرهٔ بادام‌زمینی در کفیر را بررسی و مشاهده کردند که افزایش سطح ترکیبات موجود در شیرهٔ بادام‌زمینی و نگهداری آنها در بازه مشخص، موجب افزایش اسیدیته در نمونه‌ها می‌شود که این امر می‌تواند ویژگی‌های کارکردی محصول از قبیل قابلیت نگهداری آب و میزان دو فاز شدن را تحت تأثیر قرار دهد.



شکل ۱- میزان pH در نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های IU ۶۰۰-۰ از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ۴ °C

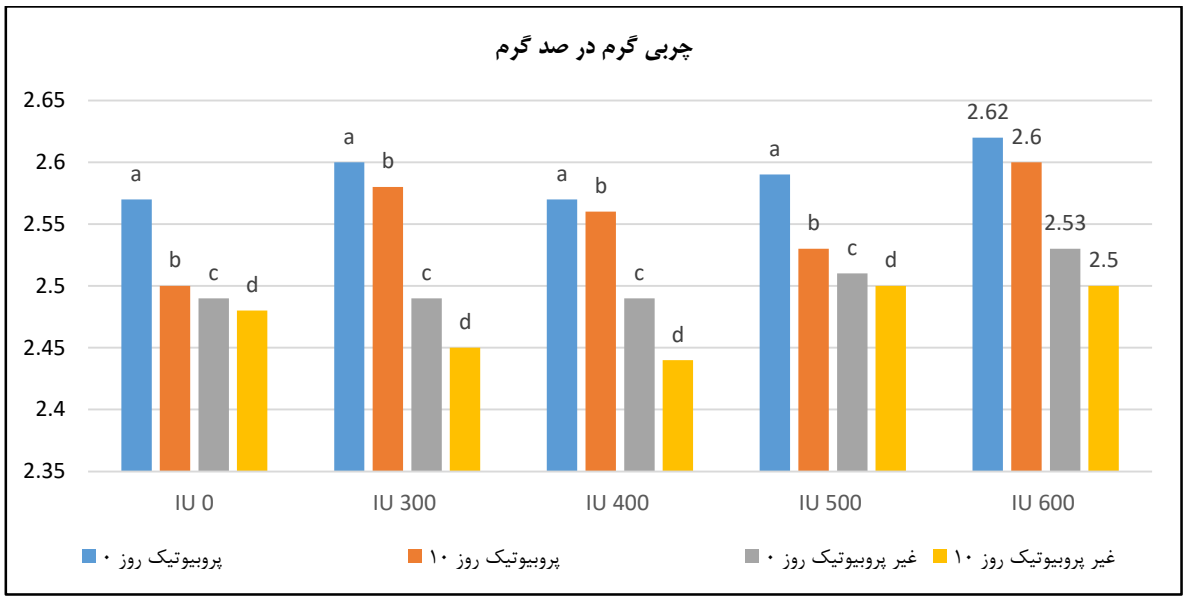


شکل ۲- میزان اسیدیته در نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های IU ۶۰۰-۰ از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ۴ °C

چربی

شکل ۳ تغییرات میزان چربی نمونه‌های پروبیوتیک و شیرکاکائوی غیر پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری تفاوت معنی‌داری ($p\leq 0.05$) میان مقدار چربی تیمارهای شیرکاکائو دیده نمی‌شود، در حالی که تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک چربی بالاتری ($p\leq 0.05$) را نسبت به شیرکاکائوی غیر پروبیوتیک پس از ده روز نگهداری از خود نشان دادند. بخش قابل‌توجهی از ساختار باکتری‌ها را مولکول‌های چربی تشکیل می‌دهد. از سویی دیگر، مادهٔ زمینه‌ای در سیتوپلاسم سلولی موجود در داخل سلول‌ها که سیتوپلاسم نام دارد سیستمی است کلوئیدی حاوی آب و مواد غیر آلی مانند اسید نوکلئیک، فسفولیپید، گلوسیدها (قندها)، پروتئین و یون‌های معدنی که به آن ماتریکس گویند. تعدادی اجسام غشایی گرد و پیچ در پیچ به‌نام مزوزوم و تعداد زیادی ریبوزوم، ذرات ذخیره‌ای در ماتریکس شناور است. بر همین اساس می‌توان وجود مولکول‌های چرب در سلول‌ها را بارز دانست و بر همین اساس حضور بیومس باکتری‌ها در تیمارهای شیرکاکائو، موجب افزایش مقدار چربی

آنها خواهد شد (Naumann *et al.*, 1996). نبود تفاوت در میزان چربی در نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک در روز صفر و دهم نیز، مرتبط با رشد کند این ارگانیسم در دمای ۴ درجه سلسیوس است.



