

بررسی اثر فرایند ریزپوشانی در بستر آلترینات کلسیم و افزودن فیبر حاصل از تفاله چغندر قند بر قابلیت زنده مانگی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی LC-01 و خصوصیات کیفی ماست پروبیوتیک

الهام مهدیان^{1*}، رضا کاراژیان²، طاهره واقعی³

¹ استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
² عضو گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران
³ دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ پذیرش: 93/9/25

تاریخ دریافت: 93/5/21

چکیده

استفاده از ترکیبات پری بیوتیک و تکنیک ریزپوشانی به عنوان دو روشی است که می تواند منجر به افزایش قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک در فرآورده های لبنی طی دوره نگهداری شود. فیبر رژیمی یکی از پری بیوتیک های پلی ساکاریدی است که در ترکیب بسیاری از میوه جات و سبزیجات وجود دارد. در این تحقیق تأثیر افزودن فیبر حاصل از ضایعات چغندر قند در مقادیر 0، 0/5، 1/5 و 2/5 درصد و ریزپوشانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی LC-01 در بستر آلترینات کلسیم بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته و میزان آب اندازی) و حسی و همچنین قابلیت زنده مانگی این باکتری در ماست در مدت 21 روز نگهداری در دمای 4°C مورد بررسی قرار گرفت. pH نمونه ها تحت تأثیر میزان فیبر چغندر و حالت افزودن باکتری پروبیوتیک قرار نگرفته اما اسیدیته نمونه فاقد فیبر و حاوی باکتری میکروکپسول شده (0/81) به طور معناداری از نمونه های مشابه دارای فیبر پایین تر بود. میزان آب اندازی نمونه ها با افزایش درصد فیبر چغندر کاهش یافت. طبق نتایج به دست آمده از شمارش میکروبی، ریزپوشانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و استفاده از فیبر چغندر در نمونه های حاوی سلول های آزاد به طور چشمگیری منجر به بهبود بقاء آن طی زمان نگهداری شده است. بالاترین تعداد باکتری در پایان 21 روز ماندگاری چغندر قند را می توان حداکثر به میزان 0/5 درصد در ماست پروبیوتیک بدون اثر منفی مشخصی بر ویژگی های حسی محصول استفاده نمود.

واژه های کلیدی: ماست، پروبیوتیک، ریزپوشانی، فیبر رژیمی، تفاله چغندر قند

1- مقدمه

پروبیوتیک‌ها می‌شوند و به عنوان یک محصول فراویژه در صنایع غذایی می‌توانند مفید باشد (27).

فیبر رژیمی یکی از پری بیوتیک های پلی ساکارید است که به دلیل عدم هضم و جذب در روده کوچک ، وارد روده بزرگ شده و در آنجا به وسیله باکتری ها تخمیر می گردد. افزودن فیبر به فرآورده های لبنی که مصرف بیشتری دارند می تواند به کمبود فیبر در رژیم غذایی افراد کمک کند (20).

سندرا و همکاران (2008) اثر افزودن فیبر های مرکبات به شیر تخمیری حاوی باکتری های پروبیوتیک را مورد بررسی قرار داد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد فیبرهای مرکبات بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی را طی دوره نگهداری در یخچال افزایش می دهند (27).

اسپریتو سانتو و همکاران (2012) اثر استفاده از فیبر حاصل از ضایعات سیب و موز را بر قابلیت زنده مانگی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتريوم انیمالیس و خصوصیات کیفی ماست پروبیوتیک مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده مؤید اثر مثبت هر دو نوع فیبر بر بهبود بقاء باکتریها و همچنین میزان تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر و چند غیر اشباعی بود (19).

یکی از منابع فیبری، فیبر چغندر قند است که از تفاله (پالپ) چغندر قند به دست می آید. آنچه پس از استخراج قند از خلال چغندر قند باقی می ماند تفاله نامیده می شود. معمولاً از 100 تن خلال چغندر قند 6 تا 10 تن تفاله خشک با درصدهای قند متفاوت به دست می آید. در تکنولوژی چغندر قند، پالپ به دست آمده از استخراج قند به عنوان یک ماده پس ماند است. اما ویژگی های حسی، شیمیایی، فیزیکی و میکروبیولوژیکی مطلوب، این ماده را به یک منبع ارزشمند فیبر رژیمی تبدیل می کند. افزودن فیبر تفاله چغندر قند به بستنی و بستنی ماستی پروبیوتیک منجر به افزایش قابلیت زنده مانگی دو باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 و بیفیدوباکتريوم بیفیدوم Bb-12 طی 60 روز نگهداری در دمای 18°C- گردید (6 و 8). هدف از تحقیق حاضر بررسی همزمان استفاده از فیبر حاصل از ضایعات چغندر قند و تکنیک ریزپوشانی بر افزایش قابلیت زنده مانگی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در طول دوره ماندگاری ماست می باشد.

در سالهای اخیر تمایل روز افزونی به استفاده از میکروارگانیزم های پروبیوتیک به عنوان عوامل سلامتی بخش در فرآورده های لبنی مشاهده می شود. ایجاد اثرات مفید سلامتی بخش توسط پروبیوتیک ها منوط به زنده ماندن آنها به تعداد بالاتر از یک سطح حداقل (10⁶ - 10⁷ cfu/g) در محصول تا پایان دوره ماندگاری و همچنین در طول عبور از دستگاه گوارش است به طوری که این باکتری ها به تعداد بالا به روده رسیده و در آنجا اثرات مفید خود را ایجاد نمایند (IDF1992). بسیاری از فرآورده های لبنی تخمیری موجود در بازار فاقد استاندارد مذکور هستند. بدین دلیل که گونه های پروبیوتیکی مورد استفاده در شرایط اسیدی فرآورده از بین می روند. حتی اگر پروبیوتیک ها به تعداد کافی حین تولید در محصول وجود داشته باشند در طول نگهداری با افزایش اسیدیته محصول به وسیله باکتری های تولید کننده اسید از تعداد آن ها کاسته می شود. اسیدی شدن ماست طی نگهداری عامل اصلی از بین رفتن سلول های پروبیوتیکی در محصول است. البته عوامل دیگری همچون پراکسید هیدروژن حاصل از باکتری های آغازگر نیز می تواند موجب مرگ پروبیوتیک ها شود (22).

