تأثیر کازئینات سدیم و عصاره نعناع فلفلی بر میزان پروتئولیز و خاصیت بازدارندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسین در ماست پروبیوتیک بدون چربی

شهین زمردی[1*]، عزیزه رضایی[2]، اصغر خسروشاهی اصل[3]، حسن ملکی‌نژاد[4]

۱- بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه و مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، کردستان، ایران

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، ایران

٤- مرکز تحقیقات سلامت مواد غذایی و آشامیدنی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵ /۰۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹٦/۰۹/۲۵)

چکیده

تأثیر افزودن سدیم کازئینات (٤ -۰ ٪) و عصاره نعناع فلفلی (۰/٤ – ۰ ٪) بر میزان پروتئولیز و خاصیت بازدارندگی آنزیم مبدل آنژیوتنسین (ACE) در ماست پروبیوتیک قالبی بدون چربی، در طول ۲۰ روز نگهداری با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. به این ترتیب مدل درجه دو برای هریک از شاخص‌های کیفی ارائه شد. با گذشت زمان نگهداری میزان اورتو فتال دی آلدهید (OPA) افزایش و در مقادیر کم عصاره نعناع با افزایش درصد کازئینات سدیم میزان OPA افزایش یافت. اما در مقادیر بالای عصاره با افزایش سدیم کازئینات میزان OPA ابتدا افزایش و سپس کاهش نشان داد (P<۰/۰۵). در طول زمان نگهداری و در اثر افزایش درصد کازئینات سدیم، میزان OPA افزایش پیدا کرد (P<۰/۰۵). در زمان‌های نخست با افزایش مقدار عصاره نعناع، میزان بازدارندگی تقریباً ثابت اما در اواخر این دوره با افزایش میزان عصاره نعناع فلفلی، مقدار آن افزایش یافت (P<۰/۰۵). افزایش میزان کازئینات سدیم تا ۲ ٪ علاوه بر افزایش تولید مواد زیست فعال، موجب بهبود بافت نمونه‌های ماست نیز گردید. با توجه به نتایج این بررسی، استفاده از ۲ ٪ کازئینات سدیم و ۰/۲٪ عصاره نعناع پیشنهاد می‌شود.

کلید واژگان: آنزیم مبدل آنزیوتنسین، پروبیوتیک، پروتئولیز، ماست

*مسئول مکاتبات: shahinzomorodi@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

۱- مقدمه

پپتیدهای زیست فعال ترکیباتی با عملکرد بیولوژیکی و فیزیولوژیکی هستند که در داخل بدن یا در طول پروسه مواد غذایی در اثر هیدرولیز آنزیمی پروتئین‌های مختلف از جمله پروتئین‌های گیاهی (نظیر پروتئین سویا، زئین و هوردئین) و پروتئین‌های حیوانی، مخصوصاً پروتئین‌های شیر تولید می‌شوند. از فعالیت بیولوژیکی این پپتیدها می‌توان به حمل‌کننده‌های مواد معدنی و ضد فشار خون اشاره کرد. آنزیم‌های پروتئولیتیک طبیعی موجود در شیر، آنزیم‌های حاصل از باکتری‌های اسید لاکتیک و یا منابع خارجی در تولید مواد زیست فعال دخیل هستند. از پپتیدهای زیست فعال می‌توان پپتیدهای حاصل از αs_1، بتا، آلفا و کاپا کازئین، بتا-لاکتوگلبولین، آلفا-لاکتوالبومین را نام برد. این مواد زیست فعال به طور گسترده در شیر و محصولات تخمیری حاصل از شیر یافت می‌شوند [۱].

باکتری‌های اسید لاکتیک توانایی تولید پپتیدهای زیست فعال در طول تخمیر شیر را دارند. این باکتری‌ها دارای سیستم پروتئولیتیکی پیشرفته‌ای هستند که قادرند احتیاجات اسید آمینه خود را برآورده سازند. در سال‌های اخیر پتانسیل گونه‌هایی از این باکتری ها به عنوان عوامل ضد فشار خون مورد مطالعه قرار گرفته‌اند که قادرند پپتیدهای بازدارنده مبدل آنژیوتنسین (ACE)[1] را از پروتئین‌های شیر در طول تخمیر محصولات لبنی تولید کنند. در میان باکتری‌های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس کازیی* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* فعالیت بازدارندگی قوی داشته و بیشترین بازدارندگی را از خود نشان داده‌اند [۲ و ۳].

در سیستم رنین-آنژیوتنسین (RAS)[2] و رنین پروتئاز آسپارتیک، آنژیوتنسینوژن را به دی کاپپتید آنژیوتنسین I و ACE نیز آنژیوتنسین I را به اکتاپپتید آنژیوتنسین II تبدیل می‌کند. آنژیوتنسین II تنگ کننده قوی عروق بوده، فشار خون را افزایش داده و موجب غیرفعال شدن بردی‌کینین[3] و افزایش تولید آلدسترون می‌شود که در نتیجه موجب کاهش دفع مایعات و نمک شده و نگهداری آب و حجم مایعات خارج سلولی را افزایش می‌دهد که موجب انقباض رگ‌های خونی و متعاقباً افزایش فشار خون می‌شوند. داروهای بازدارنده‌های ACE از این دو واکنش جلوگیری کرده و موجب کاهش فشار خون می‌شوند [۱ و ۲].

کاپتوپریل و انالاپریل از جمله بازدارنده‌های ACE محسوب می‌شوند که به عنوان استاندارد نیز در ارزیابی فعالیت بازدارندگی ACE مورد استفاده قرار می‌گیرند. گروه فعال بازدارنده در کاپتوپریل یک گروه سولفیدریل است که یون روی موجود در جایگاه فعال آنزیم را شلاته می کند. این گروه در انالاپریل یک گروه کربوکسیل است که با یک الکل استری شده و پس از جذب توسط استرازهای موجود در پلاسما ترکیب فعال انالاپریلات آزاد می‌شود که هضم و جذب بالایی دارد. گرچه انالاپریل بازدارنده قوی است اما پتانسیل بازدارندگی آن هزار مرتبه کمتر از انالاپریلات است [٤].

تعدادی از بازدارنده‌ها مانند دو تری‌پپتید VPP[4] و IPP[5] همراه با آنزیم‌های تریپسین، پپسین و کربوکسی پپتیداز A کارایی بیشتری دارند [۵ و ٦]. بیش از ۲۰ مقاله در این خصوص وجود دارد که می‌توان ادعا کرد که مصرف محصولات حاوی بازدارنده‌ها بخصوص VPP و IPP موجب کاهش هر دو فشار سیستولیک و دیاستولیک خون می‌شود. اگر مواد زیست فعال در غذاها آزاد نشود می‌توان به صورت تجاری آن را به غذا اضافه کرد. از پپتیدهای مشتق شده از کازئین می‌توان برای این منظور استفاده کرد [۱ و ۷].

