

## تأثیر ریزپوشانی رنتی، صمغ لوبیای خرنوب و ژلاتین بر روی زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس و ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی دوغ

نجمه صباحی محمدی<sup>۱\*</sup>، محمد علیزاده<sup>۲</sup>، محمود رضان‌دباری<sup>۱</sup> و آیداصالح<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۹۳/۲/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۳/۴/۷

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

\*مسئول مکاتبه: Email: najmehsabahi@gmail.com

### چکیده

هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر ریزپوشانی رنتی، مقادیر ژلاتین و صمغ لوبیای خرنوب بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و همچنین ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی دوغ نظیر حجم فاز آبی، ویسکوزیته ظاهری و اسیدیته، در طول ۲۹ روز نگهداری آن بود. برای این منظور، مطابق با طرح آزمایشی مورد مطالعه، ژلاتین (صفر، ۱۵/۰ و ۳۰/۰ درصد)، صمغ لوبیای خرنوب (صفر، ۲/۰ و ۴/۰ درصد) و باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس در دو شکل ریزپوشانی شده و آزاد مورد استفاده قرار گرفتند. در تمامی تیمارها آنزیم ترانس گلوتامیناز به مقدار ۱ واحد بر گرم پروتئین شیر افزوده شده و نتایج با نمونه‌های فاقد ترانس گلوتامیناز (نمونه‌های دوغ کنترل) مورد مقایسه قرار گرفت. آنالیز آماری نشان داد که جمعیت پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده در طول مدت زمان نگهداری در مقایسه با تیمارهای حاوی پروبیوتیک‌های آزاد کاهش معنی‌داری نشان نداد. صمغ لوبیای خرنوب در کنار تأثیر بر کاهش جداسدن فاز آبی، بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها نیز تأثیر معنی‌دار مثبت داشت. همچنین آنزیم ترانس گلوتامیناز و ژلاتین بر روی جلوگیری از جداسدن فاز آبی موثر بودند و استفاده همزمان این ترکیبات تأثیر بیشتری داشتند.

**واژگان کلیدی:** ترانس گلوتامیناز، پروبیوتیک، دوغ، ژلاتین، صمغ لوبیای خرنوب، ریزپوشانی

### مقدمه

یک محصول باید بیشتر از  $10^6$  cfu mL<sup>-1</sup> باشد (دنکور و همکاران ۲۰۰۷). محصولات شیری تخمیری بخش عمده‌ای از رژیم غذایی افراد را تشکیل می‌دهند (عزیزنیا و همکاران ۲۰۰۸). با حساسیت باکتری‌های پروبیوتیک به شرایط اسیدی و کاهش جمعیت آن‌ها در محصولات نظیر ماست (لورنزهاتینگ و ویلجون ۲۰۰۱) از

امروزه با بالا رفتن سطح آگاهی مردم از فواید باکتری-های پروبیوتیک، تمایل آن‌ها به مصرف غذاهای عملگرا مانند غذاهای حاوی این باکتری‌ها به دلیل اثرات درمانی آن‌ها افزایش یافته است. (حکمت و رید ۲۰۰۶). برای موثر بودن پروبیوتیک‌ها در سلامتی، غلظت آن‌ها در

غذایی ایفا می‌کند (یوکسل و اردم ۲۰۱۰). استفاده از این آنزیم در دوغ تا حدود زیادی سبب افزایش ویسکوزیته می‌گردد و از تجمع میسل‌های کازئین و ته نشینی نمونه‌های دوغ جلوگیری می‌نماید (کوک‌تاش و سیدیم ۲۰۱۰).

هدف از این مطالعه بررسی تأثیر همزمان ریزپوشانی رنتی، ژلاتین و صمغ لوبیای خرنوب بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و همچنین ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی دوغ بود.

### مواد و روش‌ها

شیر پاستوریزه و هموژنیزه کم‌چرب (چربی ۱/۵٪، ماده خشک بدون چربی ۸/۵٪ و پروتئین ۲/۸٪) و نمک از شرکت پگاه آذربایجان غربی و پودر شیرخشک کم‌چرب حاوی ۳۰-۳۵٪ پروتئین از شرکت میلاد خراسان-ایران به عنوان بستر جهت ریزپوشانی، تهیه شد. آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی (*Activa-MP*) از شرکت آجینوموتوی فرانسه، آنزیم رنت نوترکیب قارچی از شرکت میتوی ژاپن، صمغ لوبیای خرنوب از شرکت سیگمای آمریکا و ژلاتین گاوی از شرکت ژلیتای آمریکای جنوبی تهیه شد. روغن هسته انگور به عنوان فاز پیوسته در ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفت. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه گردید. استارتر نوع *YC-350* (لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) و باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس<sup>۲</sup> از شرکت کریستین هنسن دانمارک تهیه شد.

### ریزپوشانی رنتی

ریزپوشانی رنتی به روش امولسیون مطابقت با روش هیدباخ (۲۰۰۹) با اندکی تغییر انجام شد. محلول اولیه رنت با قدرت آنزیمی *IMCU* ۴۰۰ و محلول ۱۰٪ وزنی/حجمی (v/w) کلسیم کلرید و ۳۵٪ وزنی/حجمی

روش‌هایی نظیر ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها جهت افزایش زنده‌مانی آن‌ها استفاده می‌گردد.

ریزپوشانی، یک روش جدید برای حفظ زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در غذاهاست که پوششی فیزیکی را در برابر شرایط نامساعد محیطی فراهم می‌کند (چاواری و همکاران ۲۰۱۰). آنال و سینگه (۲۰۰۷) عنوان نمودند باکتری‌های ریزپوشانی شده در طول تولید و نگهداری محصولات شیری تخمیری در مقایسه با باکتری‌های آزاد از مقاومت بالاتری برخوردار می‌باشند.

پایداری مناسب و بافت یکنواخت جهت ایجاد احساس دهانی مناسب و عدم جدا شدن فاز آبی، پارامترهای کیفی مورد نیاز برای نوشیدنی‌های شیری اسیدی است (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۴).

عوامل مختلفی بر دو فاز شدن دوغ تأثیرگذار می‌باشند (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۳). هیدروکلوئیدها برای بهبود خصوصیات کیفی دوغ و نوشیدنی‌های مشابه، به طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند (لوسی و سینگ ۱۹۹۸، ترامپ و همکاران ۲۰۰۴).

صمغ لوبیای خرنوب<sup>۱</sup> یک هیدروکلوئید غیرجاذب است که با افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته از دو فاز شدن دوغ جلوگیری می‌نماید (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۴).