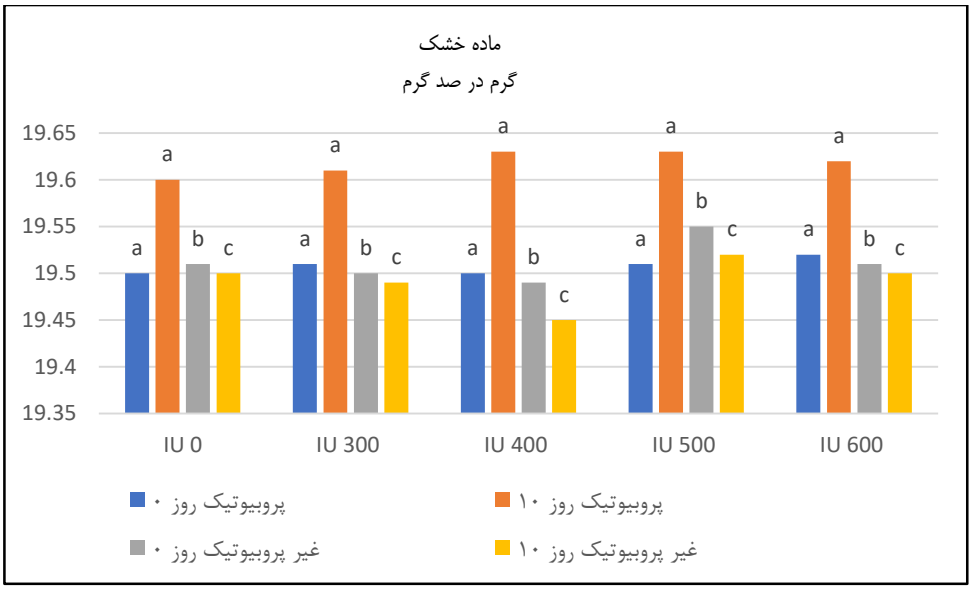
شکل ۳- میزان چربی نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های IU ۶۰۰-۰ از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ۴ °C

ماده خشک

شکل ۴ تغییرات میزان مادهٔ خشک نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز نگهداری را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری و ده روزهٔ تیمارهای شیرکاکائو، میزان مادهٔ خشک در انواع غیر پروبیوتیک تغییری نشان نمی‌دهد، در حالی که تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک افزایش معنی‌داری ($p\leq 0.05$) را در مادهٔ خشک نشان می‌دهد. افزایش مادهٔ خشک در تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک به‌واسطهٔ تولید بیومس از سوی این باکتری‌هاست و این امر می‌تواند مادهٔ خشک موجود در فرآورده را جابه‌جا کند. همان‌گونه که در آزمون میکروبی نیز تشریح شد، افزایش قابلیت زیستی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تا روز ۱۰ نگهداری را می‌توان در برقرار بودن شرایط مساعد برای این گونه عنوان کرد. ازجمله شرایط مساعد برای لاکتوباسیلوس‌ها، محیط دارای پتانسیل احیای پایین است. وجود پلی‌فنول‌هایی مانند اپی‌کاتچین، کاتچین و پروسیانیدین و ترکیبات رنگی موجود در کاکائو مانند آنتوسیان‌ها[1]، هیدروکسی سیانیک اسید (F1)[2] و رنگیزهٔ قرمز (F2)[2] باعث کاهش پتانسیل احیای محیط در روز صفر می‌شوند. از طرفی، حل کردن موادی مانند انواع قند و همچنین فرآیند حرارتی، باعث خروج عمده اکسیژن از شیرکاکائو می‌شود و محیط را برای تخمیر شدیدتر توسط بیفیدوباکتریوم‌ها مساعد می‌کند (Martin & Ramos, 2016)، از سویی دیگر، توانایی

1- Anthocyans
2- Hydroxycyanic acid

لاکتوباسیلوس‌ها برای مصرف ساکارز مطلوب است. روحی و همکاران (Rouhi *et al.*, 2015) در بررسی الگوی تخمیر ساکارز و تاگاتوز در شیرکاکائوی پروبیوتیک می‌گویند اثر ضد میکروبی اسیدهای آلی تولید شده طی هفتهٔ اول نگهداری می‌تواند مسئول کاهش قابلیت زیستی بیفیدوباکتریوم‌ها پس از هفتهٔ اول نگهداری باشد. این پژوهشگران می‌افزایند ثابت ماندن قابلیت زیستی این جنس باکتریایی در تیمار از روز ۷ تا ۱۴، احتمالاً به دلیل وجود ساکارز در محیط است که نسبت به تاگاتوز ماده مغذی‌تری برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌شود، بر همین اساس تولید بیومس بیشتری را در تیمارهای پروبیوتیک شاهد هستیم.