اخیراً محصولات پروبیوتیکی تخمیرشده شیر مورد توجه قرار گرفته‌اند که عمدتاً به خاطر تولید بازدارنده ACE، دارای پتانسیل ضد فشار خون هستند. پپتیدهای بازدارنده ACE از قبیل کازوکینین‌ها و لاکتوکینین‌ها در طول پروتئولیز آنزیمی پروتئین‌های شیر و تخمیر باکتریایی آزاد می‌شوند. بنابراین محصولات تخمیری شیر غنی از پپتیدهای زیست فعال هستند که به عنوان رژیم غذایی طبیعی با پتانسیل کنترل فشار خون محسوب می‌شوند [۲].

1. Angiotensin Converting Enzyme (ACE)
2. Reticular Activating System (RAS)
سیستم هورمونی است که فشارخون و همچنین تعادل مایعات را در بدن تنظیم می‌کند
3. Bradykinin نوعی پپتید است که موجب کاهش فشار خون می‌شود.

4. Valine-Proline_Proline (VPP)
5. Isoleusine-Proline-Proline (IPP)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

نعناع متعلق به خانواده *لابیاتا*[1] بوده و یکی از قدیمی‌ترین گیاهان دارویی است. این گیاه غنی از ترکیبات پلی-فنلی و فلانوئیدها است [۸]. مطالعات اخیر نشان داده است که ترکیبات فنلی دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا و خواص درمانی از جمله جلوگیری از دیابت و فشار خون دارند. بعلاوه گیاهان غنی از فلانوئیدها خاصیت بازدارندگی از ACE-I دارند [۹]. تحقیقات اخیر تأثیر عصاره نعناع را بر افزایش بازدارندگی فعالیت ACE و کاهش فشار خون نشان داده‌اند [۹، ۱۰ و ۱۱].

پروتئازهای باند شده با دیواره سلولی و پپتیدازهای داخل سلولی باکتری‌های اسید لاکتیک در ماست مسئول هیدرولیز پروتئین‌ها هستند. پروتئولیز پروتئین‌های شیر، موجب افزایش سرعت آزاد شدن اسیدهای آمینه و پپتیدها می‌شود [۲]. بنابراین یک روشی سریع برای تعیین پروتئولیز در محصولات لبنی نیاز است. روش‌های زیادی از جمله روش فولین سیوکالتیو، روش تری‌نیتروبنزن-سولفونیک اسید و روش OPA[2] جهت ارزیابی پروتئولیز محصولات لبنی مورد استفاده قرار گرفته است [۱۲].

هدف از این تحقیق بررسی تأثیر افزودن سدیم کازئینات و عصاره نعناع فلفلی بر میزان پروتئولیز با استفاده از روش اورتوفتال دی آلدهید و بررسی خاصیت بازدارندگی آنزیم مبدل کننده آنژیوتنسین در ماست پروبیوتیک بدون چربی و همچنین مقدمه‌ای جهت استفاده از محصولات سلامت‌بخش به عنوان مکمل دارویی جهت کاهش فشار خون می‌باشد.

۲- مواد و روش ها

شیر خشک بدون چربی (تهیه شده از شرکت راماک خوی با ۱/۲۵±۰/۱۷٪ چربی، ۳۸±۱/۰۴٪ درصد پروتئین و ۹۶±۰/۲٪ درصد ماده خشک)، استارتر تجاری YC-350 (کشت مخلوط *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیر گونه *بولگاریکوس*، کریستین-هانسن، دانمارک)، *لاکتوباسیلوس کازئی* L26 (DSM، استرالیا)، MRS آگار (مرک، آلمان)، ونکومایسین، ACE، FAPGG[3]، OPA و انالاپریل (سیگما-آلدریچ، استرالیا)، کازئینات سدیم با ۷۸/۹۵ ٪ پروتئین (میلاد، خراسان) و عصاره آبی-الکلی نعناع فلفلی[4] (زردبند، ایران) تهیه شد.

۲-۱- طرح آزمایشی و تیمارهای آماری

در این تحقیق، از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکز وجه استفاده شد. برای آنالیز داده ها نرم افزار SAS V9.2 مورد استفاده قرار گرفت. مطابق جدول ۱، تعداد نمونه‌های آزمایش برابر ۲۰ عدد که در این میان ٦ آزمون تکرار در نقطه مرکزی بود و از این نقاط برای تعیین خطای آزمایش استفاده شد. متغیرهای مستقل شامل میزان کازئینات سدیم در سه سطح (۰، ۲ و ٤ ٪)، میزان عصاره نعناع فلفلی در سه سطح (۰، ۰/۲ و ۰/٤ ٪) و مدت زمان نگهداری نیز در سه سطح (٤، ۱۲ و ۲۰ روز) بود. آنالیز رگرسیون با مدل زیر انجام گرفت.

$$Y = \beta_0 + \beta_1X_1 + \beta_2X_2 + \beta_3X_3 + \beta_{11}X_{21} + \beta_{22}X_{22} + \beta_{33}X_{23} + \beta_{12}X_1X_2 + \beta_{13}X_1X_3 + \beta_{23}X_2X_3$$

در آن Y پاسخ پیش‌بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_1، β_2 و β_3 اثرات خطی، β_{11}، β_{22} و β_{33} اثر مربعات و β_{12}، β_{13} و β_{23} اثر متقابل می‌باشد.

۲-۲-روش تهیه ماست

شیر بازسازی شده با ۱۲درصد ماده خشک بدون چربی تهیه شد. کازئینات سدیم و عصاره نعناع فلفلی طبق جدول شماره ۱ به آن افزوده و در دمای ۸۵ °C به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه گردید. سپس تا دمای ٤۳ ± ۱ °C سرد شد. سپس از پودر لیفیلیزه DVS[5] استارتر ماست مقدار ۰/۰۱ گرم بر هر کیلوگرم شیر و از پودر لیفیلیزه DVS *لاکتوباسیلوس کازیی* مقدار ۰/۰۵ گرم برای هر کیلوگرم شیر مستقیما افزوده شد و تا رسیدن pH به حدود ٤/٦ در همان دما گرمخانه گذاری شد. سپس نمونه ها سرد و به مدت ۲۰ روز در یخچال نگهداری شدند [۱۰].