ریزپوشانی¹ باکتری های پروبیوتیک به منظور افزایش قابلیت زنده مانگی آنها در ماست در طول دوره ماندگاری و همچنین در عبور از دستگاه گوارش توسط بسیاری از محققان مورد مطالعه قرار گرفته است. آلژینات سدیم به عنوان یک پوشش مناسب به طور رضایت بخشی به منظور افزایش قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس هلوتیکوس، لاکتوباسیلوس پلانتروم و گونه های بیفیدوباکتريوم شامل بیفیدوباکتريوم بیفیدوم و بیفیدوباکتريوم لاکتیس در ماست مورد استفاده قرار گرفته است (12، 13، 18، 23، 26 و 30).

استفاده از ترکیبات تقویت کننده رشد پروبیوتیک ها منجر به تحریک رشد و فعالیت این باکتری ها در دستگاه گوارش و خصوصاً روده می شود. این اجزاء غالباً ترکیب کربوهیدراتی داشته و تحت عنوان پری بیوتیک می باشند. از جمله این ترکیبات، می توان به فیبرهای رژیمی اشاره کرد که سبب افزایش زنده مانگی

¹ Microencapsulation

2- مواد و روش ها

1-1- مواد

مواد مورد استفاده در تهیه نمونه های ماست پروبیوتیک شامل شیر آدرصد چربی و 9/5 درصد ماده خشک بدون چربی (شرکت پگاه مشهد)، شیرخشک بدون چربی (شرکت صنایع غذایی گلشاد مشهد)، سویه های میکروبی شامل باکتری های استارتر ماست با مشخصه YC-X11 حاوی لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استریتوکوکوس ترموفیلوس و کشت تک سویه پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی LC-01، هر دو به صورت خشک شده انجمادی و از نوع DVS (شرکت کریستسن هانسن) و تفاله چغندر قند (کارخانه قند شیروان) بود.

2-2- فعال سازی سلول های لاکتوباسیلوس کازئی

فعال سازی کشت خالص لیوفلیزه LC-01 جهت دستیابی به تعداد 10^9 - 10^{10} عدد سلول زنده در هر میلی لیتر محیط، در محیط کشت MRS براث در دمای 37°C در شرایط بی هوازی به مدت 24 ساعت انجام شده و در نهایت توده سلولی با استفاده از سانتریفوژ در دمای 4°C با دور 4600g به مدت 5 دقیقه جداسازی گردید. (22).

2-3- تهیه فیبر چغندر قند

در تهیه فیبر چغندر قند از پالپ چغندر قند (باقیمانده چغندر پس از استخراج قند آن) استفاده شد. پالپ پس از جمع آوری و تا زمان مصرف در فریزر نگهداری شد. در زمان مصرف پس از انجماد زدایی پالپ به روش دستی تمیز شد تا قسمت های تیره رنگ چغندر حذف شود. سپس در مخلوط کن با اتیل الکل 96% هموژن گردید تا عصاره حاصل از صاف کردن کاملاً بیرنگ گردد. سپس تفاله در آون (Binder, Germany) با دمای 50°C به مدت 12 ساعت قرار داد شد تا رطوبت آن به 9-11% رسید. تفاله خشک شده با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی (Fritsch Pulverisette-14) آسیاب گردید و در آخرین مرحله با الک با مش 250 - $300\ \mu\text{m}$ الک گردید (25).

2-4- تهیه میکروکپسول ها

ریزپوشانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با استفاده از تکنیک امولسیون سازی در بستر آلزینات کلسیم طبق روش گزارش شده توسط شیو و مارشال (1993) انجام شد. لازم به ذکر است که کلیه مواد و محیط های کشت مورد استفاده در فرایند ریزپوشانی و آزمایش های میکروبی در داخل اتوکلاو در دمای 121°C به مدت 15 دقیقه و کلیه لوازم شیشه ای در داخل آون در دمای 180°C به مدت 2 ساعت استریل گردیدند.

جهت تهیه میکروکپسول های حاوی سلول های لاکتوباسیلوس کازئی به طور خلاصه، یک قسمت از سوسپانسیون باکتریایی حاوی 10^{10} - 10^9 CFU/g با 4 قسمت محلول آلزینات سدیم آدرصد با ویسکوزیته متوسط با استفاده از همزن مغناطیسی (Velp, Italy) مخلوط شده و یک قسمت از این مخلوط به 5 قسمت روغن کانولا حاوی 5g/1 توپین 80 که با دور 900rpm در حال هم خوردن بود به صورت قطره قطره اضافه و بعد از آن جهت تشکیل امولسیون آلزینات و روغن، مخلوط به مدت 20 دقیقه با دور 900rpm هم زده شد.

مرحله بعد شکستن امولسیون و تشکیل کپسول های آلزینات کلسیم به روش ژلاتیناسیون خارجی می باشد. به این منظور 200ml محلول کلرور کلسیم 0/1M به صورت قطره قطره به داخل امولسیون آلزینات/ سلول باکتری و روغن در حال هم زدن با دور 100rpm اضافه شد. بعد از افزودن محلول کلرور کلسیم، هم زدن با شرایط مذکور به مدت 20 دقیقه دیگر ادامه یافته و سپس مخلوط برای تکمیل عمل ژلاتیناسیون و تشکیل میکروکپسول ها به مدت 30 دقیقه به حالت سکون باقی ماند. مخلوط به دست آمده حاوی دو فاز مشخص شامل فاز روغنی در بالا و فاز پایینی شامل میکروکپسول های ته نشین شده در بستر آلزینات کلسیم بود. فاز روغنی تخلیه شده و جهت جداسازی میکروکپسول ها، فاز پایینی با دور 600g به مدت 5 دقیقه سانتریفوژ شده (Universal 320) و عمل شستشوی میکروکپسول ها نیز با همان شرایط گفته شده با محلول استریل پیتون واتر 0/1 درصد انجام پذیرفت.