ژلاتین یکی دیگر از استابلیزرهای رایج در محصولات شیری تخمیری است که ژل قابل حل در دهان تولید می‌کند (لدوارد ۲۰۰۰ و مارکوت و همکاران ۲۰۰۱). ژلاتین باعث افزایش ویسکوزیته و سفتی در ماست شده و از آب اندازی جلوگیری می‌کند (فیزمن و همکاران ۱۹۹۹). استفاده از ژلاتین در دوغ نیز تا حدود زیادی از دوفاز شدن آن جلوگیری می‌نماید (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۴).

آنزیم ترانس گلوتامیناز یک آنزیم آسیل ترانسفراز است که تشکیل اتصالات عرضی کووالان را بین اسیدهای آمینه لیزین و گلوتامیک اسید کاتالیز کرده و با اصلاح خواص عملکردی پروتئین‌ها نقش مهمی در فرآیندهای

<sup>۲</sup> Bifidobacterium animalis Subsp. lactis BB12

<sup>۱</sup> Locust Bean Gum (LBG)

(v/w) شیرخشک تهیه شد. باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم/انیمالیس زیرگونه لاکتیس جهت تهیه کنسانتره باکتری به ۳۰ میلی لیتر محلول ۳۵٪ شیر خشک تهیه شده، اضافه و با استفاده از همزن مغناطیسی تا انحلال کامل همزده شد. سپس ۳۰ میلی-لیتر از کنسانتره حاصل تا رسیدن به دمای ۵ °C خنک و ۴۸۰ میکرولیتر از محلول رنت توسط سمپلر به مخلوط اضافه و به مدت ۱ ساعت در این دما نگهداری شد. سپس ۱۸۰ میکرولیتر از محلول کلسیم کلرید تهیه شده جهت شروع ژلاسیون به مخلوط اضافه شد. بلافاصله پس از افزودن کلسیم کلرید و همزدن محدود، مخلوط حاصل به ۱۵۰ میلی لیتر روغن هسته انگور با دمای ۵ °C اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه توسط همزن مغناطیسی در حمام آب ۵ °C با دور ۵۰۰ rpm همزده شد. سپس ارلن حاوی روغن از حمام آب خارج و دما به تدریج تا ۴۰ °C افزایش و به مدت ۱۵ دقیقه در این دما همزده شد. با رسیدن دما به ۱۸-۲۰ °C، قطرات امولسیون به اجزای ژل تبدیل شده و در حضور کلسیم تجمع میسل‌ها رخ داده و پروبیوتیک‌ها در داخل ژل به دام افتادند. برای جداسازی ژل‌های رنتی حاوی پروبیوتیک از روغن اطراف آن، مخلوط روغن و ژل در فالكون‌های ۱۵ سی سی ریخته شد و در دور ۳۲۰۰ rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفیوژ گردید. کپسول‌های حاصل برای تهیه نمونه‌های دوغ در دمای فریز نگهداری شدند.

#### تهیه نمونه‌های دوغ

نمونه‌های دوغ در این مطالعه همانند روش کوک تاش و سیدیم (۲۰۱۰) با اندکی تغییر، تهیه و آماده سازی گردیدند. ابتدا دمای شیر هر تیمار به ۸۰ °C رسانده شد و به تمامی تیمارها به استثنای تیمارهای کنترل، مطابق با طرح آزمایشی، صمغ لوبیای خرنوب در سه سطح ۰، ۰/۲ و ۰/۴ درصد و ژلاتین نیز در سه سطح ۰، ۰/۱۵ و ۰/۳ درصد، اضافه و با همزن تا اختلاط کامل همزده شد. سپس دمای نمونه‌ها تا ۵۰ °C کاهش داده شد و آنزیم ترانس گلوتامیناز میکروبی به استثنای نمونه‌های

کنترل به مقدار ۱ واحد بر گرم پروتئین شیر به نمونه‌ها تلقیح گردید. این نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت به منظور بهینه سازی فعالیت آنزیم در دمای فوق، گرمخانه گذاری شدند (فارنرورت و همکاران ۲۰۰۶). سپس، نمونه‌ها جهت غیر فعال سازی آنزیم به مدت ۱ دقیقه در دمای ۸۰ °C نگهداری شدند. آب که از قبل به مدت چند ثانیه در دمای جوش نگهداری شده و به دمای محیط رسیده بود، به نمونه‌ها به مقدار ۵۰٪ (۵۰٪ آب، ۵۰٪ شیر) افزوده شد و دمای نمونه‌ها سریعاً تا دمای ۵۰-۵۵ °C کاهش داده شد. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه هموژنایزر اولتراتوراکس در دور ۹۵۰۰ rpm به مدت ۳۰ ثانیه هموژن شدند (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۴). دمای نمونه‌ها سریعاً تا ۴۲ °C کاهش و استارتر و پروبیوتیک مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده و طرح آزمایشی، به تیمارها تلقیح شده و تیمارها تا رسیدن به pH= ۴/۴-۴/۶ در دمای ۴۲ °C گرمخانه گذاری شدند. پس از رسیدن به pH مورد نظر، نمک به مقدار ۰/۷٪ مطابق با استاندارد داخلی، به کلیه تیمارها افزوده و مجدداً هموژن شدند. سپس تیمارها بلافاصله تا دمای ۴ °C خنک شده و در طول انجام آزمایش‌ها در همین دما نگهداری شدند. نمونه‌ها در روزهای ۱، ۱۵ و ۲۹ پس از تولید مورد ارزیابی قرار گرفتند.

#### آزمون‌ها

اسیدیته نمونه‌های دوغ از طریق تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال و pH با استفاده از pH متر کالیبره شده با بافرتجاری pH=۴ و pH=۷، اندازه‌گیری شدند (استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲).

#### ویسکوزیته ظاهری

ویسکوزیته ظاهری با استفاده از دستگاه رئومتر<sup>۲</sup> ساخت کشور اتریش مجهز به ژئومتری استوانه‌های هم‌مرکز، مورد ارزیابی و اندازه‌گیری قرار گرفت. برای این منظور ارتباط بین تنش برشی و ویسکوزیته به

داده‌ها و آنالیز رگرسیون و واریانس میزان تأثیرگذاری فاکتورها و اثرات متقابل آن‌ها در سطوح معنی‌دار ۰/۰۵ مورد ارزیابی قرار گرفت. برای آنالیز و رسم نمودارها از نرم افزار SAS.V. 9/1 استفاده گردید. همچنین برای مقایسه میانگین‌ها توزیع t-استیوندت به کار برده شد. طرح آماری در جدول ۱ نشان داده شده است.