۲-۳- ارزیابی پروتئولیز توسط روش OPA

آماده‌سازی عصاره ماست: مقدار ۱۰ گرم از نمونه ماست با ۲۵ میلی لیتر آب مقطر رقیق شد و با اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال pH آن روی ٤ تنظیم شد. پس از ۱۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای

1. Labipata
2. O-phthaldialdehayde (OPA)
3. N-[3-(2-Furyl) Acryloyl]-L-Phenylalanyl-Glycyl-Glycine (FAPGG)

٤. در تهیه این عصاره به عنوان حلال از مخلوط ۵۰٪ اتانول (۹۶٪) و ۵۰٪ آب مقطر استفاده شده است

5. Direct Vat Set (DVS)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

°٤٥C توسط سانتریفریوژ یخچال‌دار (یونیورسال ۳۲۰ ساخت آلمان) به مدت ۱۰ دقیقه در °٤C با دور g ۵۰۰۰ سانتریفوژ گردید. مایع جمع شده در سطح جدا شد و pH آن با سود ۰/۱ نرمال روی ۷ تنظیم و مجدداً سانتریفوژ گردید. مایع جدا شده در °C ۲۰- نگهداری شد [۹ و ۱۰].

Table 1 Design exams based on the response surface methodology and composite design center with three variables: sodium caseinate % (A), peppermint pepper extract% (B) and storage time (C)

Run	Code			Uncode		
	A	B	C	A	B	C
1	-1	-1	-1	0	0	4
2	-1	-1	+1	0	0	20
3	-1	+1	-1	0	0.4	4
4	-1	+1	+1	0	0.4	20
5	+1	-1	-1	4	0	4
6	+1	-1	+1	4	0	20
7	+1	+1	-1	4	0.4	4
8	+1	+1	+1	4	0.4	20
9	-1	0	0	0	0.2	12
10	+1	0	0	4	0.2	12
11	0	-1	0	2	0	12
12	0	+1	0	2	0.4	12
13	0	0	-1	2	0.2	4
14	0	0	+1	2	0.2	20
15	0	0	0	2	0.2	12
16	0	0	0	2	0.2	12
17	0	0	0	2	0.2	12
18	0	0	0	2	0.2	12
19	0	0	0	2	0.2	12
20	0	0	0	2	0.2	12

تهیه معرف OPA: ابتدا مقدار ٤۰ میلی گرم OPA در یک میلی لیتر متانول حل شد و سپس مقدار ۲۵ میلی لیتر محلول سدیم تترابورات ۱۰۰ میلی مولار، ۲/۵ میلی‌لیتر سدیم دو دسیل سولفات ۲۵٪ و ۱۰۰ میکرولیتر β- مرکاپتواتانول به آن افزوده شد و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. این معرف باید تازه تهیه شود و در طول ۲ ساعت مصرف گردد [۱۱].

روش تعیین پروتئولیز: مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از عصاره ماست به ۳ میلی لیتر از معرف OPA در سل کوارتز ۵ میلی‌لیتری افزوده شد و مدت ۵ ثانیه مخلوط گردید. پس از ۲ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب با اسپکتروفتومتر (بیکمن ساخت آمریکا) در طول موج ۳٤۰ نانومتر قرائت شد. برای شاهد نیز به جای نمونه ماست از آب مقطر استفاده شد. میزان پروتئولیز نمونه‌ها بر اساس میزان جذب پپتیدها و اسیدهای آمینه آزاد اندازه‌گیری شده در ۳٤۰ نانومتر بیان گردید [۹].

٤-۲- روش تعیین بازدارندگیACE

تهیه معرف ACE: مقدار ۲/۳٤ گرم کلرید سدیم در ۸۰ میلی لیتر آب دیونیزه حل و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. محلول A با مخلوط کردن ۰/٦۰۷ گرم تریس در ۵۰ میلی لیتر آب دیونیزه تهیه و pH آن روی ۸/۳ تنظیم شد و تا حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رقیق گردید. ۲۵ گرم FAPGG در ٦۲/٦ میلی-لیتر از محلول A حل و معرف حاصل در آمپول‌های ۵۰۰ میکرولیتری تقسیم و در °C ۲۰- تا آزمایش‌های بعدی نگهداری شد [۱۳].

روش: مقدار برابر از معرف ACE و نمونه مورد آزمایش به سل کوارتز ۵ میلی‌لیتری منتقل شد. پس از مخلوط کردن کامل، در حمام آب گرم (ممرت ساخت آلمان) با دمای °C ۳۷ به مدت ۲ دقیقه انکوبه گردید. به مخلوط حاصل، ۲۵ میکرولیتر آنزیم ACEاضافه و کاملا هم زده شد. سپس مجددا در حمام آب گرم با دمای °C ۳۷ به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت تا واکنش‌های آنزیمی انجام شود. برای تهیه شاهد نیز به جای نمونه از آب مقطر استفاده شد. سل‌ها هر ۵ دقیقه یک بار از حمام آب گرم خارج شدند و جذب آنها در طول موج ۳٤۰ نانومتر تعیین شد. با استفاده از فرمول زیر سرعت بازدارنگی ACE محاسبه گردید [۷ و ۹].

$$\text{بازدارندگی ACE (٪)} = ۱۰۰ - (\Delta A_{sample}/\Delta A_{control})\times ۱۰۰$$

$$\Delta A_{sample} = A_{.} - A_{۱۵} \text{ , } \Delta A_{control} = A_{.} - A_{۱۵}$$

تهیه محلول‌های استاندارد: محلول ذخیره استاندارد به مقدار ۱۰ میلی لیتر با غلظت ۰/۰۰۱ مولار از انالاپریل تهیه و در دمای °C ۲۰- نگهداری شد. جهت هیدرولیز قلیایی انالاپریل به

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

انالاپریلات، مقدار ٤ میلی لیتر سود ۱ مولار به آن افـزوده شـد و محلول حاصل به مدت یک شب در دمای اتاق نگهداری گردیـد. سپس pH آن با استفاده از اسید کلریدریک ۱ مولار روی ۸ تنظیم شد و با آب دمینرالیزه تا حجم ۲۰ میلی‌لیتـر رقیـق شـد. محلـول حاصل داخل آمپول‌های ۵۰۰ میکرولیتـر تقـسیم و در دمـای °C ۲۰- تا زمان آزمـایش نگهـداری شـد. بـرای تهیـه محلـول‌هـای استاندارد ۹ غلظت مختلف از انالاپریلات با رقیق سـازی متـوالی تهیه گردید [۱۳]. سپس همانند روش ذکر شده در فـوق جـذب استانداردها در طول موج ۳٤۰ نانومتر تعیین شد (شکل ۱).

