بهینه‌سازی تولید دوغ طعم‌دار به روش سطح پاسخ و بررسی برخی ویژگی‌های کیفی پودر حاصل از آن

زهرا سرلک[a]، فرهاد گراوند[be]، رضا محمدی[c]، محمدیار حسینی[d]، میلاد روحی[cf]*

[a] گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، مرکز تحقیقات تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

[b] دانشجوی دکترای تخصصی بیوتکنولوژی غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

[c] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

[d] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

[e] کارشناس مسئول تحقیق و توسعه شهر لبنیات میهن، تهران، ایران

[f] مرکز تحقیقات و نوآوری سازمان اتکا، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله : ۱۳۹۴/۱۲/۲۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۸/۱۵

چکیده

مقدمه: امروزه با افزایش سطح آگاهی جامعه نسبت به مضرات نوشابه‌های گازدار، مصرف دوغ به دلیل ارزش تغذیه‌ای آن افزایش چشمگیری داشته است. استفاده از ترکیبات سلامت بخش و طعم دهنده مانند افشره لیموترش و عرق نعنا که دارای خواص ضد باکتریایی هستند، می‌توانند منجر به کاهش قابلیت زیستی باکتری‌های آغازگر سنتی ماست شده و جایگزین مناسبی برای فرایند حرارتی (در دوغ گرمادیده) باشد که به نوبه خود، باعث افزایش بهره‌وری اقتصادی خواهد شد. همچنین پودر کردن این محصولات تحت شرایط خاص به سهولت نگهداری و حمل و نقل آن کمک خواهد نمود.

مواد و روش‌ها: در طرح حاضر با استفاده از بهینه‌سازی دوغ با افشره لیموترش (محدوده ۶-۰٪ حجمی / حجمی) و عرق نعنا (محدوده ۴-۰٪ حجمی / حجمی) به روش سطح پاسخ و بررسی ویژگی‌های حسی و آنتی‌اکسیدانی آن طی دوره نگهداری در دمای یخچال، نوشیدنی فراویژه با خواص حسی مطلوب و ماندگاری بالا تولید شد. همچنین برای افزایش ماندگاری و کاهش وزن محصول، پودر آن در دماهای مختلف هوای گرم ورودی به خشک‌کن پاششی تولید شد.

یافته‌ها: بهترین مدل برای امتیاز کلی حسی و IC50، مدل درجه دوم شناخته شد. نتایج این مدل‌ها نشان داد که با افزودن افشره لیموترش تا حدود ۳/۵ درصد (حجمی / حجمی) و یا عرق نعنا تا حدود ۲ درصد (حجمی / حجمی)، مقدار امتیاز کلی حسی افزایش یافته و سپس با افزودن مقادیر بیشتر، این پاسخ کاهش می‌یابد. با این وجود، افزایش درصد (حجمی / حجمی) افشره لیموترش و یا عرق نعنا باعث کاهش مقدار IC50 شده و بنابراین تاثیر مثبتی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی داشتند. افزودن ۳/۳۸۲ درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و ۲/۴۸۴ درصد (حجمی / حجمی) عرق نعنا به دوغ منجر به بیشترین امتیاز کلی حسی (۳/۰۶) و کمترین IC50 (۲/۰۸ ml)، بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی) شد. همچنین این نوشیدنی به مدت ۴۲ روز در دمای ۵ $^{\circ}$C با کیفیت حسی مناسب، قابل نگهداری است. برای نگهداری طولانی مدت و تولید پودر توسط خشک‌کن پاششی، دمای هوای گرم ورودی ۱۷۰ $^{\circ}$C باعث بیشترین درصد حلالیت و پذیرش حسی شد و همچنین پودر حاصل از این شرایط، درصد رطوبت، فعالیت آبی و تغییرات رنگ قابل قبولی داشت.

