

اثر غلظت‌های مختلف نشاسته مقاوم و کیتوزان بر ساختار میکروسکوپی، خواص رئولوژیکی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده در ماست نوشیدنی

فاطمه شهدادی^۱، حبیب‌اله میرزایی^{۲*}، مهدی کاشانی نژاد^۳، مرتضی خمیری^۴

امان محمد ضیایی فر^۲، علی اکبریان^۴

^۱ دانش‌آموخته دکتری صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۲ دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۳ استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

^۴ مدیر تحقیقات و توسعه صنایع شیر ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۸/۱۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۲/۰۶

چکیده

هدف: هدف این مطالعه بررسی اثر ریزپوشانی با آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم و آلژینات سدیم- کیتوزان بر ساختار میکروسکوپی، خواص رئولوژیکی و زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس زیرگونه لاکتیس در ماست نوشیدنی بود.

مواد و روش‌ها: نقش پارامترهای مختلف ریزپوشانی مانند غلظت نشاسته مقاوم و کیتوزان (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ درصد) و زمان فرایند ریزپوشانی (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) در حفاظت باکتری‌های پروبیوتیک نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که افزودن نشاسته و کیتوزان در سطح ۱ درصد به مخلوط آلژینات سدیم و زمان ۱۰ دقیقه باعث افزایش قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست نوشیدنی بعد از ۷ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد گردید. نمونه‌های حاوی ریزکپسول‌های آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم زنده‌مانی بیشتری (به ترتیب $3/6 \times 10^{11}$ و $6/6 \times 10^{11}$ برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس) نسبت به نمونه‌های حاوی باکتری‌های ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم- کیتوزان (به ترتیب $2/1 \times 10^{10}$ و $6/8 \times 10^{10}$ برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس) نشان دادند. تصاویر میکروسکوپ نوری ۵۰ عدد از دانک‌ها با بزرگنمایی $40 \times$ نشان داد که شکل دانک‌ها با هر دو دیواره کروی با متوسط قطر ۵۰۰-۳۰۰ میکرومتر بود. برش عرضی دانک‌های آلژینات پوشیده شده با نشاسته مقاوم در بزرگنمایی $100 \times$ نشان داد که سلول‌های باکتریایی درون دانک‌ها قرار گرفته بودند و توزیع دانک‌ها درون ماست نوشیدنی یکنواخت بود. فرایند ریزپوشانی باعث افزایش ویسکوزیته ظاهری، شاخص قوام و کاهش شاخص رفتار جریان نمونه‌های ماست نوشیدنی گردید. بهترین مدل برازش شده برای نمونه‌های بدون ریزکپسول مدل قانون توان و برای نمونه‌های حاوی ریزکپسول مدل هرشل-بالکی بود.

استنتاج: ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود و با افزایش غلظت جداره دوم زنده‌مانی باکتری‌ها و خواص رئولوژیکی بهبود می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های پروبیوتیک، ریزپوشانی، کیتوزان، ماست نوشیدنی، نشاسته مقاوم

*مسئول مکاتبه: habibmirzaei@yahoo.ca

مقدمه

با افزایش محبوبیت و مصرف محصولات لبنی و بویژه ماست‌های نوشیدنی صنعت، افزودن مواد اولیه دارای ارزش افزوده مانند پروبیوتیک‌ها و پری-بیوتیک‌ها را برای افزایش سلامت مصرف کننده مورد بررسی قرار داده است. یکی از ویژگی‌های محصولات لبنی، فراهم کردن بستر مورد نیاز برای رشد بسیاری از میکروارگانیسم‌ها است. از این رو می‌توان با افزودن یک یا چند باکتری مفید به محصولات لبنی، ارزش غذایی آنها را بالا برد بخشی از این میکروارگانیسم‌ها که می‌توانند در شیر و ماست رشد پیدا کنند باکتری‌های پروبیوتیک هستند. پروبیوتیک‌ها معمولاً یک یا مخلوطی از چند میکروارگانیسم هستند که چنانچه توسط انسان یا حیوان مصرف شوند، می‌توانند با بهبود خصوصیات میکروفلور گوارشی میزبان اثرات سودمند بسیار زیادی را اعمال نمایند. پروبیوتیک‌ها به تحریک رشد باکتری‌های مفید روده و یا به کاهش بیماری‌زایی میکروب‌های مضر کمک می‌کنند و مکانیسم عمل آنها متکی به جایگزینی و زنده ماندن آنها در دستگاه گوارش است (۱۰).

قابلیت زیستی اندک پروبیوتیک‌ها در شرایط دشوار اسیدی-صفرای دستگاه گوارش و نیز فرآورده‌های غذایی، پژوهشگران را همواره به یافتن شیوه‌های بهبود این شاخص ترغیب کرده است. ریزپوشانی به عنوان یکی از تازه‌ترین شیوه‌ها، اثر قابل ملاحظه‌ای در این ارتباط داشته است. ریزپوشانی از دیدگاه میکروشناسی، پوشش دادن لایه‌ای از هیدروکلوئید در اطراف سلول‌های زنده می‌باشد که آنها را از شرایط نامساعد محیط اطراف مصون داشته و میزان بقای این سلول‌ها را بالا می‌برد (۱). مواد مختلفی جهت ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک از جمله ژلاتین، کیتوزان، صمغ گزانتان، دانه‌های ژل کاپا کاراگینان، صمغ لوبیای خرنوب و نشاسته مقاوم

مورد استفاده قرار گرفته‌اند ولی ریزپوشانی به وسیله آلژینات کلسیم به دلیل داشتن مزیت‌های متعدد، مثل غیر سمی و بی‌ضرر بودن آن برای بدن انسان، قیمت مناسب و آسانی کار با آن، به طور وسیعی برای این منظور و به خصوص بر روی باکتری‌های اسیدلاکتیک انجام گرفته است (۱، ۱۹). نشاسته مقاوم نوعی از نشاسته است که بوسیله آنزیم‌های آمیلاز پانکراتیک در روده کوچک هضم نمی‌شود و به روده بزرگ می‌رسد. نشاسته مقاوم می‌تواند بوسیله فلور طبیعی روده انسان یا حیوانات تخمیر شود. ترکیب آلژینات با نشاسته به ویژه نشاسته مقاوم نتایج بهتری را نشان داده است، چرا که منجر به تشکیل یک پوشینه اضافی در اطراف دانک‌ها شده و میزان استحکام دیواره تشکیل شده و متعاقباً زنده‌مانی باکتری‌های درون آن را بالا می‌برد (۸). کیتوزان از مشتقات کیتین بوده که با فرآیند دی استیلاسیون کیتین بدست می‌آید (۱۰). به دلیل اینکه کیتوزان ممکن است بر فعالیت باکتری‌ها اثر منفی داشته باشد و از طرف دیگر توانایی زیادی برای تشکیل فیلم دارد، این ماده بیشتر به عنوان لایه خارجی در کپسول‌های آنیونی مانند آلژینات مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). ذرات اسپری شده که توسط کیتوزان پوشش داده شده‌اند، به عنوان یک حامل مهم در رساندن سلول‌های باکتری به روده بزرگ و ایجاد یک پوسته پایدار در طی نگهداری در یخچال عمل می‌کنند (۱۴).