### نتایج و بحث

#### اسیدیته و pH

نتایج آنالیز آماری نشان داد که زمان نگهداری، غلظت صمغ لوبیای خرنوب، اثر متقابل زمان نگهداری و صمغ لوبیای خرنوب، اثر متقابل زمان نگهداری و ژلاتین، آنزیم ترانس گلوتامیناز بر روی مقادیر اسیدیته تأثیر معنی‌دار داشتند ( $P < 0/05$ ). و هم چنین زمان نگهداری، نوع پروبیوتیک تلقیحی، اثر متقابل نوع سلول پروبیوتیک و LBG، آنزیم ترانس گلوتامیناز بر pH نمونه‌های دوغ تولیدی معنی‌دار ( $P < 0/05$ ) بود. با گذشت زمان اسیدیته در نمونه‌های دوغ افزایش و pH کاهش یافت که ناشی از فعالیت باکتری‌های استارتر *استریپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* می‌باشد که حتی در دماهای یخچالی نیز فعال بوده و موجب تخمیر لاکتوز و تولید اسید لاکتیک می‌گردند (کایلاستی ۲۰۰۶). با بررسی اثر متقابل زمان و ژلاتین بر روی pH و اسیدیته، pH نمونه‌های فاقد ژلاتین به مرور زمان کاهش یافت. اما با بررسی نمونه‌های حاوی ۰/۳ درصد ژلاتین، کاهشی در pH آن‌ها در طول مدت نگهداری مشاهده نشد و اسیدیته در روزهای پایانی کاهش یافت (شکل ۱ و ۲). جی (۱۹۹۰) گزارش نمود که در روزهای پایانی با اتمام لاکتوز، باکتری‌ها جهت تأمین انرژی مورد نیاز خود از منابع پروتئینی موجود در محیط و اسیدهای آلی استفاده می‌نمایند که بدیهی است با مصرف منابع پروتئینی pH افزایش و اسیدیته کاهش می‌یابد. همچنین کاهش اسیدیته در انتهای زمان نگهداری در اثر تولید بعضی متابولیت‌ها

صورت تابعی از سرعت برشی، در یک فاصله زمانی ۱۰ دقیقه اول روند افزایشی و ۱۰ دقیقه دوم روند کاهشی با سرعت برشی  $s^{-1}$  ۰/۱ تا ۶۰۰ سپس  $s^{-1}$  ۶۰۰ تا ۰/۱ تعیین گردید (آذری کیا و همکاران ۲۰۰۹). سپس ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها در سرعت برشی  $s^{-1}$  ۵۵، که سرعت برشی اعمال شده از طریق دهان می‌باشد (در حالتی که سرعت برشی در ۱۰ دقیقه اول افزایش می‌یابد) گزارش گردید (بورن ۲۰۰۲ و بارنز ۲۰۰۸).

#### اندازه گیری میزان فاز آبی

نمونه‌های دوغ بلافاصله پس از تولید در فاکون‌های ۵۰ سی‌سی ریخته شده و به مدت ۲۹ روز در  $4^{\circ}C$  ثابت نگه داشته شدند. حجم فاز آبی جدا شده در ۱۰۰ میلی لیتر گزارش گردید (کوکسوی و کلیک ۲۰۰۳).

#### قابلیت زنده‌مانی

به منظور شمارش باکتری بیفیدوباکتریوم *انیمالیس* زیرگونه *لاکتیس*، از محیط کشت MRS-Agar حاوی لیتیم کلراید به مقدار ۰/۲٪ و سدیم پروپیونات به مقدار ۰/۳٪ که توسط فیلتر سر سرنگی به MRS-Agar استریل افزوده شدند، استفاده گردید (ویندرولا و رینهرمر ۲۰۰۰). از نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌های آزاد و کپسول‌های واپاشی شده، تا رقت‌های ۶، ۷ و ۸ رقت سازی و ۱ میلی لیتر از هریک از این رقت‌ها به پلیت استریل انتقال و به روش پورپلیت کشت گردیدند. به منظور واپاشی کپسول‌های پروبیوتیک و آزاد سازی آن‌ها، پیش از تهیه رقت‌های موردنظر از دستگاه اولتراتوراکس IKA, T25 استفاده شد (دوهرتی و همکاران ۲۰۱۱). پلیت‌ها در دمای  $37^{\circ}C$  به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی گرمخانه گذاری شدند (کراسکوپ و همکاران ۲۰۰۴).

#### روش آماری

در این مطالعه از طرح D-پتیمال برای مطالعه تأثیر همزمان فاکتورهای غلظت صمغ لوبیای خرنوب، ژلاتین، زمان نگهداری و نوع سلول پروبیوتیک استفاده گردید. برای این منظور ۴۶ تیمار تهیه شد. پس از جمع آوری

که ناشی از فعالیت باکتری استرپتوکوکوس ترموفیلوس است، می‌باشد (رامچندران و شاه ۲۰۱۰). اما از آنجاییکه ظرفیت بافری در محصولات لبنی عامل مؤثر در تعیین مقادیر pH می‌باشد (سالون و همکاران ۲۰۰۵) به دلیل ماهیت پروتئینی ژلاتین و خاصیت بافری آن، در این تحقیق در روزهای پایانی اسیدیته کاهش یافته اما تغییری در pH مشاهده نشد.

مقایسه نمونه‌های حاوی آنزیم ترانس‌گلوتامیناز با نمونه‌های کنترل نشان داد که نمونه‌های حاوی آنزیم (۱ واحد بر گرم پروتئین شیر) اسیدیته کمتر و pH بالاتری را در مقایسه با نمونه‌های فاقد آنزیم در طول ۲۹ روز نگهداری از خود نشان دادند. آنزیم ترانس‌گلوتامیناز در روند تولید اسید لاکتیک اختلال ایجاد کرده و بر روی رشد باکتری استارتر ماست تأثیر منفی می‌گذارد که این مهم به مقدار آنزیم نیز بستگی دارد (بارباروز و همکاران ۲۰۰۷). افزایش غلظت آنزیم سبب کاهش تکثیر باکتری‌ها شده و همین امر سبب کاهش سرعت توسعه اسید می‌گردد (نیو و همکاران ۲۰۰۱). فارگمند و همکاران (۱۹۹۹) اعلام نمودند که غیرفعال ساختن آنزیم قبل از تلقیح استارتر و انکوباسیون، تأثیر منفی آنزیم بر روی رشد باکتری‌های استارتر را در مدت زمان نگهداری نمونه‌ها بیشتر می‌کند. همچنین فارگمند و همکاران (۱۹۹۹) و بارباروز و همکاران (۲۰۰۷) عنوان نمودند که هیچ تأثیر کاهنده‌ای از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز بر روی باکتری‌های استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس گزارش نشده است و فقط می‌توان گفت که آنزیم ترانس‌گلوتامیناز احتمالاً پپتیدهای سبک مولکول و اسیدهای آمینه مورد نیاز استرپتوکوکوس ترموفیلوس را باند کرده و از در دسترس آن‌ها خارج می‌نماید. همچنین در تحقیقی تأثیر منفی آنزیم بر روی رشد لاکتوباسیلوس بولگاریکوس، در هفته دوم نگهداری نمونه‌های ماست مشاهده شد (بارباروز و همکاران ۲۰۰۷) که تأییدی بر نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد. شکل ۳ تأثیر

