اثرات افزودن کازئینات سدیم و فرآیند ریزپوشانی بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بررسی ویژگی‌های کیفی ماست پروبیوتیک در طول نگهداری

احسان مقدس کیا[۱]، الهام درستی[۲]، زهرا قاسمپور[۳]، علی احسانی[۴*]

۱- دکترای تخصصی تکنولوژی مواد غذایی، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی مراغه، مراغه، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی غیر انتفاعی آفاق ارومیه، ارومیه، ایران

۳- دکترای تخصصی تکنولوژی مواد غذایی، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

٤- دکترای تخصصی بهداشت و ایمنی مواد غذایی، استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۲/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰٤/۱۷)

چکیده

ماست یک فرآورده لبنی تخمیری است که در سراسر جهان مورد توجه می‌باشد. در چند سال اخیر، با به کارگیری باکتری‌های پروبیوتیک، محصولی به نام ماست پروبیوتیک تولید شده که به عنوان یک ماده غذایی سلامت‌بخش و فراسودمند شناخته شده است. استفاده از تکنیک ریزپوشانی می‌تواند منجر به افزایش قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های لبنی در دوره نگهداری شود. در این پژوهش تاثیر افزودن کازئینات سدیم (۳-۰ درصد) و فرآیند ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در بستر کازئینات سدیم- صمغ ژلان بر ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی (اسیدیته، ویسکوزیته ظاهری، آب‌اندازی و ظرفیت نگهداری آب) و قابلیت زنده‌مانی این باکتری در ماست پروبیوتیک طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ٤ °C مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ویژگی‌های کیفی ماست تولید شده نشان داد که با افزودن کازئینات سدیم به شیر، اسیدیته، ظرفیت نگهداری آب و ویسکوزیته ظاهری ماست در دوره نگهداری افزایش، ولی سینرزیس، کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<۰/۰۵$). نتایج نشان داد که نمونه‌های ماست حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ریزپوشانی شده نسبت به فرم آزاد این باکتری، دارای ویسکوزیته ظاهری و ظرفیت نگهداری بیشتر آب، ولی اسیدیته و سینرزیس کمتری بودند. طبق نتایج به دست آمده از شمارش میکروبی، ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و استفاده از کازئینات سدیم به طور چشمگیری، منجر به بهبود بقاء آن طی نگهداری گردید، به طوریکه بیشترین تعداد باکتری در پایان ۲۱ روز ماندگاری، مربوط به نمونه حاوی ۳ درصد سدیم کازئینات و سلول‌های ریزپوشانی شده بود.

کلید واژگان: ریزپوشانی، کازئینات سدیم، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، ماست پروبیوتیک

* مسئول مکاتبات: ehsani@tbzmed.ac.ir

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر مصرف‌کنندگان به مسأله سلامتی اهمیت بیشتری داده و به دنبال مصرف مواد غذایی با ویژگی فراسودمندی علاوه بر ارزش تغذیه‌ای می‌باشند. غذای فراسودمند اصطلاحی است برای معرفی غذاهایی که ترکیبات بیواکتیو طبیعی را برای رژیم غذایی انسان به منظور تأمین مواد مغذی پایه تولید می‌کنند. این مواد مغذی اغلب برای تأمین سلامتی و جلوگیری از بروز بیماری‌ها مفید هستند [۱]. پروبیوتیک‌ها بر اساس تعریف فائو در سال ۲۰۰۶، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی دارای اثرات مفید بر سلامتی میزبان می‌باشند [۲]. از جمله این اثرات مفید می‌توان به افزایش هضم مواد غذایی، تقویت سیستم ایمنی بدن و بالا بردن مقاومت در برابر عفونت-ها، کاهش کلسترول خون و خواص ضدجهشی و ضدسرطانی اشاره کرد. از طرف دیگر امروزه، پروبیوتیک‌ها به عنوان جایگزین مناسب آنتی‌بیوتیک‌ها برای مقابله با عوامل پاتوژن در انسان و حیوانات معرفی می‌شوند. همچنین مقبولیت و مصرف فرآورده‌های غذایی و داروهای پروبیوتیکی رواج چشمگیری یافته است [۳]. غذاهایی که حاوی این باکتری‌ها هستند در رده غذاهای عملگرا یا فراسودمند قرار می‌گیرند و بر طبق توصیه فدراسیون بین‌المللی فرآورده‌های لبنی[1]، این غذاها بایستی حاوی 10^{7} cfu/g باکتری پروبیوتیک باشند و مصرف‌کننده بایستی حداقل ۱۰۰ گرم در روز از این غذا را مصرف کرده تا اثرات مفید این دسته از غذاها را دریافت کند [٤]. پرکاربردترین باکتری‌های پروبیوتیک گزارش شده در منابع متعلق به گونه‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل‌ها هستند [۵]. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، یک باکتری گرم مثبت، مزوفیل، هموفرمانتاتیو اجباری، میکروآئروفیل، کاتالاز منفی و فاقد اسپور بوده و ظرفیت بالایی برای تولید اسید دارد [٦]. بیشترین قابلیت بقاء در فرآورده‌های تخمیری شیر از جمله ماست به *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت داده شده است [۷]. ویژگی‌هایی نظیر اسیدیته، مقدار اسید چرب آزاد، ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای، تحت تاثیر ترکیبات شیمیایی شیر، شرایط فرآیند، افزودن طعم دهنده‌ها و فعالیت باکتری‌های آغازگر در طی تخمیر شیر است [۸ و ۹]. در بین فرآورده‌های شیری تخمیری، ماست مهم‌ترین حامل باکتری‌های پروبیوتیک و عامل انتقال آن به مصرف‌کننده می‌باشد. برای به دست آوردن ماست پروبیوتیک علاوه بر باکتری‌های آغازگر ماست، باید باکتری پروبیوتیک در حین فرآیند تخمیر و در محصول نهایی وجود داشته باشد [۱۰].

میکروانکپسولاسیون[2] (ریزپوشانی) روشی است که باعث بهبود کارآیی میکروارگانیسم‌ها در محصولات تخمیری و دستگاه گوارش می‌شود. ریزپوشانی به فرآیندی گفته می‌شود که در آن یک ماده زیست فعال توسط یک ماده دیگر (از جنس بیوپلیمر، پلیمر سنتزی یا ترکیبات لیپیدی) پوشش داده می‌شود و کپسول‌های کوچک تشکیل شده می‌توانند محتوای خود را به صورت کنترل شده تحت شرایط خاص آزاد کنند و محتویات را از تخریب توسط عوامل زیان‌آور محیط حفظ کنند [۱۱]. بنابراین ریزپوشانی یک روش فیزیکی- شیمیایی و یا مکانیکی است که در آن ذرات دارای مواد فعال، جهت حفاظت توسط یک لایه از مواد دیگر پوشش داده می‌شوند. انتخاب مواد پوششی متفاوت معمولاً به ویژگی‌های سلامت‌زایی میکروکپسول و روش پوشش‌دهی استفاده شده وابسته است [۱۲]. ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، *لاکتوباسیلوس هلوتیکوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و گونه‌های بیفیدوباکتریوم به منظور افزایش قابلیت زنده‌مانی آنها در ماست در دوره ماندگاری و همچنین در عبور از دستگاه گوارش توسط بسیاری از محققان مورد مطالعه قرار گرفته است [۱۲، ۱۳، ١٤ و ۱۵]. تشکیل لایه محافظ هیدروژل بر روی پروبیوتیک‌ها سبب تاخیر در نفوذ شیره معده به کپسول و در نتیجه سبب افزایش قابلیت زیستی سلول‌ها می‌شود [١٦ و ۱۷]. تاکنون تحقیقات مختلفی بر روی جنس دیواره کپسول پروبیوتیک ها و تاثیر آن بر روی ماندگاری پروبیوتیک ها صورت گرفته است. نتایج ناگ و همکاران (۲۰۱۱) [۱۸] نشان داد که دیواره ژلان کازئیناتی باعث افزایش بقای پروبیوتیک‌ها شده و دیفوزیون دوجانبه‌ای را از جهت جذب مواد مغذی و

1. International Dairy Federation (IDF)

2. Microencapsulation

خروج متابولیت‌ها فراهم می‌سازد. انکسپولاسیون (امولسیفیکاسیون یا اکستروژن)، ماهیت بیوپلیمر استفاده شده (کاراگینان، آلژینات، ژلان)، رهایش متابولیت‌های پروبیوتیک (اسید لاکتیک، اسید استیک) و نوع محصول مورد استفاده لبنی در حفظ زنده مانی پروبیوتیک تاثیر بسزایی دارد. مقدس کیا و همکاران (۱۳۹۱) [۲۰] تاثیر جنس دیواره میکروکپسول سدیم کازئیناتی تیمار شده با انواع آنزیم‌های رنت و ترانس‌گلوتامیناز بر روی ماندگاری *لاکتوباسیلوس پاراکازیی* در پنیر فراپالایش مطالعه کردند و نتایج آنها نشان داد که میزان سفتی در پنیر و ماندگاری در انواع کپسول‌های رنتی حاوی *لاکتوباسیلوس پاراکازیی* بیشتر از سایر انواع بود.