تاکنون مطالعه‌ای در زمینه تاثیر غلظت‌های بهینه کیتوزان و آلژینات به عنوان دیواره دوم ریزپوشانی و همچنین زمان مناسب قرار گرفتن دانک‌های آلژیناتی در محلول این دیواره‌ها بر قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در ماست نوشیدنی گزارش نشده است. لذا این مطالعه با هدف انتخاب بهترین غلظت و مناسب‌ترین زمان برای دستیابی به حداکثر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و

بیفیدوباکتریوم انیمالیس در ماست نوشیدنی و تاثیر دیواره‌های انتخابی بر خواص رئولوژیکی و ساختار میکروسکوپی نمونه‌های حاوی ماست نوشیدنی و ریزکپسول‌ها انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در این پژوهش عبارت بودند از: باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و بیفیدوباکتریوم انیمالیس BI01 و استارتر ماست CY340 (کریستین هانسن، دانمارک)، آلزینات سدیم، کیتوزان (با درجه دی استیلاسیون بیش از ۷۵ درصد با وزن مولکولی کم)، بافر فسفات، سیستین هیدروکلرید و نمک صفرای (سیگما، آمریکا)، محیط کشت MRS agar و MRS broth، نشاسته مقاوم (ذرت با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد)، کلرید کلسیم، موپروسین و سالیسین (مرک، آلمان).

ریزپوشانی باکتری‌ها: ریزپوشانی پروبیوتیک‌های مورد نظر به وسیله آلزینات و نشاسته مقاوم و همچنین آلزینات و کیتوزان (با وزن مولکولی کم، درجه استیلاسیون بیش از ۷۵ درصد) با روش اکستروژن و با دستگاه میکروانکپسولاتور چند نازلی (ثابت اختراع ۳۸۸۰۹۰۵۲۴، ایران) به صورت زیر انجام گرفت:

ابتدا ۲۰ گرم آلزینات سدیم به ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه و سپس استریل شد. پس از آن محلول آلزینات به مدت یک شب در یخچال قرار داده شد تا ذرات آلزینات به خوبی آب جذب کنند. روز بعد محلول آلزینات از یخچال به محیط آزمایشگاه منتقل شده تا با محیط هم دما شود. سپس میزان ۱۰ میلی لیتر امولسیون باکتریایی فعال شده به آلزینات اضافه شد و سوسپانسیون حاصل توسط دستگاه میکرو انکپسولاتور چند نازلی به درون محلول کلرید کلسیم ۰/۱ مولار حاوی توین ۸۰ تزریق گردید. سپس از تشکیل دانک‌ها، آنها شسته شده و دانک‌های آلزیناتی

دو مسیر را طی می‌کنند: در مسیر اول ۱۵ گرم از این دانک‌ها به درون ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۵، ۱ و ۲ درصد نشاسته مقاوم وارد شده و با سرعت ملایم برای پوشش دهی در زمان‌های ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه هم زده شد. در مسیر دوم نیز ۱۵ گرم از این دانک‌ها به درون ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۵، ۱ و ۲ درصد کیتوزان وارد شده و مانند مسیر قبل هم زده شد. دانه‌های پوشش داده شده با کیتوزان و نشاسته مقاوم پس از طی مدت زمان فرایند شسته شده و در محلول پپتون استریل (۰/۱ گرم/۱۰۰ گرم) و برای انجام آزمایشات مربوطه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید (۱۲).

تولید ماست نوشیدنی: برای تولید ماست نوشیدنی، شیر (۱/۵ درصد چربی و ۱۱ درصد ماده خشک) و پایدار کننده (پکتین با درجه متیلاسیون زیاد با غلظت‌های ۰/۱-۱ درصد) کاملاً هموژنیزه شده و سپس در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه گردید و سپس تا دمای تلقیح (۴۵ درجه سانتی‌گراد) سرد و سپس به آن ۱ درصد استارتر ماست و افزوده شده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH ۴/۴ گرمخانه گذاری شد. پس از گرمخانه گذاری لخته‌ها توسط دستگاه هموژنایزر شکسته شده و سپس ۰/۵ درصد از سوسپانسیون باکتری‌های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس) آزاد و آب (نسبت ۱ به ۴) به آن اضافه و کاملاً همزده شد تا مخلوطی یکنواخت به دست آید. این مخلوط برای انجام آزمون‌های مربوطه در یخچال قرار داده شد (۲۶).

آزمون دانک‌ها و بررسی ریزساختار: برای تعیین اندازه ذرات از میکروسکوپ نوری مدل T-25Y MotiC BA300 tohpahplA ژاپن متصل به دوربین استفاده گردید. قطر کپسول‌ها بوسیله آنالیز تصویری نرم افزار Leica Qwin550 برای ۵۰ نمونه تصادفی

بالکلی^۴ و کاسون^۵ مورد بررسی قرار گرفت سپس، مناسب‌ترین مدل ریاضی انتخاب و سرانجام، شاخص‌های رئولوژیکی برای هر یک از نمونه‌ها گزارش شد.

آزمون‌های روبش کرنش در محدوده کرنش ۰/۰۱ تا ۱۰۰ درصد و فرکانس ۱ هرتز به منظور تعیین محدوده خطی انجام و در نهایت کرنش ثابت ۱ درصد برای آزمون‌های بعدی انتخاب شد. آزمون روبش فرکانس در محدوده فرکانس ۱۰۰ هرتز تا ۰/۰۱ و کرنش ثابت ۱ درصد (زیرا کرنش ۱ درصد برای تمام نمونه‌ها به طور مشترک، به خوبی در منطقه خطی ویسکوالاستیک قرار داشت) انجام شد (۱۶).

بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک ریز پوشانی شده و آزاد در ماست نوشیدنی: تعداد سلول‌های زنده مانده باکتری پروبیوتیک در هر یک از نمونه‌ها بلافاصله پس از آماده سازی نمونه‌های ماست نوشیدنی و بعد از ۷ روز نگهداری در یخچال تعیین گردید. شمارش باکتریایی نمونه‌های حاوی باکتری-های آزاد بصورت زیر تعیین گشت:

۱۰ میلی لیتر از از نمونه ماست نوشیدنی به ۹۰ میلی لیتر پیتون واتر اضافه شده و کاملاً مخلوط و تا رقت 10^{-9} رقیق سازی شد. سپس ۱ میلی لیتر از این محلول در محیط MRS آگار محتوی سیستمسن هیدروکلرید و موپیروسین^۶ (برای باکتری‌های بیفیدوباکتریوم انیمالیس) و سالیسین^۷ و ۰/۱۵ درصد نمک‌های صفراوی (برای باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس) بصورت سطحی کشت داده شد. سپس جهت اختلاط مناسب محیط کشت و سوسپانسیون میکروبی، پلیت‌ها به آرامی به شکل عدد ۸ لاتین روی

ریزپوشانی شده، محاسبه شد. همچنین بررسی شکل دانک‌های حاصل از ریزپوشانی سلول‌های میکروبی و طرز قرارگیری باکتری‌ها درون دانک‌ها از میکروسکوپ نوری و پاشیدن لوگول روی دانک‌ها و همچنین رنگ آمیزی گرم دانک‌های شکاف داده شده استفاده شد. در این روش ساختمان کروی شکل دانک‌های حاصل و پوشش نشاسته و کیتوزان اطراف آنها و همچنین باکتری‌های باسیلی شکل درون دانک‌ها به طور کامل توسط میکروسکوپ مشاهده شد (۱۷). طرز قرار گرفتن دانک‌ها و پکتین درون ماست نوشیدنی نیز توسط میکروسکوپ نوری مشاهده گردید.

اندازه‌گیری خواص رئولوژیکی: برای بررسی تاثیر دیواره‌های انتخاب شده برای ریز پوشانی (بعد از انتخاب بهترین غلظت دیواره دوم و مناسب‌ترین زمان فرایند ریزپوشانی) بر رئولوژی و بافت ماست نوشیدنی، آزمون‌های رئولوژیکی یک روز پس از آماده سازی در دمای 10 ± 0.2 درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه رئومتر مجهز به ژئومتری استوانه‌ای هم مرکز انجام شد و برای جلوگیری از تبخیر نمونه‌ها از درپوش استفاده شد. برای اندازه گیری تنش برشی و گرانروی به صورت تابعی از سرعت برشی و تعیین نوع رفتار جریانی نمونه‌ها سرعت برشی در دامنه $1S^{-1}$ تا 1000 اعمال شد طی این روند تنش برشی هر ۳ ثانیه اندازه گیری شد. از آنجا که سرعت برشی اعمال شده در حفره دهانی حدود $50S^{-1}$ است (۳، ۴). گرانروی ظاهری بدست آمده از منحنی بالا رونده در سرعت برشی $47/6 S^{-1}$ به عنوان گرانروی ظاهری نمونه‌ها گزارش شد. به علاوه، میزان برآزش داده‌های بدست آمده از آزمون‌های عملی با مدل‌های ریاضی نظیر نیوتنی^۱، قانون توان^۲، بینگهام^۳، هرشل-

3. Bingham
4. Herschel-Bulkley
5. Casson
6. Mupirocin
7. Salicin

1. Newtonian
2. Power Law

سطح صاف حرکت داده شد. در نهایت به دور پلیت-های مخصوص بیفیدوباکتریوم انیمالیس پارا فیلم پیچیده و درون جار بی هوازی و پلیت‌های ویژه لاکتوباسیلوس اسیدفیلوس در شرایط هوازی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گشت (۱۳).

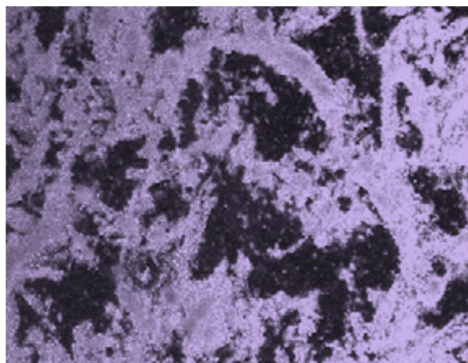
در مورد باکتری‌های ریزپوشانی شده مقدار ۱۰ گرم از نمونه ماست نوشیدنی حاوی این باکتری‌ها به ۱۰۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ درصد اضافه شده و در دمای اتاق به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از همزن هم زده شد (۱۷) و تا رقت 10^{-9} رقیق سازی شد. سپس کشت و شمارش مشابه باکتری‌های آزاد انجام گرفت. تعداد باکتری‌های بیفیدوباکتریوم انیمالیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر میلی لیتر ماست نوشیدنی با استفاده از فرمول استاندارد ایران و بر حسب CFU/ml محاسبه شد.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از اعمال تیمارها نتایج بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شد. مقایسه میانگین بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن و جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SAS (۲۰۰۸) استفاده شد. کلیه آزمایشات در سه تکرار انجام گرفت.

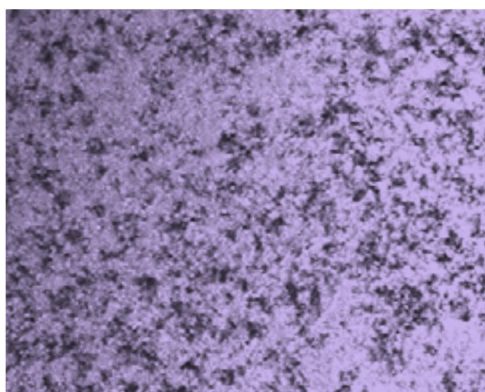
نتایج و بحث

نتایج مربوط به ریزساختار: مشاهدات صورت گرفته با میکروسکوپ نوری نشان داد که کپسول‌ها از نظر شکل کروی بودند. همچنین تصاویر نشان داد که ذرات نشاسته مقاوم ذرت در بافت کپسول‌های آلژینات سدیم وجود دارند. نشاسته مقاوم ذرت در