در نهایت کپسول های به دست آمده تا زمان استفاده در محلول کلرور کلسیم 0/1M پراکنده شده و در دمای 4°C نگهداری شدند (29).

5-2- تهیه ماست

کشت آغازگر مورد استفاده، کشت آغازگر تجاری Yc- X11 حاوی باکتری های اسیدلاکتیک استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس از نمایندگی شرکت کریستین هانسن تهیه شد.

استارترهای این شرکت به صورت تلقیح مستقیم است به همین دلیل، امکان آلودگی میکروبی و فاژ، کاهش می یابد. برای تولید ماست ابتدا شیر تا دمای 50 درجه سانتی گراد گرم شد و میزان ماده خشک آن با افزودن 2 درصد شیرخشک بدون در حد 10 درصد چربی تنظیم شد. سپس فیبر به میزان 0/5، 1، 1/5 گرم به 100 گرم شیر افزوده شد. سپس مخلوط شیر و فیبر در دمای 85 درجه سانتی گراد به مدت 15 دقیقه در حال همزدن آرام، در حمام آب گرم پاستوریزه گردید. پس از خنک شدن شیر تا دمای 43 درجه سانتیگراد، استارتر تجاری ماست مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده آن به هریمار اضافه گردید. پس از همزدن و یکنواخت شدن مایه کشت، نمونه ها به داخل ظروفی از جنس پلاستیک و به حجم 50 میلی لیتر تقسیم شدند و بلافاصله روی آن ها درب قرار داده شد و کاملاً مسدود گردید. نمونه ها به گرمخانه ای با دمای 43 درجه سانتی گراد منتقل شده و pH نمونه ها در طول انکوباسیون به طور مداوم کنترل گردید. عمل تخمیر پس از رسیدن به 4/6 - 4/5 pH متوقف گردید (32).

پس از اتمام گرمخانه گذاری، سلول های آزاد و میکروکپسوله لاکتوباسیلوس کازئی به ماست اضافه شده و پس از همزدن دمای نمونه ها بلافاصله توسط آب و یخ به 4 درجه سانتیگراد رسانده شد و نگهداری در دمای 4 درجه سانتیگراد انجام گرفت. نمونه ها در فواصل زمانی 1، 7، 14 و 21 روز مورد آزمون های مختلف قرار گرفتند.

6-2- آزمون های مورد بررسی**6-2-1- شمارش سلول های لاکتوباسیلوس کازئی در ماست**

تعداد سلول های لاکتوباسیلوس کازئی در ماست با درصد های مختلف فیبر چغندر و در دو حالت آزاد و میکروکپسول شده در روزهای 1، 7، 14 و 21 دوره نگهداری شمارش و با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت. برای شمارش این باکتری در نمونه های ماست با توجه به حضور هم زمان لاکتوباسیلوس کازئی و باکتری

های آغازگر ماست شامل استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس، به منظور شمارش تفکیکی این باکتری از محیط کشت اختصاصی MRS-V agar (MRS-vancomycin) استفاده شد. دو باکتری آغازگر ماست در حضور غلظت 2/0 درصد آنتی بیوتیک در این محیط قادر به رشد نبوده در صورتی که مشخص شد لاکتوباسیلوس کازئی قادر به تحمل این غلظت آنتی بیوتیک بوده و از رشد خوبی در این محیط برخوردار است (10).

به منظور تخریب میکروکپسول ها و آزادسازی سلول های باکتری، مقدار 10g از نمونه ماست حاوی سلول های انکپسوله شده در 90ml محلول بافر سترات سدیم 1 درصد وزنی/وزنی با pH=6 پراکنده شده و به مدت 10 دقیقه هم زده شد. سپس 1ml از این مخلوط در داخل 9ml محلول استریل پیتون واتر 0/1 درصد رقیق سازی شده و به صورت پورپلیت در محیط MRS-V Agar (MRS-Vancomycin) در شرایط هوایی به مدت 72 ساعت در دمای 37°C گرمخانه گذاری شد.

به منظور حفظ شرایط یکسان، نمونه های ماست حاوی سلول های آزاد نیز به روش مشابهی به مدت 10 دقیقه در پیتون واتر 0/1 درصد پراکنده شده و کشت سلولی به روش ذکر شده انجام شد. تعداد سلول های زنده بعد از طی زمان گرمخانه گذاری به صورت تعداد زنده (cfu) در هر گرم ماست با استفاده از دستگاه پرگنه شمار تعیین گردید (22).

2-6-2- آزمون های فیزیکی شیمیایی**2-6-2-1- اندازه گیری pH**

pH نمونه ها با pH متر Metrohm (ساخت سوئیس) و مطابق با استاندارد ملی ایران شماره 2852 اندازه گیری شد.

2-6-2-2- اندازه گیری اسیدیته

اسیدیته نمونه ها با عمل تیتراژ کردن با هیدروکسید سدیم 0/1 نرمال در حضور معرف فنل فتالین اندازه گیری شده و بر حسب درصد اسید لاکتیک بیان گردید (استاندارد ملی ایران شماره 2852).

شده، اختلاف معناداری در جمعیت باکتری وجود نداشت (p>0/05).