نتیجه گیری: استفاده از محصولاتی بر پایه دوغ و طعم‌دار کردن آن با طعم‌دهنده‌های سنتی موجود در کشور، راهکاری برای افزایش تنوع بازار نوشیدنی است. نتیج این مطالعه نشان داد که با افزودن ۳/۳۸۲ درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و ۲/۴۸۴ درصد (حجمی / حجمی) عرق نعنا به دوغ، محصولی جدید با ویژگی‌های حسی و آنتی اکسیدانی مناسب تولید شد. این محصول توسط خشک‌کن پاششی در دمای ۱۷۰ $^{\circ}$C به پودری با حلالیت بالا و خواص حسی مطلوب تبدیل شد.

واژه‌های کلیدی: *افشره لیمو ترش، پودر، دوغ، روش‌شناسی سطح پاسخ، عرق نعنا*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: mldrouhi@ut.ac.ir

مقدمه

در میان نوشیدنی‌های بر پایه ماست، دوغ مورد توجه خاص قرارگرفته است (Mortazavian *et al*., 2008). دوغ یک نوشیدنی تخمیری است که در ایران و برخی کشورهای خاورمیانه مصرف می‌شود (Tamime and Robinson, 1999). امروزه به دلیل افزایش سطح آگاهی مردم نسبت به مضرات نوشابه‌های گازدار و مزایای دوغ مانند قابلیت هضم و مقدار کلسیم بالا، تمایل به تولید و مصرف آن در کشور رو به افزایش است (Forooghi Nia *et al*., 2007). مقبولیت دوغ نه فقط به عنوان فراورده‌ای با ویژگی‌های حسی مطلوب که به عنوان نوشیدنی تخمیری سالم و سلامت بخش سبب شده است که به عنوان نوشیدنی ملی ایران پذیرفته شود. مصرف این فراورده و فراورده‌های مشابه آن در کشورهایی همچون افغانستان، آذربایجان، ارمنستان، عراق، سوریه، بلغارستان، ترکیه و حوزه بالکان رو به رشد است (بی نام، ۱۳۸۷).

تولید صنعتی نوشیدنی فراویژه بر پایه دوغ از اهمیت و توجیه بالاتر در مقایسه با سایر فراورده‌های لبنی برخوردار است؛ از آن رو که، نخست دوغ فراورده‌ای با خاستگاه ایرانی است و دوم، مصرف سرانه آن در کشور قابل توجه بوده و تلاش‌های مراجع قانونی و ذی صلاح کشور در جایگزینی آن به جای نوشابه‌های مضر بر اهمیت این فراورده افزوده است (مرتضویان، ۱۳۸۶). افزون بر موارد یاد شده، ویژگی‌های حسی منحصر به فرد این محصول سبب شده است که از پتانسیل پذیرش بالا در سایر کشورها نیز برخوردار باشد. استفاده از ترکیبات سلامت بخش و طعم دهنده مانند افشره لیموترش و عرق نعنا که دارای خواص ضد میکروبی هستند، ممکن است باعث افزایش قابلیت نگهداری (از نظر فساد میکروبی) شود. بنابراین با توسعه پژوهش‌های کاربردی صنعت مواد غذایی (از نظر فراویژه بودن و خواص حسی مطلوب)، علیرغم افزایش تنوع و جایگزینی این محصولات سلامت بخش به جای نوشیدنی‌های مضر و/یا وارداتی، می‌توان باعث افزایش پتانسیل صادرات مواد غذایی بومی شد. در همین راستا، مساله طرح حاضر این است که افزودن افشره لیموترش و عرق نعنا چه تاثیری بر ویژگی‌های حسی و آنتی اکسیدانی دوغ دارد و چگونه می‌توان با استفاده از بهینه‌سازی دوغ طعم‌دار به روش سطح پاسخ و مطالعه آن‌ها طی دوره نگهداری در دمای یخچال، باعث تولید نوشیدنی فراویژه با ویژگی‌های حسی و آنتی اکسیدانی مطلوب و ماندگاری بالا شد.