متقابل زمان و صمغ لوبیای خرنوب بر روی اسیدیته را نشان می‌دهد که با افزایش غلظت صمغ لوبیای خرنوب با گذشت زمان نگهداری، اسیدیته افزایش یافته است. صمغ در غلظت‌های پایین تأثیر ناچیزی بر روی افزایش اسیدیته داشت که مشابه با نتایج بلگین و همکاران (۲۰۰۳) بود. باکتری‌های پروبیوتیک تولید کننده‌های ضعیف اسید هستند (مارشال و تمیم ۱۹۹۷). پس می‌توان گفت با افزایش غلظت صمغ، رشد و فعالیت پروبیوتیک‌های آزاد افزایش یافته و طبیعتاً منجر به افزایش اسیدیته و کاهش pH در مقایسه با نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌های ریز پوشانی شده گردیده است. فعالیت بیشتر پروبیوتیک‌های آزاد در حضور صمغ لوبیای خرنوب سبب کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌گردد، که افزایش اسیدیته، سرعت جدا شدن فاز آبی را افزایش می‌دهد. در نتیجه می‌توان با ریزپوشانی پروبیوتیک از کاهش pH در حضور صمغ جلوگیری نمود. این نتایج مشابه با نتایج کایلاسپتی و ماسوندول (۲۰۰۵) بود که زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* آزاد و ریزپوشانی شده و تأثیر آنها را بر روی خصوصیات حسی ماست در طول ۶ هفته نگهداری، بررسی و اعلام نمودند؛ pH نهایی ماست‌های حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده بیشتر از پروبیوتیک آزاد بود. همچنین با استفاده از ترکیب پروتئینی به عنوان بستر ریزپوشانی، ویژگی بافری تقویت شده و در نتیجه pH کاهش نمی‌یابد (بلگین و همکاران ۲۰۰۳).

#### ویسکوزیته

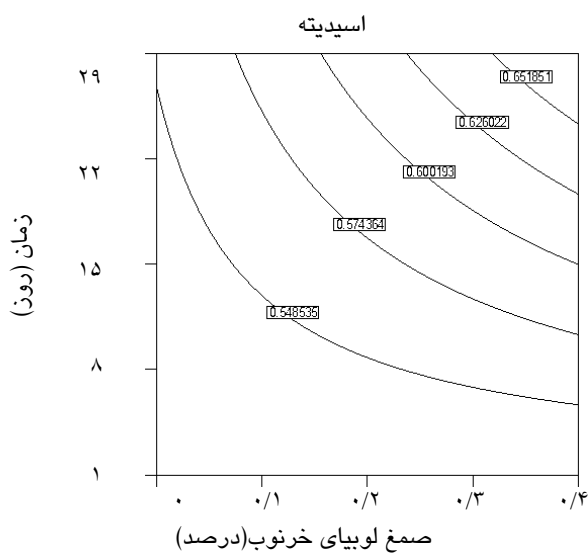
اثر متقابل ژلاتین و صمغ لوبیای خرنوب بر روی ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های دوغ معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) بود. با توجه به شکل ۴ مشاهده شد که در عدم حضور ژلاتین با افزایش غلظت صمغ لوبیای خرنوب ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها افزایش یافت. صمغ لوبیای خرنوب یک صمغ غیرجاذب است که موجب تشکیل

شبکه، محصور ساختن ذرات و افزایش گرانروی می- شود (سیرب و همکاران ۱۹۹۸).

