



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی دوغ چویل حاوی نانوکپسول‌های *Lactobacillus rhamnosus* ریزپوشانی شده با صمغ فارسی و پروتئین ایزوله آب پنیر

سید سعید سخاوتی زاده^{۱*}، فرحناز احمدی زادگان^۱، حمیدرضا محمودیان فرد^۱، محسن عابدی^۲

۱- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شیراز، فارس

۲- موسسه آموزش و ترویج کشاورزی، سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۱۶

کلمات کلیدی:

پروبیوتیک،

چویل،

Lactobacillus rhamnosus

دوغ،

امولسیون

DOI: 10.22034/FSCT.20.145. 55

* مسئول مکاتبات:

s.sekhavati@areeo.ac.ir

دوغ یکی از فرآورده‌های لبنی تخمیری است. دوغ پروبیوتیک به دلیل دارا بودن پروبیوتیک‌ها، خواص سلامتی-بخش ویژه‌ای دارد. اضافه کردن گیاهان دارویی مانند چویل به این محصول، می‌تواند آن را باارزش‌تر نماید. با توجه به کوتاه مدت بودن مدت ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک در دوغ، این پژوهش به منظور افزایش مدت ماندگاری *Lactobacillus rhamnosus* در دوغ با استفاده از تکنیک نانوریزپوشانی با صمغ فارسی و پروتئین آب پنیر انجام شد. آزمایش‌های اندازه‌گیری قطر ذرات و عکس‌برداری توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی بر روی دانک‌ها صورت پذیرفت. همچنین سه تیمار دوغ شامل نمونه دارای باکتری *Lactobacillus rhamnosus* آزاد، نمونه حاوی باکتری ریزپوشانی شده و نمونه شاهد در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. ویژگی‌های حسی شامل رنگ، طعم، قوام و پذیرش کلی دوغ و همچنین pH، اسیدیته و ماندگاری باکتری پروبیوتیکی تحت شرایط دستگاه گوارش و نگهداری در یخچال مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان دادند که اندازه دانک‌ها ۲۴۶/۹۸ تا ۳۵۶/۲ نانومتر بود. میزان بازده ریزپوشانی دانک ۸۷/۶٪ بوده و تصاویر میکروسکوپی نشان دادند که باکتری‌ها به خوبی پوشانده شده‌اند. در پایان زمان نگهداری، در تیمار حاوی دانک، pH بیشترین کاهش (۳/۴۱) و اسیدیته بیشترین افزایش (۹۷/۳ °D) را داشت. شمارش باکتری‌های *Lactobacillus rhamnosus* در تیمارها نشان داد که ماندگاری پروبیوتیک‌ها در تیمار حاوی باکتری ریزپوشانی شده بیشتر از تیمار باکتری آزاد بود و این تیمار در روز بیست و یکم، به لحاظ تعداد باکتری دارای خواص پروبیوتیکی بود. ماندگاری دانک در شرایط مشابه دستگاه گوارش $3/33 \log \text{cfu/ml}$ بود. ارزیابی مؤلفه‌های حسی نیز نشان داد که نمونه حاوی دانک از کمترین میزان امتیاز ارزیابان در تمام مؤلفه‌های حسی به غیر از بافت برخوردار بود؛ بنابراین به عنوان نتیجه‌گیری، می‌توان اظهار نمود استفاده از روش نانوریزپوشانی با صمغ فارسی و پروتئین ایزوله آب پنیر قادر به حفظ پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس در محصول دوغ در طول ۲۱ روز نگهداری در شرایط یخچال شد.

۱- مقدمه

امروزه تقاضا برای دوغ توسط مصرف‌کنندگان به دلیل منحصربه‌فرد بودن آن افزایش یافته است. خواص و فواید متعدد آن شامل وجود پروتئین، ویتامین B، کالری مناسب، کلسیم و پتاسیم که به تثبیت سیستم ایمنی کمک می‌کند از اهمیت فراوانی برخوردار است [۱]. افزودنی‌های مختلفی به دوغ افزوده می‌شود؛ این مواد شامل سبزی‌ها و میوه‌ها مانند کنسایتره سیب، هویج، لیمو، پرتقال، آناناس، تمشک و توت‌فرنگی می‌باشند [۲]. اضافه کردن سبزی‌ها به دوغ از آن جهت اهمیت دارد که تعداد زیادی از مواد شیمیایی گیاهی را با ویژگی‌های زیست فعال به محصول اضافه کرده، همچنین با داشتن ترکیبات پلی‌فنولی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به محصول می‌بخشند. وجود ترکیبات زیست فعال ضروری بوده؛ زیرا از طریق تولید ترکیبات مؤثر بر متابولیسم باکتری-های تولید کننده اسید لاکتیک، باعث رشد و نمو آن‌ها می‌شوند [۳]. چویل یا شوید کوهی که با نام علمی *Ferulago angulata* شناخته می‌شود، گیاهی است چندساله که به صورت بوته‌ای با بلندی ۱۵۰-۶۰ سانتیمتر، در ارتفاع ۲۳۰۰-۱۹۰۰ متری که در مراتع ایران رشد می‌کند. این گیاه معطر و دارای ارزش غذایی بوده و به صورت سنتی از آن به‌عنوان دارو برای هضم غذا و ضد انگل‌های معده، از میوه پودر شده آن برای معطر کردن غذا و از برگ آن برای معطر کردن روغن و دوغ استفاده می‌شود. مهم‌ترین خصوصیت آن جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی و متاستاز است [۴].

غذاهای عمل‌گرا غذاهایی هستند که علاوه بر آنکه انرژی و مواد مغذی را برای بدن فراهم می‌کنند، باعث بهبود یک یا چند عملکرد مطلوب در بدن می‌شوند که به ارتقاء سلامت انسان کمک می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها، اسانس‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها و میکروارگانیسم‌های مفید باعث ارزشمندتر شدن این غذاها می‌شوند. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی

هستند که باعث ایجاد خصوصیات سلامت بخشی در انسان می‌شوند. اغلب آن‌ها باکتری‌هایی از جنس *Lactobacilli*, *Bifidobacterium*, *Bacillus*, و مخمرهایی مانند *Saccharomyces cerevisiae* هستند [۵]. لاکتوباسیلوس‌ها می‌توانند در محیط‌های اسیدی، زنده مانده و رشد کنند. یکی از گونه‌های لاکتوباسیلوس، *Lactobacillus rhamnosus* است.

Lactobacillus rhamnosus یکی از پروبیوتیک‌های پرمصرف در مواد غذایی است. این باکتری اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه تولید کرده، با متعادل کردن فلور طبیعی روده، سیستم ایمنی را تقویت و از بروز بیماری‌های دستگاه گوارش جلوگیری می‌کند. بقای *Lactobacillus rhamnosus* به پراکسید هیدروژن، اکسیژن و pH غذا و همچنین به pH محیط معده و نمک‌های صفراوی، آنزیم‌ها و فلور طبیعی روده بستگی دارد. از این نظر، صنایع غذایی به دنبال راهبردهای جدیدی برای حفظ حیات پروبیوتیک‌ها در طول مدت نگهداری غذا و بعد از ورود به بدن هستند [۶].

یکی از روش‌های حفظ حیات پروبیوتیک‌ها ریزپوشانی می‌باشد. در این روش با ایجاد لایه‌هایی بر روی باکتری، آن را از شرایط نامساعد محیطی محافظت می‌کنند. در ریزپوشانی، استفاده از صمغ‌ها نیز حائز اهمیت می‌باشد. صمغ فارسی از گیاه بادام‌کوهی (*Amygdalus scoparia*) در رنگ‌های سفید، زرد روشن، زرد نباتی، قرمز و قهوه‌ای به دست می‌آید. صمغ فارسی کاربردهای دارویی، غذایی و صنعتی بسیاری دارد. این صمغ دارای خصوصیت تعلیق‌کننده، امولسیون‌کننده و دارای خاصیت چسبندگی می‌باشد [۷].

در یک تحقیق از نشاسته ذرت و آلژینات سدیم به‌عنوان مواد دیواره، برای باکتری‌های *L. acidophilus* و *Bifidobacterium Lactobacillus rhamnosus*

باکتری (*Lactobacillus rhamnosus* PTCC ۱۶۳۷) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران به صورت لیوفیلیزه تهیه گردید. کشت استارتر ماست CH_1 حاوی *Lactobacillus bulgaricus* و *Sterptococcus thermophilus* از (شرکت پیشگامان پخش صدیق نمایندگی شرکت کریستین هانسن، دانمارک) خریداری شد. سولفات آهن ال-رامنوز، سولفات منگنز، تریپتیکاز پیتون، منوپتاسیم فسفات، تری-آمونیم، تری فنیل تترازولیوم کلراید، سدیم استات، سولفات منیزیم، عصاره مخمر، باکتوآگار، کلسیم کلراید، محیط‌های کشت MRS Agar و MRS broth از شرکت مرک (Darmstadt, Germany) تهیه شدند. متریئیدازول، آلزینات سدیم، توین-۸۰ وانکومایسین، از شرکت سیگما تهیه گردید. صمغ فارسی از شرکت اهورا دارو، مرودشت، فارس و روغن کانولا از شرکت لارن، تهران و چویل از فروشندگان محلی تهیه گردید.