همه غلظت‌های مورد استفاده تاثیری بر روی قطر کپسول‌های تشکیل شده نداشت اما کیتوزان تا غلظت ۱ درصد قطر کپسول‌ها را تحت تاثیر قرار نداد اما در غلظت بیشتر از آن باعث ایجاد لایه‌ای اطراف کپسول-ها شد و قطر آنها را اندکی افزایش داد. کو و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که افزودن کیتوزان به میزان ۰/۵ درصد به آلژینات در فرایند ریزپوشانی شکل و اندازه دانک‌ها را تغییر نداد (۱۱). محققان استرالیایی نیز گزارش کردند نشاسته مقاوم ذرت، تاثیری بر افزایش اندازه کپسول‌ها نداشته و فقط باعث استحکام ساختار کپسول‌های آلژیناتی می‌گردد (۲۵). قطر میانگین ذرات که بوسیله دستگاه آنالیز تصویری اندازه گیری شد حدود ۵۰۰-۳۰۰ میکرومتر بود که این ابعاد در مقایسه با انواع گزارش شده توسط برخی محققان که در ابعادی بزرگتر و یا در حد میلی‌متر بوده، کوچکتر می‌باشد (۲). در صورتی که اندازه کپسول‌ها بسیار کوچک باشد نمی‌توانند محافظ خوبی برای پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی باشند و این امر باعث نابودی پروبیوتیک‌ها می‌شود (۱۵، ۲۴). همچنین پوسمیرز و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که هرچه اندازه کپسول‌های تشکیل شده بیشتر باشد، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها به دلیل استفاده از فعالیت آبی کافی در داخل کپسول‌ها در شرایط مختلف محیطی افزایش می‌یابد (۲۳). در مطالعه کراساکوپت و همکاران (۲۰۰۶) قطر کپسول‌های اندازه گیری شده با پوشش کیتوزان ۲۲۳ میکرومتر بود این امر نشان می‌دهد که کیتوزان علاوه بر خاصیت پوشش دهنده‌گی و استحکام بخشیدن به ساختار کپسول، منجر به افزایش قطر کپسول‌ها نیز می‌گردد (۱۲).



شکل ۱- بافت ماست نوشیدنی بدون افزودن HMP پس از اضافه کردن رودامین B
Figure 1. Texture of drinking yoghurt without HMP after adding Rhodamine B

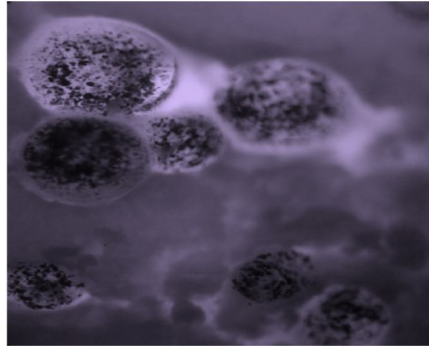


شکل ۲- بافت ماست نوشیدنی حاوی ۰/۵ درصد HMP بعد از اضافه کردن رودامین B
Figure 2. Texture of drinking yoghurt containing 0.5 % HMP after adding Rhodamine B

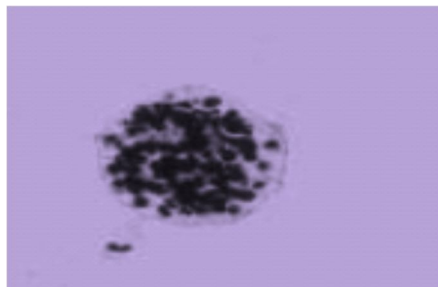
نتایج نشان داد که در نمونه بدون پکتین (شکل ۱)، کازئین‌ها توده‌ای شده و تجمع یافته‌اند که همین امر موجب دوفاز شدن و ناپایداری سامانه گردیده است. در تصویر میکروسکوپی به دست آمده از نمونه حاوی HMP، مشاهده شد که ذرات کازئینی به‌طور پراکنده در سامانه وجود داشتند و هیچ‌گونه توده تجمع یافته‌ای مشاهده نشد (شکل ۲).



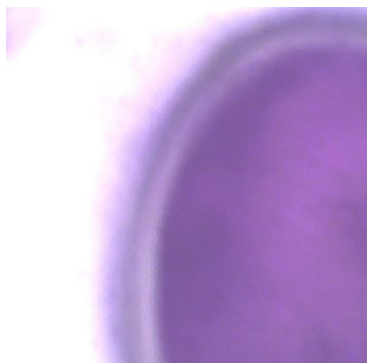
شکل ۳- ماست نوشیدنی حاوی ریزکپسول‌های آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم با بزرگ نمایی $\times 10$
Figure 3. Drinking yoghurt with sodium resistant starch capsules (magnification $\times 10$)



شکل ۴- ماست نوشیدنی حاوی ریزکپسول‌های آلژینات سدیم-کیتوزان با بزرگنمایی $\times 40$
Figure 4. drinking yoghurt with Sodium alginate- chitosan capsules(magnification $\times 40$)



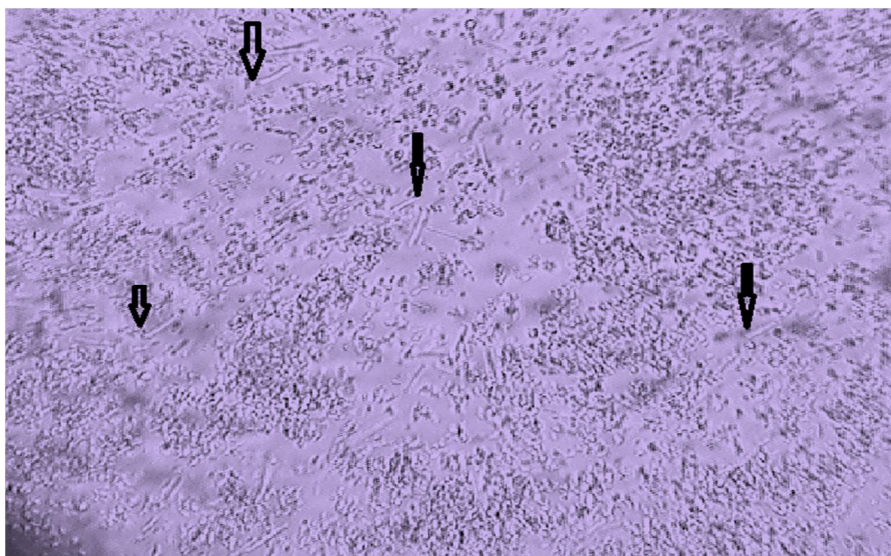
شکل ۵- کپسول آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم بعد از اضافه کردن محلول لوگل با بزرگ نمایی $\times 40$
Figure 5. Sodium alginate- resistant starch capsules after adding Gram solution (magnification $\times 40$)