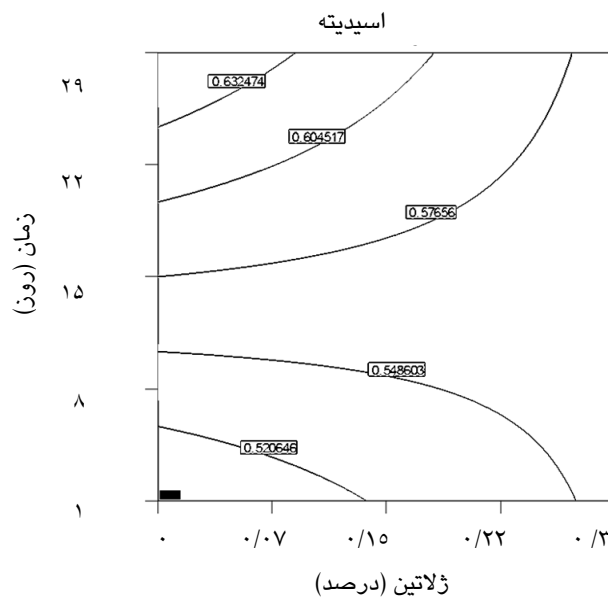
جدول ۱- طرح آزمایشی مورد استفاده

نوع سلول	زمان (روز)	ژلاتین (درصد)	لوبیای خرنوب (درصد)	ترانس گلوتامیناز (واحد برگرم پروتئین شیر)	تیمار
ریزپوشانی	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۱
آزاد	۱	۰/۱۵	۰/۴	۱	۲
آزاد	۲۹	۰/۱۵	۰	۱	۳
آزاد	۲۹	۰	۰/۲	۱	۴
آزاد	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۵
ریزپوشانی	۱۵	۰	۰/۴	۱	۶
ریزپوشانی	۲۹	۰/۳	۰/۲	۱	۷
آزاد	۱۵	۰	۰/۴	۱	۸
آزاد	۲۹	۰/۳	۰/۲	۱	۹
ریزپوشانی	۱۵	۰/۳	۰	۱	۱۰
آزاد	۱	۰/۳	۰/۲	۱	۱۱
ریزپوشانی	۱۵	۰/۳	۰/۴	۱	۱۲
ریزپوشانی	۱	۰/۳	۰/۲	۱	۱۳
ریزپوشانی	۱	۰/۳	۰	۱	۱۴
ریزپوشانی	۲۹	۰/۳	۰	۱	۱۵
ریزپوشانی	۱۵	۰	۰	۱	۱۶
آزاد	۲۹	۰/۱۵	۰/۴	۱	۱۷
آزاد	۱	۰/۱۵	۰	۱	۱۸
ریزپوشانی	۲۹	۰	۰/۲	۱	۱۹
آزاد	۱۵	۰/۳	۰/۴	۱	۲۰
آزاد	۱۵	۰/۳	۰	۱	۲۱
آزاد	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۲۲
ریزپوشانی	۱	۰/۱۵	۰/۴	۱	۲۳
ریزپوشانی	۱	۰	۰/۲	۱	۲۴
آزاد	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۲۵
آزاد	۱۵	۰	۰	۱	۲۶
ریزپوشانی	۲۹	۰/۱۵	۰/۴	۱	۲۷
آزاد	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۲۸
ریزپوشانی	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۲۹
ریزپوشانی	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۳۰
آزاد	۱	۰	۰/۲	۱	۳۱
آزاد	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۳۲
ریزپوشانی	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۳۳
ریزپوشانی	۱۵	۰/۱۵	۰/۲	۱	۳۴
آزاد	۱	۰	۰	۰	۳۵
آزاد	۱	۰	۰	۰	۳۶
آزاد	۱	۰	۰	۰	۳۷
آزاد	۱	۰	۰	۰	۳۸
آزاد	۱۵	۰	۰	۰	۳۹
آزاد	۱۵	۰	۰	۰	۴۰

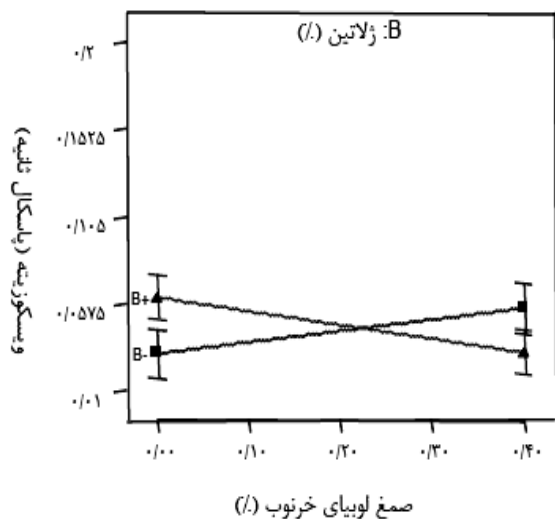
۴۱	.	.	.	۱۵	آزاد
۴۲	.	.	.	۱۵	آزاد
۴۳	.	.	.	۲۹	آزاد
۴۴	.	.	.	۲۹	آزاد
۴۵	.	.	.	۲۹	آزاد
۴۶	.	.	.	۲۹	آزاد



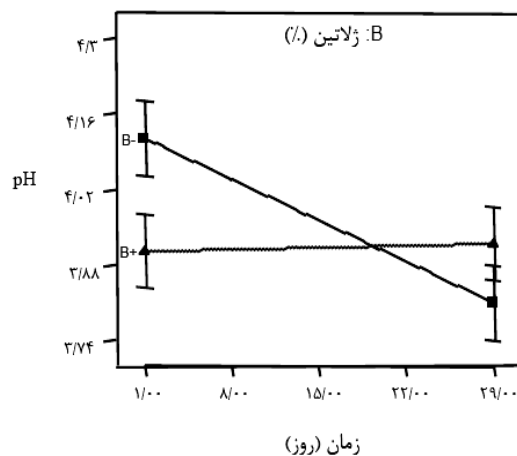
شکل ۳- اثر متقابل صمغ لوبیای خرنوب و زمان بر روی مقادیر اسیدیته



شکل ۱- تأثیر متقابل گذر زمان و ژلاتین بر روی مقادیر اسیدیته



شکل ۴- تأثیر متقابل LBG و ژلاتین بر روی ویسکوزیته ظاهری



شکل ۲- تأثیر متقابل گذر زمان و ژلاتین (B+ = حداکثر و B- = حداقل) بر روی مقادیر pH

(۱۹۹۹) گزارش نمودند غلظت ۱/۵٪ ژلاتین برای ایجاد یک شبکه پیوسته با ارتباطات داخلی برای به دام انداختن آب در آن، مناسب است.

در این مطالعه، استفاده از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز مانع از افزایش میزان سدیمانتاسیون یا جداسدن فاز آبی در نمونه‌های دوغ در طول ۲۹ روز نگهداری گردید. فعالیت آنزیم و ایجاد اتصالات عرضی بین زنجیره‌های پروتئین، باعث به وجود آمدن یک شبکه سه بعدی شده و آب را در خود به دام می‌اندازد و با کاهش خلل و فرج شبکه میزان سینرزیس کاهش می‌یابد (لورنزن و همکاران ۲۰۰۲). همچنین گاج و همکاران (۲۰۰۹) از آنزیم ترانس‌گلوتامیناز به مقدار ۰/۵ واحد بر گرم پروتئین شیر در تهیه‌ی ماست استفاده نموده و اعلام کردند نمونه‌های حاوی آنزیم در مقایسه با نمونه‌های شاهد، ۳۱٪ آب اندازی کمتر داشتند. استفاده همزمان از آنزیم سبب کاهش غلظت مورد نیاز ژلاتین برای پایداری کامل نمونه‌ها گردید (لوسی ۲۰۰۴) و بر روی کاهش سدیمانتاسیون تأثیر بیشتری نشان داد. استفاده همزمان از هیدروکلوئید و آنزیم سبب کاهش مصرف هیدروکلوئید و مانع از تغییر طعم می‌گردد (کورایشی و همکاران ۲۰۰۱). این نتایج مطابق با تحقیقات لاتور و همکاران (۲۰۰۳) و سوزا و ساد (۲۰۰۹) بود. استفاده از صمغ لوبیای خرنوب در نمونه‌های دوغ باعث کاهش سدیمانتاسیون گردید. یعنی با افزایش غلظت لوبیای خرنوب از صفر تا ۰/۴٪ حجم فاز آبی تقریباً از ۲۲٪ تا ۸٪ کاهش یافت که این نشان‌دهنده تأثیر مثبت آن در کاهش سدیمانتاسیون نمونه‌ها بود. که مشابه با نتایج آذری‌کیا و همکاران (۲۰۰۹) می‌باشد که عنوان نمودند صمغ لوبیای خرنوب در غلظت ۰/۳٪ موجب پایداری کامل نمونه‌های دوغ گردید. پلی‌ساکاریدهایی که باردار نبوده و بر روی کازئین جذب نمی‌شوند نظیر لوبیای - خرنوب، با افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته باعث کاهش سدیمانتاسیون می‌گردند (آذری‌کیا و همکاران ۲۰۰۹).