شکل ٤- میزان مادهٔ خشک نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های IU ٦٠٠-٠ از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ٤ °C

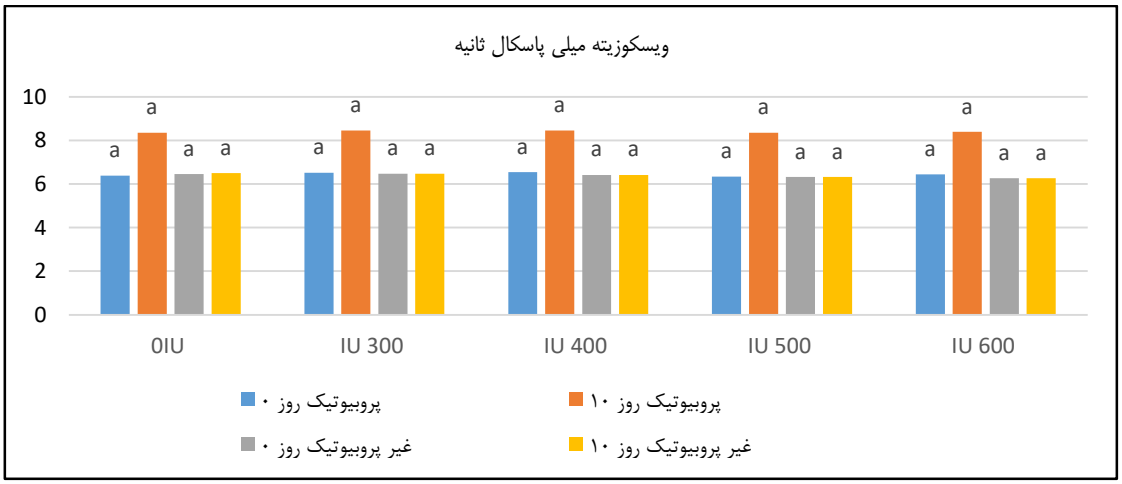
اندازه‌گیری ویسکوزیته

شکل ۵ تغییرات میزان ویسکوزیتهٔ نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز نگهداری را نشان می‌دهد. با توجه به شکل‌ها و نتایج به دست آمده، افزایش زمان نگهداری و ماندگاری ده روزه تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک منجر به افزایش معنی‌دار ویسکوزیتهٔ تیمارها شده است، اما ماندگاری ده روزه به‌رغم افزایش ناچیز در ویسکوزیتهٔ تیمارهای شیرکاکائوی غیر پروبیوتیک، تفاوت معنی‌داری ($p\leq 0.05$) را ایجاد نکرده است. دلایل متعددی در افزایش ویسکوزیتهٔ در نمونه‌های دارای میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نقش دارند. تغلیظ‌کنندگی، یعنی افزایش ویسکوزیته، یک ویژگی کلیدی در استفاده از هیدروکلوئیدها در مواد غذایی است (Gassem, 1996).

پژوهش‌های روئوس مادیادو و همکاران (Ruas-Madiedo *et al.*, 2002) نشان می‌دهد در pH طبیعی شیر، هیچ برهمکنشی میان هیدروکلوئید جاذب (مانند اگزوپلی‌ساکاریدهای تولیدشده توسط لاکتوباسیلوس‌ها) و پروتئین کازئین شیر رخ نمی‌دهد اما با کاهش pH و کاسته شدن از بار منفی کازئین و افزایش بار مثبت آن (در نتیجهٔ رشد باکتری‌ها و تولید اسید لاکتیک)، هیدروکلوئیدهای دارای بار منفی با جذب شدن در سطح میسل کازئین، قادرند

مانند کاپا -کازئین در pH طبیعی سبب پایداری سامانه گردند. از این رو هیدروکلوئید جاذب با حضور در چنین سامانه‌ای به‌سرعت و به‌طور مؤثرتر با قرارگیری در سطح کازئین، مولکول کازئین را به حالت اولیه در می‌آورد و مانع از ناپایداری و در نتیجه رسوب آن می‌شود بر همین اساس، ویسکوزیتهٔ بالاتری را انتظار خواهیم داشت. هپرتز و همکاران (Huppertz *et al.*, 2018) گزارش کردند اساساً پایداری میسل‌های کازئین در pH طبیعی شیر به علت قرارگرفتن کاپا-کازئین‌ها در سطح میسل کازئین است که با تشکیل انتهای آب‌دوست مویی‌شکل در سطح کازئین و سازوکارهای دافعهٔ فضایی و الکترواستاتیک، مانع از نزدیک شدن میسل‌ها به یکدیگر می‌شوند.

در صورتی که به هر دلیلی لایه‌های مویی جدا شوند (شکسته شدن توسط آنزیم‌های دلمه کننده شیر) یا متلاشی گردند (از دست دادن بار خالص مؤثر با کاهش pH، افزایش قدرت یونی و کاهش قابلیت انحلال، که مشابه پژوهش حاضراست)، ناپایداری در میسل‌های کازئین رخ می‌دهد زیرا در اثر اسیدی شدن محیط، فسفات کلسیم به‌تدریج از میسل خارج می‌شود، بار الکتریکی منفی میسل کاهش می‌یابد و میسل کازئین متلاشی می‌شود.