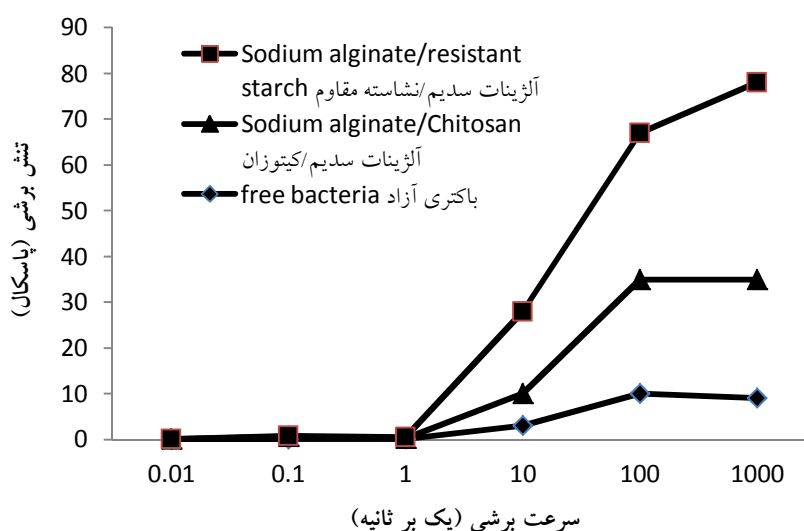
شکل ۶- کپسول آلژینات سدیم- کیتوزان بعد از اضافه کردن محلول لوگل با بزرگ نمایی $\times 40$
Figure 6. Sodium alginate- chitosan capsules after adding Gram solution (magnification $\times 40$)

بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی نمونه‌های ماست نوشیدنی تولید شده با ریزکپسول‌های آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم و آلژینات سدیم- کیتوزان

پراکنش باکتری‌های پروبیوتیک داخل دانک‌ها در شکل ۷ نشان داده شده است. این شکل مشخص می‌کند که باکتری‌ها به صورت چوب کبریتی شکل در داخل ماتریکس آلژینات مشاهده می‌شوند.



شکل ۷- مشاهده باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده در پوشش آلژینات- نشاسته مقاوم با بزرگ نمایی $\times 100$
Figure 7. Probiotic bacteria microencapsulated whit resistant starch (magnification $\times 100$)



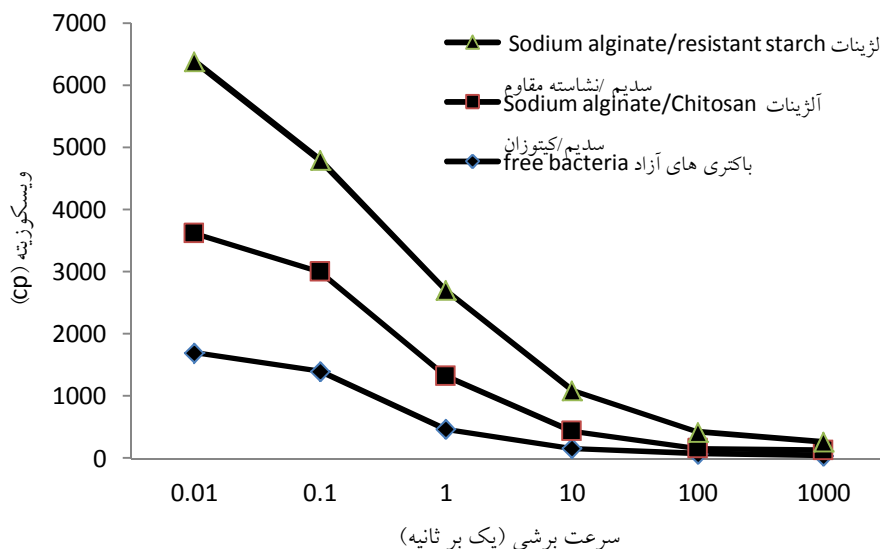
شکل ۸- رابطه سرعت برشی- تنش برشی در نمونه‌های ماست نوشیدنی
Figure 8. Shear stress - shear rate relation in drinking yoghurt samples.

همیشه باید همراه با مقدار سرعت برشی مورد استفاده جهت محاسبه آن بیان شود، در غیر اینصورت بدون معنی خواهد بود برای یک مایع رقیق شونده با برش (شبه پلاستیک)، با افزایش سرعت برشی گرانیوی ظاهری کاهش می‌یابد و این رفتار دلیل نامگذاری سیال است. بروز چنین رفتاری به این دلیل است که مولکول‌ها در سرعت‌های برشی پایین به صورت

از شکل ۸ و ۹ کاملاً مشخص است که همه نمونه‌ها بخوبی از قانون توان از نوع رقیق شونده با برش یا همان شبه پلاستیک تبعیت می‌کنند. که این امر با توجه به گرانیوی ظاهری کاملاً مشخص می‌باشد بدین ترتیب که گرانیوی ظاهری با این فرض محاسبه می‌شود که مایعات غیر نیوتنی از قانون گرانیوی نیوتن پیروی می‌کنند. گرانیوی ظاهری

راستایی مولکول‌ها بیشتر می‌شود و در نتیجه اصطکاک داخلی افزایش یافته و ویسکوزیته ظاهری کاهش می‌یابد (۵).

نامنظم آرایش پیدا می‌کنند و تنها به صورت جزئی هم راستا می‌باشند که این به ایجاد ویسکوزیته بالا منجر می‌شود. هنگامی که سرعت برشی افزایش می‌یابد هم



شکل ۹- ویسکوزیته نمونه‌های ماست نوشیدنی بر حسب سرعت برشی

Figure 9. The viscosity of drinking yogurt samples in terms of shear rate

(1/s)، ضریب قوام (pa.sⁿ) و شاخص رفتار جریان می‌باشند.

جدول ۱ مقادیر فاکتورهای رئولوژیکی (بدست آمده از برازش مدل‌ها) تیمارهای مختلف ماست نوشیدنی تهیه شده با باکتری‌های ریزپوشانی شده و HMP (غلظت ۰/۵ درصد) را نشان می‌دهد.

از جدول ۱ مشاهده می‌گردد استفاده از شکل ریزپوشانی شده باکتری‌های پروبیوتیک موجب افزایش ویسکوزیته نمونه‌های ماست نوشیدنی شده است. ترکیب پلیمرهای مورد استفاده در ریزپوشانی باکتری‌ها نه تنها موجب افزایش قابلیت زیستی باکتری‌ها می‌شود بلکه ممکن است موجب بهبود خصوصیات ویسکوزیته ماست نیز گردد (۷). وجود تنش تسلیم و رفتار رقیق شونده‌گی که در سیالات ژل مانند مانند ماست مشاهده می‌شود امکان نتیجه گیری مشابه در مورد ماست نوشیدنی را فراهم می‌کند.