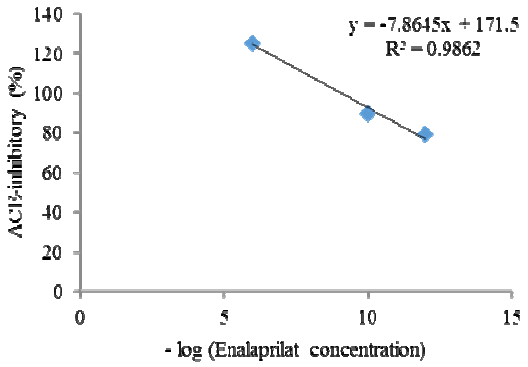

Fig 1 Standard curve of Anaplacrylates

۵-۲- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط ۲۰ نفر از دانشجویان رشته مهندسی صنایع غذایی دانشگاه ارومیه با استفاده از روش هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. امتیاز ۵ معرف کیفیت عالی و امتیاز ۱ مربوط به کیفیت نامطلوب بود. نمونه‌ها به صورت تصادفی و بدون ذکر نوع ترکیب مورد ارزیابی قرار گرفت و داوران از آب برای شستشوی دهان خود استفاده کردند.

۳-نتایج و بحث

خلاصه تجزیه واریانس داده‌های مستقل بر ACE، OPA و امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های ماست در جدول ۲ آورده شده است.

۳-۱- ارزیابی پروتئولیز (OPA)

پروتئولیز مهمترین پروسه بیوشیمیایی است که در طول تخمیر و نگهداری رخ می‌دهد [۹]. در طـول تخمیـر پـروتئین‌هـای شـیر توسط پروتئازهای خارج سلولی LAB هیدرولیز شـده و باعـث افزایش گروه‌های NH_3 آزاد می‌شود که می‌توان با روش OPA میزان آن را تعیین کرد.

نتایج تجزیه آماری داده‌هـا حـاکی از آن اسـت کـه تـأثیر خطـی کازئینات سدیم و مدت زمان نگهـداری و تـاثیر مربعـی عـصاره نعناع و اثر متقابـل مقـدار کازئینـات سـدیم و عـصاره نعنـاع بـر پروتولیز ماست معنی‌دار بود (P<۰/۰۵).

با توجه به شکل ۲، در طـول زمـان نگهـداری و در اثـر افـزایش درصد کازئینات سـدیم، میـزان OPA افـزایش پیـدا کـرد. زیـرا کازئینات سدیم به عنوان یک ماده پروتئینی، مواد مغذی مورد نیاز رشد میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند. در نتیجه موجب رشـد و تکثیر *لاکتوباسیلوس کازئی* و باکتری‌های آغازگر ماست می‌گردد. لذا این باکتری‌ها با تولید آنـزیم‌هـایی خـارج و داخـل سـلولی، پروتئین‌های شیر و پپتیدهای فعال بیولوژیکی را هیدرولیز کرده و در نتیجه موجب افزایش پروتئولیز در ماست می‌شوند [۱٤].

بیشترین رشد پروبیوتیک در میزان کازئینات بالاتر و اواخر دوره نگهداری مشاهده شد. نیلسن و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان دادند که پروتئازها در طول دوره نگهداری در یخچال نیز فعال هستند [۱۵]

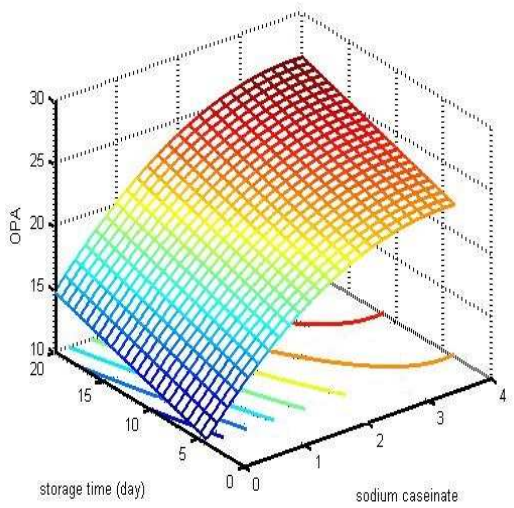

Fig 2 Effect of sodium caseinate and storage time on the amount of proteolysis

با توجه به شکل ۳، بررسی تاثیر متقابل مقدار کازئینات سـدیم و عصاره نعناع نشان داد که در مقادیر کم عصاره نعناع بـا افـزایش

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

درصد کازئینات سدیم میزان OPA افزایش یافت. زیرا استارترهای ماست و *لاکتوباسیلوس کازیی* در دمای یخچال نیز فعال هستند [۱۶] و بنابراین افزایش پروتئولیز توسط این باکتری‌ها می‌تواند با وجود کازئینات سدیم [۱۴] و عصاره نعناع افزایش یابد [۹] و متعاقب آن اندیس OPA نیز به دلیل افزایش شکستن پروتئین‌ها و تولید بیشتر پپتیدهای زیست فعال در ماست افزایش پیدا می‌کند [۱۷].

اما با افزایش بیشتر عصاره نعناع و سدیم کازئینات مقدار OPA کاهش یافت. دلیل کاهش ممکن است در اثر واکنش بین گروه آلفا آمینی با بتا مرکاپتانول باشد. لذا منجر به کاهش جذب در ۳۴۰ نانومتر شده است و آن ارتباطی به مصرف اسیدهای آمینه توسط باکتری‌های ماست ندارد [۹].

Table 2 Summary of analysis of variance of independent data on ACE, OPA and acceptability score of samples

Source	DF	Mean Square		
		OPA	ACE	Acceptability
Model	9	35.11**	5324.6**	0.035**
Linear	3	31.10*	8410.5**	0.075**
Quadratic	3	27.93*	1079.96	0.018
Intercept	3	46.30	906.89	0.146
Caseinate (A)	1	33.16*	7028.5**	0.148*
Peppermint (B)	1	12.24	2962.5*	0.047*
Time (C)	1	47.90*	15240.3**	0.17
A^2	1	25.90*	749.3	0.008
AB	1	126.97*	0.939	0.0004
AC	1	3.42	13172..85**	0.0002
B^2	1	20.49	206.21	0.024
BC	1	8.52	6227.37**	0.032
C^2	1	24.03	1935.74	0.0001
Lack of Fit	5	1.257ns	906.89ns	0.008
Pure Error	5	8.50	99.25	0.035
R-square	-	0.78	0.897	0.59
Adj R-Square	-	0.75	0.805	0.21