جدول 1- اثر مقدار فیبر چغندر و زمان نگهداری بر جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در حالت آزاد (cfu/g)

مقدار فیبر	زمان (روز)			
	21	14	7	1
%0	$3/56 \times 10^7$	$6/32 \times 10^7$	$1/97 \times 10^8$	$4/28 \times 10^8$
%0/5	$4/30 \times 10^7$	$1/29 \times 10^8$	$2/30 \times 10^8$	$5/28 \times 10^8$
%1	$5/04 \times 10^7$	$1/16 \times 10^8$	$2/39 \times 10^8$	$3/25 \times 10^8$
%1/5	$7/26 \times 10^7$	$1/84 \times 10^8$	$2/52 \times 10^8$	$3/46 \times 10^8$

جدول 2- اثر مقدار فیبر چغندر و زمان نگهداری بر جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در حالت ریزپوشانی شده (cfu/g)

مقدار فیبر	زمان (روز)			
	21	14	7	1
%0	$2/02 \times 10^8$	$2/29 \times 10^8$	$2/36 \times 10^8$	$4/01 \times 10^8$
%0/5	$3/87 \times 10^8$	$5/15 \times 10^8$	$4/60 \times 10^8$	$5/28 \times 10^8$
%1	$2/49 \times 10^8$	$4/02 \times 10^8$	$5/20 \times 10^8$	$6/49 \times 10^8$
%1/5	$3/48 \times 10^8$	$4/06 \times 10^8$	$3/33 \times 10^8$	$5/38 \times 10^8$

در روز 14، جمعیت باکتری در نمونه های حاوی فیبر و سلول های ریزپوشانی شده به طور معناداری از نمونه شاهد حاوی سلول های آزاد بالاتر بود. در روز 21 نیز در نمونه های حاوی سلول های آزاد جمعیت باکتری در نمونه حاوی 1/5 درصد فیبر به طور معناداری از سایر نمونه ها بالاتر بود ($7/86 \log \text{cfu/g}$) در حالی که اختلاف معناداری بین نمونه های حاوی سلول های ریزپوشانی شده مشاهده نشد ($p>0/05$). نگهداری نمونه ها به مدت 21 روز در دمای 4°C در نمونه های حاوی سلول های آزاد و مقادیر 0، 0/5، 1 و 1/5 درصد فیبر چغندر به ترتیب باعث کاهش 1/08، 1/09، 0/81 و 0/68 سیکل لگاریتمی در جمعیت باکتری گردید در حالی که این مقدار کاهش برای نمونه های حاوی سلول های ریزپوشانی شده به ترتیب 0/30، 0/13، 0/42 و 0/19 به دست آمد. به این ترتیب می توان گفت که ریزپوشانی باکتری و افزایش مقدار فیبر در نمونه های حاوی سلول های آزاد به طور چشمگیری منجر به بهبود بقاء باکتری لاکتوباسیلوس کازئی طی

6-2-3 اندازه گیری میزان آب اندازی²

میزان 50 گرم ماست در کاغذ صافی در روی قیف توزین شد و پس از دو ساعت قرار دادن در دمای یخچال میزان آب خارج شده توزین گردید و درصد آب اندازی محاسبه شد (32).

$$\text{درصد آب اندازی} = \frac{\text{وزن نمونه ماست} - \text{وزن آب شده خارج}}{\text{وزن نمونه ماست}} \times 100$$

2-6-3- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی نمونه های ماست 1 روز بعد از نگهداری در یخچال 4°C و توسط 10 داور چشایی انجام شد. نمونه های ماست پس از خروج از یخچال در اختیار داوران قرار گرفته و با استفاده از آزمایش هدونیک 9 امتیازی (9=بسیار خوب، 5=نه خوب نه بد، 1=بسیار بد) مورد ارزیابی قرار گرفتند. صفات مورد بررسی شامل طعم و مزه، پیکره و بافت، رنگ و پذیرش کلی بود.

2-7- تجزیه و تحلیل آماری

نتایج و داده های بدست آمده در این تحقیق در قالب طرح دو فاکتوره با پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار با استفاده از نرم افزار MstatC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین ها با آزمایش چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان 95 درصد و رسم منحنی ها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2007 انجام شد.

3- نتایج و بحث

3-1- اثر مقدار فیبر و ریزپوشانی بر قابلیت زنده مانی

لاکتوباسیلوس کازئی طی زمان نگهداری

جدول های 1 و 2 جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی را در نمونه های حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر در طول زمان نگهداری به ترتیب در دو حالت آزاد و ریزپوشانی شده باکتری نشان می دهد. همچنین روند کاهش جمعیت باکتری در هر نمونه، در شکل های 1 و 2 مورد مقایسه قرار گرفته است.

با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده ها، در روزهای 1 و 7 دوره نگهداری، بین نمونه های حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر و باکتری در دو حالت آزاد و ریزپوشانی

² Syneresis

افزایش قابلیت زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازنی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، لاکتوباسیلوس بولگاریکوس و بیفیدوباکتريوم لاکتیس در ماست در حضور ترکیباتی نظیر اینولین، شیر سویا و عصاره مالت توسط تعدادی از محققین گزارش شده است (4، 9، 17 و 24). همچنین مهدیان و همکاران (1391) با افزودن 1/5 و 2٪ فیبر تفاله چغندر به بستنی، ثابت کردند که زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک در طول 60 روز دوره نگهداری، افزایش می یابد (8).

اسپیریتو سنتو و همکاران (2012) در تحقیقات خود اثر افزودن پودر حاصل از پوست میوه پاشن فروت را در ماست پروبیوتیک مورد بررسی قرار دادند و رشد بیشتر باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتريوم را نشان دادند. مشخص شده که ریزپوشانی باکتریهای پروبیوتیک شامل گونه های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتريوم در بستر آلزینات کلسیم باعث افزایش قابلیت زنده مانگی آنها در طول دوره نگهداری بستنی و بستنی ماستی می گردد (2، 22 و 28). همچنین کپسولاسیون لاکتوباسیلوسها در بستر آلزینات کلسیم باعث افزایش 40 درصدی بقای آنها در شیر یخی شد (29). چن و همکاران (2005) پری بیوتیک هایی نظیر فروکتوالیگوساکارید و ایزو مالتوالیگوساکارید، یک تقویت کننده رشد (پپتید) و آلزینات سدیم را به عنوان مواد پوشش دهنده برای ریزپوشانی پروبیوتیک هایی نظیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتريوم بیفیدوم آزمایش کرده و مشاهده کردند که استفاده از این ترکیبات باعث افزایش بقای باکتریها در حد بالایی می شود (14).