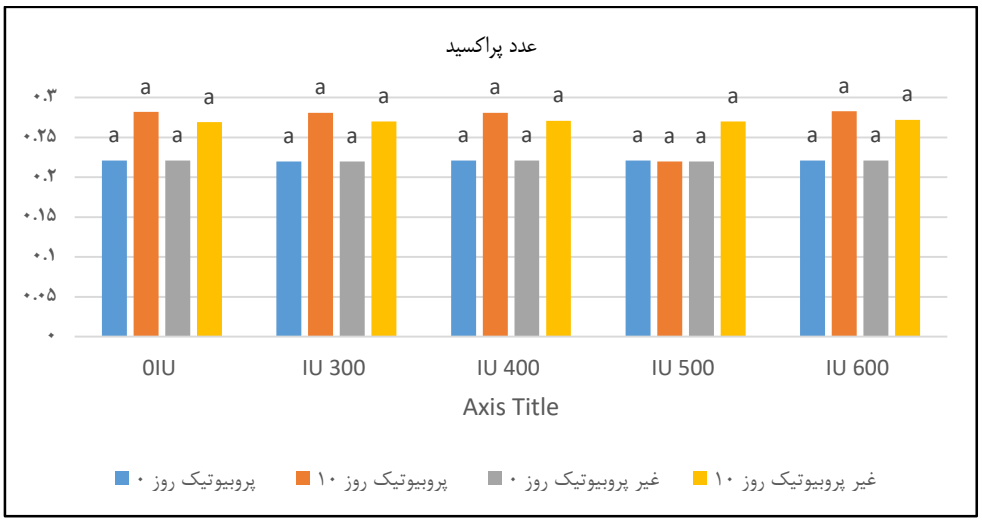


شکل ۵- میزان ویسکوزیتهٔ نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های ۰-۶۰۰ IU از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ۴°C

زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

قابلیت زیستی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک تحت تأثیر فاکتورهای گوناگونی دستخوش تغییر می‌شود که از آن جمله می‌توان به سویهٔ به کار رفته، شرایط تهیهٔ کشت‌های آغازگر، اسیدیته و pH فرآورده، نسبت/حجم و دمای تلقیح اشاره کرد. نتایج بررسی زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، نمونه‌های شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس در شکل ۶ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش زمان نگهداری به مدت ۱۰ روز (در غلظت ثابت از ویتامین D_3)، جمعیت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به‌صورت معنی‌دار ($p\leq 0.05$) افزایش پیدا می‌کند، در حالی که تغییرات غلظت ویتامین D_3 اثری ($p\leq 0.05$) در جمعیت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نشان نمی‌دهد. بالاترین میزان از رشد میکروبی در روز دهم و مربوط به نمونهٔ دارای ۶۰۰ IU از ویتامین