فساد دوغ در اثر فعالیت کپک‌ها و مخمرها عامل اصلی کاهش ماندگاری آن می‌باشد. با توجه به بالا بودن قیمت انرژی و نیروی انسانی، استفاده از سردخانه‌های مجهز جهت نگهداری هزینه زیادی در بر خواهد داشت. استفاده از نگهدارنده‌ها باعث کنترل رشد کپک‌ها و مخمرها می‌شود ولی با توجه به ضوابط و قوانین وزارت بهداشت استفاده از هرگونه نگهدارنده در دوغ غیر مجاز است (Sangatash *et al*., 2011). برخی از اهداف تولید فرآورده‌های خشک شامل افزایش ماندگاری، کاهش حجم و به تبع آن کاهش فضای نگهداری و هزینه‌های بسته بندی و حمل و نقل می‌باشند (Riaz and Ali, 1986). همچنین فراهم آوردن شرایطی که مصرف کننده بتواند دوغ را با غلظت و طعم دلخواه خویش تهیه نماید، اهمیت به سزایی دارد. علاوه بر این، با توجه به عدم دسترسی به دوغ تازه در شرایط و مناطق جغرافیایی خاص، تولید پودر نوشیدنی بر پایه دوغ کمک فراوانی به تامین نیازهای تغذیه‌ای مصرف کنندگان آن مناطق خواهد کرد بطوریکه بتواند هم در بازار داخل (اعم از شرایط عادی و/یا در شرایط جنگ) و هم در بازار خارج از کشور مورد استفاده قرار گیرد. از طرف دیگر، برای جلوگیری از پس اسیدسازی باکتری‌های آغازگر سنتی ماست طی دوره نگهداری در دمای یخچال، معمولا در صنعت، پس از فرایند تخمیر شیر و تولید دوغ، از فرایند حرارتی برای نابودی این باکتری‌ها استفاده می‌شود که این فرآورده‌ها تحت عنوان "دوغ گرمادیده" در بازار موجود است. در شرایط خاصی از خشک کردن، می‌توان باعث کاهش و/یا توقف فعالیت زیستی باکتری‌های آغازگر سنتی ماست شده و جایگزین مناسبی برای این فرایند گرمایی صنعتی باشد که به نوبه خود، با افزایش ماندگاری محصول باعث افزایش بهره‌وری اقتصادی خواهد شد. همچنین پودر کردن این محصولات تحت شرایط خاص به سهولت نگهداری و حمل و نقل آن کمک خواهد نمود. بنابراین اثر دمای هوای گرم ورودی به خشک‌کن پاششی روی برخی ویژگی‌های کیفی پودر حاصل از دوغ بهینه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

- روش تولید نمونه‌ها (طرح آزمایش)