در این راستا هدف از این پژوهش تولید ماست پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس* به صورت آزاد و میکروکپسوله در بستر صمغ ژلان و کازئینات سدیم با استفاده از تکنولوژی ریزپوشانی و بررسی تاثیر آن روی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس* و خصوصیات فیزیکی- شیمیایی و رئولوژیکی ماست در طول نگهداری بود.

۲- مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در آزمایشگاه شرکت پگاه ارومیه و گروه بهداشت و کنترل کیفیت دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام گرفت. مواد مورد استفاده در تهیه نمونه‌های ماست پروبیوتیک شامل شیر خام با ۳٪ چربی، کازئینات سدیم ۹۰ درصد، صمغ ژلان Low acyl (G 1910، سیگما)، روغن هسته انگور (اولیتالیا، محصول ایتالیا)، گلوکونودلتالاکتون (G 4750، سیگما) و سویه‌های میکروبی شامل باکتری‌های استارتر ماست با مشخصه YC- X11 حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* و *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* (کریستین هانسن) و کشت تک سویه پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI L 10) تهیه شده از آنزیم‌های صنعتی ایران (DSM) و محیط کشت MRS آگار (شارلوآ، اسپانیا) بود.

۲-۱- تهیه میکروکپسول‌ها

ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با استفاده از تکنیک امولسیون‌سازی در بستر صمغ ژلان و کازئینات سدیم طبق روش گزارش شده توسط ناگ و همکاران (۲۰۱۱) [۱۸] انجام شد. روش میکروانکپسولاسیون استفاده شده در این پژوهش به صورت شماتیک در شکل ۱ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که صمغ ژلان و کازئینات سدیم هر یک به تنهایی محلول در آب هستند اما طی واکنشی که با هم انجام می‌دهند باعث نامحلول شدن کپسول‌های حاصله می‌گردند [۱۸].

۲-۲- روش تولید ماست پروبیوتیک

هیدراتاسیون شیر: قبل از تهیه ماست یک مرحله هیدراتاسیون شیر توسط کازئینات سدیم انجام گرفت. کازئینات سدیم بر اساس سطوح مورد نظر برای هر نمونه توزین شد و به آرامی در شیری که در ۹۰°C – ۸۵ حرارت دیده کم‌کم ریخته و به محض افزودن از همزن دور بالا استفاده گردید، سپس به مدت ۱۲-۸ ساعت در دمای یخچال ٤ °C قرار داده شد.

تولید ماست: برای تولید ماست پروبیوتیک ابتدا شیر خام با حجم مورد نظر به روش بن‌ماری حرارت داده شد تا به دمای ۵۵°C برسد، سپس شیر هیدراته شده را اضافه و تا دمای ۸۵°C به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد، سپس سریعاً تا دمای ٤۲°C سرد شد. در این لحظه برای نمونه‌های آزاد، تلقیح فوری استارتر و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* انجام گرفت و برای نمونه‌های کپسوله، تلقیح فوری استارتر و میکروکپسول‌ها انجام شد. مقدار کشت آغازگر ماست در همه نمونه ها ثابت و مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده باکتری بود. باکتری‌های پروبیوتیک (آزاد، کپسوله) هریک به میزان 10^{7} cfu/g به هریک از تیمارها افزوده شد. سپس در ظروف یکبار مصرف مقاوم به حرارت توزین شده و در انکوباتور °C ۳۷ به مدت ۲ ساعت قرار داده شد. هر ۲۰ دقیقه یکبار pH نمونه‌ها گرفته شد تا به ٤/۷ – ٤/٦ رسید سپس به یخچال با دمای ٤ °C منتقل گردید و در بازه زمانی صفر، ۳، ۱۱، ۱۸ و ۲۱ روز نگهداری ویژگی‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

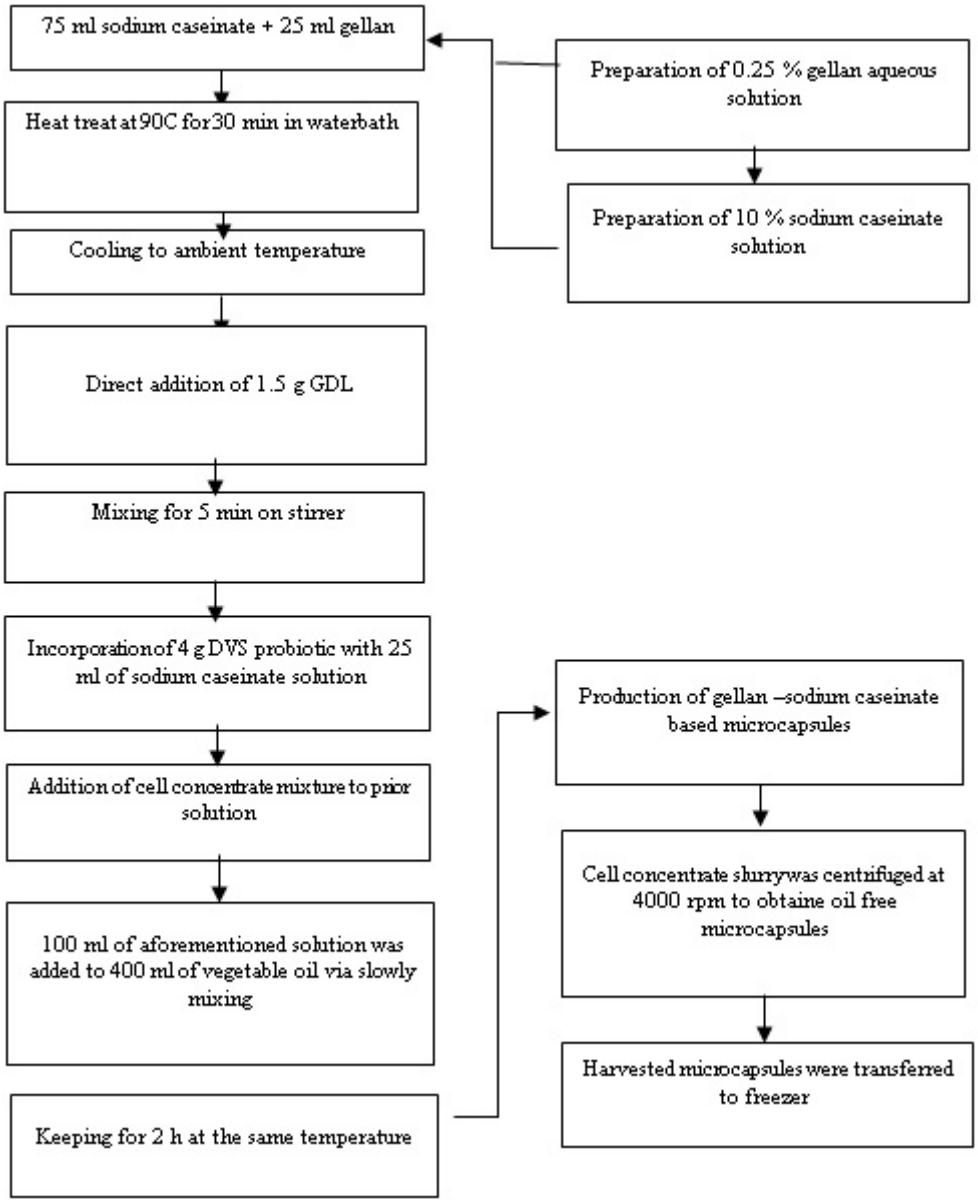

Fig 1 Gellan based microencapsulation procedure of probiotic bacteria

۲-۳- آزمون‌ها

۲-۳-۱- pH و اسیدیته کل

برای تعیین pH و اسیدیته ماست، از استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ استفاده گردید. برای اندازه‌گیری اسیدیته، ۱۰ گرم نمونه با حجم یکسان از آب رقیق شد، سپس اسیدیته از طریق تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در حضور شناساگر فنول فتالئین تا ظهور رنگ ارغوانی تعیین شد.