Statistically significant, **P < 0.01, *P<0.05, ns: not significant

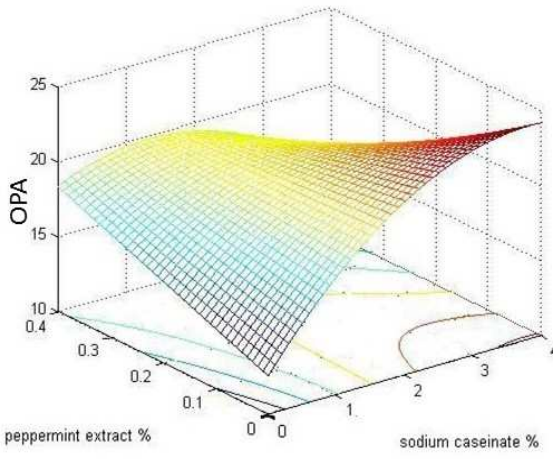

Fig 3 Effect of sodium caseinate and peppermint extract on the amount of proteolysis

رضایی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که با افزایش میزان سدیم کازئینات، به دلیل افزایش مواد مورد نیاز در دسترس میزان رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* و تولید آنزیم‌های داخلی و خارج سلولی افزایش یافت [۱۰]. این آنزیم‌ها از مهمترین آنزیم‌های مورد استفاده در صنایع غذایی هستند و قادرند پپتیدهای فعال بیولوژیکی و بردی‌کینین را هیدرولیز کنند. پروتئولیز همچنین موجب تأمین فاکتورهای رشد ضروری به صورت پپتیدها و اسیدهای آمینه برای رشد و زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌شود و در نتیجه به دلیل افزایش مواد در دسترس برای رشد، میزان پروتئولیز نیز افزایش می‌یابد که با نتایج این بررسی مطابقت دارد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

با توجه به جدول تجزیه واریانس داده‌ها، مدل نهایی OPA دارای سطح معنی دار بالایی بوده و مدل نهایی دارای Lack of Fitغیر معنی‌دار، ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده بالا است. لذا مدل نهایی به دست آمده، کارآمد بوده و قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند. معادله پیشگویی زیر برای پروتئولیز با استفاده از برازش داده‌ها به دست آمد که در آن A کازئینات سدیم، B عصاره نعناع فلفلی و C مدت زمان نگهداری می‌باشد.

$$OPA\ value = 9.26 + 6.11A + 14.39B + 0.27C - 0.80A^2 - 10.19AB$$

۳-۲- ارزیابی فعالیت ACE-inhibitory

پروتئین‌های شیر به خصوص کازئین‌ها منابع مهمی برای تولید پپتیدهای زیست فعال هستند به ویژه آنهایی که پپتیدهای بازدارنده ACE را به صورت نهفته در ساختار اولیه خود دارند [۹ و ۱۸] که می‌توانند در طول هضم در معده، روده و یا فرایندهای مواد غذایی آزاد شوند. محصولات لبنی تخمیری حاوی پپتیدهای زیست فعالند که ممکن است به عنوان بازدارنده-های ACE به صورت رقابتی به آنزیم مذکور متصل شوند و از شکستن سوبسترای FAPGG به محصولات FA و PGG جلوگیری کنند [۹]. تغییر در فعالیت بازدارندگی ACE در طول نگهداری ممکن است مربوط به تداوم فعالیت پروتئولیتیکی باشد که غلظت پپتیدهای دارای پتانسیل ACE را تغییر می‌دهد [۱۹]. ممکن است پپتیدهایی با خاصیت بازدارندگی قوی به تعادل میان تشکیل آنها و تجزیه بعدی به پپتیدهای غیرفعال و آمینواسیدها باشد که خود تحت تأثیر زمان و شرایط نگهداری است [۱۹، ۲۰ و ۲۱]. بهبود فعالیت بازدارندگی ACE در طول تخمیر به درجه هیدرولیز بستگی دارد. LABها در زمینه تولید بازدارنده‌های ACEدر طول تخمیر شناخته شده‌اند. این بازدارنده‌ها در اثر پروتئازهای باکتریایی بر پروتئین‌های شیر تولید می‌شوند. LAB، پروتئین‌های شیر و به طور عمده کازئین‌های شیر را به پپتیدها هیدرولیز می‌کند که می‌تواند به عنوان منبع نیتروژن برای باکتری-ها مورد استفاده قرار گیرد [۷ و ۱۴].

آزمایش ACE برای ارزیابی فعالیت بازدارندگی ACE پپتیدهای زیست فعال تولید شده در طول تخمیر و نگهداری انجام شد. در این تحقیق اثر خطی کازئینات سدیم، عصاره و مدت زمان نگهداری و همچنین اثر متقابل کازئینات سدیم و مدت زمان نگهداری و اثر متقابل عصاره نعناع و مدت زمان نگهداری بر میزان بازدارندگی ACE در ماست پروبیوتیک بدون چربی معنی‌دار بود ($P<0/05$). طبق شکل ٤ با افزایش درصد کازئینات سدیم، بازدارندگی در اوایل دوره نگهداری افزایش و در اواخر این دوره کاهش یافت. ممکن است با گذشت زمان نگهداری، پپتیدهای زیست فعال حاصل از هیدرولیز، توسط میکروارگانیسم‌ها به مصرف رسد.

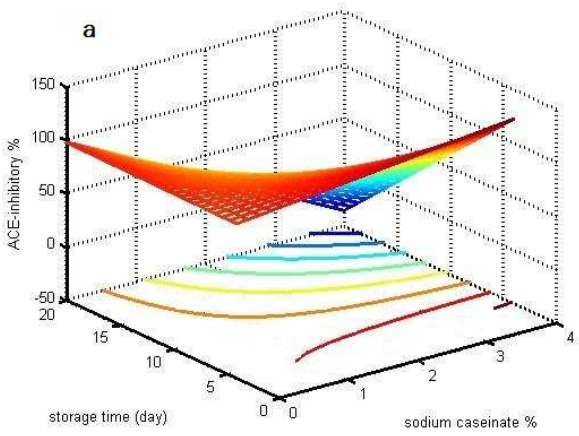

Fig 4 Effect of sodium caseinate and storage time on ACE inhibitory activity

رضایی و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که با افزایش زمان نگهداری، رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* افزایش یافت [۱۰]. اثر بازدارندگی در طی روزهای نخست بالا بود اما به تدریج به کمترین میزان خود در روزهای پایانی نگهداری رسید که با نتایج حاصل از امیردیوانی و بابا (۲۰۱۱) مطابقت داشت [۹]. این نتایج نشان می‌دهد که پپتیدهای با خاصیت بازدارندگی نسبتاً کمتر در طول تخمیر تولید می‌شود که تا اواسط دوره نگهداری به پپتیدهای زیست فعال بیشتر و کوچکتر شکسته می‌شوند. پروتئولیز وسیع این پروتئین‌ها در طول نگهداری تا روز بیستم موجب تولید پروتئین‌های با خاصیت زیست فعالی کمتر و کوچکتر می‌شود [۹].