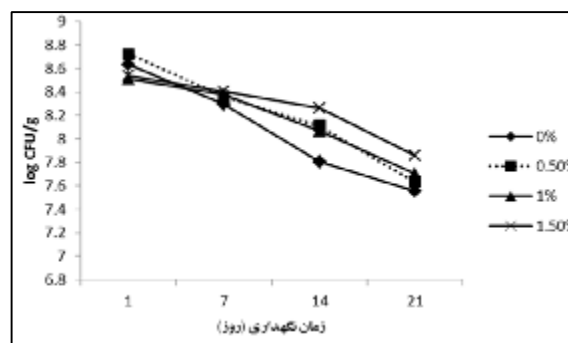
3-2- اثر مقدار فیبر و ریزپوشانی بر خصوصیات

فیزیکوشیمیایی نمونه ها

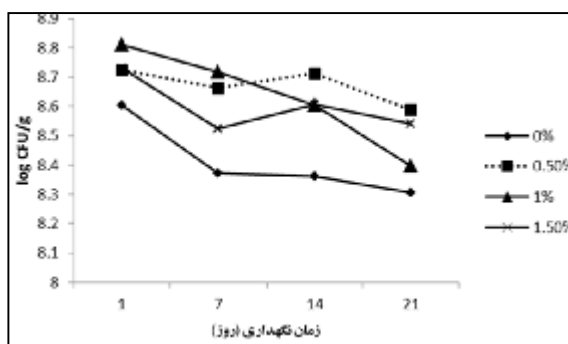
3-2-1- pH

شکل 3 اثر مقدار فیبر چغندر را بر pH نمونه های ماست حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازنی در دو حالت آزاد و میکروکپسول شده نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می شود اختلاف معناداری بین نمونه ها در مقدار pH وجود نداشته ($p > 0/05$) به این معنی که کاربرد فیبر و ریزپوشانی باکتری اثری بر pH ماست نخواهد داشت.

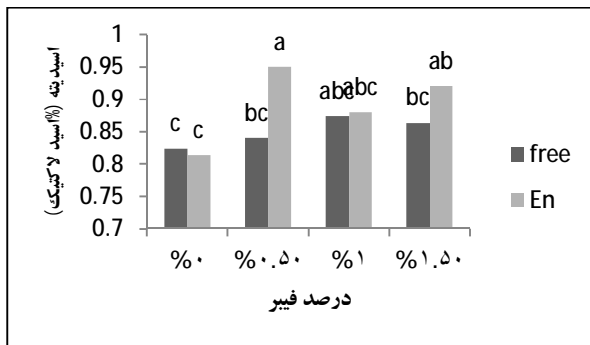
زمان نگهداری شده است. میزان کاهش جمعیت باکتری در نمونه های حاوی سلول های ریزپوشانی شده تفاوت زیادی با یکدیگر نداشت که این نتیجه مؤید این است که ریزپوشانی باکتری اثر بیشتری بر حفظ بقاء سلول ها طی زمان نگهداری دارد. با توجه به شکل های 1 و 2 مشخص می شود که با در نظر گرفتن جمعیت اولیه مشابه باکتری در همه نمونه ها، تعداد سلول های زنده در پایان دوره ماندگاری در نمونه های حاوی مقادیر بیشتر فیبر چغندر بالاتر است و بیشترین تعداد ($3/87 \times 10^8$ cfu/g) برای نمونه حاوی 0/5 درصد فیبر و سلول های ریزپوشانی به دست آمد. در عین حال با توجه به جداول 1 و 2 مشخص می شود که جمعیت باکتری در همه نمونه ها در پایان دوره ماندگاری در حد بالاتر از حداقل لازم برای ایجاد اثرات سلامتی بخش توسط پروبیوتیک ها که توسط IDF پیشنهاد شده به دست آمد.



شکل 1- روند کاهش جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازنی در حالت آزاد در طول زمان نگهداری در نمونه های حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر



شکل 2- روند کاهش جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازنی در حالت ریزپوشانی شده در طول زمان نگهداری در نمونه های حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر



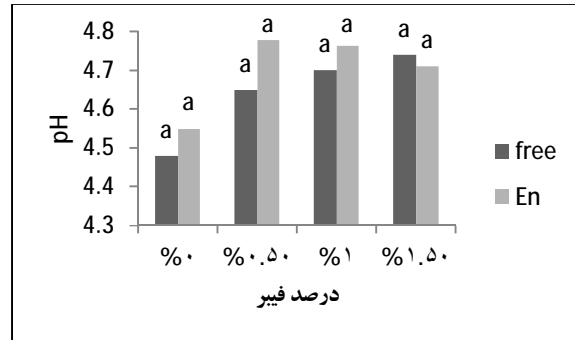
شکل 4- اثر مقدار فیبر چغندر بر اسیدیته نمونه های ماست حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در دو حالت آزاد و میکروکپسول شده

بین نمونه های حاوی سلول های آزاد و مفادیر مختلف فیبر اختلاف معناداری در مقدار اسیدیته وجود نداشته ($p > 0/05$) در صورتی که بالاترین مقدار اسیدیته برای نمونه حاوی 0/5 درصد فیبر و سلول های ریزپوشانی شده به دست آمد (0/95 درصد). گزارش شده که که افزایش ماده جامد کل شیر باعث افزایش رشد باکتری های آغازگر ماست شده و در نتیجه اسیدیته نهایی محصول افزایش می یابد (7). یگانه زاد و همکاران (1388) به بررسی اثر شیر سویا بر ویژگی های فیزیکی، شیمیایی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس پرداختند و نشان دادند که اسیدیته در نمونه های با میزان شیر سویا بالاتر، افزایش یافته است (9). اسپریتوسانتو و همکاران (2012) افزایش معنی دار اسیدیته در روز اول دوره نگهداری را برای ماست های تخمیر شده بوسیله لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس که حاوی فیبر موز و پاشن فروت بودند، گزارش کردند (19).

3-2-3- درصد آب اندازی

با کاربرد فیبر در ترکیب ماست و افزایش مقدار آن از 0 تا 1/5 درصد، میزان آب اندازی نمونه ها به طور معناداری کاهش یافت ($p < 0/05$) به طوری که بیشترین مقدار آب اندازی برای نمونه شاهد حاوی سلول های آزاد (39/97%) و کمترین مقدار آن برای نمونه حاوی 1/5 درصد فیبر و سلول های آزاد (4/77%) به دست آمد (شکل 5). بین نمونه های حاوی سلول های آزاد و ریزپوشانی شده اختلاف معناداری در میزان آب اندازی مشاهده نشده ($p > 0/05$) به این معنی که ریزپوشانی باکتری اثری بر درصد آب اندازی ندارد.