این نتایج منطبق بر نتایج کوکسوی و کلیک (۲۰۰۴) بود که با افزایش غلظت لوبیای خرنوب در نمونه‌های دوغ، ویسکوزیته ظاهری افزایش یافت. اما در نمونه‌های حاوی ژلاتین که صمغ در مجاورت ژلاتین قرار گرفته است، افزایش غلظت صمغ سبب کاهش ویسکوزیته ظاهری گردید که با نتایج بلگین و همکاران (۲۰۰۳) مشابه بود که عنوان نمودند غلظت صمغ لوبیای خرنوب بسته به ماده خشک ماست، بایستی در مقادیر مشخص باشد در غیر اینصورت منجر به کاهش ویسکوزیته و افزایش سینرزیس در نمونه‌های ماست می‌گردد. بهینه نمودن نسبت پروتئین- صمغ برای تهیه محلول‌های ویسکوز و بهتر کردن شرایط واکنش صمغ- پروتئین ضروری است (اشمیت و اسمیت ۱۹۹۲). اشمیت و اسمیت (۱۹۹۲) عنوان نمودند که اگر غلظت صمغ- پروتئین بهینه نباشد، ممکن است واکنش‌های پروتئین با پروتئین و صمغ با صمغ صورت پذیرد و ویژگی‌های شیر را تحت تأثیر قرار دهد که صمغ بیشتر از پروتئین در این زمینه نقش دارد.

استفاده از ژلاتین در کنار صمغ سبب برهم خوردن مقادیر بهینه ترکیب صمغ- پروتئین شده و منجر به کاهش ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها گردیده است.

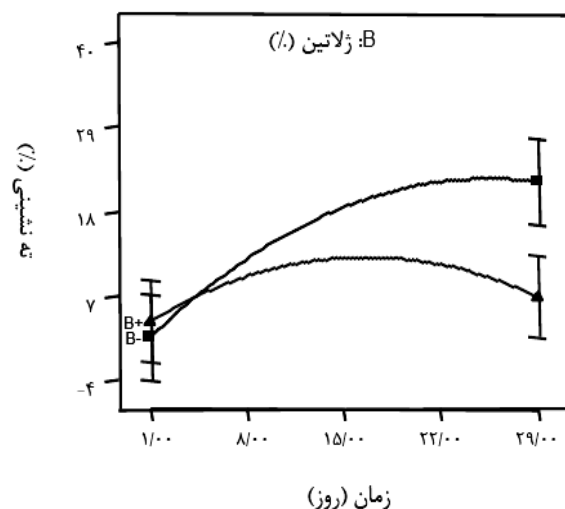
#### سدیمانتاسیون یا جداسدن فاز آبی

باتوجه به شکل ۵ حجم فاز آبی در نمونه‌های فاقد ژلاتین به ۲۵ درصد افزایش یافت در حالیکه در نمونه‌های حاوی ژلاتین حجم فاز آبی تقریباً ۶٪ بود. در واقع ژلاتین باعث کاهش جدا سازی فاز آبی گردید. کوکسوی و کلیک (۲۰۰۴) اعلام کردند که غلظت ۰/۲۵٪ ژلاتین، حجم فاز آبی را در طول ۱۵ روز نگهداری نمونه‌های دوغ، ۲۵ درصد، کاهش داد. ژلاتین به دلیل دارا بودن ساختمان پروتئینی و تشکیل یک شبکه پروتئینی آب را در خود به دام انداخته و ظرفیت بالایی در نگهداری آب و جلوگیری از آب اندازی در ماست از آنجاییکه دوغ یک نوشیدنی بر پایه ماست می‌باشد همین تأثیر در دوغ نیز قابل انتظار است. فیزمن و همکاران



## زنده‌مانی پروبیوتیک

صمغ لوبیای خرنوب، ژلاتین، نوع سلول پروبیوتیک، اثر متقابل زمان و ژلاتین و اثر متقابل ژلاتین و نوع سلول بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تأثیر معنی‌دار داشتند ( $P < 0.05$ ). همانطور که در شکل ۶ مشاهده می‌شود در روز ۱۵ام، در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک آزاد، افزایش غلظت ژلاتین باعث کاهش زنده‌مانی و جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک گردیده است. با این وجود جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک طی دوره‌ی نگهداری از حد ذکر شده در استاندارد ( $10^6$  cfu/ml) بالاتر بود.



شکل ۵- نمودار اثر متقابل زمان و ژلاتین (B+) = حداکثر و (B-) = حداقل) بر روی جدا شدن فاز آبی

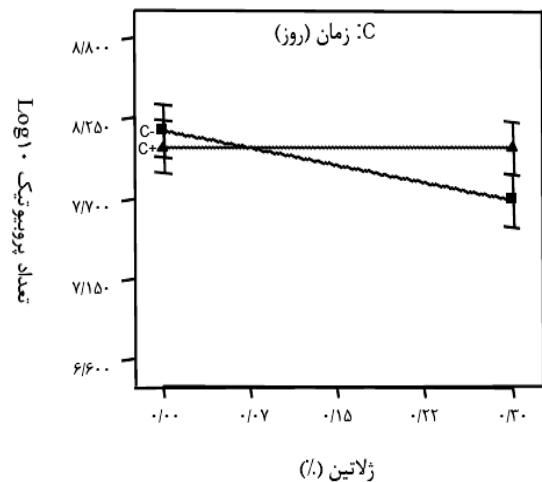
در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده، جمعیت میکروبی با افزایش ژلاتین ثابت ماند. در واقع ژلاتین باعث کاهش زنده‌مانی پروبیوتیک‌های آزاد گردیده است. اطلاعات بسیار کمی درباره ویژگی‌های ضد باکتریایی پپتیدهای حاصل از ژلاتین یا کلاژن در دسترس است (گومز گویلن و همکاران ۲۰۱۱). احتمالاً می‌تواند مربوط به فاکتورهای مختلفی نظیر نوع اسید آمینه، ترتیب و توالی آمینواسیدها، وزن مولکولی و نوع باکتری باشد (دی برناردینی و همکاران ۲۰۱۱). در حالیکه جمعیت پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده با افزایش غلظت ژلاتین ثابت ماند که نشان دهنده ویژگی