محمد و همکاران (۲۰۰۴) در مطالعه‌ای تاثیر افزایش ماده‌ی جامد بر پارامترهای مدل توان به این نتیجه رسیدند که افزایش ماده‌ی جامد کل ماست، اثر مشخصی بر افزایش ویسکوزیته‌ی محصول دارد، به طوری که برای نمونه با ماده‌ی جامد بالاتر، ضریب قوام بالاتر و اندیس رفتار جریان پایین تر است (۱۸).

مناسب‌ترین مدل برای پیشگویی رفتار نمونه‌های ماست نوشیدنی حاوی باکتری‌های آزاد (ریزپوشانی نشده) مدل قانون توان (معادله ۱) و برای نمونه‌های حاوی باکتری‌های ریزپوشانی شده مدل هر شل - بالکلی (معادله ۲) شناخته شد.

$$\tau = k(\dot{\gamma})^n \quad (1)$$

$$\tau = \tau_0 + k(\dot{\gamma})^n \quad (2)$$

در معادله (۱) و (۲) τ ، $\dot{\gamma}$ ، τ_0 ، k و n به ترتیب تنش برشی (pa)، تنش تسلیم (pa)، سرعت برشی

برابر تنش وارد شده در جریان اندازه گیری رفتار جریان مقاومت می کند.

افزایش تنش تسلیم و تشدید رفتار رقیق شونده ماست نوشیدنی نشان دهنده وجود نوعی شبکه ژل مانند است و با افزایش ویسکوزیته فاز پیوسته در

جدول ۱- مقادیر فاکتورهای رئولوژیکی تیمارهای مختلف ماست نوشیدنی

Table 1. The values of rheological factors of different treatments of drinking yoghurt

R ²	تنش تسلیم Yield stress	شاخص قوام (k) Consistency index	شاخص رفتار جریان Flow (n) behavior index	ویسکوزیته (cp) Viscosity	نمونه های ماست نوشیدنی
0.991	0	86 ^c	0.45 ^c	58 ^{c*}	حاوی باکتری های آزاد (Containing free bacteria)
0.985	0.035	147 ^a	0.76 ^a	112 ^a	ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم/نشاسته مقاوم (containing bacteria encapsulated with sodium alginate/resistant starch)
0.994	0.01	108 ^b	0.68 ^b	89 ^b	ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم/ کیتوزان (containing bacteria encapsulated with sodium alginate/chitosan)

*در هر ستون اعداد با حروف غیرمشابه از لحاظ آماری اختلاف معنی دار دارند (P<0.05).

In each column, values with different letters are significantly different (p<0.05)

ریزپوشانی اندک بود که این به دلیل شرایط ملایم (دمای ۳۰-۱۵ درجه سانتی گراد) روش مورد استفاده می باشد. نتایج مربوط به انتخاب بهترین غلظت نوع دیواره دوم و زمان فرایند ریزپوشانی در محلول این دیواره ها از لحاظ تاثیر بر زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۲ تاثیر غلظت های مختلف نشاسته مقاوم و کیتوزان به عنوان دیواره دوم و زمان نگهداری دانک-های آلژینات در این غلظت ها را نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می شود افزودن دیواره دوم باعث افزایش زنده ماندن باکتری ها نسبت به آلژینات تنها می شود. با افزایش غلظت نشاسته مقاوم تا ۱ درصد میزان زنده ماندن هر دو باکتری افزایش یافت اما با افزودن نشاسته مقاوم تا ۲ درصد زنده ماندن هر دو باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم انیمالیس تغییر معنی داری نشان نداد.

همچنین، در بررسی تغییرات تنش برشی به صورت تابعی از سرعت برشی (شکل ۸)، همه نمونه ها رفتار غیرنیوتنی نشان دادند و نیز بررسی تغییرات ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی نشان داد که در همه نمونه ها، ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی کاهش یافت که این نوع رفتار وجه مشخصه سیالات شبه پلاستیک است.

انتخاب بهترین غلظت دیواره دوم و زمان فرایند ریزپوشانی: تعداد اولیه باکتری های پروبیوتیک قبل از فرایند ریزپوشانی به ترتیب برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدو باکتریوم انیمالیس (cfu/g) $7/7 \times 10^{11}$ و $9/9 \times 10^{11}$ بود. پس از فرایند ریزپوشانی با آلژینات سدیم- نشاسته مقاوم این میزان به $4/3 \times 10^{11}$ (cfu/ml) و $6/8 \times 10^{12}$ و بعد از ریزپوشانی با آلژینات سدیم- کیتوزان به $2/3 \times 10^{11}$ (cfu/ml) و $3/9 \times 10^{11}$ رسید. از بین رفتن باکتری ها در حین فرایند

جدول ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف نشاسته مقاوم و کیتوزان و زمان فرایند ریزپوشانی بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (cfu/ml)

Table 2. The effect of different levels of resistant starch and chitosan and microencapsulation process time on the viability of probiotic bacteria (CFU ml⁻¹)

۳۰ دقیقه (30 min)	۲۰ دقیقه (20 min)	۱۰ دقیقه (10 min)	۰ دقیقه (0 min)	نوع باکتری (bacteria)	غلظت (%) (concentration)	نوع دیواره (capsul type)
1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۰	
5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
9.4±0.3×10 ¹⁰	8.7±0.3×10 ¹⁰	7.4±0.4×10 ¹⁰	4.5±0.4×10 ¹⁰	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۰/۵	
7.4±0.2×10 ¹⁰	5.9±0.4×10 ¹⁰	5.6±0.2×10 ¹⁰	2.9±0.2×10 ¹⁰	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
8.3±0.4×10 ¹¹	6.4±0.5×10 ¹¹	3.6±0.1×10 ¹¹	1.9±0.1×10 ¹¹	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۱	
7.5±0.2×10 ¹¹	6.9±0.4×10 ¹¹	6.6±0.6×10 ¹¹	3.7±0.6×10 ¹¹	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
7.4±0.7×10 ¹¹	4.6±0.5×10 ¹¹	2.1±0.7×10 ¹¹	1.3±0.5×10 ¹¹	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۲	آلژینات سدیم / نشاسته مقاوم (Sodium alginate/ resistant starch
8.1±0.8×10 ¹¹	7.5±0.8×10 ¹¹	7.1±0.3×10 ¹¹	3.5±0.8×10 ¹¹	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	1.8±0.2×10 ⁸	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۰	
5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	5.9±0.6×10 ⁹	بیفیدو باکتریوم انیمالیس		
5.1±0.4×10 ⁹	5.8±0.2×10 ⁹	8.7±0.2×10 ⁹	9.8±0.6×10 ⁹	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۰/۵	
4.9±0.2×10 ⁹	6.8±0.3×10 ⁹	1.4±0.8×10 ¹⁰	1.6±0.1×10 ¹⁰	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
4.5±0.7×10 ⁸	7.3±0.1×10 ⁹	2.1±0.4×10 ¹⁰	1.8±0.1×10 ¹⁰	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۱	
7.7±0.2×10 ⁸	6.5±0.6×10 ⁹	6.8±0.2×10 ¹⁰	6.4±0.1×10 ¹⁰	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		
9.2±0.6×10 ⁷	6.7±0.3×10 ⁸	3.8±0.6×10 ⁹	۵/۸±۰/۶×۱۰ ^۹	لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (<i>L. acidophilus</i>)	۲	
5.4±0.7×10 ⁷	7.8±0.5×10 ⁸	5.7±0.2×10 ⁸	۸/۸±۰/۱×۱۰ ^۹	بیفیدو باکتریوم انیمالیس (<i>B. animalis</i>)		