۲-۲- آماده سازی باکتری:

به منظور فعال سازی باکتری از محیط MRS broth استفاده شد. لوله‌ها در دمای $37^{\circ}C$ به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. برای شمارش باکتری‌ها از محیط M-RTL^۱ شامل محلول نمک ۵ میلی لیتر شامل (سولفات منیزیم ۵ آبه ۱۱/۵ گرم، سولفات آهن ۷ آبه ۰/۶۸ گرم، سولفات منگنز دو آبه ۲/۴ گرم و آب مقطر ۱۰۰ سی سی)، ۲،۳،۵ تری فنیل تترازولیوم کلراید ۳۰ میلی گرم، تری آمونیم سیترات ۲ گرم، عصاره مخمر ۵ گرم، وانکومایسین هیدروکلرید ۱۰ میلی گرم، منوپتاسیم فسفات ۶ گرم، تریپتیکاز پیتون ۱۰ گرم، توین ۸۰، یک گرم، سدیم استات سه آبه ۲۵ گرم، متریئیدازول ۱۰ میلی گرم، ال رامنوز ۲۰ گرم، باکتوآگار ۲۰ گرم و آب مقطر

، *bifidum* و *Bifidobacterium animalis* به صورت نانوالیاف استفاده شد. میزان ماندگاری لاکتوباسیل ها ۹۴/۱٪ و بیفیدوباکتری ها ۸۹/۴٪ پس از الکتروریسی بود. به علاوه کاهش جمعیت این باکتری ها پس از قرار گرفتن در شرایط مشابه معده (وجود HCl و پپسین، در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد)، برای لاکتوباسیل های نانوکپسوله شده $\log$ CFU/ml ۱/۵۸ و برای بیفیدوباکتری ها $\log$ CFU/ml ۱/۰۳ در زمان دو ساعت، کاهش داشت [۸].

در تحقیقی دیگر پروبیوتیک‌ها با (آلزینات سدیم و پولولان) با استفاده از تکنیک ریزدرون پوشانی کپسوله شدند. نانوکپسوله سازی اثر قابل توجهی بر بقاء و پایداری باکتری‌های پروبیوتیک نشان داد. به طور کلی، کاهش میزان زنده ماندنی باکتری‌های پروبیوتیک در تمامی تیمارها مشاهده شد. کاهش تعداد زیاد باکتری‌های پروبیوتیک آزاد در دمای ۴ درجه سانتی گراد در مقایسه با باکتری‌های پروبیوتیک کپسوله شده (دانک)، مشاهده شد. به علاوه در شرایط مشابه دستگاه گوارش، دانک‌ها کاهش کمتری را نسبت به سلول‌های باکتری آزاد از خود نشان دادند؛ و توانستند سطح توصیه شده (10^6 CFU/g) را در شرایط حرارتی حفظ نمایند [۹].

هدف از این پژوهش ریزپوشانی باکتری *Lactobacillus rhamnosus* با پروتئین ایزوله آب پنیر و صمغ فارسی به روش نانو ریزپوشانی می باشد. همچنین تأثیر باکتری ریزپوشانی شده و باکتری آزاد بر روی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی، میکروبی و حسی دوغ چویل در طول مدت نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفته است.

۲-۱- مواد و روش‌ها

۲-۱-۱- مواد

1- Modified-rhamnose-2,3,5-triphenyltetrazolium chloride-LBS-vancomycin agar (M-RTL^۱ agar),

خشک شدن (N) نیز شمارش شد و کارایی کپسوله سازی به صورت (بازده ریزپوشانی (% بیان شد [۱۲].

$$\text{بازده ریزپوشانی (\%)} = \frac{N}{NO} \times 100$$

۲-۶- تولید دوغ:

ابتدا یک نمونه شیر با چربی ۱/۵٪ و ماده خشک بدون چربی ۸/۲٪ آماده شد. سپس شیر به دستگاه هموژنایزر انتقال داده شده و با فشار ۱۵۰ bar هموژن و در مرحله بعد، در دمای ۹۰°C به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد. شیر تا دمای ۴۲°C سرد و به آن استارتتر CH_1 شامل باکتری های *Sterptococcus thermophilus* و *L. bulgaricus* به میزان ۰/۰۴٪ اضافه گردید. شیر برای تهیه سه تیمار در سه ظرف و با سه تکرار قرار گرفت و به مدت ۴ ساعت نمونه ها برای تولید ماست در گرمخانه ۴۲°C نگهداری و سپس به سردخانه ۴°C به مدت ۲۴ ساعت انتقال داده شدند [۱۳]. برای تهیه دوغ نمونه ها به نسبت ۱ به ۱ با آب مخلوط شده و مجددا در فشار ۱۵۰ بار به مدت ۵ دقیقه هموژن شده و به نمونه ها ۲ درصد چویل اضافه و همزده گردید. این تحقیق با سه تیمار و سه تکرار انجام شد. به نمونه ها باکتری آزاد یا *(free Lactobacillus rhamnosus)* FLR یا *(microencapsulated Lactobacillus rhamnosus)* MLR (به طور مجزا اضافه شد به اندازه ای که میزان نهایی باکتری پروبیوتیک در محصول در حدود $\log 8 \text{ cfu/ml}$ شد. یک نمونه دوغ نیز به عنوان شاهد انتخاب گردید. نمونه ها در دمای ۴°C نگهداری شدند.

۲-۷- اندازه گیری اسیدیته و pH

اندازه گیری اسیدیته بر طبق روش استاندارد ۲۸۵۲ سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران و بر اساس درجه دورنیک انجام شد. میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر مدل Sanxin 5021 Shanghi, China, Ltd کالیبره

۹۵۰ میلی لیتر استفاده شد. پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه گذاری شدند [۱۰].

۲-۳- فرایند ریزپوشانی

ابتدا به دو گرم صمغ فارسی دو گرم پروتئین ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه شد. سپس به آن ۱ میلی لیتر توپین ۸۰ اضافه شد. در مرحله بعد حجم مخلوط توسط آب مقطر به ۱۰ میلی لیتر رسانده شد و به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۳۳۶ g هموژن گردید. از این محلول ۴ میلی لیتر برداشته شد و به آن یک سی سی باکتری لاکتوباسیلوس سانتیریفوز شده در مرحله قبل اضافه گردید و به مدت دو دقیقه هموژن گردید.

۲-۴- بررسی اندازه دانک و عکس برداری توسط میکروسکوپ روبشی

نمونه ها توسط خشک کن انجمادی (Christ ALPHA 1-2 LD PLUS, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Germany) خشک گردید. جهت عکس برداری توسط میکروسکوپ روبشی (Vega3, Tescan Co. Ltd. برنو، جمهوری چک) از یک نگه دارنده آلومینیومی برای تثبیت و پوشاندن آن با یک لایه طلا استفاده شد. سطح نمونه و عدسی میکروسکوپ دارای فاصله کاری ۷/۰۳-۸/۹۱ میلی متر بودند. صورنمایی از تقسیم طول به عرض به دست آمد. پس از پخش شدن دانک ها در آب مقطر، از یک دستگاه پراش لیزری پراکندگی نور پویا (Horiba Ltd, SZ-100. کیوتو، ژاپن) برای اندازه گیری توزیع اندازه ذرات دانک ها استفاده شد. برای این منظور، از ماده پلی استایرن لاتکس دارای ضریب شکست ۱/۳۳۲۶ استفاده شد [۱۱].

۲-۵- بررسی کارایی ریزپوشانی

ابتدا تعداد باکتری ها بعد از ریزپوشانی برحسب CFU/g شمارش گردید (N₀). تعداد سلول های زنده آزاد شده پس از

شده، با الکترودهای شیشه‌ای استاندارد در دمای 25°C در دامنه بین ۴-۶ اندازه‌گیری شد [۱۴].

۸-۲- ارزیابی رنگ

برای ارزیابی رنگ از کروماتر اوزاکا ژاپن (CR-400) Konica-Minolta استفاده شد. پارامترهای L^* (سفید به تیره)، a^* (قرمز به سبز)، b^* (زرد به آبی) برای هر نمونه دوغ اندازه‌گیری شد. برای هر نمونه دوغ، چهار نقطه تعیین و از آن عکس برداری شد [۱۱].

۹-۲- شمارش باکتری‌های استارتر و *Lactobacillus rhamnosus* در دوغ:

برای شمارش باکتری‌های استارتر *Lactobacillus bulgaricus* از محیط MRS agar ($\text{pH}=4.5$) و برای شمارش باکتری *Streptococcus thermophilus* از محیط M17 استفاده شد. شمارش باکتری‌ها در روز اول و بعد از آن هر ۷ روز یکبار تا روز ۲۸ صورت پذیرفت. برای کشت *Lactobacillus rhamnosus* از محیط MRLTV استفاده گردید [۱۵، ۱۰].

۱۰-۲- اندازه‌گیری ویسکوزیته:

ویسکوزیته نمونه‌های دوغ ذخیره‌شده در دمای 4°C درجه سانتی‌گراد در روزهای ۱ و ۲۸ با استفاده از دستگاه ویسکومتر چرخشی Brookfield DVII (بروکفیلد، ایالات متحده آمریکا) اندازه‌گیری شد. از ویسکومتر با سرعت ۴۰ دور در دقیقه در ۹۰ ثانیه با استفاده از اسپیندل CP51 (مدل LV) در دمای اتاق استفاده شد. نمونه‌ها با سرعت برش ثابت مورد ارزیابی و ویسکوزیته ظاهری به صورت سانتی‌پویز بیان گردید [۱۶].