طبق شکل ۵ بازدارندگی در اوایل دوره نگهداری با افزایش مقدار عصاره نعناع تقریباً ثابت اما در اواخر این دوره با افزایش میزان عصاره نعناع فلفلی، افزایش یافت که با نتایج حاصل از مطالعه امیردیوانی و بابا (۲۰۱۱) مطابقت دارد [۹]. از آنجایی که عصاره محلول در آب بخودی خود بر فعالیت ACE تأثیری ندارند، این

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

گیاهان ممکن است به صورت غیر مستقیم با تأثیر بر رشد باکتری‌های ماست و متابولیسم آنها هیدرولیز پروتئین‌های شیر را تغییر دهد [۹]. در نتیجه افزایش متابولیسم باکتری‌ها، هیدرولیز و در نتیجه تولید بازدارنده‌های ACE افزایش می‌یابد. همچنین میکروارگانیسم‌ها با گذر زمان از عصاره نعناع به عنوان منابع جایگزین استفاده کرده و حتی ممکن است اثر سینرژیستیکی نیز بر رشد آن داشته باشد [۱۰ و ۱۵].

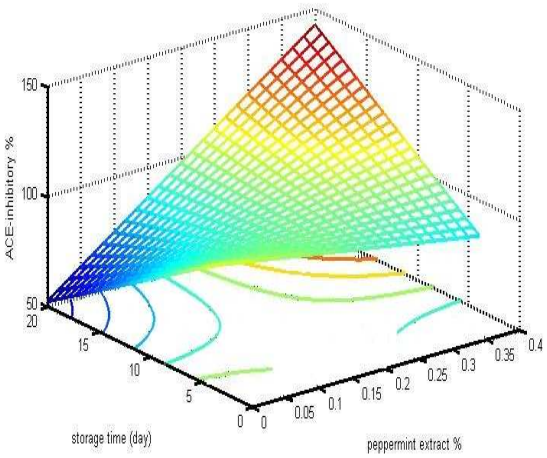

Fig 5 Effect of peppermint extract and storage time on ACE inhibitory activity

بعضی از پپتیدهای مشتق شده از شیر در داخل پروتئین به طور کامل فعالند در حالی که بقیه در صورت آزاد شدن در نتیجه پروتئولیز فعال می‌شوند. در نتیجه آشکار شدن مواد زیست فعال نهفته به منطقه پروتئولیز بستگی دارد. بعلاوه ممکن است بیان کامل بیواکتیویته به فعالیت سینرژیکی مواد زیست فعال با عوامل غیر پپتیدی در شیر مثل لیپیدها، گلیکوزیدها و الیگوساکاریدها نیاز داشته باشند [۱].

لذا کاهش فعالیت بازدارندگی ACE در اواخر دوره نگهداری ممکن است ناشی از مصرف کربوهیدارت‌های موجود در شیر توسط میکروارگانیسم‌ها باشد. با استفاده از منحنی استاندارد بیشترین غلظت ترکیبات بازدارنده در نمونه ماست با ۰/٤٪ عصاره نعناع فلفلی در روز بیستم معادل ۳/٤ µM و نمونه حاوی ٤٪ کازئینات سدیم در روز چهارم نگهداری معادل ۱/٥٦ µM بدست آمد.

طبق گزارش گنزالس و همکاران (۲۰۱۱) در میان باکتری‌های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس کازئی* فعالیت بازدارندگی بالایی دارد [۲]. با افزایش سدیم کازئینات و همچنین افزایش رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* و تولید آنزیم‌های داخل و خارج سلولی [۱۰] تولید مواد زیست فعال افزایش [۱۵] و در نتیجه میزان بازدارندگی ACE افزایش یافت.

همانطوری‌که در جدول تجزیه واریانس داده‌ها مشخص است، مدل نهایی بازدارندگی ACE دارای سطح معنی دار بالایی بوده و مدل نهایی دارای Lack of Fit غیر معنی‌دار، ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده نیز بالاتر از ۰/۷ است. لذا مدل نهایی به دست آمده، کارآمد بوده و قادر است بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند. معادله پیشگویی زیر برای فعالیت بازدارندگی ACE با استفاده از برازش داده‌ها به دست آمد که در آن A کازئینات سدیم، B عصاره نعناع فلفلی و C مدت زمان نگهداری می‌باشد.

$$ACE = 118.16 + 17.18A - 124.01B - 3.31C - 1.05AC + 1.75BC$$

۳-۳- ارزیابی حسی

خواص حسی از عوامل اساسی پذیرش بسیاری از فراورده‌ها و کسب رضایت از مصرف آنهاست. با توجه به اهمیت این خواص، بررسی و شناخت عوامل مؤثر بر آنها به منظور دستیابی به خواص بهینه و جلوگیری از ایجاد خواص حسی نامطلوب ضروری است .

با توجه به جدول ۲، تأثیر خطی کازئینات سدیم و عصاره نعناع فلفلی بر امتیاز پذیرش کلی معنی‌دار بود. همانطوری‌که از شکل ٦ مشخص است با افزایش کازئینات سدیم تا ۲ % امتیاز پذیرش کلی افزایش و سپس کاهش یافت. افزایش ۲٪ کازئینات سدیم به ماست، منجر به تولید ماستی با قوام بالا و خامه‌ای و سینرسیس کمتر شد لذا ارزیابان امتیاز بیشتری به آن دادند. اما افزودن بیشتر کازئینات سدیم، موجب ویسکوز شدن نامطلوب نمونه‌ها و ناخوشایند شدن آن از نظر ارزیابان گردید. بهبود خواص حسی در اثر استفاده از کازئینات سدیم تا ۲٪ در ماست، توسط سایر محققان نیز گزارش شده است [۲٤- ۲۲].