۲-۳-۲- ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ماست با استفاده از ویسکومتر بروکفیلد (نوع اسپیندل LV شماره ٦٣ با سرعت ۱۲ rpm به مدت ۳۰ ثانیه) اندازه‌گیری شد. نمونه‌های ماست قبل از اندازه-گیری ویسکوزیته برای یکنواخت شدن بافت، به مدت یک دقیقه هم زده شدند. اندازه‌گیری در دمای محیط انجام گرفت [۲۰].

۲-۳-۳- اندازه‌گیری سینرزیس

برای تعیین میزان آب‌اندازی نمونه‌های ماست، ۱۰ گرم نمونه به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ١٦٠٠ rpm و دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در سانتریفوژ قرار داده شد. سینرزیس (S) بر حسب درصد وزنی سرم جدا شده (W) توسط سانتریفوژ به وزن ماست اولیه (Y) طبق رابطه ۱ محاسبه گردید [۲۱].

رابطه (۱)

$$S = \frac{W}{Y} \times 100$$

۲-۳-٤- ظرفیت نگهداری آب (WHC)

برای اندازه‌گیری ظرفیت نگهداری آب حدود ۱۰ گرم ماست (Y) توزین شد و در دستگاه سانتریفوژ به مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ٤۰۰۰ rpm در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ گردید و مقدار آب جدا شده توزین شد (W). محاسبات با رابطه ۲ به روش سادینی و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد [۲۲].

رابطه (۲)

$$WHC = \frac{Y - W}{Y} \times 100$$

۲-۳-۵- شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

برای شمارش میکروبی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتولاسیلوس اسیدوفیلوس*، از روش رقت‌های متوالی استفاده شد. بدین صورت که از یک میلی‌لیتر نمونه ماست، تا رقت CFU/ml $^{-8}$ ۱۰ تهیه شد. از هر کدام از این رقت‌ها بر روی پلیت‌ها و با استفاده از محیط کشت MRS-agar کشت هوازی انجام گرفت. تعداد کلونی‌های به وجود آمده بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ $^{\circ}$C توسط دستگاه کلنی کانتر (Sana SL-902، ساخت ایران) شمارش گردید [۲۱].

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری

برای مطالعه اثر پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (در دو حالت کپسوله و آزاد)، کازئینات سدیم (۳-۰ درصد) و زمان نگهداری (۲۱-۰ روز) بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس* و ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی و میکروبی ماست پروبیوتیک، از یک طرح مرکب مرکزی (Central Combined Design) استفاده شد (نرم افزار آماری Design expert 7). پس از گردآوری داده‌ها، آنالیز رگرسیون برای مدل‌های درجه دوم انجام گرفت و میزان برازش مدل‌ها با محاسبه ضریب تبیین و عدم تطابق (Lack of Fit) در سطح معنی‌دار $P<۰/۰۵$ ارزیابی گردید. متغیرهای فرآیند و سطوح آنها در جدول ۱ نشان داده شده است.

Table 1 Independent process variables and their levels

Independent variable	Mathematical marks	Variable levels				
Time (day)	X_1	0	3	11	18	21
Sodium Caseinate(%)	X_2	0	0.75	1.5	2.25	3
Probiotic type	X_3	Free			Capsulated	

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اثر کازئینات سدیم و فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک بر ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی ماست

۳-۱-۱- اسیدیته

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد که اثر کازئینات سدیم، فرم تلقیح *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و زمان نگهداری به تنهایی بر تغییرات اسیدیته نمونه‌های ماست پروبیوتیک معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) (جدول ۲) ولی اثرات متقابل این متغیرها بر مقدار این پارامتر موثر نبود ($P>۰/۰۵$). با افزایش کازئینات سدیم، اسیدیته ماست روند افزایشی داشت به طوریکه بیشترین مقدار در نمونه‌های حاوی ۳٪ سدیم کازئینات مشاهده گردید (شکل۲). با مصرف مواد قندی و اسیدهای آلی، میکروارگانیسم شروع به استفاده از منابع جایگزین می‌کند. باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و باکتری‌های آغازگر ماست دارای ویژگی‌های پروتئولیتیکی هستند [۲۳]. طبق مطالعات جیلارد (۱۹۹۵) وقتی میزان آمینواسیدهای آزاد و پپتیدها کم باشد، باکتری‌های اسید لاکتیک که به سیستم پروتئولیک وابسته هستند با هیدرولیز کافی پروتئین‌های شیر این نیاز را تامین می‌کنند [۲٤]. این عمل سبب افزایش ناگهانی میکروارگانیسم‌ها شده و در نتیجه افزایش ناگهانی در رشد باکتریایی موجب افزایش غلظت اسیدها و کاهش pH می‌شود. در پژوهشی مشابه که از شیر خشک بدون چربی برای بالا بردن ماده خشک استفاده گردید، نتایج مطالعات انجام شده نشان داد که افزایش ماده جامد بدون چربی باعث افزایش معنی‌داری در اسیدیته ماست غلیظ شده نسبت به نمونه کنترل گردید [۲۵]. علت بالا رفتن اسیدیته می‌تواند افزایش ماده خشک محصول و افزایش

فعالیت متابولیکی باکتری‌های استارتر تولیدکننده اسید توسط ترکیبات پروتئینی مانند کازئینات سدیم باشد.

همانطور که مشاهده می‌شود با گذشت زمان نگهداری تا ۲۱ روز نیز بر مقدار اسیدیته ماست افزوده شد (شکل ۲). در زمان‌های نخست نگهداری با افزایش مقدار کازئینات سدیم و به دنبال آن افزایش سوبسترای در دسترس جهت رشد میکروارگانیسم‌ها، فعالیت متابولیکی باکتری افزایش یافت و موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته در نمونه‌های حاوی این ترکیب گردید. اما در اواخر دوره نگهداری با افزایش مقدار کازئینات سدیم، pH تغییر چندانی نشان نداد. علت آن شاید به دلیل تفاوت در ظرفیت بافری شیرهای مخلوط شده باشد. اسپیریتوسانتو و همکاران (۲۰۱۲) افزایش معنی‌دار اسیدیته در روز اول دوره نگهداری را برای ماست‌های تخمیر شده به وسیله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* که حاوی فیبر موز و میوه-های گرمسیری و حاره‌ای بودند، گزارش کردند [۲۶]. نتایج مطالعات عده‌ای از محققان، افزایش معنی‌دار اسیدیته ماست پروبیوتیک در طول نگهداری را به اثبات رسانده است [۲۷ و ۲۸]. همچنین اسیدیته ماست در حالت تلقیح باکتری اسیدوفیلوس به صورت آزاد بیشتر از میزان آن در حالت میکروکپسوله بود که با نتایج پژوهش کایلاسپاتی (۲۰۰۶) مطابقت دارد که نشان داد اسیدی شدن ثانویه در ماست حاوی پروبیوتیک کپسوله شده در مقایسه با ماست حاوی پروبیوتیک آزاد کمتر بوده است [۲۹].