محافظت‌کنندگی کپسول از باکتری در برابر عوامل نامساعد است. در این مطالعه آنالیز آماری نشان داد که جمعیت پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده در طول مدت زمان نگهداری در مقایسه با تیمارهای حاوی پروبیوتیک‌های آزاد کاهش معنی‌داری نشان نداد. هم‌چنین گادوارد و کایلاسپتی (۲۰۰۳) اعلام نمودند، ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها، زنده‌مانی آنها را در ماست افزایش داده و آن را یک حامل مناسب برای پروبیوتیک‌ها قرار می‌دهد. شواهد و تحقیقات بسیاری وجود دارند که نشان می‌دهند ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها برای محافظت از آنها یک روش مناسب است که امکان استفاده از آنها را در غذاهای اسیدی نظیر ماست ممکن می‌سازد (سولتانا و همکاران ۲۰۰۰ و کراسکوپت و همکاران ۲۰۰۳). با بررسی تأثیر آنزیم ترانس گلوتامیناز در مقدار ۱ واحد بر گرم پروتئین شیر، بر روی زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار بین میانگین جمعیت میکروبی نمونه‌های حاوی و فاقد آنزیم ترانس گلوتامیناز وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). این یافته‌ها مشابه با نتایج فارنسورت و همکاران (۲۰۰۶) بود که گزارش نمودند تأثیر آنزیم بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی، سویه‌های بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست در طول ۸ هفته نگهداری معنی‌دار نبود. با توجه به اینکه گذشت زمان در نوشیدنی‌های تخمیری اسیدی سبب کاهش جمعیت میکروبی می‌گردد اما در این مطالعه مشاهده گردید تأثیر گذشت زمان بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). می‌توان به نقش صمغ لوبیای خرنوب در محافظت از پروبیوتیک‌های آزاد و هم‌چنین ریزپوشانی نمودن آنها، اشاره نمود.

کنار آنزیم ترانس گلوتامیناز می‌تواند تا حدود زیادی از جداسدن فاز آبی در دوغ جلوگیری نماید. ریزپوشانی رنتی باکتری‌های پروبیوتیک، در بستر پروتئین‌های شیر، سبب افزایش زنده‌مانی آن‌ها در دوغ گردید. ریزپوشانی باکتری‌ها علاوه بر حفظ آن‌ها در دوغ در جلوگیری از کاهش pH نیز مؤثر بود. ژلاتین علی‌رغم جلوگیری از ته نشینی و جداسدن فاز آبی، بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها تأثیر منفی داشت. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه می‌توان گفت که استفاده از یک ترکیب در دوغ، به تنهایی، قادر به برآوردن تمامی اهداف موردنظر کیفی نبوده و نیازمند استفاده از فرمولاسیون چندگانه برای رسیدن به ویژگی‌های کیفی موردنظر می‌باشد.

#### تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله قدردانی خود را از مدیرعامل محترم کارخانه شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان غربی، جناب آقای مهندس حق جو، و قائم مقام محترم، جناب آقای مهندس محمدپور، به دلیل در اختیار قراردادن مواد و امکانات آزمایشگاهی اعلام می‌دارند.



شکل ۶- تأثیر بر همکنش ژلاتین و زمان نگهداری (-C= حداقل و C+= حداکثر) بر روی قابلیت زنده‌مانی

با بررسی تأثیر صمغ لوبیای خرنوب بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها مشاهده می‌شود که جمعیت میکروبی در ابتدا که غلظت LBG صفر می‌باشد، تقریباً  $10^8$  بوده که با افزایش غلظت صمغ، جمعیت میکروبی افزایش یافته است.

#### نتیجه گیری کلی

از این مطالعه می‌توان نتیجه گیری نمود که استفاده از هیدروکلوئیدها نظیر صمغ لوبیای خرنوب و ژلاتین در

#### منابع مورد استفاده

بی نام، ۱۳۸۵، استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲. شیر و فراورده‌های آن- تعیین اسیدیته و pH- روش آزمون. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی.

- Anal AK and Singh H, 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science and Technology 18: 240-251.
- Azarikia F, Abbasi S and Azizi MH, 2009. Investigation of the efficiency and mechanisms of some hydrocolloids on the stabilization of doogh. Iranian. Journal of Nutrition Science and Food Technology 4: 11-22.
- Aziznia S, Khosrowshahi A, Madadlou A and Rahimi J, 2008. Whey Protein Concentrate and Gum Tragacanth as Fat Replacers in Non-fat Yogurt Chemical, Physical, and Microstructural Properties. Journal of Dairy Science 91: 2545-2552.
- Barbaros O, Huseyin AK, Sebnem O, Adnan H and Metin A, 2007. Incorporation of microbial transglutaminase into non-fat yogurt production. International Dairy Journal 17: 199-207.

- Barnes HA, 2008. Handbook of elementary rheology. (1st ed). Translated by Abbasi S. Tehran .Marze Danesh Publication, (in farsi).
- Belgin U, Selami M and Nursel DI, 2003. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. *International Dairy Journal* 13: 909–916.
- Bourne MC, 2002. Food texture and viscosity. Concept and measurement. New York, Academic Press 78.
- Chavarri M, Maranon I, Ares R, Ibanez FC, Marzo F and Villaran MdC, 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro- intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology* 142 (1–2): 185–189.
- Di Bernardini R, Harnedy P, Bolton D, Kerry J, O'Neill E, Mullen AM and Hayes M, 2011. Antioxidant and antimicrobial peptidic hydrolysates from muscle protein sources and by-products. *Food Chemistry* 124: 1296-1007.
- Doherty SB, Gee VL, Ross RP, Stanton C, Fitzgerald GF and Brodtkorb A, 2011. Development and characterisation of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids* 25: 1604-1617.
- Donkor ON, Nilmini SLI, Stolic P, Vasiljevic T and Shah NP, 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yogurt during cold storage. *International Dairy Journal* 17:657–665.
- Faergemand M, Sorensen MV, Jorgensen U, Budolfsen G and Qvist KB, 1999. Transglutaminase effect on instrumental and sensory texture of set style yoghurt. *Milchwissenschaft* 54(10): 563–566.
- Farnsworth JP, Li J, Hendricks GM and Guo MR, 2006. Effects of transglutaminase treatment on functional properties and probiotic culture survivability of goat milk yogurt. *Small Ruminant Research* 65:113–121.
- Fizszman SM, Lluch MA and Salvador A, 1999. Effect of addition of gelatine on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *International Dairy Journal* 9(12):895–901.
- Gauche C, Tomazi T, Barreto PLM, Ogliari PJ and Bordignon –Luiz MT, 2009. Physical properties of yoghurt manufactured with milk whey and Transglutaminase. *Food Science and Technology* 42:239–243.
- 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.
- Gómez-Guillén MC, Giménez B, López-Caballero ME and Montero MP, 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources, A review. *Food Hydrocolloids* 25: 1813-1827.
- Heidebach T, Forst P and Kulozik U, 2009. Microencapsulation of probiotic cells by means of rennet-gelation of milk proteins. *Food Hydrocolloid* 23 (7): 1670–1677.
- Hekmat S and Reid G, 2006. Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Journal of Nutrition Research* 26:163– 166.
- Jai JM, 1990. *Modern Food Microbiology*. Chapman and Hall.
- Kailasapathy K and Masondole L, 2005. Survival of free a microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* and their effect on texture of Feta cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* 60: 252–258.
- Kailasapathy K, 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *Food Science and Technology* 39: 1221-1227.
- Kök Taş T and Güzel-Seydim Z, 2010. Determination of effects of using fat replacers and probiotic on Ayran quality. *Gida* 35 (2): 105-111.
- Koksoy A and Kilic M, 2003. Effect of water and salt level on rheological properties of Ayran, a Turkish yoghurt drink. *International Dairy Journal* 13: 835–839.
- Koksoy A and Kilic M, 2004. Use of hydrocolloids in textural stabilization of a yoghurt drink, Ayran. *Food Hydrocolloids* 18: 593–600.
- Kraskoop W, Bhandari B and Deeth HC, 2004. Survival of probiotic encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yogurt from UHT – and conventionally treated milk during storage. *Food Science and Technology* 39: 177-183.