اما با توجه به شکل ۷ با افزایش مقدار عصاره نعناع فلفلی تا ۰/۳ ٪ امتیاز پذیرش کلی بطور معنی داری افزایش و سپس کاهش یافت. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی مخلوطی از مواد مختلف با ترکیبات شیمیایی بسیار متفاوت از یکدیگر بوده که موجب بوی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

خوش یا مزه در گیاه می‌باشد. عصاره‌ها و اسانس‌های حاصل از منابع گیاهی، از زمان‌های قدیم به عنوان مواد طعم دهنده مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از آنجایی که مصرف کنندگان به ایمنی مواد غذایی حاوی طعم دهنده‌های سنتزی، اطمینان ندارند لذا استفاده از اسانس‌های گیاهی طبیعی به جای طعم دهنده‌های سنتزی و نگهدارنده‌ها می‌توانند به این مشکل فایق آید [۲۵].

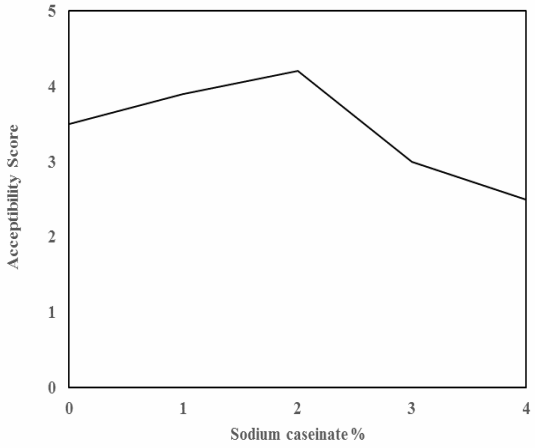

Fig 6 Effect of sodium caseinate on acceptability score

همانطوری‌که از جدول ۲ مشخص است، مدل نهایی بازدارندگی پذیرش کلی دارای سطح معنی دار بالایی بوده و مدل نهایی دارای Lack of Fit غیر معنی‌دار است. اما ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده پایین تر از ۰/۷ می‌باشد. لذا مدل نهایی به دست آمده، کارآمد نبوده و قادر نیست بطور رضایت بخشی تغییرات ویژگی‌های مورد آزمون را توجیه کند. لذا نمی‌توان معادله پیشگویی برای آن نوشت.

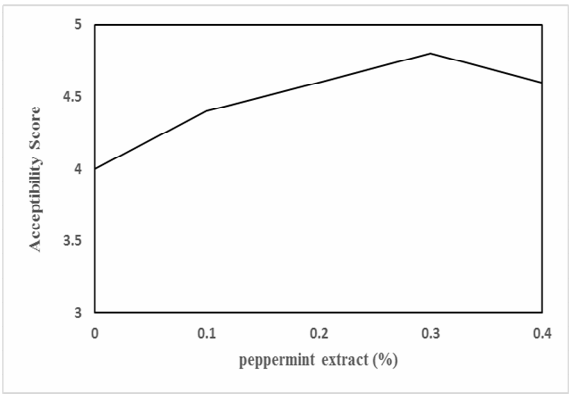

Fig 7 Effect of peppermint extract on acceptability score

۳-٤- بهینه‌سازی

به منظور بهینه سازی، از روش بهینه‌سازی عددی استفاده شد و نقطه ای را که مشخصات تمامی پاسخ ها را برآورد کرد، به عنوان منطقه بهینه معرفی گردید. مبنای بهینه سازی به حداکثر رساندن زمان نگهداری، OPA، بازدارندگی ACE و پذیرش کلی و به حداقل رساندن میزان کازئینات سدیم و عصاره نعناع بود. برای بهینه سازی چند منظوره، توابع مطلوبیت کلی RSM به کار برده شد. مقدار مطلوبیت کلی ۰/۸۱ تعیین شد. شرایط بهینه مقدار کازئینات سدیم ۲٪، مقدار عصاره نعناع فلفلی ۰/۲٪ و زمان نگهداری ۲۰ روز تعیین گردید. جهت ارزیابی شرایط بهینه پیش بینی شده، آزمایش تجربی تحت شرایط به دست آمده، انجام گرفت، که نتایج پیش بینی شده و نتایج به دست آمده از آزمایش در جدول ۳ نشان داده شده است. همان طور که از جدول مشاهده می‌شود خطای پیش بینی مدل در حد مطلوبی (٤ ٪ >) است که بیانگر مناسب بودن مدل انتخابی است.

Table 3 Optimized results compared with experimental ones

Response	Predictive	Experimental	Error (%)
ACE (%)	26.52	27.46	-3.42
OPA (%)	20.44	19.95	2.46

٤- نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که افزایش کازئینات سدیم با توجه به افزایش پروتئولیز می‌تواند موجب افزایش تولید مواد زیست فعال و در نتیجه افزایش فعالیت بازدارندگی ACE در طول ۲۰ روز نگهداری در ماست پروبیوتیک بدون چربی شود.

اما نتایج متفاوتی برای تأثیر عصاره نعناع حاصل شد. میزان پروتئولیز با افزایش درصد عصاره نعناع در غلظت پائین سدیم کازئینات افزایش و در غلظت‌های بالاتر کاهش یافت. با افزایش میزان پروتئولیز بازدارندگی ACE افزایش و سپس کاهش پیدا کرد که به دلیل مصرف پپتیدهای زیست فعال بود. با این وجود

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

بازدارنده‌های موجود در مواد غذایی به اندازه داروها قوی نیستند که برای درمان فشار خون بالا بکار روند بلکه دارای فعالیت ملایم‌تری هستند که می‌توانند به عنوان غذاهایی سلامت افزا طبیعی تلقی گردند و در رژیم غذایی روزانه قرار گیرند. همچنین امتیاز پذیرش کلی نمونه‌ها با افزایش کازئینات سدیم تا ۲٪ و با افزایش مقدار عصاره نعناع فلفلی تا ۰/۳ درصد افزایش و سپس کاهش یافت. در شرایط بهینه مقدار کازئینات سدیم ۲٪، مقدار عصاره نعناع فلفلی ۰/۲٪ و زمان نگهداری ۲۰ روز تعیین گردید.

۵- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله مراتب سپاس خود را از جناب آقای پروفسور فرهادی، سرکار خانم دکتر شب بو امیردیوانی، پروفسور مینرویني و خانم دکتر فاطمه نجاتی ابراز می‌دارند.

٦- منابع

[1] Smacchi, E., & Gobbeti, M. (2000). Bioactive peptides in dairy products: Synthesis and interaction with proteolytic enzyme. Food Microbiology, 17, 129-114.

[2] Gonzalez-Gonzalez, C. R., Tuohy, K. M., & 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.

[3] Sieber, R., Butikofer, U., Egger, C., Portmann, R., Walther, B., & Wechster, D. (2010). ACE-inhibitory activity and ACE-inhibitory peptides in different cheese varieties. Dairy Science and Technology, 90, 47-73.