در این پژوهش، شیر مورد نیاز برای تهیه ماست، از بازسازی پودر شیر بدون چربی (۱۲% ماده خشک وزنی / حجمی) تهیه شد. بدین منظور با افزودن پودر شیر خشک به آب مقطر، شیری با ماده خشک ۱۲٪ (وزنی / حجمی) بدست آمد. سپس شیر بدست آمده تحت فرآیند حرارتی در دمای ۹۰°C به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفته و تا دمای تلقیح سرد شد. در این پژوهش، از کشت آغازگر سنتی ماست CH-1 (شرکت کریستین هانسن، دانمارک) متشکل از دو باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس استفاده شد. نمونه‌ها در داخل انکوباتور با دمای ۴۰°C تا رسیدن به pH=۴/۵ گرمخانه‌گذاری شدند (Sarlak *et al*., 2017). در زمان گرمخانه گذاری در فاصله‌های زمانی نیم ساعته مقدار تمام شاخص‌های بیوشیمیایی (pH، اسیدیته قابل تیتر و پتانسیل احیا) اندازه‌گیری شدند. در این مرحله، هر حجم ماست با همان حجم آب مقطر مخلوط شده و همچنین نمک طعام به میزان ۰/۷٪ (وزنی / حجمی) به این ترکیب اضافه شد. این محصول (ماده خشک ۶/۷ درصد وزنی / حجمی)، مشابه همان دوغ بدون چربی معمولی صنعتی است (Sarlak *et al*., 2017). سپس فرمولاسیون تولید نوشیدنی برپایه دوغ، به کمک روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی با استفاده از ۲ متغیر مستقل (هرکدام در پنج سطح) مدل‌سازی شد. متغیرهای مستقل شامل افشره لیموترش (از ۰ تا ۶ درصد حجمی / حجمی) و عرق نعنا (۰ تا ۴ درصد حجمی / حجمی) و پاسخ‌های (متغیرهای وابسته) خواص حسی (امتیاز کلی حسی) و آنتی اکسیدانی (IC50)، برای این منظور استفاده شدند. افشره لیموترش به روش پرس سرد از میوه لیمو ترش گونه Citrus limon بدست آمد. عرق نعنا از تقطیر مخلوط آب و گیاه نعنا گونه Mentha sylvestris حاصل شد. لازم به ذکر است در این مطالعه با استفاده آزمایشات مقدماتی، مقدار محدوده سطح متغیرهای مستقل تعیین شد. طبق جدول ۱، ۱۳ تیمار با استفاده از نرم افزار Design Expert (ویرایش ۷، ۲۰۰۵) در نظر گرفته شد.

- اندازه‌گیری شاخص‌های بیوشیمیایی

pH نمونه‌ها طی فرایند تخمیر و نگهداری در دمای یخچال با استفاده از pH متر (MA235، Mettler، سوییس) اندازه‌گیری شد. پیش از اندازه‌گیری pH، pH متر توسط بافرهای استاندارد با pH های ۴ و ۷ کالیبره شد. شاخص افت pH نمونه‌ها با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد.

جدول ۱- تیمارهای طرح مرکب مرکزی برای بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی بر پایه دوغ

تیمار	درصد افشره لیموترش (v/v)	درصد عرق نعنا (v/v)	امتیاز کلی حسی	IC50
۱	۵/۱۲	۰/۵۹	۲/۸۵	۶/۷۰
۲	۰/۸۸	۳/۴۱	۲/۶۷	۱/۹۹
۳	۰/۸۸	۰/۵۹	۲/۲۷	۶/۹۶
۴	۳/۰۰	۲/۰۰	۲/۹۹	۲/۷۳
۵	۳/۰۰	۲/۰۰	۳/۱۷	۲/۹۸
۶	۳/۰۰	۲/۰۰	۳/۱۱	۲/۷۴
۷	۳/۰۰	۴/۰۰	۲/۵۴	۲/۱۳
۸	۳/۰۰	۲/۰۰	۳/۰۸	۲/۹۷
۹	۵/۱۲	۳/۴۱	۲/۷۳	۱/۴۷
۱۰	۰/۰۰	۲/۰۰	۲/۴۷	۳/۱۱
۱۱	۳/۰۰	۲/۰۰	۳/۰۹	۲/۷۶
۱۲	۳/۰۰	۰/۰۰	۲/۷۲	۹/۴۴
۱۳	۶/۰۰	۲/۰۰	۲/۶۳	۲/۳۴

(۱) سرعت افت pH (واحد pH/ روز) = مقدار کاهش واحد pH / مدت‌زمان کاهش pH به روز

پتانسیل احیا در نمونه‌ها با استفاده از pH متر مجهز به الکترود پلاتین به واحد میلی ولت اندازه‌گیری شد. سرعت متوسط افزایش پتانسیل احیا در نمونه‌ها از رابطه ۲ محاسبه شد (Ferdousi *et al*., 2013).