۱۱-۲- ماندگاری در شرایط مشابه دستگاه گوارش انسان

به این منظور ۱ گرم دانک در ۹ ml محلول ۰/۵٪ نمک طعام در لوله‌های استریل ریخته شد و سپس pH همه نمونه‌ها با استفاده از اسیدکلریدریک ۱ N به ۱/۹ - ۱/۴ رسانده شد. در مرحله بعد آنزیم‌های لپاز (62305, Fluka, USA) و پپسین (Stomach Porcine Mucosa, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) به اندازه‌ای اضافه شدند تا غلظت نهایی این دو ترکیب به ترتیب به ۰/۹mg/l و ۳۰۰ mg/l رسید. سپس نمونه‌ها در انکوباتور متحرک (Lab Tech, Korea) با سرعت ۳ g و دمای 37°C به مدت ۲ ساعت قرار گرفتند (فاز معدی). در مرحله بعد pH نمونه‌ها به ۴/۳ - ۵/۲ با استفاده از محلول قلیایی که شامل ۱۵۰ ml سود یک نرمال که حاوی ۱۴ g/L دی‌سدیم هیدروژن فسفات بود، رسانده شد. سپس صفرا (Oxgall, Sigma B838) و پانکراتین (Pancreatin from porcine pancreas Sigma, 1750) به ترتیب با غلظت ۱۰ g/l و ۱ به نمونه‌ها اضافه شدند و مجدداً نمونه‌ها در انکوباتور متحرک با سرعت ۳ g و دمای 37°C به مدت ۲ ساعت قرار داده شدند (فاز روده‌ای). شمارش پروبیوتیک-های مورد نظر در ۳۰ دقیقه و ۲، ۴ و ۶ ساعت بعد انجام گردید [۱۰].

۱۲-۲- آزمون مقبولیت حسی

آنالیزهای حسی محصول در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸ صورت پذیرفت. بدین منظور از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای استفاده شد. نمونه‌ها به ترتیب آزمون هدونیک و تعیین درجه مقبولیت کلی با اعداد ۱ تا ۵ به ترتیب برای شدیداً مخالفم تا شدیداً موافقم بوسیله ۱۰ ارزیاب آموزش‌دیده (شامل ۴ مرد و ۶ زن با میانگین سنی ۲۹ سال) صورت پذیرفت. در این راستا مقایسه نمونه‌ها با نمونه شاهد انجام

می‌دهند، بنابراین استفاده از صمغ فارسی و پروتئین ایزوله آب پنیر برای ساختمان نانوذرات پیشنهاد می‌گردد. در تحقیق ذکرشده قطر ذرات محدوده ۶۴ تا ۱۲۵ نانومتر بود و قطر متوسط توزیع نانوذرات $94/46 \pm 0/63$ بود که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد [۱۹].

میزان بازده ریزپوشانی دانک $87/6\%$ بود. در تحقیقی مشابه با استفاده از فروکتوآولیگوساکارید، عمل ریزپوشانی انجام شد. نتایج نشان داد که میزان بازده ریزپوشانی $87/2$ درصد بود [۱۲]. میزان بازده ریزپوشانی تحت تأثیر عوامل مختلفی مانند جنس مواد دیواره‌ای و غلظت آن، غلظت کلریدکلسیم مصرفی در فرمولاسیون، گونه میکروارگانسیم‌های ریزپوشانی شده، روش ریزپوشانی و اندازه ذرات بستگی دارد [۲۰].

پتانسیل ذرات زتا $42/7\text{ mV}$ - بوده است. نتایج مطالعات Golkar و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که اندازه پتانسیل زتا امولسیون با توجه به غلظت‌های متفاوت صمغ فارسی ($0/5$ تا $3/3\%$) از 46 - تا $30/5$ میلی‌ولت بوده، که با نتایج این بررسی مطابقت دارد. افزایش غلظت صمغ منجر به افزایش بار سطحی منفی در قطرات امولسیون شده و در نتیجه پتانسیل زتا با بار منفی بالا ایجاد می‌کند. این بار منفی باعث تثبیت ریزپوشانی می‌شود [21].

شد. صفات موردبررسی شامل بو، رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی نمونه از نظر داوران بود [17].

۱۳-۲- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

تیمارها شامل دوغ شاهد، دوغ حاوی باکتری آزاد و دوغ حاوی دانک بود. هر نمونه با سه بار تکرار تولید گردید. برای آنالیز داده‌ها از جدول ANOVA یک‌طرفه و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها ($P < 0/05$) استفاده شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS(21) آنالیز گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel (2019) استفاده شد.

۳- بحث و نتیجه‌گیری

۳-۱- شکل، اندازه و بازده ریزپوشانی دانک‌ها

اندازه قطر دانک‌ها از $246/98$ تا $356/2$ نانومتر متغیر بود (شکل ۱). جنس مواد دیواره بر اندازه ذرات مؤثر است. به‌عنوان مثال استفاده از پکتین باعث افزایش قطر ذرات می‌گردد، بعلاوه غلظت مواد دیواره‌ای، ویسکوزیته آن هم بر قطر ذره اثرگذار می‌باشد [۱۸]. در یک تحقیق، نانوکپسول‌های نشاسته محلول در آب به همراه موسیلاژ خردل زرد با استفاده از اتمیزاسیون الکترواسپری تولید شد. تصاویر میکروسکوپ روبشی نشان داد که نانوکپسول‌ها کروی، صاف و غیرمتخلخل با حداقل چروکیدگی هستند (شکل ۲)، اما هیچ ترک یا منفذ سطحی در آن مشاهده نشد. در نتیجه این کپسول‌ها نفوذپذیری گاز و مایعات را کاهش داده و ماندگاری باکتری‌ها را افزایش

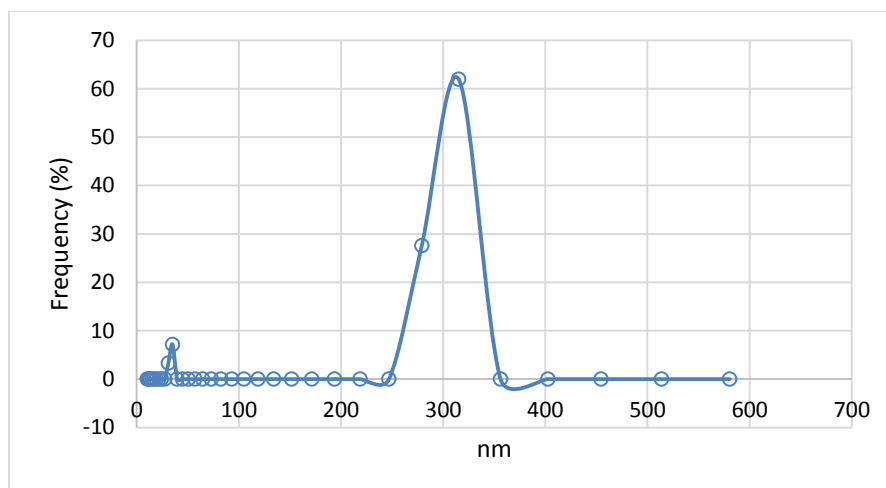


Fig 1. Initial droplet size distribution of beads encapsulated with Persian gum and whey protein isolate

۲-۳- اندازه گیری اسیدیته و pH

نتایج اندازه گیری pH و اسیدیته مربوط به تیمارهای شاهد، FLR و MLR در شکل ۳ آورده شده است. pH تیمارها در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ اندازه گیری شد و مشخص شد در طول مدت نگهداری، pH همه تیمارها کاهش یافت، ولی میزان کاهش pH در تیمار MLR به مراتب بیشتر از سایر تیمارها بود. اسیدیته نیز در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ اندازه گیری شد و مشخص شد که اسیدیته تیمارها برخلاف pH، در طول مدت نگهداری افزایش یافته اما افزایش اسیدیته تیمار MLR از بقیه تیمارها بیشتر و تیمار شاهد نسبت به تیمار FLR، افزایش اسیدیته کمتری داشت.

شایان ذکر است که باکتری های پروبیوتیک خود تولیدکننده اسید هستند و به همین دلیل نیز فعالیت آنها باعث افزایش اسیدیته و کاهش pH می گردد. باکتری ریزپوشانی شده در انتهای زمان نگهداری اسید بیشتری تولید می کند. این امر احتمالاً به دلیل

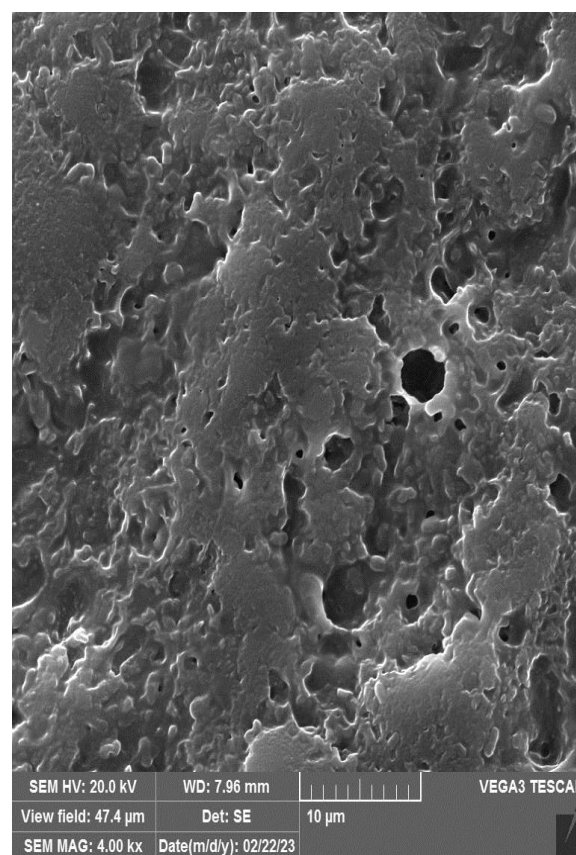


Fig 2. Scan electron microscopy of beads encapsulated with Persian gum and whey protein isolate

منجر به تولید اسید لاکتیک، اسید فرمیک و CO_2 شود [۲۴]. باید توجه داشت که افزایش اسیدیته باعث آب‌انداختگی، طعم نامناسب، کاهش تعداد باکتری‌های اسیدلاکتیک و در برخی اوقات ایجاد گاز شده و همچنین بر روی ماندگاری پروبیوتیک‌ها اثر منفی دارد [۲۵].