[4] Vermeirssen, V., Van Camp, J., & Verstraete, W. (2002). Optimization and validation of an angiotensin-converting enzyme inhibition assay for the screening of bioactive peptides. Journal of Biochemical and Biophysical Methods, 5, 75-87.

[5] Leclerc, P. L., Gauthier, S. F., Bachelard, H., Santure, M. & Roy, D. (2002). Antihypertensive activity of casein-enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*. International Dairy Journal, 12, 995-100.

[6] Gomes Ruiz, J. A., Ramos, M., & Recio, I. (2004). Angiotensin converting enzyme-inhibitory activity of peptides isolated from Manchpego cheese. Stability under simulated gastrointestinal digestion. International Dairy Journal, 14, 1075-1080.

[7] Pihlanto, A., Virtanen, T., & Korhonen, H. (2010). Angiotensin-I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity and antihypertensive effect of fermented milk. International Dairy Journal, 20, 3-10.

[8] Sweetie, R., Kanatt, R. C. & Arun, S. (2007). Antioxidant potential of mint (*Mentha spicata L.*) in radiation processed Lamb meat. Food Chemistry, 100, 451-458.

[9] Amirdivani, Sh., & Baba A. S. (2011). Change in yogurt fermentation characteristic and antioxidant potential and in vivo inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. Food Science and Technology, 44, 1458-1464.

[10] Rezaei, A., Khosrowshahi Asl, A., Zomorodi, Sh., & Malekinajad, H. (2013). Effect of addition of sodium caseinate and peppermint extract on viability of *Lactobacillus casei* and physicochemical properties and antioxidant activity of non-fat probiotic yogurt, Journal of Food Research, 23 (3), 423-434. (In Persian).

[11] Balakrishnan, A. (2015). Therapeutic uses of peppermint. Journal of Pharmaceutical Science and Research, 7, 474-476

[12] Nielsen, P, M., Petersen, D., & Dambmann, C. (2001). Improved method for determining food protein degree of hydrolysis, Journal of Food Science, 66(5), 642-646.

[13] Amirdivani, Sh, (2015). Inclusion of Allium sativum in Yogurt and its Effects on Inhibition of Diabetes and Hypertension-associated by Enzymes in vitro. Applied Food Biotechnology, 2(3), 29-37.

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

[15] Nielsen, M. S., Martinussen, T., Flambard, B., Sørensen, K. I., & Otte, J. (2009). Peptide

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

profiles and Angiotensin-I-converting enzyme inhibitory activity of fermented milk products: Effect of bacterial strain, fermentation pH, and storage time. International Dairy Journal, 19, 155–165.

[16] Papadimitriou, C. G., Mastrojiannaki, A. V., Silva, A. V., Gomes, A. M., Malcata, F. X., & Alichanidis, E. (2007). Identification of peptides in traditional and probiotic sheep milk yoghurt with angiotensin I-converting enzyme (ACE)-inhibitory activity. Food Chemistry, 105, 647–656.

[17] Shahidi, F., & Zhong, Y. (2008). Bioactive peptides. Journal of AOAC International, 91, 914–931.

[18] Ramchandran, L., & Shah, N. P. (2010). Influence of addition of raftline HP on the growth, proteolytic, ACE and a-glucosidase inhibitory activities of selected lactic acid bacteria and Bifidobacterium. LWT-Food Science and Technology, 43, 146-152.

[19] Lo pez-Fandino, R., Otte, J., & Van Camp, J. (2006). Physiological, chemical and technological aspects of milk-protein-derived peptides with antihypertensive and ACE-inhibitory activity. International Dairy Journal, 16, 1277–1293.

[20] Ramchandran, L., & Shah, N. P. (2010). Characterization of functional, biochemical and textural properties of synbiotic low-fat yogurts during refrigerated storage. Food Science and Technology, 43, 819-827.

[21] Samona, A., & Robinson, R. K. (1994). Effect of yogurt cultures on the survival of bifidobacteria in fermented milks. Journal of Society of Dairy Technology, 47(2), 58–60.

[22] Akalın, A. S., Unal, G., Dinkci, N., & Hayaloglu, A. A. (2012). Microstructural, textural, and sensory characteristics of probiotic yogurts fortified with sodium calcium caseinate or whey protein concentrate. Journal Dairy Science, 95. 3617–3628.

[23] Damin, M. R., Alcantara, M. R., Nunes, A. P., & Oliveira, M. N. (2009). Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrates and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. Lebenson. Wiss. Technology, 42, 1744–1750.

[24] Supavititpatana, P., Wirjantoro, T. I. & Raviyan, P. (2009). Effect of sodium caseinate and whey protein isolate fortification on the physical properties and microstructure of corn milk yogurt. Chiang Mai University (CMU) Journal Natural of Sciences, 8 (2), 247-265.

[25] Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in food – A review. International Journal of Food Microbiology, 94, 223-253.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]

The effect of sodium caseinate and peppermint extract on OPA and ACE-inhibitory activity in non-fat probiotic yogurt

Zomorodi, Sh. [1*], Razaei, A. [2], Khosrowshahi Asl, A. [3], Malekinajad, H. [4]

1. Department of Engineering Research, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Urmia, Iran
2. MSc Student, Department of Food Science and Technology, Urmia University and Lecturer, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Azad university Sanandaj branch, Kurdistan, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4. Food and Beverages Safety Research Center, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

(Received: 2016/04/16 Accepted:2017/12/16)

The effect of addition of sodium caseinate (0–4%) and peppermint extract (0-0.4 %) on O-phthaldialdehyde (OPA) and ACE-inhibitory of probiotic nonfat-set yogurt was investigated during 20 days of storage using with Response Surface Methodology. A second-order polynomial model was fitted to the physicochemical properties of runs as responses. OPA value increased with increasing storage time and also increased with increasing the amount of sodium caseinate in small doses of peppermint extract ($P<0.05$). OPA initially was increased and then was decreased by increasing the amount of sodium caseinate in large quantities of peppermint extract ($P<0.05$). At the beginning of storage period, inhibition activity increased with increasing percentage of sodium caseinate and decreased in the end of storage time ($P<0.05$). At early stage of storage, the inhibition activity was almost constant with increasing amounts of peppermint extract but at the end of the storage period inhibition activity increased with increasing amount of peppermint extract ($P<0.05$). Increasing the amount of sodium caseinate, addition to increasing the production of bioactive ingredients, caused improvement of the texture of the yogurt samples. According to the results obtained using of 2% sodium caseinate and 0.2% peppermint extract is suggested.

Keywords: ACE, Probiotic, OPA, Yogurt

* Corresponding Author E-Mail Address: shahinzomorodi@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-11-23]