Table 2 ANOVA results of response surface model for data response

Source	Acidity		Apparent viscosity		Synersis		WHC		Probiotic count	
	Mean Square	Pr>F	Mean Square	Pr>F	Mean Square	Pr>F	Mean Square	Pr>F	Mean Square	Pr>F
Model	0.074	<0.0001	8.4×10^5	<0.0001	159	<0.0001	40.8	<0.0001	2.908	<0.0001
Time(A)	0.097	<0.0001	-	-	424	<0.0001	15.69	0.024	0.206	0.0002
Sodium caseinate(B)	0.047	0.0022	4.6×10^5	0.0148	25.9	0.019	16.05	0.023	0.025	0.245
Probiotic type(C)	0.078	0.0002	12.7×10^5	0.0003	26.2	0.018	1.44	0.468	27.65	<0.0001
AB	-	-	-	-	-	-	113.85	<0.0001	-	-
AC	-	-	-	-	-	-	164.78	<0.0001	0.791	<0.0001
BC	-	-	-	-	-	-	-	-	0.328	0.002
Lack of fit	0.0052	0.062	87259.3	0.123	4.14	0.488	1.99	0.807	0.017	0.145
Pure error	0.0016	-	39362.9	-	3.91	-	3.44	-	0.0145	-

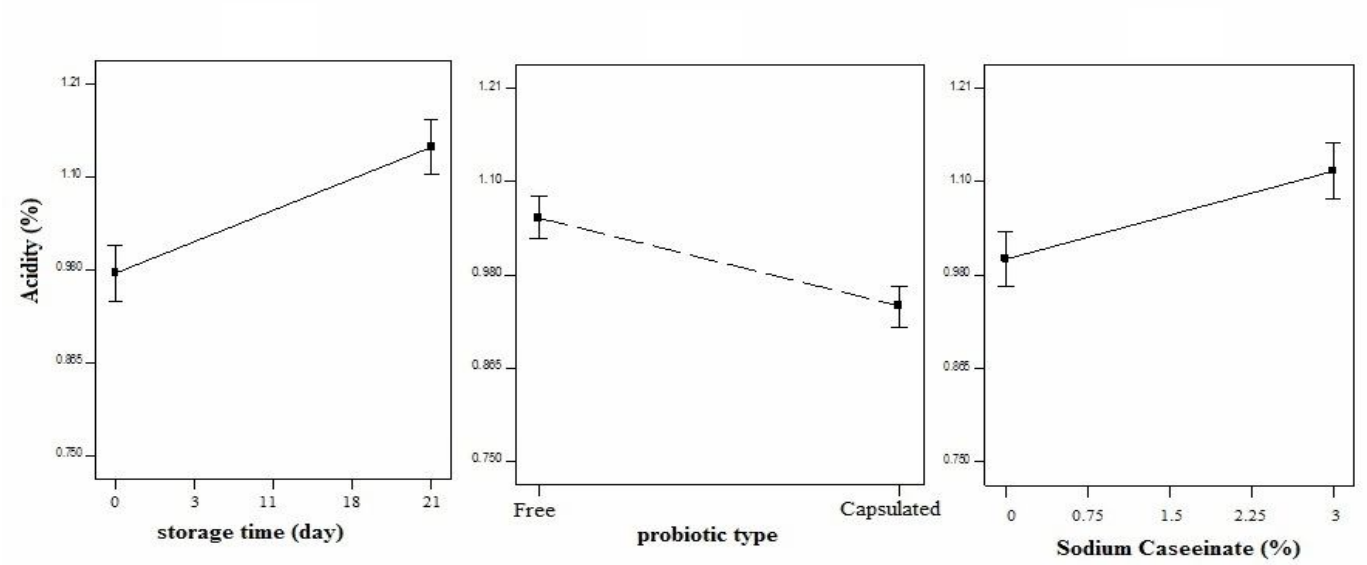

Fig 2 Effect of A) storage time, B) probiotic bacterial inoculation and C) sodium caseinate on acidity content of probiotic yogurts

۳-۱-۲- ویسکوزیته ظاهری

یکی از فاکتورهای مهم و اثرگذار در کیفیت محصول، ویسکوزیته ظاهری است که ویژگی یک ماده در مقابل تغییر شکل را نشان می‌دهد. هرچه گرانروی مایعی بیشتر باشد، برای ایجاد تغییر شکل یکسان، به تنش برشی بیشتری نیاز است. ترکیب شیر و مقدار ماده خشک آن در کنار عواملی مانند دما، زمان حرارت‌دهی و نوع استارتر مورد استفاده و شرایط نگهداری از عوامل موثر در ویژگی‌های رئولوژیکی محصول نهایی هستند [۳۰]. نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که در مورد این پارامتر فقط اثرات ساده کازئینات سدیم و فرم تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر میزان ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ماست پروبیوتیک معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$) ولی اثر زمان و همچنین اثر متقابل متغیرها تاثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۲). همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد با افزودن کازئینات سدیم به عنوان عامل هیدراسیون در شیر، بر ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های ماست تولیدی به طور معنی-داری افزوده شد به طوریکه بیشترین مقدار این پارامتر در نمونه‌های حاوی ۳٪ این ترکیب مشاهده گردید. طبق مطالعات دامین و همکاران (۲۰۰۹) افزایش مقدار پروتئین، یک فاکتور اصلی مؤثر در بافت است و غنی‌سازی شیر باعث توسعه و تجمع میسل‌های کازئین می‌شود. کازئینات سدیم و افزودنی-های بهبوددهنده ماست ویژگی‌های کیفی ماست را افزایش می-دهند [۳۱]. گنزمن و همکاران (۲۰۰۰) نیز گزارش کردند استفاده از ترکیباتی بر پایه پروتئین مانند کازئینات سدیم و کلسیم و شیر خشک موجب افزایش ویسکوزیته می‌شود. اثر کازئینات سدیم بر ویسکوزیته بیشتر از سایر متغیرها مؤثر بود [۳۲]. نتایج اثر فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به دو صورت آزاد و کپسوله نیز نشان داد که نمونه‌های ماست پروبیوتیک حاوی باکتری در حالت میکروکپسوله در بستری از سدیم کازئینات و صمغ ژلان، دارای ویسکوزیته ظاهری بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی این باکتری در حالت آزاد بودند که احتمالاً به دلیل تاثیر میکروکپسول‌ها در افزایش ماده خشک و در نتیجه افزایش گرانروی ماست تولیدی می‌باشد. از طرفی دیگر با افزایش اسیدیته و به دنبال آن، افزایش آب‌اندازی در دوره نگهداری، شبکه ژل سست شده و ویسکوزیته کاهش می‌یابد [۲۸]. نتایج این پژوهش نشان داد که در نمونه‌های کپسوله سینرزیس و هم چنین اسیدیته نسبت به ماست حاوی حالت آزاد باکتری پروبیوتیک، کاهش پیدا کرد و این تغییرات در جهت استحکام شبکه ژل و افزایش ویسکوزیته ظاهری نمونه های ماست حاوی میکروکپسول‌ها می‌باشد [۳۳].

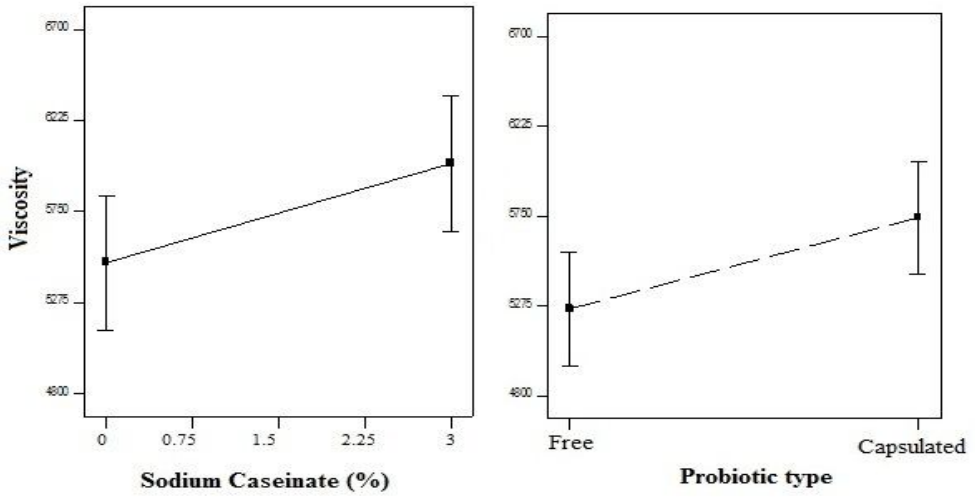

Fig 3 Effect of A) sodium caseinate, B) probiotic inoculation and on apparent viscosity of probiotic yogurt