ریزپوشانی در غلظت‌های مختلف کیتوزان باعث کاهش زنده‌مانی شد و این کاهش در غلظت‌های بالای کیتوزان به بیش از ۲ سیکل لگاریتمی رسید. با توجه به داده‌های مشاهده شده از جدول ۱ بهترین غلظت برای هر دو جداره غلظت ۱ درصد و بهترین زمان ۱۰ دقیقه انتخاب شد و کلیه تولیدات و آزمایشات انجام شده در ادامه پژوهش بر اساس همین

در دیواره کیتوزانی نیز میزان زنده‌مانی بیشتر از نمونه‌های ریزپوشانی شده با آلژینات تنها بود در حالی که با افزایش غلظت کیتوزان میزان زنده‌مانی کاهش یافت و این کاهش بیش از یک سیکل لگاریتمی بود. با افزایش زمان نگهداری دانک‌های آلژیناتی در نشاسته مقاوم در هر سه غلظت میزان زنده‌مانی افزایش یافت در حالیکه افزایش زمان فرایند

اسیدوفیلوس و بیفیدوس باکتریوم انیمالیس تغییر معنی داری نشان ندادند. در حالیکه افزودن بیش از ۱ درصد کیتوزان باعث کاهش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک شد. بنابراین بهترین غلظت برای هر دو دیواره غلظت ۱ درصد و زمان فرایند ۱۰ دقیقه انتخاب گردید. مشاهده ساختار میکروسکوپی نمونه‌های ماست نوشیدنی مشخص کرد که افزودن پایدار کننده باعث افزایش یکنواختی ماست نوشیدنی شد. همچنین مشاهده شد که کپسول‌ها از نظر شکل کروی بودند و باکتری‌ها به صورت چوب کبریتی شکل در داخل ماتریکس آلژینات مشاهده شدند. در بررسی تغییرات تنش برشی به صورت تابعی از سرعت برشی، همه نمونه‌ها رفتار غیرنیوتنی نشان دادند و نیز بررسی تغییرات گرانشی به صورت تابعی از سرعت برشی نشان داد که در همه نمونه‌ها ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی کاهش یافت که این نوع رفتار وجه مشخصه سیالات شبه پلاستیک (رقیق شونده با برش) بود. مناسب‌ترین مدل جهت پیشگویی رفتار جریانی ماست نوشیدنی‌های، مدل قانون توان برای نمونه‌های حاوی باکتری‌های آزاد (ریزپوشانی نشده) و مدل هرشل-بالکلی برای نمونه‌های حاوی باکتری‌های ریزپوشانی شده شناخته شد.

منابع

1. Anal, A.K. and Singh, H. 2007. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Food Science and Technology*, 18: 240-251.
2. Arnaud, J., Lacroix, C., and Choplin, L. 1992. Effect of agitation rate on cell release rate and metabolism during continuous fermentation with entrapped growing. *Biotechnology Techniques*, 6: 265-270.
3. Barnes, H.A. 2008. *Handbook of elementary rheology*. 1st ed. Translated

غلظت و زمان طراحی گردید. سلطانا و همکاران (۲۰۰۰) گزارش کردند که استفاده از نشاسته مقاوم به عنوان دیواره دوم در مقایسه با استفاده از آلژینات به تنهایی باعث بهبود زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک می‌شود زیرا نشاسته مقاوم به عنوان پری‌بیوتیک عمل می‌کند. اما افزایش نشاسته بیش از ۴ درصد کارایی فرایند ریزپوشانی باکتری‌ها را بهبود نمی‌بخشد (۲۵). بر اساس یافته‌های پنیچه (۲۰۰۳) سرعت همزدن، دما، زمان، درصد کیتوزان مورد استفاده برای ریزپوشانی و غیره می‌تواند خصوصیات ریزکپسول‌ها را تحت تاثیر دهد (۲۲) اما به هر حال اثرات بازدارندگی کیتوزان بر باکتری‌های اسید لاکتیک گزارش شده است (۶).

مخلوط کردن آلژینات کلسیم با نشاسته مقاوم ذرت از یک سو ساختاری منسجم و یکنواخت پدید می‌آورد و از سوی دیگر بقای سلول‌ها را به دلیل خاصیت پری‌بیوتیکی آن افزایش می‌دهد. پوشش کیتوزان (به عنوان ترکیب چند کاتیونی) حول کپسول‌های آلژینات که بار منفی دارند، کپسول‌های پوشش داری ایجاد می‌کند، که باعث پایداری فیزیکی و شیمیایی بیشتر کپسول‌ها و کاهش اثر تخریبی عوامل ضد ژل و درگیرکننده یون کلسیم در ساختار می‌شود (۹، ۱۲).