آفا جانی و همکاران (1389) تفاوت معنی داری در pH ماست پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی که حاوی ترکیبات لاکتولوز، الیگوفروکتوز، لاکتولوز- اینولین، لاکتولوز- الیگوفروکتوز، لاکتولوز- اینولین- الیگوفروکتوز در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده نکردند (1). نتیجه مشابهی نیز توسط دلواستافلو و همکاران (2004) برای ماست های غیر پروبیوتیک حاوی فیبرهای رژیمی (سیب، گندم، اینولین) مشاهده شد (15).



شکل 3- اثر مقدار فیبر چغندر بر pH نمونه های ماست حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در دو حالت آزاد و میکروکپسول شده

سندرا و همکاران (2008) در ماست های تخمیر شده توسط گونه های مختلف لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم که حاوی فیبر مرکبات بودند طی نگهداری در شرایط سرد نیز همین نتایج را گزارش کردند (27). اسپریتوسانتو و همکاران (2012) که به بررسی اثر افزودن فیبر پاشن فروت و موز و سیب در ماست های حاوی بیفیدوباکتریوم انیمالیس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس پرداختند، تفاوت معنی داری در pH نمونه های حاوی فیبر در مقایسه با نمونه شاهد و در روز اول دوره نگهداری، گزارش نکردند (19).

3-2-3-2- اسیدیته

ریزپوشانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی اثر مشخصی بر اسیدیته نمونه های حاوی فیبر چغندر نشان داد به طوری که مقدار اسیدیته این نمونه ها در مقایسه با نمونه های حاوی سلول های آزاد به طور معناداری بالاتر بود ($p < 0/05$) (شکل 4).

از 0/5 درصد منجر به کاهش معنادار امتیاز طعم گردید
($p < 0/05$).

جدول 3- میانگین امتیازات حسی نمونه های ماست پروبیوتیک

حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر				
%1/5	%1	%0/5	شاهد	
3/8c	4/97b	6a	6/5a	طعم
4/8b	4c	4/7b	8/6a	بافت
7a	6/5ab	6/1b	4/6c	رنگ
3/5c	5/6b	5/6b	7/8a	پذیرش کلی

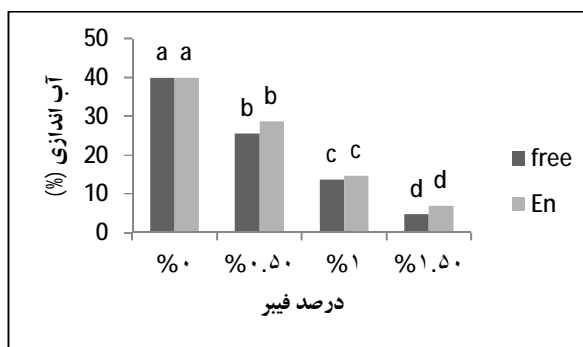
مهدیان و همکاران (1391) با افزودن 0/7، 1/5 و 2 درصد فیبر چغندر به نمونه های بستنی پروبیوتیک مشاهده کردند که امتیاز طعم در نمونه های حاوی این فیبر و فاقد آن، اختلاف معناداری نداشتند و کمترین امتیاز طعم در نمونه های حاوی 2 درصد فیبر مشاهده شد (8).

دلو استفانو و همکاران (2004) نیز نشان دادند که افزایش 1/3 درصد فیبر به ماست تاثیری در خواص حسی آن نداشت اما افزایش بیشتر آن موجب کاهش معنی دار خواص حسی ماست گردید (15).

مشابه نتیجه ای که در مورد اثر درصد فیبر بر طعم نمونه ها به دست آمد، بالاترین امتیاز بافت (8/6) نیز برای نمونه شاهد به دست آمد (جدول 3). امتیاز بافت دو نمونه حاوی 0/5 و 1/5 درصد فیبر اختلاف معناداری با یکدیگر نداشته ($p > 0/05$) و پایین ترین امتیاز بافت (4) برای نمونه حاوی 1 درصد فیبر به دست آمد. وردالت و همکاران (2011) نشان دادند ماست های حاوی مخلوط پروتئین آب پنیر، نشاسته ذرت و تفاله نیشکر از نظر امتیاز بافت و ویژگی های حسی با نمونه شاهد، مشابه بودند (33).

کاربرد فیبر چغندر در ترکیب ماست و افزایش مقدار آن منجر به افزایش امتیاز رنگ نمونه ها گردید به طوری که بالاترین امتیاز رنگ (7) برای نمونه حاوی 1/5 درصد فیبر به دست آمد (جدول 3). امتیاز رنگ نمونه حاوی 1 درصد فیبر نیز اختلاف معناداری با این نمونه نداشته در حالی که امتیاز رنگ نمونه شاهد به طور معناداری از سایر نمونه ها پایین تر است ($p < 0/05$).

هشیم و همکاران (2009) گزارش کردند با افزایش درصد فیبر خرما در نمونه های ماست از امتیاز رنگ محصول کاسته می شود.



شکل 5- اثر مقدار فیبر چغندر بر درصد آب اندازی نمونه های ماست حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در دو حالت آزاد و میکروکپسول شده

درصد چربی، ویژگی های باکتری های آغازگر، میزان ماده خشک بدون چربی، تولید اگزوپلی ساکاریدها، افزودن فیبرها و پایدارکننده ها، دمای تخمیر، pH فرآورده از مهمترین عوامل موثر بر آب اندازی ماست می باشد (3). توانایی فیبرها در اتصال به مولکولهای آب و تداخل با اجزای شیر به ویژه پروتئین ها و در نتیجه پایداری شبکه پروتئین ها می تواند از حرکت آزادانه آب جلوگیری کرده و منجر به کاهش سینرسیس گردد (32).