ضعیف شدن دیواره ریزپوشانی و آزاد شدن بهتر اسید در انتهای دوره نگهداری می‌باشد [۲۲، ۲۳]. کاهش pH ممکن است به دلیل تولید آنزیم β -galactosidase توسط استارترها باشد. علاوه بر این، تخمیر کربوهیدرات‌های باقی‌مانده در محصول توسط پروبیوتیک‌ها در طول زمان ذخیره‌سازی می‌تواند

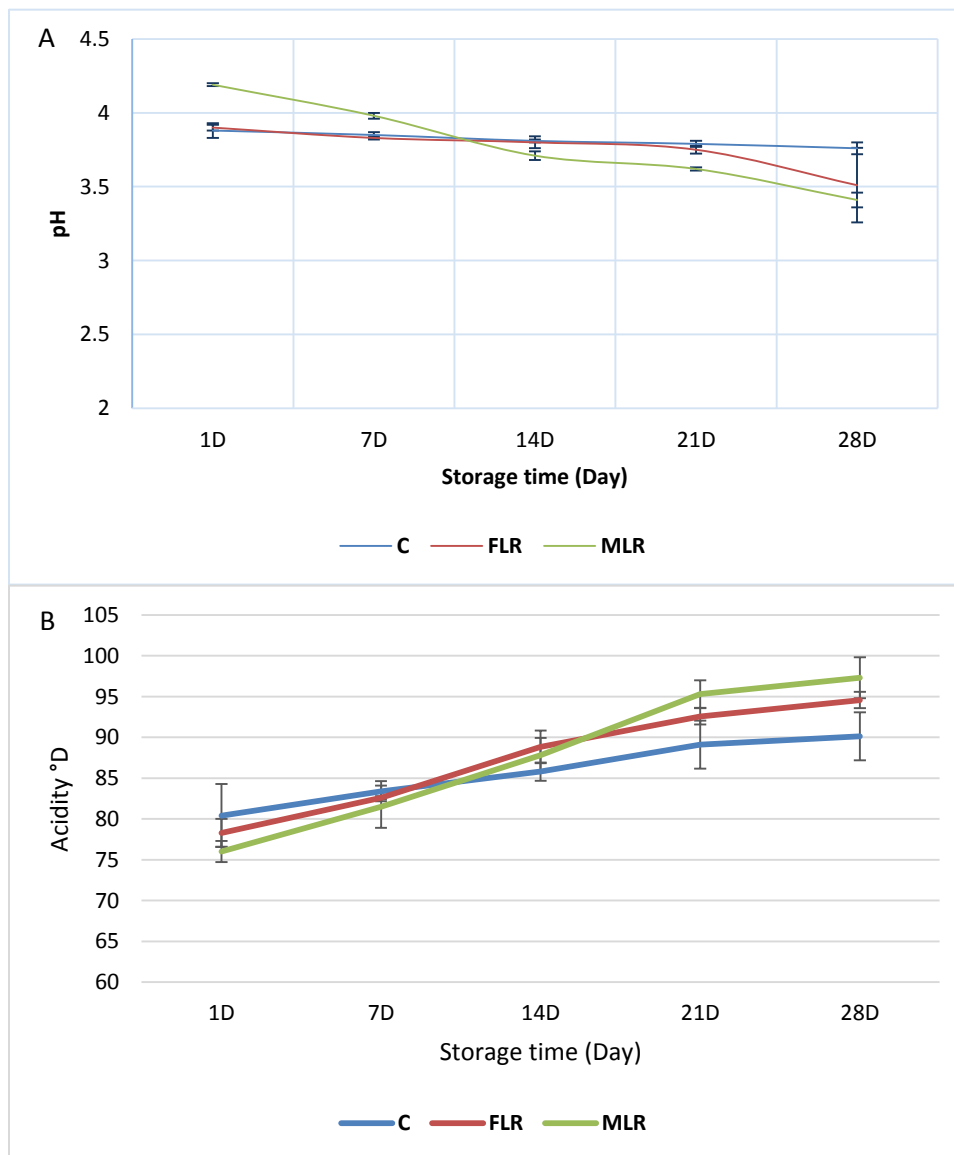


Fig 3. pH (A) and acidity(B) values of free *Lactobacillus rhamnosus* (FLR) and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (MLR) and control yogurt drink (C) during storage time.

1.Data (mean $\pm$ standard error) are from three replications (n=3).

۳-۳- ارزیابی رنگ

جدول ۱ نشان‌دهنده ارزیابی مؤلفه‌های رنگی در دوغ چویل می‌باشد. ارزیابی مؤلفه روشنایی (L^*) در طول مدت نگهداری نشان داد که این مؤلفه در نمونه باکتری آزاد، باکتری دانک و شاهد کاهش یافتند. در بین نمونه‌ها نمونه حاوی دانک دارای کمترین روشنایی بود. نمونه حاوی باکتری آزاد با نمونه شاهد در روز بیست و هشتم نگهداری اختلاف معناداری از لحاظ مؤلفه روشنایی نداشت. بررسی مؤلفه (سبز-قرمز) a^* در طول ۲۸ روز نگهداری نشان داد که این مؤلفه در تمامی نمونه‌ها کاهش داشته است و رنگ نمونه‌ها به قرمزی تمایل داشته است. در روز اول نگهداری

کمترین میزان a^* مربوط به نمونه دوغ شاهد بوده است ولی در پایان ۲۸ روز نگهداری بیشترین میزان a^* مربوط به دوغ شاهد بوده است. در طول مدت نگهداری مؤلفه (آبی-زرد) b^* در تمامی نمونه‌ها افزایش داشته است در بین نمونه‌ها نمونه حاوی دانک از بیشترین مقدار در روز ۲۸ نگهداری برخوردار بوده است اگرچه نمونه دوغ شاهد با نمونه دوغ حاوی باکتری آزاد در روز اول اختلاف معناداری نداشت ولی در روز ۲۸ نمونه شاهد از کمترین میزان مؤلفه b^* برخوردار بود.

Table 1. Color parameters of yogurt drink during storage time

Color parameters	Treatment	1 Day	28 Day
L^*	C	51.60±3.00 ^a	43.32±5.23 ^{bc}
	FLR	47.63±2.69 ^{ab}	43.66±1.50 ^{bc}
	MLR	42.98±1.65 ^{bc}	38.22±4.42 ^c
a^*	C	0.04±0.02 ^f	-0.12±0.02 ^c
	FLR	1.42±0.01 ^b	-0.66±0.01 ^e
	MLR	1.68±0.02 ^a	-0.42±0.01 ^d
b^*	C	8.40±0.12 ^d	22.90±0.08 ^c
	FLR	8.57±0.12 ^d	25.42±0.19 ^b
	MLR	9.18±0.03 ^d	32.93±0.53 ^a

1- Data (mean±standard deviation) are from three replications.

2- Means in the same row and column with different lowercase letters (a-f) among yogurt drink samples differ significantly ($P<0.05$); control yogurt drink (C); microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (MLR); free *Lactobacillus rhamnosus* (FLR).

تحقیق ایشان، میزان تغییر رنگ مؤلفه سفیدی ($\Delta E^* = 2.6$) در نمونه حاوی دانک در مقایسه با شاهد به دست آمد، که نشان‌دهنده اختلاف در مؤلفه سفیدی در نمونه حاوی دانک نسبت به نمونه شاهد بود [۲۷]. یکی از دلایل تیره‌تر بودن

درخشندگی کمتر دانک‌ها و تمایل آن‌ها به رنگ زرد ممکن است به دلیل وجود مواد پروتئینی مانند آب‌پنیر که برای ریزپوشانی استفاده شده‌اند، باشد [۲۶]. نتایج مشابهی در تحقیق Augustin و همکاران (۲۰۱۲) به دست آمد. در

نمونه‌های حاوی دانک نسبت به سایر نمونه‌ها، رنگ تیره طبیعی صمغ فارسی بود. در این تحقیق مقادیر L^* همه نمونه‌ها در طول زمان ذخیره‌سازی افزایش، درحالی‌که مقادیر a^* و b^* کاهش یافت. در تحقیق حاضر مؤلفه قرمزی (a^*) کاهش ولی (b^*) افزایش یافته بود که با یافته‌های Augustin و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت نداشت. یکی از دلایل احتمالی آن، می‌تواند تخریب آستاگزانتین باشد که در این تحقیق به عنوان ریزپوشاننده از آن استفاده نشد [28]. همچنین Montero و همکاران (۲۰۱۶) گزارش دادند که رنگ پودرهای کپسوله شده در طی ۱۱۰ روز نگهداری در سردخانه تغییر قابل توجهی نداشت که با تحقیق جاری همخوانی ندارد. این اختلاف می‌تواند به دلیل بکار بردن نسبت‌ها مختلف بیوپلیمرها در آن تحقیق باشد [۲۹].