۳-۱-۳- آب‌اندازی

آب‌اندازی یکی از ویژگی‌های نامطلوب ماست است که در نتیجه بازآرایی شبکه ژلی اتفاق می‌افتد و سبب افزایش تعداد اتصالات ذرات شده و بنابراین شبکه تمایل به چروکیدگی پیدا کرده و مایع داخلی به خارج مترشح می‌شود [۳٤]. به نظر می‌رسد که آب اندازی به میزان گسترده‌ای با مقدار ترکیبات کازئینی شیر و یا افزودن پایدار کننده‌ها ارتباط دارد. طبق نتایج این پژوهش اثرات ساده هر سه متغیر مورد بررسی بر میزان

آب‌اندازی ماست تولیدی معنی‌دار بود و در این بین تأثیر کازئینات سدیم در کاهش آب اندازی بیشتر بود (شکل ٤) ولی اثرات متقابل آنها بر تغییرات این پارامتر معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). نتایج نشان داد که افزودن سدیم کازئینات منجر به کاهش آب‌اندازی ماست در دوره نگهداری گردید که مطابق با اثر این ترکیب در افزایش ویسکوزیته ظاهری ماست بود که علت آن، افزایش محتوای پروتئینی و در نتیجه افزایش ماده خشک شیر در اثر افزودن کازئینات سدیم می‌باشد. افزایش غلظت ماده خشک سبب افزایش اتصال آب و در نتیجه کاهش سینرزیس می‌شود که نتایج این بررسی را تایید می‌کند. گنزالز و همکاران (۲۰۰۰) نیز بیان کردند که استفاده از ترکیباتی بر پایه پروتئین مانند کازئینات سدیم، کلسیم و شیر خشک موجب کاهش سینرزیس می‌شود [۳۲]. در پژوهشی مشابه، رضایی و همکاران (۱۳۹۲) با بررسی تأثیر افزودن کازئینات سدیم و عصاره نعناع فلفلی بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* و ویژگی‌های فیزیکی- شیمیایی ماست پروبیوتیک بدون چربی به این نتیجه رسیدند که با افزایش مقدار کازئینات سدیم درصد سینرزیس و ظرفیت نگهداری آب کاهش یافت [۳۵].

طبق نتایج مشخص شد که افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت ریزپوشانی شده منجر به کاهش آب-اندازی ماست در مقایسه با حالت آزاد این باکتری گردید که به دلیل پایین بودن اسیدیته این نمونه‌ها بود. همانطور که قبلاً اشاره گردید با افزایش اسیدیته و به دنبال آن افزایش آب‌اندازی طی نگهداری، شبکه ژل سست شده و ویسکوزیته کاهش یافت. فاکتورهایی نظیر محتوای چربی، ویژگی‌های باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک، مقدار ماده خشک بدون چربی، تولید اگزوپلی‌ساکاریدها، افزودن فیبرها و پایدارکننده‌ها، دمای تخمیر و pH فرآورده ازمهم‌ترین عوامل موثر برآب‌اندازی ماست می-باشد [۳٤]. مهدیان و همکاران (۱۳۹٤) با بررسی اثر فرآیند ریزپوشانی در بستر آلژینات کلسیم و افزودن فیبر حاصل از تفاله چغندرقند بر ویژگی‌های کیفی ماست پروبیوتیک گزارش کردند که بین نمونه‌های حاوی سلول‌های آزاد و ریزپوشانی شده اختلاف معنی‌داری در آب‌اندازی مشاهده گردید. به این معنی که ریزپوشانی باکتری اثری بر درصد آب اندازی نداشت [۳٦]. نتایج اثر زمان نگهداری بر تغییرات آب‌اندازی ماست نیز نشان داد که با گذشت زمان، آب‌اندازی نمونه‌های ماست بیشتر شد که ممکن است به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌های موجود در مایه کشت و پروبیوتیکی و تاثیر بر زنجیره‌های بلند بیو-پلیمرها باشد که می‌تواند عامل مهمی در کاهش نرمی و افزایش آب‌اندازی نمونه‌ها در طی نگهداری باشد [۲۹]. بنابر مطالعات انجام شده توسط مرتضویان و همکاران (۲۰۰٦) و لوسی (۲۰۰٤) نیز مشخص شد که میزان آب‌اندازی در نمونه‌های ماست پروبیوتیک نگهداری شده در دمای ٤ درجه سانتی گراد طی دوره نگهداری افزایش می‌یابد [۳۳ و ۳۷].

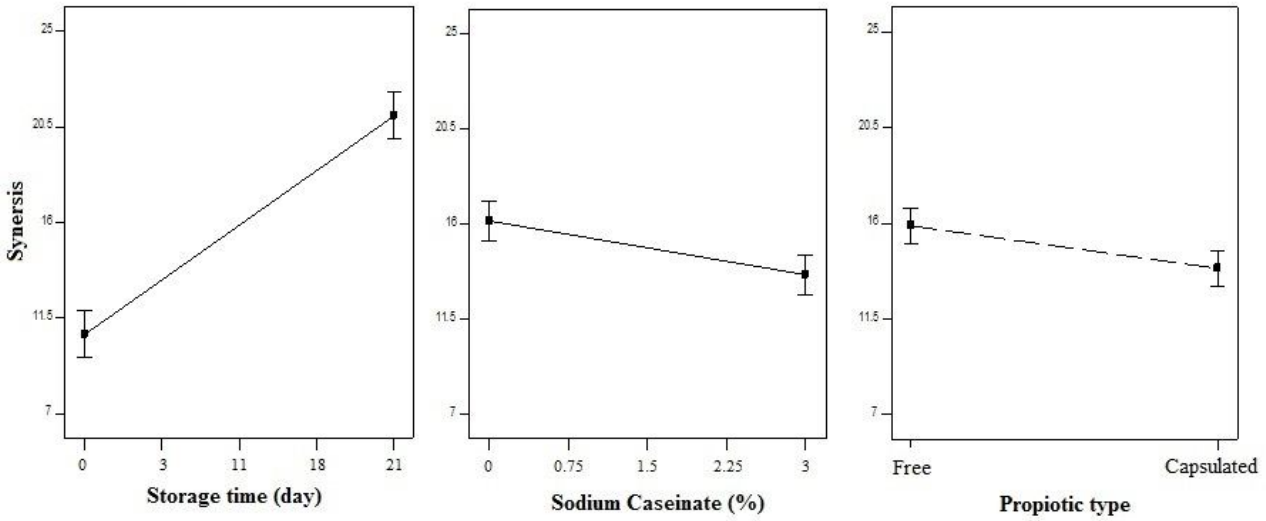

Fig 4 Effect of A) storage time, B) sodium caseinate and C) probiotic inoculation on synersis content of probiotic yogurt

۳-۱-٤- ظرفیت نگهداری آب

یکی از فاکتورهای مهم در تعیین کیفیت ماست ظرفیت نگهداری آب (WHC) می‌باشد. بسیاری از عوامل از جمله فرآیندهای ناقص، اسیدیته بالا، مقدار پروتئین، دمای نگهداری و غیره بر آزادسازی سرم در ماست تأثیر گذار هستند [۳۰]. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر ساده زمان و کازئینات سدیم و همچنین اثر متقابل زمان و سدیم کازئینات (AB) و زمان و فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک (AC) بر تغییرات ظرفیت نگهداری آب ماست پروبیوتیک معنی‌دار بود (جدول ۲). بررسی اثر فرم تلقیح باکتری بر ظرفیت نگهداری آب در طول نگهداری نشان داد که در ابتدای دوره نگهداری ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های آزاد بالاتر از نمونه‌های ریزپوشانی شده بود ولی با افزایش زمان نگهداری، ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های آزاد کاهش و در نمونه‌های ریزپوشانی شده افزایش پیدا کرد به طوریکه در پایان دوره نگهداری نتیجه بر خلاف اوایل دوره نگهداری بود (شکل۵). این نتایج با روند کاهش سینرزیس در نمونه‌های ریزپوشانی شده مطابقت دارد.