گزارش شده که استفاده از اینولین و فیبر محصولاتی نظیر گندم، سیب و پرتقال موجب کاهش آب اندازی در ماست و سایر شیرهای تخمیری می گردد (11، 15 و 20).

همان طور که واضح است آب اندازی از پارامترهایی می باشد که ویژگی های کیفی محصول را مستقیماً تحت تاثیر قرار می دهد. برای این منظور عمدتاً پایدارکننده هایی تحت عنوان هیدروکلئیدها یا صمغ ها برای بهبود ظرفیت جذب آب و جلوگیری از آب اندازی به کار می رود. باید به این نکته نیز توجه شود که برهم کنش هیدروکلئیدها با پروتئین های شیر گاهی می تواند منجر به افت ویژگی های بافتی ماست گردد. به دلیل جذب آب فیبرهای رژیمی، از این ترکیبات نیز می توان برای جلوگیری یا کاهش آب اندازی استفاده نمود (31).

3-3- اثر مقدار فیبر بر خصوصیات حسی نمونه ها

جدول 3 امتیاز حسی نمونه های ماست حاوی مقادیر مختلف فیبر چغندر را نشان می دهد. بالاترین امتیاز طعم (6/5) مربوط به نمونه شاهد بوده که اختلاف آن با امتیاز طعم نمونه حاوی 0/5 درصد فیبر نیز معنادار نبود ($p > 0/05$). افزایش درصد فیبر در حد بالاتر

ریزپوشانی باکتری و افزایش مقدار فیبر در نمونه های حاوی سلول های آزاد به طور چشمگیری منجر به بهبود بقاء باکتری لاکتوباسیلوس کازئی طی زمان نگهداری شده است. میزان کاهش جمعیت باکتری در نمونه های حاوی سلول های ریزپوشانی شده تفاوت زیادی با یکدیگر نداشت که این نتیجه مؤید این است که ریزپوشانی باکتری اثر بیشتری بر حفظ بقاء سلول ها طی زمان نگهداری دارد.

با توجه به نتایج ارزیابی حسی نمونه ها فیبر تفاله چغندر قند را می توان حداکثر به میزان 0/5 درصد در ماست پروبیوتیک بدون اثر منفی مشخصی بر ویژگی های حسی محصول استفاده نمود.

5- منابع

1- آقاجانی، ع، پوراحمد، ر. و مهدوی عادل، ح. م. 1389. اثر ترکیبات پری بیوتیک بر روی ماست پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی. فصلنامه علوم غذایی و تغذیه، جلد 8، شماره 4، 73-82.

2- احمدی ع، سالارباشی د، اعلمی م، و مرتضوی ع. 1390. ارزیابی بقای باکتری ریزپوشانی شده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA-5 در طی دوره نگهداری بستنی ماستی سین بایوتیک. مجموعه مقالات نخستین همایش فراملی بهینه سازی زنجیره تولید، توزیع و مصرف در صنایع غذایی، گرگان.

3- مرتضویان، ا. م. و سهراب وندی، س. 1385. مروری بر پروبیوتیک ها و فرآورده های غذایی پروبیوتیک. انتشارات انا، تهران.

4- مرحمتی زاده، م. ح، کارمند، م.، فرخی، ع.، رفعت جو، ر. و رضازاده، س. 1390. مطالعه تأثیر عصاره مالت بر افزایش رشد باکتریهای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم. فصلنامه علوم غذایی و تغذیه، جلد 8، شماره 2، 78-84.

5- مهدیان، ا. 1390. اثر کاربرد آرد کامل سویا بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی. مجله فراوری و تولید مواد غذایی، جلد 1، شماره 2، 49-59.

6- مهدیان، الف، کاراژیان، ر.، و حلاجان، س. 1392. بررسی اثر افزودن فیبر حاصل از ضایعات چغندر قند بر خصوصیات رئولوژیکی، فیزیکوشیمیایی و قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ماست منجمد پروبیوتیک. مجله علوم و فناوری غذایی، در نوبت چاپ.

همچنین کاهش مطلوبیت رنگ نمونه های بستنی پروبیوتیک با کاربرد فیبر تفاله چغندر توسط مهدیان و همکاران (1391) گزارش شده است (8).

همانطور که از جدول 3 بر می آید، پذیرش کلی نمونه های ماست با کاربرد فیبر چغندر کاهش می یابد. بالاترین امتیاز پذیرش کلی (7/8) مربوط به نمونه شاهد بوده که اختلاف آن با سایر نمونه ها معنادار بود ($p < 0/05$). بین دو نمونه حاوی 0/5 و 1 درصد فیبر اختلاف معناداری در پذیرش کلی وجود نداشته ($p > 0/05$) در حالی که کمترین پذیرش کلی (3/5) برای نمونه حاوی بیشترین مقدار فیبر به دست آمد.

احمدی و همکاران (1390)، بیان داشتند اضافه کردن ترکیب پری بیوتیکی فروکتوالیگوساکارید هیچ گونه تأثیری بر خواص حسی نمونه های ماست منجمد نداشته است و همچنین در تمامی نمونه های تولیدی هیچ گونه طعم پروبیوتیکی تشخیص داده نشد (2).

مهدیان (1390)، بیان نمود که استفاده از آرد سویا حداکثر تا سطح 65 درصد ماده جامد بدون چربی در فرمولاسیون بستنی از لحاظ ارزیابی حسی قابل پذیرش می باشد (5). همچنین گزارش شده که افزودن فیبر مرکبات تا سطح 0/8 درصد تأثیری بر بافت، بدنه، طعم و پذیرش کلی نمونه های بستنی ایجاد نمی کند (16).

با در نظر گرفتن نتایج مربوط به مجموع خصوصیات حسی به نظر می رسد که کاربرد فیبر چغندر تا سطح 1 درصد در ماست قابل قبول می باشد. همچنین از آنجا که امکان استفاده از مواد طعم دهنده، شیرین کننده و میوه های مختلف در تهیه ماست همزده وجود دارد تولید ماست میوه ای سین بیوتیک حاوی فیبر چغندر برای بهره گیری از اثرات مثبت فیبر و جبران امتیاز حسی پایین محصول پیشنهاد می شود.