۳-۴- شمارش باکتری‌های استارتر و *Lactobacillus rhamnosus* در دوغ:

ماندگاری باکتری‌های استارتر و *Lactobacillus rhamnosus* در انواع دوغ تولیدی در طول ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شکل ۴ آورده شده است. در تیمار شاهد تعداد باکتری‌های استارتر شامل *Lactobacillus thermophilus* و *bulgaricus* در طول مدت نگهداری در حدود سه واحد لگاریتمی کاهش یافت. در تیمار FLR تعداد باکتری *Lactobacillus rhamnosus* از $8/5$ در روز اول به $0/9$ cfu/g در روز بیست و هشتم کاهش یافت. در تیمار MLR تعداد این باکتری از $8/7$ در روز اول به log cfu/g $5/2$ در روز بیست و هشتم کاهش داشت. نتایج نشان دادند که در تیمار FLR تا روز چهاردهم و در تیمار MLR تا روز بیست و یکم تعداد این باکتری به ترتیب $6/4$ و $6/1$ cfu/g بود، یعنی این دو تیمار تا این زمان از حدنصاب مجاز باکتری پروبیوتیک در محصولات غذایی برخوردار بودند.

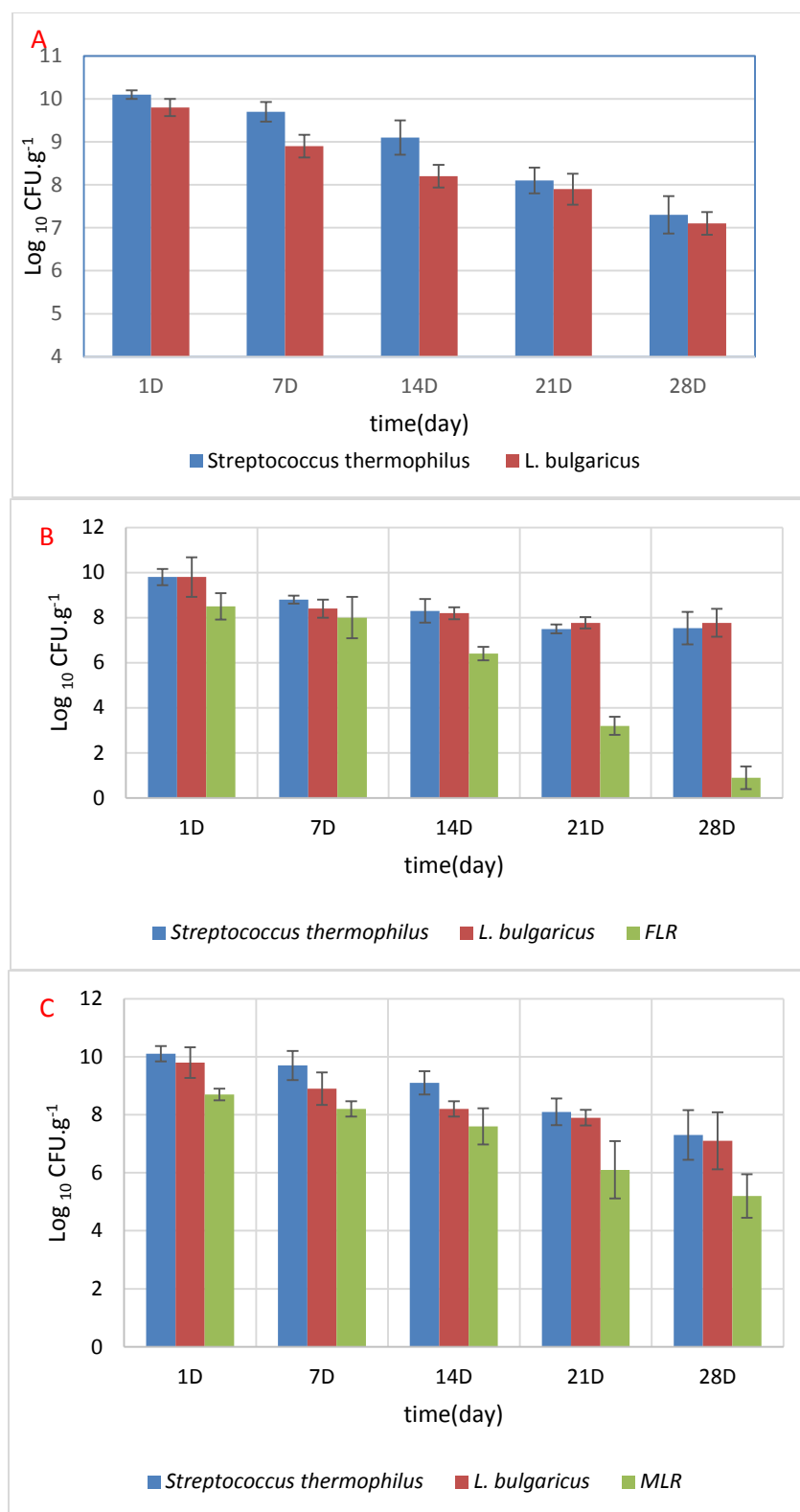


Fig 4. The culture survival rate of *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, and *Lactobacillus rhamnosus* in control yogurt drink (A); Free *Lactobacillus rhamnosus* (FLR)(B) and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (MLR)(C) during storage time.

1- Data (mean±standard deviation) are from three replications.

می‌توان آن را مربوط به اسیدی شدن دوغ‌ها دانست، زیرا این امر باعث کاهش بار الکتریکی منفی در میسل کازئین شده و در اثر آن انحلال کلسیم و فسفات معدنی بیشتر می‌شود و این امر پایداری کلوئیدی را کاهش می‌دهد. از سوی دیگر باعث کاهش انحلال کازئین (در نزدیکی pH ایزوالکتریک) می‌شود (حدود ۴/۶). این پدیده موجب تقویت کمپلکس‌های پروتئین-پروتئین شده و منجر به افزایش ویسکوزیته می‌شود [۳۴].

نتایج تحقیقات Akbari و همکاران (۲۰۲۳) نشان داد زنده‌مانی باکتری‌های بدون کپسول به میزان $\log 2 \text{ cfu/g}$ در طی ۲ هفته کاهش یافت و پس از ۴ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تعداد آن‌ها به صفر رسید. کاهش زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده در حضور مواد دیواره‌ای دانک (کروسفرین-آلژینات)^۱ پس از ۸ هفته نگهداری $\log \text{ cfu/g}$ ۱ تا ۱/۵ بود [۳۰]. نتایج مطالعات نشان داد که جزء پروتئینی دیواره تأثیری بر ماندگاری باکتری در طول مدت نگهداری ندارد، به‌عنوان مثال در تحقیق Würth و همکاران (۲۰۱۵) میکروکپسول تولید شده از پروتئین شیر اثر معنی‌داری بر زنده ماندن پروبیوتیک‌های کپسوله شده نداشت، بنابراین احتمالاً تنها صمغ فارسی در ایجاد ماندگاری *Lactobacillus rhamnosus* مؤثر بوده است [۳۱]. Wang و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که بقای پروبیوتیک‌های محصورشده در کپسول پروتئین نخود-آلژینات، بالاتر از باکتری آزاد بود [۳۲].

۵-۳- اندازه‌گیری ویسکوزیته:

ویسکوزیته ظاهری تیمارهای شاهد، FLR و MLR در روز اول و ۲۸ نگهداری در شکل ۵ ارائه شده است. با افزایش نرخ برش، کاهش ویسکوزیته ظاهری در تمام نمونه‌ها مشاهده شد، که دال بر رفتار غیر نیوتنی نمونه‌ها است. همچنین کاهش سریع ویسکوزیته ظاهری با تغییر جزئی در نرخ برش مشاهده گردید، که یکی از دلایل آن می‌تواند کاهش اندازه ذرات در نتیجه افزایش نرخ برش باشد [۳۳]. نتایج نشان دادند که ویسکوزیته در طول زمان ذخیره‌سازی در بین تمام نمونه‌ها افزایش یافت، که