D_3 و بـه میـزان ۹/۷۵ سـیکل لگـاریتمی بـوده اسـت، پـایین‌ترین میـزان نیـز در روز صـفر و در تیمـار بـدون ویتـامین D_3 و بـه میـزان ۷/۹۹ سـیکل لگـاریتمی مشاهده شـده‌است. بـرای ایجـاد ویژگی‌هـای فراسـودمند و کـارکردی مطلـوب در فـرآورده بایـد تعـداد سـلول‌های کـافی از پروبیوتیک‌هـا در فـرآورده تلقـیح و بـه جمعیـت مشخصـی دسـت یابنـد و متابولیت‌هـای مـورد نظـر را تولید کننـد. یکـی از مهـم‌تـرین محـدودیت‌های اسـتفاده از آغازگرهـای پروبیوتیـک در فرآورده‌هـای لبنـی، pH و اسـیدیتهٔ نهـایی در فـرآورده اسـت، زیـرا پدیـدهٔ تخمیـر ناشـی از فعالیـت ایـن میکروارگانیسـم‌ها می‌توانـد موجـب کـاهش بـیش از حـد pH شـود و می‌توانـد در ابتدا رشد خود ایـن باکتری‌هـا را تحـت تـأثیر قـرار دهـد. بـا وقـوع تخمیـر، علـاوه بـر تولیـد اسـید لاکتیـک توسـط ایـن باکتری‌هـا، تولیـد اتـانول و H_2O_2 بـه‌عنوان ترکیبـات میکـروب‌کش، دیـوارهٔ سـلولی ایـن باکتری‌هـا را تخریـب می‌کنـد و بنـابراین فرآینـد رشـد بیشـتر در ایـن باکتری‌هـا دچـار اختلـال خواهـد شـد (Peng *et al.*, 2015). نتـایج ایـن پـژوهش مشـابه یافتـه‌های حاصـل از پـژوهش‌هـای (de Araújo Etchepare *et al.*, 2016) اسـت کـه مـی‌گوینـد افـزایش قابلیـت زیسـتی *لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس* تـا روز هفـتم نگهـداری را می‌توان در برقرار بـودن شـرایط مسـاعد بـرای ایـن گونـه عنـوان کـرد. ایـن پژوهشـگران همچنـین بـه پتانسـیل احیـای پـایین محـیط ازجملـه شـرایط مسـاعد بـرای لاکتوباسیلوس‌ها اشـاره مـی‌کننـد، به‌گونـه‌ای کـه بـا ورود اکسـیژن بـه محـیط و مثبـت‌تر شـدن پتانسـیل اکسیداسـیون احیـا (Eh) شـرایط بـرای رشـد ایـن بـاکتری در روزهـای هفـتم بـه بعـد کـاهش می‌یابـد، امـا در ابتـدای نگهـداری، Eh منفـی اسـت و بنـابراین از ایـن نظـر شـرایط بـرای رشـد آنهـا مسـاعدتر اسـت. افـزایش غلظـت ویتـامین D نیـز تـأثیری در فرآینـد رشـد باکتری‌هـای پروبیـوتیکی نـدارد، ایـن موضـوع همخـوانی دارد بـا یافتـه‌های کاوشـیک و آرورا (Kaushik & Arora, 2017) در بررسـی ویژگی‌هـای میکروبـی، فیزیکـی و رئولـوژیکی ماسـت غنی‌شـده بـا ویتـامین D_2 و کلسـیم کـه مـی‌گوینـد اسـتفاده از ویتـامین بـه میـزان ۶۰۰ IU/L هـیچ اثـری روی رشـد میکروبـی نـدارد، امـا افـزایش کلسـیم موجـب کـاهش رشـد میکروبـی نسـبت به تیمار شاهد شده‌است.



شکل ٦- شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های شیر کاکائو در غلظت‌های IU ٦٠٠-٠ از ویتامین D_3 در بازهٔ زمانی ۱۰ روزه در دمای ٤ °C