4- نتیجه گیری

نتایج کاربرد فیبر حاصل از تفاله چغندر قند و باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در دو حالت آزاد و ریزپوشانی شده در ماست نشان داد که pH نمونه ها تحت تأثیر میزان فیبر چغندر و حالت افزودن باکتری پروبیوتیک قرار نگرفته اما اسیدیته نمونه فاقد فیبر و حاوی باکتری میکروکپسول شده به طور معناداری از نمونه های مشابه دارای فیبر پایین تر بود. میزان آب اندازی نمونه ها با افزایش درصد فیبر چغندر کاهش یافت.

- 18- El-Dieb, S. M., Abd Rabo, F.H.R., Badran, S. M., Abd El-Fattah, A. M., and Elshaghabe, F.M.F. 2012. The growth behaviour and enhancement of probiotic viability in bioyoghurt. *International Dairy Journal*, 22: 44-47.
- 19- Espirito Santo, A. P., Cartolano, N. S., Silva, T. F., Soares, F. A. S. M., Gioielli, L. A., Perego, P., Converti, A. and Oliveira, M. N. 2012. Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *International Journal of Food Microbiology*, 154: 135-144.
- 20- Garcia-Pe rez, F. J. Sendra, E. Lario, Y. Fernandez-Lopez, J. Sayas-Barbera, E. & Perez-Alvarez, J. A. 2002. Rheology of orange fiber enriched yogurt. *Milchwissenschaft*, 61: 55-59.
- 21- Hashim, B., Khalil, A. H. & Afifi. 2009. Quality characteristics and consumer acceptance of yogurt fortified with date fiber. *Journal of Dairy science*, 92: 5403-5407.
- 22- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M.R., Yarmand, M.S. and Razavi, S.H. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111: 50-55.
- 23- Kailasapathy K. and Sultana K. 2003. Survival and b-D-galactosidase activity of encapsulated and free *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice-cream. *Australian Journal of Dairy Technology*, 58(3): 223-227.
- 24- Oliveira, R. P. S., Perego, P., Oliveira M. N. and Converti, A. 2011. Effect of inulin as prebiotic and synbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. *Journal of Food Engineering*, 107: 36-40.
- 25- Özboy, Ö., & Köksel, H. 2000. Effects of sugar beet fiber on spaghetti quality, *Zucker Industrie*, 125(4): 248-250.
- 26- Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C. Aguirre-Mandujano, E. and Vernon-Carter, E. J. 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14: 151-159.
- 27- Sendra, E., Fayos, P., Lario, Y., Fernandez, J., Sayas, E. and Perez, J. 2008. Incorporation of citrus fibers in fermented milk containing probiotic bacteria. *Food Microbiology*, 25: 13-21.
- 28- Shah N.P. and Ravula R.R. 2000. Microencapsulation of probiotic bacteria and their survival in frozen fermented dairy desserts. *Australian-Journal-of-Dairy-Technology*, 55 (3): 139-144.
- 29- Sheu T.Y., and Marshall R. T. 1993. Microencapsulation of lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*, 54(3), 557-561.
- 7- مهدیان، ا. و مظاهری تهرانی، م. 1386. اثر ماده جامد کل شیر بر رشد باکتری های آغازگر و کیفیت ماست. فصل نامه علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 4، شماره 3، 59-67.
- 8- مهدیان، ا.، مهربان سنگ آتش، م.، و واقعی، ط. 1391. بررسی امکان تولید بستنی سین بیوتیک با استفاده از فیبر حاصل از تفاله چغندر قند و باکتری های پروبیوتیک، همایش ملی بهداشت و ایمنی غذا، شیراز.
- 9- یگانه زاد، س.، مظاهری تهرانی، م.، شهیدی، ف. و زایرزاده، ا. 1388. بررسی اثر شیر سویا بر زنده ماندن باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و ویژگی های فیزیکیوشیمیایی و ارگانولپتیک ماست پروبیوتیک. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی. جلد 16، شماره 1، 165-174.
- 10- Aryana, K.J., and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT*, 40: 1808-1814.
- 11- Blecker, C. Chevalier, J. P. Van Herck, J. C. Fougny, C. Deroane, C. and Paquot, M. 2001. Inulin: Its physicochemical properties and technological functionality. *Recent Research Development in Agriculture and Food Chemistry*, 5: 125-131.
- 12- Brinques, G.B., and Ayub, M.A.Z. 2011. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. *Journal of Food Engineering* 103: 123-128.
- 13- Capela, P., Hay, T. K. C., and Shah, N.P. 2006. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Research International*, 39: 203-211.
- 14- Chen K. N., Chen M. J., Liu J. R., Lin C. W., and Chiu H. Y. 2005. Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. *Journal of Food Science*, 70: 260-266.
- 15- Dello Staffolo, M., Bertola, N., Martino, M., and Bevilacqua, y. A. 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yogurt, *International Dairy Journal*, 14: 263-268.
- 16- Dervisoglu, M. and Yazici, F. 2006. The Effect of Citrus Fibre on the Physical, Chemical and Sensory Properties of Ice Cream. *Food Science and Technology International*, 12: 159-164.
- 17- Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T. and Shah, N. P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International Dairy Journal*, 17: 657-665.

interaction. International Dairy Journal, 8: 179-193.

32- Tamime, A. Y. and Robinson, R. k. 1996. Yoghurt: Science and technology (Third edition). Cambridge: Woodhead Publishing, 348-429.

33-Verdalet-Guzman, I., Viveros-Contreras, R. Amaya-Llano, S. L. and Martinez-Bustos, F. 2011. Effects of Extruded Sugar Bagasse Blend on Yogurt Quality. Food Bioprocess Technology, 4: 155-160.

30- Sultana K., Godward G., Reynolds N., Armugaswamy 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.

31- Syrbe, A., Bauer, W. J., and Klostermeyer, H. 1998. Polymer science concept in dairy system an overview of milk protein and food hydrocolloid