1- Cruciferin/alginate capsules

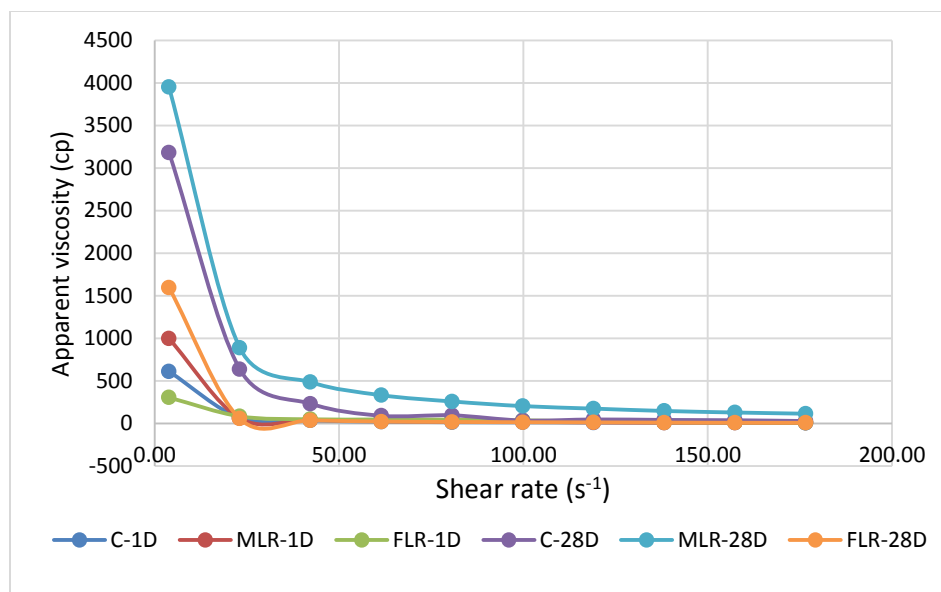


Fig 5. The apparent viscosity of yogurt drink, including the control on the 1st day of storage (C-1D), the control in the 28th day of storage (C-28D), microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in the 1st of storage (MLR-1D), microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in the 28th day of storage (MLR-28D), free *Lactobacillus rhamnosus* in the 1st of storage (FLR-1D), free *Lactobacillus rhamnosus* in the 28th day of storage (FLR-28D)

عملکرد سیستم ایمنی را افزایش می‌دهند. در یک تحقیق نشان داده شد که در شرایط معدی، پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده با آلزینات و صمغ زانتان در مقایسه با سلول‌های آزاد، ماندگاری بیشتری داشتند. ماندگاری بیشتر پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده با زانتان، به دلیل ایجاد شبکه اسفنجی ژل توسط این ترکیب است که انتشار مایع را در داخل میکروارگانیسم‌ها در مدت ۲ ساعت کاهش داده است [۳۵]. جین و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند که میزان مرگ‌ومیر سلول‌های آزاد زنده در مایع معده به دلیل تأثیر پپسین و اسید کلیریدریک موجود در شیره معده انسان است. بقای دانه‌های کپسوله شده در زمان قرار گرفتن در شرایط معدی به دلیل وجود پوشش صمغی دانک‌ها بود. آن‌ها همچنین گزارش دادند که ساختار دانه‌های آلزینات پس از پوشش با صمغ تقویت و متراکم شده است [۳۶]. Chen و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند که بقای دانک‌ها در شرایط معدی به دلیل پوشش با پروتئین گرفته شده از آب‌پنیر بهبود یافته است. ترکیبات پروتئین آب‌پنیر دارای اثر بافری در محیط اسیدی بوده و در این شرایط از سلول‌های

۳-۶- ماندگاری در شرایط مشابه معدی و روده‌ای انسان

ارزیابی ماندگاری باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در تیمارهای FLR و MLR در روز اول و چهاردهم تولید دوغ (در شرایط مشابه معدی و روده‌ای) در شکل ۶ آورده شده است. همان‌طور که مشهود است در روز اول تعداد باکتری *Lactobacillus rhamnosus* در تیمار FLR 3.33 Log cfu/ml و در تیمار MLR 0.8 Log cfu/ml بود. نگهداری تیمارها در شرایط مشابه معدی و روده‌ای نشان داد که کاهش این باکتری در تیمار FLR به مراتب بیشتر از MLR بود. قرار دادن تیمارهای روز چهاردهم در این شرایط نیز نشان داد که در هر دو تیمار تعداد باکتری کاهش یافت، اما کاهش تعداد باکتری در تیمار FLR بیشتر از تیمار MLR بود. باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس در نمونه شاهد مشاهده نگردید.

میزان بقای بالای پروبیوتیک‌های کپسوله شده برای تولید مواد غذایی غنی شده یا کاربردی ضروری است. پروبیوتیک‌های موجود در مواد غذایی با مقاومت خوب در مایع معده،

متلاشی شدن آن‌ها می‌شود. دانک‌های آلزینات-ژلاتین با کاهش انتشار تبادل یونی به دلیل ساختاری با تخلخل کمتر، در برابر نمک صفراوی (موجود در مایع روده) مقاومت نشان دادند که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد [۳۵].

پروبیوتیک محافظت می‌کنند [۳۷]. نمک‌های صفراوی و شیر روده بر زنده ماندن پروبیوتیک‌ها تأثیر گذاشته و میزان مرگ باکتری‌های آزاد را افزایش می‌دهند. زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها با استفاده از پوشش‌هایی که به‌عنوان دیواره دانک در طول فرآیند انتشار شیر روده عمل می‌کنند، افزایش می‌یابد [۳۸]. Silva و همکاران دریافتند که قراردادن سلول‌های پروبیوتیک در مایع روده، سبب تورم و

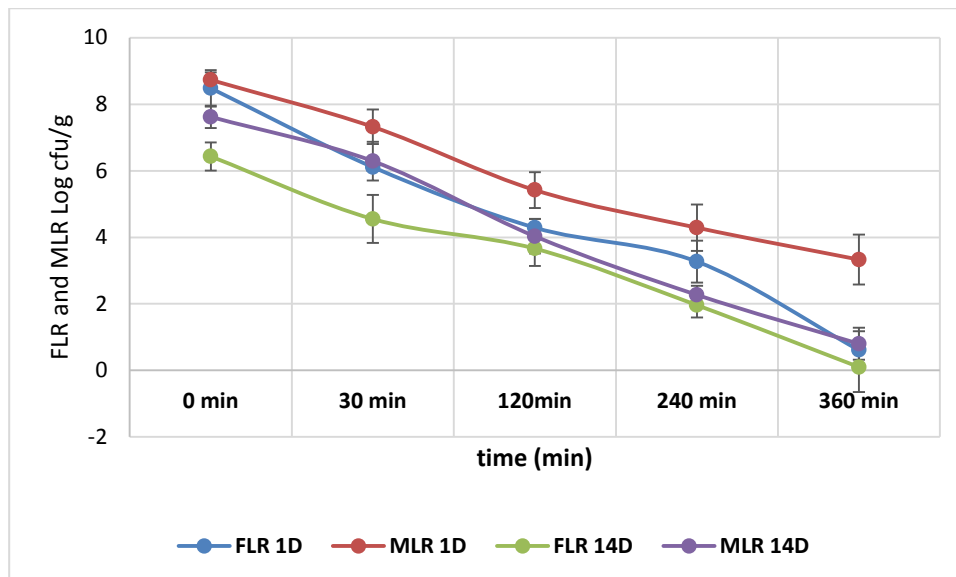


Fig 6. The survival free *Lactobacillus rhamnosus* in the 1st (FLR 1D) and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in the 1st (MLR1D); free *Lactobacillus rhamnosus* in the 14th (FLR 14D) and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* in the 14th (MLR 14D) in yogurt during simulated gastrointestinal condition. 1- Data (mean±standard deviation) are from three replications.

از لحاظ مؤلفه رنگ، رنگ تمامی نمونه‌ها در طول مدت نگهداری به‌غیر از نمونه MLR کاهش یافت، اما امتیاز این تیمار در تمام مراحل از دو تیمار دیگر کمتر بود. از لحاظ مؤلفه بافت، تیمار MLR نسبت به سایر تیمارها، از روز چهاردهم به بعد امتیاز بیشتری را به خود اختصاص داد. حل شدن صمغ فارسی و پروتئین گرفته شده از آب‌پنیر در دوغ باعث افزایش بافت گردید از لحاظ پذیرش کلی تیمار MLR نسبت به سایر تیمارها از امتیاز کمتری برخوردار بود. Kowsalya و همکاران (۲۰۲۳) بر روی ریزپوشانی *Lactobacillus plantarum* PRK7 با استفاده از آلزینات سدیم، اینولین و شیر بدون چربی به‌عنوان مواد دیواره

۷-۳- آزمون مقبولیت حسی

نتایج ارزیابی مؤلفه‌های حسی شامل بو، طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی در شکل ۷ آورده شده است. همان‌طور که مشهود است، از لحاظ مؤلفه بو تیمار MLR دارای کمترین امتیاز نسبت به دو تیمار دیگر در طول مدت نگهداری بوده است. از لحاظ مؤلفه طعم، تمامی تیمارها در طول مدت نگهداری با کاهش امتیاز مؤلفه طعم مواجه شدند ولی تیمار شاهد نسبت به سایر تیمارها از امتیاز بالاتری برخوردار بود.

plantarum PRK7 در ماست بر خواص ارگانولپتیک و افزایش طعم باشد. از این رو، ماست مکمل پروبیوتیک نسبت به ماست شاهد مقبولیت کلی بیشتری را به دست آورد [۳۹].