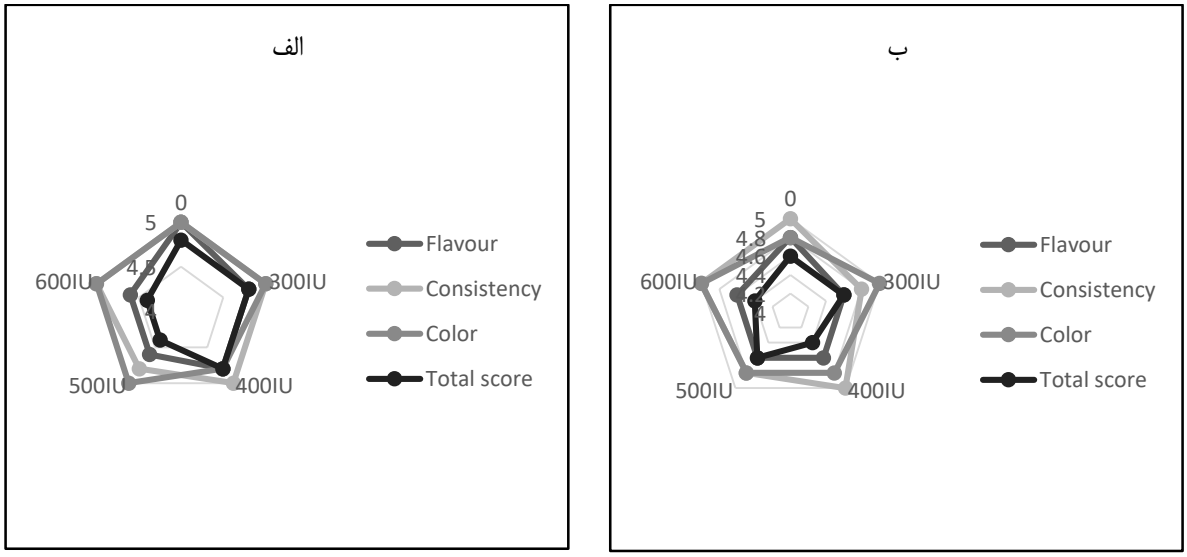
ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک در شکل ۷ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، تفاوت معنی‌داری ($p\leq 0.05$) میان ویژگی‌های حسی طعم، رنگ، قوام و حتی پذیرش کلی تیمارهای شیرکاکائو پس از ۱۰ روز نگهداری مشاهده نمی‌شود، به‌گونه‌ای که پذیرش کلی تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک ثابت و به میزان ۴/۶ به دست آمد. اما نکتهٔ جالب‌توجه این است که ارزیابان تمایل بیشتری به شیرکاکائوی پروبیوتیک در روز دهم نگهداری داشته‌اند و همین امر سبب شد که پذیرش کلی این فرآورده دارای شرایط مطلوب‌تری نسبت به شیرکاکائوهای غیر پروبیوتیک باشد. از سویی دیگر، روند افزایش غلظت ویتامین D در تیمارها، تغییر معنی‌داری را در ویژگی‌های حسی فرآورده ایجاد نکرده‌است و بر همین اساس پذیرش کلی تیمارها در اغلب موارد با افزایش غلظت ویتامین D ثابت بوده است. ویژگی‌های حسی شیرکاکائو می‌تواند متأثر از پارامترهای گوناگونی باشد، از آن جمله می‌توان به غلظت شیرین‌کننده به کار رفته، میزان پایدار کننده، میزان کاکائو، درصد چربی، شدت هوموژنیزاسیون فرآورده، نوع آغازگر پروبیوتیک و میزان افزودن آن (در صورت تولید انواع پروبیوتیک) و شرایط گرمخانه گذاری فرآورده برای وقوع تخمیر در آن اشاره کرد. بر همین اساس، نتایج به دست آمده نشان می‌دهد که در روز نخست تولید فرآورده تفاوت معنی‌داری میان تیمارهای پروبیوتیک و شیرکاکائوی غیر پروبیوتیک وجود ندارد، که این امر ناشی از میزان پایین تولید متابولیت‌های حاصل از تخمیر مانند اسید لاکتیک، انواع آلدئید و کتون و ترکیبات مولد طعم است (Schepper *et al.*, 2017). این در حالی است که با تولید هرچه بیشتر این ترکیبات توسط باکتری‌ها آرومای مطلوب‌تری در فرآورده ایجاد می‌شود و این امر به ویژگی‌های حسی فرآورده نیز کمک خواهد کرد و پذیرش کلی بالاتر تیمارهای شیرکاکائو در روز دهم را سبب می‌شود. از سویی دیگر، به دلیل اثر پوشانندگی طعم شیرین توسط اسید لاکتیک تولیدشده، مطلوبیت فرآورده بالاتر می‌رود، این ویژگی حتی در برخی از محصولات غیر لبنی مانند نوشابه‌های گازدار برای پوشانندگی طعم شیرین‌کننده به کار می‌رود و با استفاده از اسید فسفریک، از میزان طعم شیرین کاسته می‌شود، برخلاف اینکه مقدار شیرین‌کنندگی بالایی در فرآورده به کار رفته و می‌تواند قوام و احساس دهانی مناسبی را ایجاد کند (Nancib *et al.*, 2001). تولید اسید می‌تواند به ایجاد شبکهٔ توسط میسل‌های کازئین به دلیل تجمع[1] آنها کمک کند و به احساس دهانی و قوام فرآورده قوت دهد. حضور ویتامین D نیز در تمامی فرآورده‌ها نقش نامطلوبی ایجاد نمی‌کند. با توجه به اینکه ۶۰۰ واحد از ویتامین D در لیتر یا ۶۰۰ IU معادل ۱۵ میکروگرم از این ویتامین است، از این رو این ویتامین نمی‌تواند نقش بارزی در ویژگی‌های کارکردی فرآورده و نهایتاً ویژگی‌های حسی آن ایجاد کند. بنابراین، افزایش غلظت ویتامین D در فرآورده تغییری در ویژگی‌های حسی ایجاد نمی‌کند. این روند مشابه نتایج پژوهش‌های هانسون و متزگر (Hanson & Metzger, 2010) در بررسی افزایش غنی‌سازی با ویتامین D در شیر، شیر شکلات و ماست توت‌فرنگی کم‌چرب است.

این محققان می‌گویند نگهداری ۲۸ روزه فرآورده‌ها

1- Aggregation

نه‌تنها موجب تغییر در ویژگی‌های حسی فرآورده نمی‌شود بلکه میزان ویتامین D موجود در فرآورده نیز ثابت باقی می‌ماند. این پژوهشگران درنهایت میزان IU ۱۰۰ و IU ۲۵۰ از ویتامین D را به ازای هر وعده[1] برای فرآورده‌های یاد شده پیشنهاد دادند.



شکل ۷- ارزیابی حسی (طعم، قوام، رنگ، پذیرش کلی) نمونه‌های شیر کاکائوی پروبیوتیک (الف) و غیر پروبیوتیک (ب) در روز دهم و غلظت‌های IU ۶۰۰-۰ از ویتامین D