(۲) سرعت افزایش پتانسیل احیا (میلی‌ولت/ روز) = مقدار افزایش پتانسیل احیا / مدت زمان افزایش پتانسیل احیا به روز

برای اندازه گیری اسیدیته قابل تیتر، ۱۰ میلی لیتر از نمونه با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر در ارلن مایر ریخته شده و با سود ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد (Mohammadi *et al*., 2011). مقدار این شاخص بر حسب درجه دُرنیک از فرمول ۳ محاسبه شد.

(۳) اسیدیته قابل تیتر (درجه دُرنیک) = حجم سود مصرفی (میلی لیتر) × ۹

سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌ها از رابطه ۴ بدست آمد (Sarlak *et al*., 2017).

(۴) سرعت متوسط افزایش اسیدیته قابل تیتر (درجه دُرنیک/ روز) = اسیدیته قابل تیتر نهایی – اسیدیته قابل تیتر اولیه/ زمان (روز)

- ارزیابی حسی نمونه‌ها

نمونه‌های نوشیدنی با استفاده از روش امتیازبندی به صورت هدونیک ۵ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند و ویژگی‌های حسی شامل طعم (مزه و بو)، احساس دهانی (لطافت، یکنواختی یا همگن بودن، گرانروی دهانی و دهان پوشی) و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) بررسی شدند (Rouhi *et al*., 2015). امتیازدهی به شیوه مقیاس ۵ نقطه‌ای شامل غیرقابل مصرف= ۰، غیر قابل قبول= ۱، قابل قبول= ۲، مطلوب= ۳، عالی= ۴ انجام شد. ضرایب ۶ برای طعم، ۳/۵ برای احساس دهانی و ۲ برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد (Rouhi *et al*., 2015). بنابراین امتیاز کلی حسی بر طبق فرمول ۵ محاسبه شد.

(۵) امتیاز کلی حسی= (طعم × ۶) + (احساس دهانی × ۳/۵) + (ظاهر × ۲) / ۱۱/۵

- ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد (خاصیت آنتی-اکسیدانی)

میزان مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، با روش Son و Lewis، با کمی اصلاحات، مورد ارزیابی قرار گرفت (Son and Lewis, 2002). برای این منظور، ۴ میلی‌لیتر محلول اتانولی ۱ میلی‌مولار DPPH به حجم‌های مختلف همه تیمارها افزوده شد. حجم‌های مختلف نوشیدنی بر پایه دوغ شامل صفر (نمونه کنترل)، ۰/۴، ۰/۸، ۱/۲، ۱/۶ و ۲ میلی‌لیتر بود. سپس حجم محلول نهایی، توسط اتانول به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شده و به شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. دستگاه اسپکتروفتومتر (CE2502، Cecil، انگلیس) با استفاده از محلول اتانول بر روی جذب صفر تنظیم شده و سپس جذب نمونه‌ها به ترتیب غلظت، در ۵۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال‌های DPPH با فرمول ۶ محاسبه شد.

(۶) درصد احیا رادیکال آزاد DPPH = (جذب کنترل – جذب نمونه / جذب کنترل) × ۱۰۰

در نهایت مقدار IC50 برای تیمارها و تیمار بهینه شده محاسبه شد.

- نگهداری تیمار بهینه در دمای یخچال

بنابراین نوشیدنی بر پایه دوغ، بهینه‌سازی و فرمولاسیون شد. سپس این تیمار تا دمای یخچال (۵°C) سرد شده و به مدت ۶۳ روز نگهداری شد. تمامی شاخص‌های بیوشیمیایی و حسی تیمارها در دوره‌های زمانی ۷ روزه طی نگهداری در دمای یخچال مورد بررسی قرار گرفتند.