نتیجه‌گیری کلی

مطالعه غلظت‌های مختلف نشاسته مقاوم و کیتوزان به عنوان دیواره دوم و زمان نگهداری دانک‌های آلژینات در این غلظت‌ها نشان داد که افزودن دیواره دوم باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌ها نسبت به آلژینات تنها گردید. با افزایش غلظت نشاسته مقاوم تا ۱ درصد میزان زنده‌مانی هر دو باکتری افزایش یافت اما با افزودن نشاسته مقاوم تا ۲ درصد زنده‌مانی هر دو باکتری لاکتوباسیلوس

13. Laroia, S. and Martin, J.H. 1991. Methods of enumerating and propagating bifidobacteria. *Cultured Dairy Products Journal*, 26: 32-33.
14. Lasic, I. 2004. Polyelectrolyte complexes for microcapsule formation. In: Nedovic V, Willaert RG (eds) *Focus on biotechnology*, vol 8a, Fundamentals of cell immobilisation biotechnology. 103-120.
15. Mandal, S., Puniya, A.K., and Singh, K. 2006. Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* NCDC-298. *International Dairy Journal*, 16: 1190-1195.
16. Mezger, T.G. 2006. *The rheology handbook for users of rotational and oscillatory rheometers*. 2nd ed. Hannover: Vincentz Network.
17. Mirzaei, H., Pourjafar, H. and Homayouni, A. 2011. Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chemistry*, 132: 1966-1970.
18. Mohammed, H.A., Abu-Jdayil, B. and Al-shawabkeh, A. 2004. Effect of solid concentration on the rheological Properties of Labneh (Concentrated Yoghurt) produced from sheep milk. *Journal of Food Engineering*, 61: 347-352.
19. Mortazavian, A.M., Azizi, A., Ehsani, M.R., Razavi, S.H., Mousavi, S.M., Sohrabvandi, S. and Reinheimer, J. A. 2008. Survival of encapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) after the product exposure to simulated gastrointestinal conditions. *Milchwissenschaft*, 63(4): 427-429.
20. Mortazavian, A., Razavi, S.H., Ehsani, M.R. and Sohrabvandi, S. 2007. Principles and Methods of Microencapsulation of probiotic Microorganisms. *Iranian Journal of Biotechnology*, 5: 1-18.
21. New, N., Chandkrachni, s., Sterens, W.F., and Wony, S.M. 2002. Production of chitosan by solid state and submerged by Abbasi, s. Tehran: Marz-e Danesh Publications. [In persian].
4. Bourne, M.C. 2008. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. 2nd ed. Translated by Abbasi, S. Tehran: Marz-e Danesh Publications.
5. Glicksman, M. 1982. *Food Hydrocolloids*. Boca Raton, Florida: CRC Press Inc., pp. 68-75.
6. Groboillot, A.F., Champagne, C.P., Darling, G.F. and Ponelet, D. 1993. Membrane formation by interfacial cross linking of chitosan for microencapsulation of *Lactococcus lactis*. *Biotechnology and bioengineering*, 24: 1157-1163.
7. Hassan, A.N., Frank, J.F., Schmidt, K.A. and Shalabi, S.I. 1996. Textural properties of yoghurt made with encapsulated non-ropy lactic cultures. *Journal of Dairy Science*, 79: 2098-2103.
8. Homayouni, A., Azizi, M.R., Ehsani, M.S., Yarmand, S.H. and Razavi, M. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111: 50-55
9. Khalil, A.H. and Mansour, E.H. 1998. Alginate Encapsulated Bifidobacteria Survival in Mayonnaise. *Journal of Food Science*, 63: 702-705.
10. Kneifel, W., Jaros, D. and Erhard, F. 1993. Microflora and acidification properties of yogurt and yogurt related products fermented with commercially available starter cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 18: 179-189.
11. Koo, S., Cho, Y., Huh, C., Baek, Y. and Park, J. 2001. Improvement of the stability of *Lactobacillus casei* YIT 9018 by microencapsulation using alginate and chitosan. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11: 376-383.
12. Krasaekoopt, W., Bhandari, B. and Deeth, H.C. 2006. Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. *LWT food science and technology*, 39: 177-183

- by Microentrapment. *Journal of Dairy Science*, 76: 1902-1907.
25. 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
26. Sun-Waterhouse, D., Zhou, S. and Wadhwa, J. 2013. Drinking yoghurts with berry polyphenols added before and after fermentation. *Food Control*, 32: 450-460.
- fermentation. *Carbohydrate Polymers*. 49: 235-237.
22. Peniche, C., Arguelles-Monal, H., Acosta, N. 2003. Chitosan: an attractive biocompatible polymer for microencapsulation. *Macromolecular Bioscience*, 3: 511-520
23. Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W. and Van de Wiele, T. 2010. Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*, 141: 97-103.
24. Sheu, T.Y., Marshall, R.T. and Heymann, H. 1993. Improving Survival of Culture Bacteria in Frozen Desserts

Effects of different concentrations of resistant starch and chitosan on microstructure and rheological properties and viability of encapsulated probiotic bacteria in drinking yogurt

F. Shahdadi¹, H. Mirzaei^{2*}, M. Kashaninejad³, M. Khomeiri²,
A. M Ziaifar² and A. Akbarian⁴

¹Ph.D. graduate of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

³Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

⁴Department of Research and Development, Iran Dairy Industries Co., Tehran, Iran

Received: 2014/11/07; Accepted: 2015/04/26

Abstract

Aim: The aim of this study was to investigate the effect of microencapsulation with sodium alginate/ resistant starch or sodium alginate/chitosan on microstructure, rheological properties and viability of *Lactobacillus acidophilus* and *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* in drinking yoghurts.

Material and methods: The role of different encapsulation parameters, such as resistant starch and chitosan concentration (0, 0.5, 1 and 2 %) and encapsulation time (0, 10, 20 and 30 min) in providing protection for two probiotic bacteria were also evaluated.

Results: Results showed that addition of starch and chitosan at 1% concentration to sodium alginate mixture and encapsulation for 10 min resulted in increased viable counts of *Lb. acidophilus* and *B. animalis* subsp. *lactis* cells after 7 days storage at 4°C. Drinking yoghurts with alginate/resistant starch microcapsules showed higher viability for probiotic bacteria (3.6×10^{11} and 6.6×10^{11} for *Lb. acidophilus* and *B. animalis* subsp. *lactis*, respectively) than encapsulated samples with alginate/chitosan (2.1×10^{10} and 6.8×10^{10} *Lb. acidophilus* and *B. animalis* subsp. *lactis*, respectively). In the light microscopic images (objective 40× magnification), spherical beads with the average diameter of 300–500 μm were observed. Cross-sectional images of resistant starch-coated alginate beads showed that bacterial cells were located inside the beads. Distribution of beads in drinking yoghurt texture was uniform. Encapsulation increased apparent viscosity and consistency coefficient and decreased flow behaviour index. The best fitted rheological model for the control (without microcapsules) was Power law, while for the other samples was Herschel-Bulkley.

Conclusion: Microencapsulation enhances the viability of probiotic bacteria, and the viability and rheological properties will be improved by increasing the concentration of the second wall.

Keywords: chitosan, drinking yogurt, microencapsulation, probiotic bacteria, resistant starch.

* Corresponding author: habibmirzaei@yahoo.ca