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، هدف اصلی تولید شیرکاکائو پروبیوتیک غنی‌شده با ویتامین D و اثر آن بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* است. نتایج رشد میکروبی نشان می‌دهد که غلظت‌های متفاوت ویتامین D اثری روی رشد میکروبی تیمارهای شیرکاکائو نداشته است. از سویی دیگر، با افزایش زمان ماند (در غلظت ثابت از ویتامین D) تیمارهای شیرکاکائو، جمعیت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به‌صورت معنی‌دار($p\leq 0.05$) افزایش پیدا کرد و از سویی دیگر با افزایش زمان نگهداری، میزان pH کاهش و اسیدیته افزایش یافت. همچنین با نگهداری ده روزهٔ تیمارهای شیرکاکائو، میزان مادهٔ خشک و چربی در انواع غیر پروبیوتیک تغییری نشان نداد، در حالی که تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک افزایش معنی‌داری ($p\leq 0.05$) در مادهٔ خشک و چربی نشان داد. ماندگاری ده روزه تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک منجر به افزایش معنی‌دار ویسکوزیته تیمارها شد، اما ماندگاری ده روزه، به‌رغم افزایش ناچیز در ویسکوزیتهٔ تیمارهای شیرکاکائوی غیر پروبیوتیک، تفاوت معنی‌داری ($p\leq 0.05$) سبب نشد. میزان اکسیداسیون تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک به شکل معنی‌داری ($p\leq 0.05$) بالاتر از میزان اکسیداسیون تیمارهای انواع غیر پروبیوتیک بوده است.

ارزیابی حسی طعم، رنگ، قوام و پذیرش کلی تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک حاکی از نبود تفاوت معنی‌دار ($p\leq 0.05$) میان تیمارهاست، به‌گونه‌ای که پذیرش کلی تیمارهای شیرکاکائوی پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک ثابت بوده

1- Serving

است. بنابراین، با توجه به مجموعه آزمون‌های روی تیمارهای شیرکاکائو، تولید شیر کاکائوی پروبیوتیک غنی‌شده با ویتامین D به میزان IU ۶۰۰ (تیمار با بیشترین غلظت ویتامینD) به منظور تولید تجاری انواع شیرکاکائو توصیه می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان در رابطه با انتشار مقاله ارائه شده به طور کامل از سوء اخلاق نشر، از جمله سرقت ادبی، سوء رفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز نموده‌اند و منافعی تجاری در این راستا وجود ندارد.

مراجع

Black, L. J., Seamans, K. M., Cashman, K. D., and Kiely, M. 2012. An Updated Systematic Review and Meta-Analysis of the Efficacy of Vitamin D Food Fortification. The Journal of Nutrition. 142(6): 1102-1108.

Correddu, F., Nudda, A., Manca, M. G., Pulina, G., and Dalsgaard, T. K. 2015. Light-induced lipid oxidation in sheep milk: Effects of dietary grape seed and linseed, alone or in combination on milk oxidative stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 63(15): 3980-3986.

De Marchi, M., Fagan, C. C., O'donnell, C. P., Cecchinato, A., Dal Zotto, R., Cassandro, M., and Bittante, G. 2009. Prediction of coagulation properties, titratable acidity, and pH of bovine milk using mid-infrared spectroscopy. Journal of Dairy Science. 92(1): 423-432.

Gassem, M. A. A. 1996. Exopolysaccharide production by lactic acid bacteria.

Güler-Akın, M. B., Ferliarslan, I., and Akın, M. S. 2016. Apricot probiotic drinking yoghurt supplied with inulin and oat fiber. Advances in Microbiology. 6(14): 999.

Hanson, A. L., and Metzger, L. E. 2010. Evaluation of increased vitamin D fortification in high-temperature, short-time–processed 2% milk, UHT-processed 2% fat chocolate milk, and low-fat strawberry yogurt. Journal of Dairy Science. 93(2): 801-807.

Hasanvand, E., Fathi, M., Bassiri, A., Javanmard, M., and Abbaszadeh, R. 2015. Novel starch based nanocarrier for vitamin D fortification of milk: Production and characterization. Food and Bioproducts Processing. 96 (1): 264-277. (In Persian).

Huppertz, T., Fox, P. F., and Kelly, A. L. 2018. The caseins: Structure, stability and functionality. In Proteins in Food Processing. 2, 49-92.

Jiang, B., Bensmira, M. 2015. Total phenolic compounds and antioxidant activity of a novel peanut based kefir. Food Sience and Biotechnology. 24 (3): 1055-1060.

Kaijser, A., Dutta, P., and Savage, G. 2000. Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. Food Chemistry. 71(1): 67-70.

Kulkarni, S., Haq, S. F., Samant, S., and Sukumaran, S. 2017. Adaptation of Lactobacillus acidophilus to Thermal Stress Yields a Thermotolerant Variant Which Also Exhibits Improved Survival at pH 2. Probiotics and antimicrobial proteins. 1-11.

Kaushik, R., and Arora, S. 2017. Effect of calcium and vitamin D 2 fortification on physical, microbial, rheological and sensory characteristics of yoghurt. International Food Research Journal. 24 (4): 1744-1752.