نتایج اثر کازئینات سدیم نیز نشان داد که افزودن این ترکیب به شیر باعث افزایش ظرفیت نگهداری آب در ماست پروبیوتیک تولید شده گردید (شکل ۵). علت افزایش ظرفیت نگهداری آب در نمونه‌های ماست در اثر استفاده از کازئینات سدیم در دوره نگهداری به دلیل وجود مقدار بالاتر پروتئین می‌باشد، بدین معنی که شبکه پروتئینی متراکم شده و با آب بیشتری در حجم معین باند می‌شود [۳۸]. همچنین آماتایاکول و همکارانش (۲۰۰٦) و سدینی و همکارانش (۲۰۰۵) عنوان کردند که افزایش محتوای پروتئین، بر هم‌کنش بین ذرات را افزایش داده و در نتیجه توانایی ماست به نگه داشتن آب افزایش می‌یابد. ژل‌های اسیدی با افزایش نسبت پروتئین به ماده خشک، ظرفیت نگهداری آب بالاتری را از خود نشان می‌دهند [۳۸ و ۳۹]. همچنین با هیدرولیز پروتئین‌ها با گذشت زمان اسیدهای آمینه آزاد و پلی‌پپتیدهای کوتاه زنجیر تولید می‌شود که هیدروفیلیک بوده و باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب می‌شوند [٤۰].

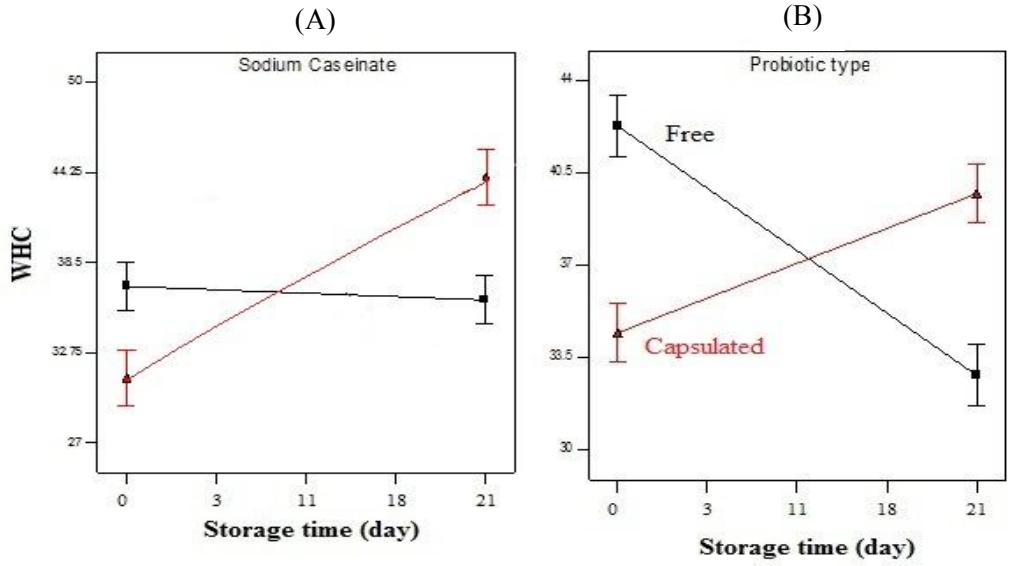

Fig 5 Interaction effect of A) sodium caseinate and storage time, B) probiotic inoculation and storage time on WHC content of probiotic yogurt

۳-۲- اثر کازئینات سدیم و فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

قابلیت زیستی و بقاء پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غذایی در درجه اول اهمیت قرار دارد. در فرآورده‌های لبنی تخمیری، فاکتورهایی نظیر گونه مورد استفاده، شرایط کشت، اسیدیته نهایی، مواد جامد شیر، مواد مغذی موجود، اکسیژن محلول (به ویژه برای بیفیدوباکتریوم)، سطح تلقیح و درجه حرارت آن و

زمان تخمیر از مهم‌ترین عوامل موثر بر بقاء پروبیوتیک‌ها می‌باشند [۲۸]. نتایج آنالیز واریانس (جدول ۲) نشان داد که در بین متغیرهای فرآیند اثر ساده زمان و فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک بر تغییرات باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* معنی‌دار بود ولی کازئینات سدیم بر قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک موثر نبود (P>۰/۰۵). نتایج فرم تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نشان داد که به طور کلی باکتری‌های ریزپوشانی شده در زمان نگهداری نه تنها کاهش پیدا نکرد بلکه یک روند افزایشی با شیب ملایمی نیز نشان داد، در حالی‌که باکتری‌های تلقیح شده به صورت آزاد و بدون پوشش در طول نگهداری ماست در یخچال روند کاهشی داشت به طوری که این کاهش در اواخر دوره نگهداری با شیب بیشتری اتفاق افتاده است که این نتیجه مؤید این است که ریزپوشانی باکتری اثر بیشتری بر حفظ بقاء سلول‌ها طی زمان نگهداری دارد (شکل ٦). بسیاری از محققان بیان کردند که وقتی که باکتری‌های کپسوله شده پروبیوتیکی در معرض شرایط نامطلوب محیطی قرار می‌گیرند، افزایش معنی‌داری در بقاء آنها نسبت به حالت آزاد مشاهده می‌شود [٤١]. مهدیان و همکاران (١٣٩٤) در مطالعات خود با بررسی اثر فرآیند ریزپوشانی در بستر آلژینات کلسیم و افزودن فیبر حاصل از تفاله چغندرقند بر قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در ماست پروبیوتیک به نتایج مشابهی رسیدند مبنی بر اینکه ریزپوشانی باکتری و افزایش مقدار فیبر در نمونه‌های حاوی سلول‌های آزاد به طور چشمگیری منجر به بهبود بقاء *لاکتوباسیلوس کازئی* در زمان نگهداری شد. آنها گزارش کردند که مقدار کاهش جمعیت باکتری در نمونه‌های حاوی سلول‌های ریزپوشانی شده تفاوت زیادی با یکدیگر نداشت که نشان‌دهنده تاثیر مثبت ریزپوشانی بر حفظ زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک طی زمان نگهداری ماست در یخچال می‌باشد [٣٦]. طبق نتایج نعیمی و همکاران (١٣٩٢) *لاکتوباسیلوس کازئی* در ماست بستنی حاوی این باکتری در حالت آزاد و ریزپوشانی شده، کاهش یافت ولی مقدار این کاهش برای *لاکتوباسیلوس کازئی* در حالت ریزپوشانی شده، نسبت به نوع آزاد آن، در نمونه‌های ماست بستنی، کمتر بود [٧]. چندرامولی و همکاران (٢٠٠٤) افزایش قابل توجه در *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* زیست پذیر در pH=2 را زمانی که در آلژینات ریزپوشانی شده بود، گزارش کردند [٤٢]. همچنین مشخص شده که ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در بستر آلژینات کلسیم باعث افزایش قابلیت زنده‌مانی آنها در دوره نگهداری بستنی و بستنی ماستی گردید [٤٣]. همچنین کپسولاسیون لاکتوباسیلوس‌ها در بستر آلژینات کلسیم باعث افزایش ٤٠ درصدی بقای آنها در شیر یخی شد [١٨].

نتایج اثر متقابل کازئینات سدیم و فرم تلقیح باکتری پروبیوتیک بر قابلیت زنده‌مانی باکتری اسیدوفیلوس در شکل ٦ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود، باکتری‌های ریزپوشانی شده با افزایش میزان کازئینات سدیم در شیر، قابلیت بقاء بیشتری داشتند. در نمونه‌های تیمار شده با کازئینات سدیم نیز پروتئازهای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، پروتئین‌های شیر عمدتًا کازئین را به عنوان منبع نیتروژن برای رشد خود هیدرولیز می‌کنند. نعیمی و همکاران (١٣٩٢) گزارش دادند که در ماست بستنی حاوی پروبیوتیک آزاد و ریزپوشانی شده با افزایش غلظت اینولین تا ٥٪ قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در طول ٣٠ روز نگهداری محصول در دمای ١٨- درجه سانتی‌گراد بالاتر از نمونه‌های فاقد اینولین بود که این خود، نشان‌دهنده اثر پری بیوتیکی اینولین بر باکتری‌های پروبیوتیک و بقاء آنها در دوره انبارمانی می باشد [٧].