- خشک کردن پاششی تیمار بهینه

نوشیدنی بهینه در دمای ۲۵°C در یک همزن (Waring Blender، آمریکا) به مدت ۲۰ ثانیه با دور پایین، ۲۰ ثانیه دور بالا و دوباره ۲۰ ثانیه با دور پایین هم زده شد و سپس به سرعت مرحله خشک کردن توسط

دستگاه خشک‌کن پاششی (Mobile Minor Niro-Atomizer، دانمارک) انجام شد. نوشیدنی از نازل به داخل اتاقک خشک کننده (به قطر ۸۷ و ارتفاع ۱۱۰ سانتی متر) جریان همسو (تحت دماهای مختلف هوای گرم ورودی ۱۵۰-۱۸۰°C) اسپری شد. برای همه تیمارها فشار هوای اسپری کننده ۳۰۰ کیلو پاسکال و سرعت جریان هوای گرم ۱/۵ متر مکعب در دقیقه تنظیم شد (Koc *et al*., 2010). ویژگی‌های کیفی پودر شامل رطوبت، حلالیت، فعالیت آبی، تغییرات رنگ، ارزیابی حسی و مورفولوژی مورد بررسی قرار گرفتند.

- درصد رطوبت پودر

مقدار رطوبت پودر به روش وزن سنجی توسط آون (BF55E، فن‌آزماگستر، ایران) در دمای ۱۰۰°C به مدت ۲ ساعت اندازه‌گیری شد (ISIRI, 2006).

- حلالیت پودر

۰/۵ گرم نمونه پودر داخل فالکون ۵۰ میلی لیتری توزین شده و به مدت ۵ دقیقه با آب مخلوط شد. سپس به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ (Hettich/rotina 35r، انگلیس) با دور g ۳۰۰۰ انجام شد. ۲۵ میلی لیتر از مایع رویی به داخل ظرف مخصوص اندازه‌گیری محتوای رطوبت منتقل شده و بلافاصله در دمای ۱۰۵°C به مدت ۵ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. در نهایت درصد حلالیت براساس تفاوت وزن محاسبه شد (Eastman and Moore, 1984).

- فعالیت آبی (aw) پودر

فعالیت آبی نمونه‌ها توسط دستگاه a_w سنج (Testo AG 400، آلمان) با دقت ±۰/۰۰۱ اندازه‌گیری شد (Shrestha *et al*., 2007).

- تغییرات رنگ (ΔE) پودر

ابتدا پودر تا رسیدن به ماده خشک ۶/۷ درصد وزنی / حجمی (شرایط یکسان با نوشیدنی خشک نشده) با آب ترکیب شد. برای اندازه‌گیری رنگ نوشیدنی‌ها از دستگاه رنگ‌سنجی هانترلب در سیستم سه بعدی L، a و b استفاده شد. L، شدت روشنایی (سفیدی- سیاهی)، a، قرمزی- سبزی و b، زردی- آبی را مشخص می‌کند. هر چه مقدار L بیشتر باشد، شدت روشنایی بیشتر است. هرچه a بزرگ تر باشد، تمایل به قرمزی بیشتر است و هرچه b بزرگ‌تر باشد، تمایل به سمت رنگ زرد است و a و b منفی، مشخص‌کننده غالب بودن رنگ‌های سبز و آبی است.

لازم به ذکر است که قبل از انجام آزمون رنگ، دستگاه هانترلب طبق دستورالعمل شرکت سازنده، با سرامیک سفید با مشخصات L= 92.24، a= -1.28 و b= 1.20 کالیبره شد. تمام اندازه‌گیری‌ها در دمای محیط انجام گرفت.