Larijani B, Shaikholeslam R, Adibi H, Shafaie A, Maghbooli Z, Mohammad-zadeh N. and Hossein nezhad, A. 2004 . Safety and efficacy of increasing serum vitamin D by milk fortification. Payesh. 3 (1) :27-38.

Levine, R. S. 2001. Briefing paper: Milk, flavoured milk products and caries. British Dental Journal. 191(1): 20.

Mazza, G., Shi, J., and Le Maguer, M. 2016. Functional Foods: Biochemical and Processing Aspects. Volume 2. CRC Press.

Martín, M. A., and Ramos, S. 2016. Cocoa polyphenols in oxidative stress: Potential health implications. Journal of Functional Foods. 27(2): 570-588.

Naumann, D., Schultz, C. P. and Helm, D. I. E. T. E. R. 1996. What can infrared spectroscopy tell us about the structure and composition of intact bacterial cells. Infrared Spectroscopy of Biomolecules, 279-310.

Nancib, N., Nancib, A., Boudjelal, A., Benslimane, C., Blanchard, F., and Boudrant, J. 2001. The effect of supplementation by different nitrogen sources on the production of lactic acid from date juice by Lactobacillus casei subsp. rhamnosus. Bioresource Technology. 78 (2): 149-153.

Peng, M., Aryal, U., Cooper, B., and Biswas, D. 2015. Metabolites produced during the growth of probiotics in cocoa supplementation and the limited role of cocoa in host-enteric bacterial pathogen interactions. Food Control. 53, 124-133.

Ruas-Madiedo, P., Hugenholtz, J., and Zoon, P. 2002. An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. International Dairy Journal. 12 (2-3): 163-171.

Rouhi, M., Taslimi. A., Sarlak, Z., Mohammadi, R., Shadnoosh, M., Mortazavian, A.M., and Sabouri, S. 2015. Sucrose and D-tagatose fermentation profile by different probiotic strains and its effect on physical properties of chocolate milk. Koomesh. 17(1): 239-249. (in Persian).

Staffolo, M. D., Bertola, N., and Martino, M. 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt. International Dairy Journal. 14(3): 263-268.

Sorensen, A. D. M., Baron, C. P., Let, M. B., Brüggemann, D. A., Pedersen, L. R., and Jacobsen, C. 2007. Homogenization conditions affect the oxidative stability of fish oil enriched milk emulsions: Oxidation linked to changes in protein composition at the oil− water interface. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 55(5): 1781-1789.

Schepper, J. D., Irwin, R., Kang, J., Dagenais, K., Lemon, T., Shinouskis, A. and McCabe, L. R. 2017. Probiotics in gut-bone signaling. In Understanding the Gut-Bone Signaling Axis. 225-247.

Schepper, J.D., Irwin, R., Kang, J., Dagenais, K., Lemon, T., Shinouskis, A., Parameswaran, N. and McCabe, L.R. 2017. Probiotics in gut-bone signaling. Understanding the gut-bone signaling axis, pp.225-247.

Food Engineering Research/Vol.20/No.71/Autumn & Winter 2021/P: 1 -16

Journal Home page: https://fooder.areeo.ac.ir/

Original Research

Milk Cocoa Production Probiotic Enriched with Vitamin D and its Effect on the Survival of *Lactobacillus Acidophilus*

S. Poursoleymani, S. Berenjy*, L. Nateghi and F. Zarei

* Corresponding Author: Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran. Email: shila135071@yahoo.com
Received: 27 February 2019, Accepted: 1 May 2021
http://doi: 10.22092/fooder.2022.125485.1205

Abstract

Dairy products, due to high daily consumption among the people as a carrier of beneficial compounds and probiotics can be the first option for enrichment. In this study, the production of beneficial products was investigated in cocoa milk containing vitamin D3 at four levels (IU 0, IU 300, IU 400, IU 500 and IU 600) with probiotic *Lactobacillus acidophilus* (108 CFU / ml). The results showed that the use of vitamin D3 even at a concentration of 600 IU had no significant effect ($p> 0.05$) on the microbial growth of cocoa milk treatments. The results of physicochemical tests showed that the pH decreased and the acidity increased ($p\leq0.05$). However, other physicochemical parameters such as dry matter percentage and fat content of treatments did not show significant changes ($p> 0.05$). However, the viscosity of probiotic milk cocoa treatments reached 8.46 milliseconds on the tenth day. Sensitivity to oxidation of the treatments did not show a significant change ($p> 0.05$) due to the high level of saturated fatty acids in milk, however, probiotic treatments had a higher peroxide index on the tenth day. The results of sensory evaluation showed that enrichment of probiotic and non-probiotic milk cocoa treatments with vitamin D3 had no significant effect. According to the results of tests performed on cocoa milk treatments, the production of probiotic milk fortified with vitamin D3 in the amount of 600 IU was introduced as the superior treatment.

Keywords: Cocoa milk, Vitamin D, Probiotics, Oxidation, Functional