رضایی و همکاران (١٣٩٢) نیز گزارش دادند که با افزایش مقدار کازئینات سدیم و عصاره نعناع در ماست پروبیوتیک بدون چربی، تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* افزایش یافت که علت آن ممکن است به دلیل افزایش مواد در دسترس برای رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* باشد [٣٥]. باکتری‌های آغازگر ماست و *لاکتوباسیلوس کازئی* آنزیم‌هایی خارج و داخل سلولی تولید می‌کنند که قادرند پپتیدهای فعال بیولوژیکی و برادی کینین[3] را هیدرولیز کنند. این آنزیم به دلیل محتوای پرولینی بالا، یکی از مهمترین آنزیم‌های باکتریایی مورد استفاده در صنایع لبنی است [٢٣]. لذا *لاکتوباسیلوس کازئی*، کازئینات سدیم را مورد مصرف قرار داده و با تبدیل آن به پپتیدهای جدید و به خصوص مواد زیست فعال، مواد مغذی در دسترس برای رشد افزایش یافته و منجر به افزایش رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* شده است [٤٤]. بیشترین رشد پروبیوتیک در میزان کازئینات بالاتر و اواخر دوره نگهداری مشاهده شد. چن و همکاران (٢٠٠٥) پری بیوتیک‌هایی نظیر فروکتوالیگوساکارید و ایزو-

3. Bradykinin

مالتوالیگوساکارید، یک تقویت‌کننده رشد (پپتید) و آلژینات سدیم را به عنوان مواد پوشش‌دهنده برای ریزپوشانی پروبیوتیک‌هایی نظیر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* آزمایش کرده و مشاهده کردند که استفاده از این ترکیبات باعث افزایش بقای باکتری‌ها در حد بالایی می‌شود [٤٥]. در مجموع نتایج این پژوهش نشان داد که ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* که به عنوان فلور مهم برای روده انسان و فرآورده‌های تخمیری شناخته شده می‌باشد همراه با هیدراسیون شیر توسط کازئینات سدیم، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و باعث افزایش معنی‌داری در بقای این باکتری در شرایط دشوار محیطی می‌شود.

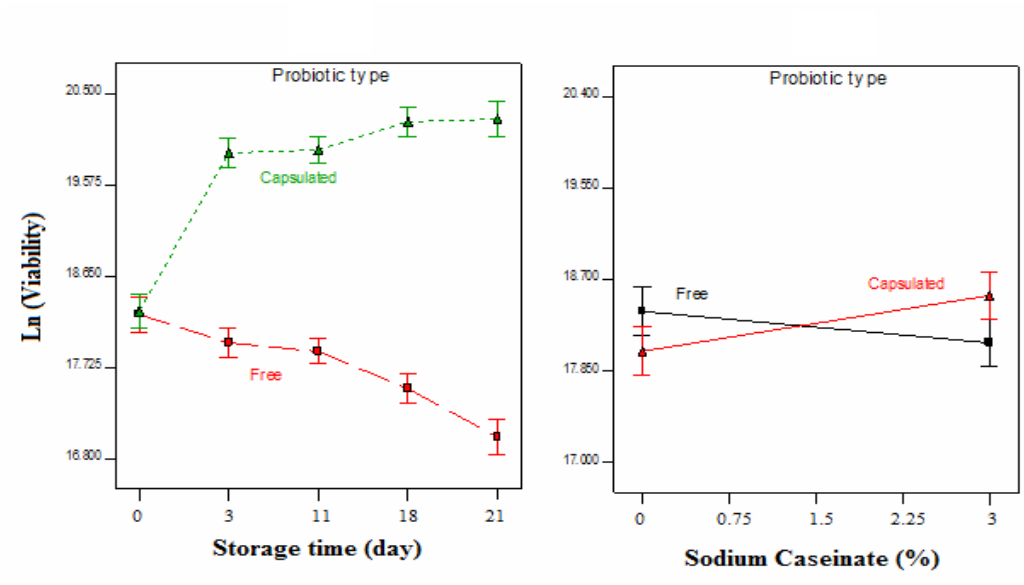

Fig 6 Interaction effect of A) probiotic bacterial inoculation and sodium caseinate, B) status of probiotic bacterial inoculation and storage time on the survival rate of *L. acidophilus*

٤- نتیجه‌گیری کلی

نتایج کاربرد کازئینات سدیم و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دو حالت آزاد و ریزپوشانی شده در ماست نشان داد که ماست‌های حاوی این ترکیب پروتئینی و باکتری پروبیوتیک در حالت میکروکپسوله دارای ظرفیت نگهداری آب و ویسکوزیته ظاهری بالاتر و سینرزیس کمتری نسبت به نمونه‌های فاقد کازئینات سدیم حاوی باکتری آزاد می‌باشد. همچنین مشخص شد که ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک منجر به کاهش اسیدیته و افزایش کازئینات سدیم سبب افزایش اسیدیته نمونه‌های ماست در زمان نگهداری در یخچال گردید. ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و افزایش مقدار کازئینات سدیم در نمونه‌های حاوی سلول‌های آزاد و ریزپوشانی شده به طور چشمگیری منجر به بهبود بقاء باکتری این باکتری در زمان نگهداری شد. طبق نتایج بدست آمده، تغییرات جمعیت باکتری در نمونه‌های حاوی سلول‌های ریزپوشانی شده تفاوت زیادی با یکدیگر نداشت که این نتیجه مؤید این است که ریزپوشانی باکتری اثر بیشتری بر حفظ بقاء سلول‌ها طی زمان نگهداری دارد. در مجموع با توجه به نتایج به دست آمده از این پژوهش، می‌توان گفت که ماست پروبیوتیک می‌تواند به عنوان یک حامل، برای انتقال میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی به بدن انسان در نظر گرفته شود.

٥- منابع

[1] Kris-Etherton P M, Lefevre M, Beecher G R, Gross M D, Keen C L and Etherton T D. 2004. Bioactive compounds in nutrition and health-research methodologies for establishing biological function: the antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids on atherosclerosis. Annual Reviews of Nutrition, 24:511-538.

[2] Ehsani, A., Mahmudi, R., Tokmechi, A., Pajohi, M. R. 2011. Iranian white cheese as a food carrier for probiotic bacteria. JFST, 8 (31); 77-83.

[3] Pourjafar, H., Mirzaei, H., Ghasemnezhad, R., Homayouni, Rad, A. 2011. Study of Morphological and Protective Characteristics of beads obtained from Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus Probiotic as a Predominant and Natural flora in human gut. J Army Univ Med Sci, 9(4): 233-240.

[4] Anal, A. K., & Singh, H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science & Technology, 18(5), 240-251.

[5] Savoie S, Champagne CP, Chiasson S and Audet P. 2007. Media and process parameters affecting the growth, strain ratios and specific acidifying activities of a mixed lactic starter containing aromaproducing and probiotic strains. J Appl Microbiol 103: 163–174.

[6] Iyer, R. N. & Hittinahalli, V. 2008. Modified Pap method to among methicillin resistant Staphylococcus aureus isolates tertiary care hospital. Indian Journal of Medical Microbiology, 26, (2), 176-179.

[7] Naeemi, H., Mortazavi, S. A., Milani, E., Koochaki, A. 2013. The influence of adding Inulin and Encapsulation on survivability lactobacillus casei storage of synbiotic yoghurt. JFST, 40(10); 27-36.

[8] Shrtt, C. 1999. The probiotic century historical and current perspectives. Trends Food Sci Technol., 10 (12), 411-417.

[9] Bari, M., Ashrafi, R., Alizadeh, M. & Rofehgarineghad, L. 2009. Effects of different of yogurt starter or probiotic bacteria, storage time & different concentration of cysteine on the microflora characteristics of Bio – Yogurt. Research Journal of Biological Sciences, 4, (2), 137-142.

[10] Mohebbi, M. & Ghoddusi, H. B. 2008. Rheological & sensory evaluation of yogurts containing probiotic cultures. Journal of Agriculture Science Technology, 10, 147-155.

[11] Milani, A., Naeemi, H., Mortazavi, S. A., Koochaki, A. 2012. The effect of gastrointestinal conditions simulation on the viability of probiotic bacteria Lactobacillus casei encapsulated in a synbiotic yogurt ice cream. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 8(2); 190-199.

[12] El-Dieb, S. M., Abd Rabo, F.H.R., Badran, S. M., Abd El-Fattah, A. M., and Elshaghabee, F.M.F. 2012. The growth behaviour and enhancement of probiotic viability in bioyoghurt. International Dairy Journal, 22: 44-47.

[13] Capela, P., Hay, T. K. C., and Shah, N.P. 2006. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. Food Research International ,39: 203–211.

[14] Brinques, G.B., and Ayub, M.A.Z. 2011. Effect of microencapsulation on survival of Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. Journal of Food Engineering 103: 123–128.