- Krasaekoopt W, Bhandari B and Deeth H, 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yogurt. *International Dairy Journal* 13: 3–13.
- Kuraishi C, Yamazaki K and Susa Y, 2001. Transglutaminase its utilization in the food industry. *Food Reviews International* 17: 221-246.
- Latorre L, Tamime AY and Muir DD, 2003. Rheology and sensory profiling of set type fermented milks made with different commercial probiotic and yogurt starter cultures. *International Journal of Dairy Technology* 56: 1-9.
- Ledward DA, 2000. Gelatin. Pp. 67-86. In: Philips GO and Williams PA (eds). *Handbook of hydrocolloids*. Cambridge- Wood head Publishing Limited.
- Lorenzen PC, Neve H, Mautner A and Schlimme E, 2002. Effect of enzymatic cross-linking of milk proteins on functional properties of set-style yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 55:152–157.
- Lourens-Hattingh A and Viljoen BC, 2001. Yoghurt as probiotic carrier food. *International Dairy Journal* 11: 1–17.
- Lucey JA and Singh H, 1998. Formation and physical properties of acid milk gels. *Food Research International* 30: 529–542.
- Lucey JA, 2004. Cultured dairy products an overview of their gelation and texture properties. *Dairy International Journal Technol* 57: 77–84.
- Marcotte M, Hoshahili ART and Ramaswamy HS, 2001. Rheological properties of selected hydrocolloids as a function of concentration and temperature. *Food Research International* 34(8): 695–703.
- Marshall VM and Tamime AY, 1997. Starter cultures employed in the manufacture of biofermented milks. *International Dairy Journal* 50:35–39.
- Neve H, Lorenzen PC, Mautner A, Schlimme E and Heller KJ, 2001. Effects of transglutaminase treatment on the production of set skim milk yoghurt. *Milchwirtschaft Forschungsber* 53: 347–361.
- Ramchandran L and Shah NP, 2010. Characterization of functional, biochemical and textural properties of symbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. *Food Science and Technology* 43: 819–827.
- Salaun F, Mietton B and Gaucheron F, 2005. Buffering capacity of dairy products. *International Dairy Journal* 15: 95–109.
- Schmidt KA and Smith DE, 1992. Milk reactivity of gum and milk protein solutions. *Journal of Dairy Science* 75:3290–3295.
- Souza CHB and Saad SMI, 2009. Viability of lactobacillus acidophilus La-5 added solely or in co culture with a yoghurt stater culture and implications on physic-chemical and related properties on minas fresh cheese during storage. *Food Science and Technology* 42: 633-640.
- Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P and Kailasapathy K, 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate–starch and evaluation of survival in simulated. Gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology* 62: 47–55.
- Syrbe A, Bauer WJ and Klostermeyer H, 1998. Polymer science concepts in dairy system. An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction. *International Dairy Journal* 8: 179–193.
- Tromp RH, de Kruif CG, Van Eijk M and Rolin C, 2004. On the mechanism of stabilisation of acidified milk drinks by pectin. *Food Hydrocolloids* 18: 565–572.
- Vinderola CG and Reinheimer JA, 2000. Enumeration of Lactobacillus casei in the presence of L. acidophilus, bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal* 10: 271–275.
- Yüksel Z and Erdem YK, 2010. The influence of transglutaminase treatment on functional properties of set yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 63(1): 86-97.

## The effect of microencapsulation by means of rennet, locust bean gum and gelatin on the survival of *Bifidobacterium animalis Subsp. Lactis* and physico-chemical properties of doogh

N Sabahi Mohammadi <sup>1\*</sup>, M Alizadeh <sup>2</sup>, M Rezazad Bari <sup>2</sup> and A Saleh <sup>1</sup>

Received: May 07, 2014 Accepted: June 28, 2014

<sup>1</sup> MSc Graduated, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

\*Corresponding author E-mail: Najmehsabahi@gmail.com

### Abstract

The object of this study was to investigate the effect of microencapsulation by means of rennet, gelatin and locust bean gum (LGB) concentration, on the survival of probiotics and also physico-chemical properties of doogh like water phase volume, the apparent viscosity and acidity, during 29 days of storage. Due to this purpose, on the base of study experimental design, gelatin (0, 0.15 and 0.3%), LBG (0, 0.2 and 0.4%) and *Bifidobacterium. animalis Subsp. Lactis* in two forms of free and microencapsulated were used. 1unit /gr milk protein of transglutaminase was added in all treatments and results were compared to the samples without transglutaminase (blank doogh samples). Statistical analysis revealed, the colonies of the microencapsulated probiotics didn't show significant decrease in comparison with the treatments containing free types, during the time of storage. LBG had a significant positive effect on the probiotics' viability in addition of it's effect on the reduction of serum separation. Transglutaminase and gelatin also were effective on the prevention of serum separation; and simultaneous application of these compounds was more effective.

**keywords:** Transglutaminas, Probiotic, Doogh, Gelatin, Locust bean gum, Microencapsulation