ریزپوشانی کارکردند. سپس دانک‌های تولیدشده به ماست اضافه شد. آزمون حسی محصول تولیدشده نشان داد که ماست حاوی دانک بهتر از نمونه شاهد بود که با یافته‌های این تحقیق مطابقت ندارد. یکی از دلایل این اختلاف می‌تواند مربوط به اثر مثبت پروبیوتیک *Lactobacillus*

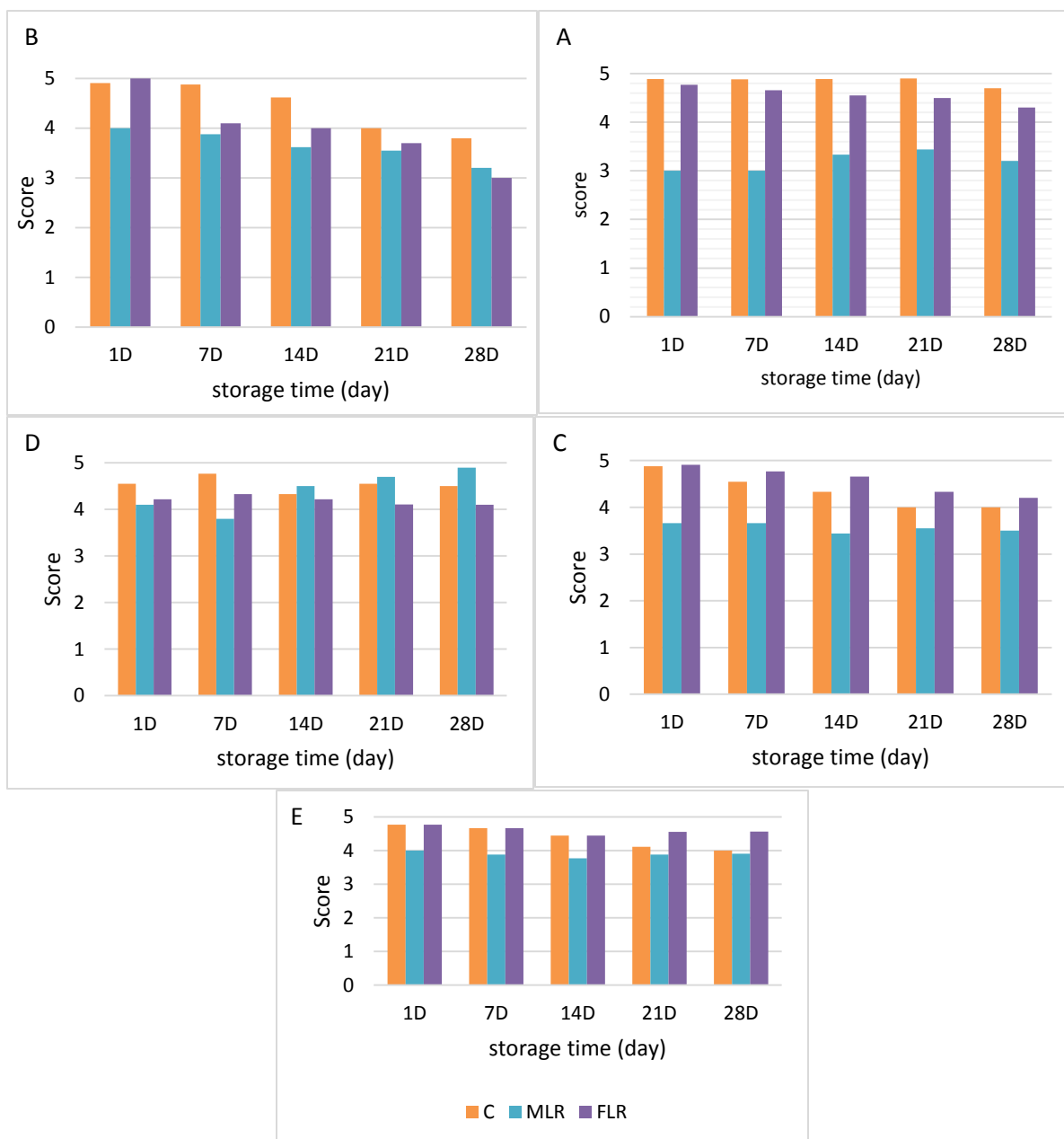


Fig 7. Sensory evaluation odor(A); taste(B); color(C); texture (D); overall acceptance(E) in control yogurt drink; Free *Lactobacillus rhamnosus* (FLR) and microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* (MLR) during storage time.

۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق باکتری لاکتوباسیلوس را منوسوس با صمغ فارسی و پروتئین گرفته شده از آب پنیر ریزپوشانی شد. دانه های بدست آمده دارای اندازه مناسبی در آزمون اندازه گیری قطر دانک بوده و بازده ریزپوشانی در حد بالایی قرار داشت. نتایج نشان دادند که دوغ چویل حاوی این دانک-ها تا ۲۱ روز نگهداری در شرایط در یخچال، واجد حدنصاب تعداد باکتری پروبیوتیک (10^6 cfu/g) بود. به

علاوه این دانک ها توانستند در شرایط مشابه معده و روده انسان زنده بمانند. آزمون مقبولیت حسی بر روی دوغ حاوی دانک نشان داد که این دوغ از پذیرش مناسبی در بین ارزیابان برخوردار نبوده و تنها بافت آن مناسب بود. pH پایین و اسیدیته بالای تیمارحاوی دانک، نسبت به سایر تیمارها در انتهای زمان نگهداری نیز مشاهده گردید.

۵-منابع

- [۱]. Shahein, M.R., Atwaa, E.S.H., Radwan, H.A., Elmeligy, A.A., Hafiz, A.A., Albrakati, A., and Elmahallawy, E.K. (2022). Production of a yogurt drink enriched with golden berry (*Physalis pubescens* L.) juice and its therapeutic effect on hepatitis in rats. *Fermentation*. 8,(3): 112.
- [۲]. Abdeldaiem, A.M., Ali, A.H., Shah, N., Ayyash, M., and Mousa, A.H. (2023). Physicochemical analysis, rheological properties, and sensory evaluation of yogurt drink supplemented with roasted barley powder. *LWT*. 173: 114319.
- [۳]. Camargo-Herrera, Á.D., Bernal-Castro, C., Gutiérrez-Cortes, C., Castro, C.N., and Díaz-Moreno, C. (2022). Bio-yogurt with the inclusion of phytochemicals from carrots (*Daucus carota*): a strategy in the design of functional dairy beverage with probiotics. *Journal of Food Science and Technology*. 1-12.
- [۴]. Sekhavatizadeh, S.S., Karami, M., Savandroomi, A., and Sadeghisarvestani, M. (2015). Industrial Production of chvil yogurt and its chemical and sensory properties. *Food Technology and Nutrition*. 12-۵۹:(۱), ۷۰.
- [۵]. Šipailienė, A. and Petraitytė, S. (2018). Encapsulation of probiotics: proper selection of the probiotic strain and the influence of encapsulation technology and materials on the viability of encapsulated microorganisms. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 10,(1): 1-10.
- [۶]. Barajas-Alvarez, P., Gonzalez-Avila, M., and Espinosa-Andrews, H. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* HN001 by spray drying and its evaluation under gastrointestinal and storage conditions. *LWT*. ۱۱۲۴۸۵: ۱۵۳.
- [۷]. Rahimi, S. and Abbasi, S. (2014). Characterization of some physicochemical and gelling properties of Persian gum. *Innovative Food Technologies*. 1,(4): 13-27. [In persian].
- [۸]. Atraki, R. and Azizkhani, M. (2021). Survival of probiotic bacteria nanoencapsulated within biopolymers in a simulated gastrointestinal model. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 72: 102750.
- [۹]. Salman, H. (2022). Survival and stability of free and nanoencapsulated *Lactobacillus casei* under simulated gastrointestinal fluid and thermal conditions. *Benha Veterinary Medical Journal*. 42,(1): 68-72.
- [۱۰]. Sekhavatizadeh, S., Aminlari, M., and Ghaisari, H.R. (2018). The improvement of the physicochemical properties of *Lactobacillus rhamnosus* probiotic by dual layers extrusion microencapsulation with sodium alginate and zedo gum. *Journal of Food Science and Technology(Iran)*. 15,(80): 335-348. [In Persian].
- [۱۱]. Borhanpour, F., Sekhavatizadeh, S.S., Hosseinzadeh, S., Hasanazadeh, M., Golmakani, M.-T., and Moharreri, M. (2022). Effect of microencapsulated chvil (*Ferulago angulata*) extract on physicochemical, microbiological, textural and sensorial properties of UF-feta-type cheese during storage time. *International Journal of Food Engineering*. 18,(1): 53-66.
- [۱۲]. Rajam, R. and Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by