[15] Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C. Aguirre-Mandujano, E. and Vernon-Carter, E. J. 2004. Microstructureand texture of yogurt as influenced by fat replacers. International Dairy Journal, 14: 151–159.

[16] Godward, G. and Kailasapathy, K. 2003. Viability and survival of free, encapsulated and co- encapsulated probiotic bacteria in yoghurt. Milk Science International, 58: 396–399.

[17] Anil Kumar A. and Harjinder S. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science & Technology, 18: 240-251.

[18] Nag, A., Han, K.S. and Singh, H., 2011. Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. International Dairy Journal, 21: 247-253.

[19] Moghaddas-Kia E. 2013. Effect of microencaulation on the physichochemical and viability of probiotics in UF cheese (Text in Persian), MSc thesis. Agriculture faculty, Urmia University.

[20] Katsiari M C, Voutsinas L P, Kondyli E. 2002. Manufacture of yogurt from stored frozen sheep's milk. Food Chemistry, 77, 413–420.

[21] Zarrin, R., Ghasempour, Z., Rezazad, B. M., Alizadeh, M., and Moghaddas- Kia E. 2014. Investigating the effects of microalgae spirulina platensis and zedo gum on probiotic yogurt. Journal of research and innovation in food science and technology, 3: 197- 210.

[22] Sodini I, Lucas A, Tissier J P and Corrieu G. I2005a. Physical properties and microstructure of yoghurts supplemented with milk protein hydrolysates. International Dairy Journal, 15:29–35.

[23] Donkor O N, Henriksson A, Singh T K, Vasilijevic T and Shah N P. 2007. ACE-inhibitory activity of probiotic yoghurt. International Dairy Journal, 17:1321-1331.

[24] Brand Miller, J. C., McVeagh, P., McNeil, Y. and Gillard, B. 1995. Human milk oligosaccharides are not digested and absorbed in the small intestine of young infants. In proceedings-nutrition society of Australia, 19: 44.

[25] Mazaheri Tehrani, M., Razavi, S. M. A., Talakar, H. 2008. The effects of SNF and calcium chloride on physicochemical and sensory properties of concentrated yoghurt. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 4(1); 69-77.

[26] Espirito Santo, A. P., Cartolano, N. S., Silva, T. F., Soares, F. A. S. M., Gioielli, L. A., Perego, P., Converti, A. and Oliveira, M. N. 2012. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. International Journal of Food Microbiology, 154: 135–144.

[27] Vahcic, N., & Hruskar, M. 2000. Slovenian fermented milk with probiotics. Zb Biotehniške fak Univ v Ljubljani Kmetijstvo Zootehnika, 76(2), 41-46.

[28] Aghajani, A. R., Pourahmad, R., Mahdavi Adeli, H. R. 2011. The Effect of Prebiotics on Probiotic Yogurt Containing Lactobacillus casei. Food Technology & Nutrition, 8(4); 73-83.

[29] Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 39(10), 1221-1227.

[30] Girard M and Schaffer-Lequart C. 2007. Gelation of skim milk containing anionic exopolysaccharides and recovery of texture after shearing. Food Hydrocolloids, 21:1031-1040.

[31] Damin M R, Alcantara M R, Nunes A P and Oliveira M N. 2009. Effects of supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium casinate on acidification kinetics, rheological properties and stracture of nonfat stirred yogurt. Food Science and Technology, 42:1744-1750.

[32] Guzman-Gonzale M, Morais F and Amigo L. 2000. Influence of skimmed milk concentrates replacement by dry dairy products in alow-fat set-type yoghurt model system. II: Use of caseinates, coprecipitate and blended dairy powders. Journal of the Science of Food and Agriculture, 80:433–438.

[33] Mortazavian, A. M., Ehsani, M. R., Mousavi, S. M., Reinheimer, J. A., Emamdjomeh, Z., Sohrabvandi, S., & Rezaei, K. (2006). Preliminary investigation of the combined effect of heat treatment and incubation temperature on the viability of the probiotic micro organisms in freshly made yogurt. International Journal of Dairy Technology, 59(1), 8-11.

[34] Tamime, A.Y., Barrantes, E., & Sword, A.M. 1996. The effects of starch based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. Journal of the Society of Dairy Technology, 49, 1–10.

[35] Rezaei, A., Khosroshahi Asl, A., Zomorodi, SH., Maleki Nezhad, H. 2013. Effect of addition of sodium caseinate and peppermint extract on viability of *Lactobacillus casei* and physicochemichal properties and antioxidant activity of non-fat probiotic yogurt. Iranian Journal of Food Industry Research, 32(2); 423-434.

[36] Mahdian, L., K arazhyan, R., Vagheei, T. 2015. Assessing the effect of microencapsulation in bed of calcium alginate and the addition of fiber derived from sugar beet pulp on the Lactobacillus casei viability and quality characteristics of probiotic yoghurt. Journal of Innovation in Food Science and Technology, 7(3); 57-67.

[37] Lucey, J. A. 2004. Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. International Journal of Dairy Technology, 57(2- 3), 77-84.

[38] Sodini, I. Montella, J. and Tong, P.S. 2005b. Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. J. of the Science of Food and Agriculture, 85: 853–859.

[39] Amatayakul, T. Sherkat, F. and Shah, N. P. 2006. Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. Food Hydrocolloid, 20: 314-324.

[40] Cumby, N., Zhong, Y., Naczk, M., & Shahidi, F. 2008. Antioxidant activity and water-holding capacity of canola protein hydrolysates. Food Chemistry, 109(1), 144-148.

[41] Akin .M.B. Akin .M. S, kirmaci. Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics food chemistery 104: 93-99.

[42] Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P., & Jones, M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions. Journal of microbiological methods, 56(1), 27-35.

[43] Shah N.P. and Ravula R.R. 2000. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. Australian-Journal-of-Dairy-Technology, 55 (3):139-144.

[44] Gonzalez-Gonzalez C R, TuohyK M and Jauregi P. 2011. Production of angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity in milk fermented with probiotic strains: Effects of calcium, pH and peptides on the ACE-inhibitory activity. International Dairy Journal, 21:615-622.

[45] Chen K. N., Chen M. J., Liu J. R., Lin C. W., and Chiu H. Y. 2005. Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. Journal of Food Science, 70: 260-266.

The effects of addition of sodium caseinate and microencapsulation process on the viability of *Lactobacillus acidophilus* and qualitative properties of probiotic yoghurt during storage

Moghaddas Kia, E. [1], Dorosti, E. [2], Ghasempour, Z. [3], Ehsani, A. [4*]

1. PhD of Food Technology, Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Maragheh University of Medical Sciences, Maragheh, Iran
2. Graduated MSc student of food science and technology, Afagh higher education institute, Urmia, Iran
3. PhD of Food Technology, Assistant Professor, Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
4. PhD of food hygiene and quality control, Full Professor, Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Nutrition and Food Sciences, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

(Received: 2017/03/18 Accepted:2017/07/08)

Yogurt is a fermented dairy product consumed worldwide. In the recent years, a novel product has been produced using probiotic bacteria known as probiotic yogurt which is beneficial and functional dairy product. Microencapsulation technique can lead to an increase in survival rate of the probiotic bacteria in dairy products during storage. In this research, the effect of sodium caseinate (0-3%) and microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* in the context of sodium caseinate- gellan gum were studied on the physicochemical properties (pH, apparent viscosity, water holding capacity (WHC) and synersis) and survival rate of the mentioned bacteria in the probiotic yoghurt during 21 days storage at 4˚C. The results of qualitative properties of produced yoghurt showed that by addition of sodium caseinate to milk, acidity, water holding capacity and apparent viscosity of yoghurt were increased during storage, but the amount of synersis was decreased. Results also showed that yoghurt samples containing encapsulated *L. acidophilus* had high apparent viscosity and WHC compared to the free form of the bacteria, while lead to less acidity and syneresis. According to the obtained results from microbial counts, microencapsulation of *L. acidophilus* and using sodium caseinate dramatically improved its survival during storage time, so that the highest number of bacteria survival at the end of day 21 belonged to the sample containing 3% sodium caseinate and encapsulated cells.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, Microencapsulation, Probiotic yoghurt, Sodium caseinate

* Corresponding Author E-Mail Address: ehsani@tbzmed.ac.ir