- spray drying. *LWT-Food Science and Technology*. 60,(2): 773-780.
- [۱۳]. Ghaderi-Ghahfarokhi, M., Yousefvand, A., Ahmadi Gavlighi, H., Zarei, M., and Farhangnia, P. (2020). Developing novel synbiotic low-fat yogurt with fucoxylogalacturonan from tragacanth gum: Investigation of quality parameters and *Lactobacillus casei* survival. *Food Science & Nutrition*. 8,(8): 4491-4504.
- [۱۴]. Raikos, V., Juskaite, L., Vas, F., and Hayes, H.E. (2020). Physicochemical properties, texture, and probiotic survivability of oat-based yogurt using aquafaba as a gelling agent. *Food Science & Nutrition*. 8,(12): 6426-6432.
- [۱۵]. Sakai, T., Oishi, K., Asahara, T., Takada, T., Yuki, N., Matsumoto, K., Nomoto, K., and Kushiro, A. (2010). M-RTL agar, a novel selective medium to distinguish *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus paracasei* from *Lactobacillus rhamnosus*. *International Journal of Food Microbiology*. 139,(3): 154-160.
- [۱۶]. Basiri, S., Haidary, N., Shekarforoush, S.S., and Niakousari, M. (2018). Flaxseed mucilage: A natural stabilizer in stirred yogurt. *Carbohydrate Polymers*. 187: 59-65.
- [۱۷]. Gheybi, N. and ashrafi, r. (۲۰۲۰). The Effect of inulin and quince seed gum powder on the physicochemical and qualitative properties of low fat yogurt. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*. 50,(4): 963-975.
- [۱۸]. Motalebi Moghanjoughi, Z., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh Khaledabad, M., Amiri, S., and Almasi, H. (2021). Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium animalis* BB-12 in pectin and sodium alginate: A comparative study on viability, stability, and structure. *Food Science & Nutrition*. 9,(9): 51۰۱۱۱-۰۳
- [۱۹]. Charles, A.P.R., Mu, R., Jin, T.Z., Li, D., Pan, Z., Rakshit, S., Cui, S.W., and Wu, Y. (2022). Application of yellow mustard mucilage and starch in nanoencapsulation of thymol and carvacrol by emulsion electrospray. *Carbohydrate Polymers*: ۲۹۸۰۱۲۰۱۴۸
- [۲۰]. Hugues-Ayala, A.M., Sarabia-Sainz, J.A.-i., González-Rios, H., Vázquez-Moreno, L., and Montfort, G.R.-C. (2020). Airbrush encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* GG in dry microbeads of alginate coated with regular buttermilk proteins. *LWT*. 117: 108639.
- [۲۱]. Golkar, A., Taghavi, S.M., and Aghili Dehnavi, F. (2018). The emulsifying properties of Persian gum (*Amygdalus scoparia Spach*) as compared with gum Arabic. *International Journal of Food Properties*. 21,(1): 416-436.
- [۲۲]. Leylak, C., Özdemir, K.S., Gurakan, G.C., and Ogel, Z.B. (2021). Optimisation of spray drying parameters for *Lactobacillus acidophilus* encapsulation in whey and gum Arabic: Its application in yoghurt. *International Dairy Journal*. 112: 104865.
- [۲۳]. Zhang, C., Yang, L., Gu, R., Ding, Z., Guan, C., Lu, M., and Gu, R. (2019). Mild heat stress limited the post-acidification caused by *Lactobacillus rhamnosus* hsrlym 1301 in fermented milk. *Biotechnology Letters*. 41: 633-639.
- [۲۴]. Mahmoodi Pour, H., Marhamatizadeh, M.H., and Fattahi, H. (2022). Encapsulation of different types of probiotic bacteria within conventional/multilayer emulsion and its effect on the properties of probiotic yogurt. *Journal of Food Quality*. 2022: 1-12.
- [۲۵]. Deshwal, G.K., Tiwari, S., Kumar, A., Raman, R.K., Kadyan, S.J.T.i.F.S., and Technology (2021). Review on factors affecting and control of post-acidification in yoghurt and related products. 109: 499-512.
- [۲۶]. Bhagwat, A., Bhushette, P., and Annature, U.S. (2020). Spray drying studies of probiotic Enterococcus strains encapsulated with whey protein and maltodextrin. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 9,(1): 1-8.
- [۲۷]. Augustin, M. and Hippolyte, M.T. (2012). Screening of biosurfactants properties of cell-free supernatants of cultures of *Lactobacillus* spp. isolated from a local fermented milk (Pendidam) of Ngaoundere (Cameroon). *International Journal of Engineering Research and Applications*. 2,(5): 974-985.
- [۲۸]. Bassijeh, A., Ansari, S., and Hosseini, S.M.H. (۲۰۲۰). Astaxanthin encapsulation in multilayer emulsions stabilized by complex coacervates of whey protein isolate and Persian gum and its use as a natural colorant in a model beverage. *Food Research International*. 137: 109689.
- [۲۹]. Montero, P., Calvo, M., Gómez-Guillén, M., and Gómez-Estaca, J. (2016). Microcapsules containing astaxanthin from shrimp waste as potential food coloring and functional ingredient: Characterization, stability, and bioaccessibility. *LWT*. 70: 229-236.

- [۳۰]. Akbari, A., Gänzle, M.G., and Wu, J. (2023). Cruciferin improves stress resistance and simulated gastrointestinal survival of probiotic *Limosilactobacillus reuteri* in the model encapsulation system. *Food Hydrocolloids for Health*. 100118.
- [۳۱]. Würth, R., Hörmannspurger, G., Wilke, J., Foerst, P., Haller, D., and Kulozik, U. (2015). Protective effect of milk protein based microencapsulation on bacterial survival in simulated gastric juice versus the murine gastrointestinal system. *Journal of Functional Foods*. 15: 116-125.
- [۳۲]. Wang, J., Nickerson, M., Low, N.H., and Van Kessel, A. (2016). Efficacy of pea protein isolate–alginate encapsulation on viability of a probiotic bacterium in the porcine digestive tract. *Canadian Journal of Animal Science*. 97,(2): 214-222.
- [۳۳]. Sekhavatizadeh, S.S., Mirzaee, N., Golmakani, M.-T., and Hosseinzadeh, S. (2022). Physicochemical and sensory characteristics of Kashk as influenced by quinoa flour addition. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 11,(5): e3438-e3438.
- [۳۴]. Dönmez, Ö., Mogol, B.A., and Gökmen, V. (2017). Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science*. 100,(2): 901-907.
- [۳۵]. Felix da Silva, D., Junior, N.N.T., Gomes, R.G., dos Santos Pozza, M.S., Britten, M., and Matumoto-Pinto, P.T. (2017). Physical, microbiological and rheological properties of probiotic yogurt supplemented with grape extract. *Journal of Food Science and Technology*. 54: 1608-1615.
- [۳۶]. Jin, H.S., Fei, Y.S., Yan, C.K., Kuan, C.H., and Wei, S.W.Y. (2020). Effect of gums coating materials on the survival of microencapsulated probiotics under simulated gastrointestinal conditions. *Materials Today: Proceedings*. 29: 16-19.
- [۳۷]. Chen, H.-Y., Li, X.-Y., Liu, B.-J., and Meng, X.-H. (2017). Microencapsulation of *Lactobacillus bulgaricus* and survival assays under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*. 29: 248-255.
- [۳۸]. Ali, U., Saeed, M., Ahmad, Z., Shah, F.-u.-H., Rehman, M.A., Mehmood, T., Waseem, M., Hafeez, H., Azam, M., and Rahman, A. (2023). Stability and survivability of alginate gum-coated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simulated gastrointestinal conditions and probiotic juice development. *Journal of Food Quality*. 2023.
- [۳۹]. Kowsalya, M., Sudha, K.G., Ali, S., Velmurugan, T., and Rajeshkumar, M.P. (2023). Sustainability and controlled release behavior of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* PRK7 and its application in probiotic yogurt production. *Food Bioscience*. 52: 102430.



Scientific Research

Investigating of physicochemical, microbial and sensory properties of Chavil yogurt drink containing *Lactobacillus rhamnosus* nanoencapsulated with Persian gum and whey protein isolate

Seyed Saeed Sekhavatizadeh*¹, Farhanaz Ahmadizadegan¹, Hamidreza Mahmoodianfard¹, Mohsen Abedi²

1- Food Science and Technology Dep, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Fars, Iran

2- Education and Extension Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

ABSTRACT

Yogurt drink is one of the fermented dairy products. Probiotic yogurt drink has special health properties due to the presence of probiotics. Also, adding herbal-medicinal plants including chavil to this product can make it more attractive. However, the shelf life of probiotic bacteria in yogurt drink is not very long. This research was therefore carried out to increase the shelf life of *Lactobacillus rhamnosus* in yogurt drink by nanoencapsulation technique with Persian gum and whey protein isolate. Particle size and SEM was used for determination nanoencapsulated bacteria (bead) characteristics. In this regard, three samples of yogurt drink containing free *Lactobacillus rhamnosus*, its bead and the control were produced. Some characteristics including pH, acidity, sensory including color, taste, consistency and overall acceptability of yogurt drink were measured as well as the shelf life of probiotic bacteria under gastrointestinal conditions and storage in the refrigerator. The results showed that the beads had a size from 246.98 to 356.2 nm. The efficiency of nanoencapsulation was 87.2%, and the SEM images showed that the bacteria were covered well. At the end of the storage time, the decrease in pH (3.41) and increase in acidity (97.3 °D) of the sample containing beads was highest. The counting of free and beads also showed that the shelf life of bead was greater than free bacteria in yogurt drink. In the 21st day of storage, the product was eligible for probiotics. Moreover, the bead survival in simulation gasterointestinal condition was 3.33 log cfu/ml. The evaluation of the sensory parameters also showed that the sample containing bead had the lowest score among the panellist in all the sensory components except the texture. In conclusion, it can be stated that the yogurt drink containing the bead sample can qualify as a probiotic product during 21 days of storage time.

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2023/6/7

Accepted: 2023/11/7

Keywords:

Probiotic,

Chavil,

Lactobacillus rhamnosus,

Yogurt drink,

Emulsion

DOI: 10.22034/FSCT.20.145.55

*Corresponding Author E-Mail:
s.sekhavati@areeo.ac.ir