تغییرات رنگ کلی نوشیدنی حاصل از پودر نسبت به نوشیدنی اصلی با استفاده از ΔE (فرمول ۷) محاسبه شد (Schanda, 2007).

$$\Delta E^*_{ab} = \sqrt{(L^*_2 - L^*_1)^2 + (a^*_2 - a^*_1)^2 + (b^*_2 - b^*_1)^2} \quad (۷)$$

- ارزیابی حسی پودر

ابتدا پودر تا رسیدن به ماده خشک ۶/۷ درصد وزنی / حجمی (شرایط یکسان با نوشیدنی خشک نشده) با آب ترکیب شد. نمونه‌های پودر بازسازی شده با استفاده از روش امتیازبندی به صورت هدونیک ۵ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفتند (Altug and Elmaci, 2005). ویژگی‌های حسی شامل طعم (مزه و بو)، احساس دهانی (لطافت، یکنواختی یا همگن بودن، گرانروی دهانی و دهان پوشی) و ظاهر (رنگ و دو فاز شدن) بررسی شدند. امتیازدهی به شیوه مقیاس ۵ نقطه‌ای شامل غیرقابل مصرف=۰، غیر قابل قبول= ۱، قابل قبول= ۲، مطلوب= ۳، عالی= ۴ انجام شد. ضرایب ۶ برای طعم، ۳/۵ برای احساس دهانی و ۲ برای ظاهر هر یک از تیمارها در نظر گرفته شد (فرمول ۵).

- مورفولوژی پودر

ساختار مورفولوژیک پودر نوشیدنی بهینه از مرحله فرمولاسیون و همچنین خشک کردن توسط عکسبرداری با میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM; JSM-6610LV, JEOL، ژاپن) مورد بررسی قرار گرفت.

- تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش بر اساس روش شناسی سطح پاسخ (RSM) و طرح مرکب مرکزی (CCD) به صورت

Circumscribed برای ۲ فاکتور با استفاده از نرم افزار Design Expert ویرایش ۷ انجام شد. مقادیر سطح هر یک از متغیرها در جدول ۲ آورده شده است.

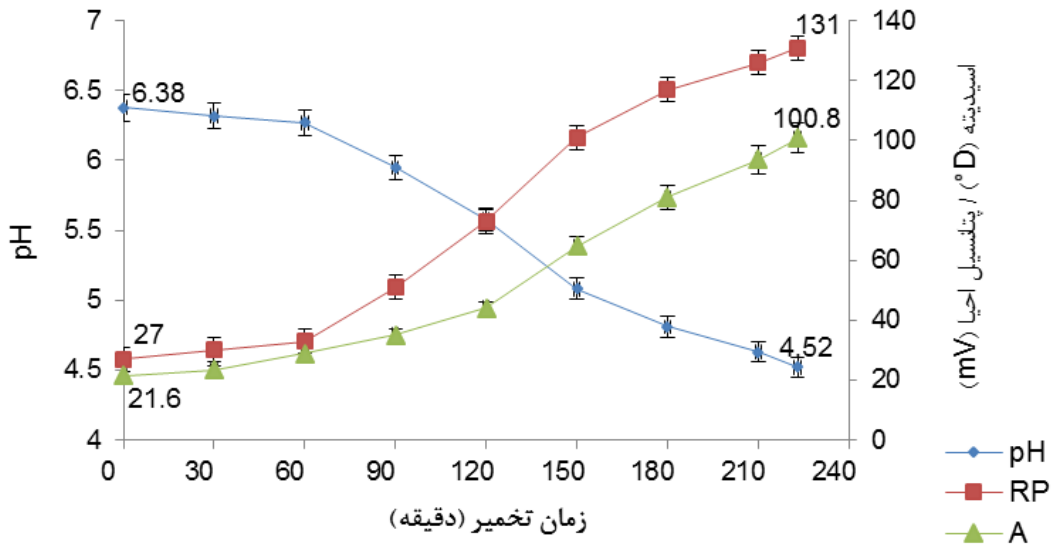
یافته‌ها

- تغییرات بیوشیمیایی طی تخمیر

شکل ۱ نشاندهنده روند کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا طی دوره تخمیر در شیر تلقیح شده با استارتر ماست CH-1 در دمای ۴۰°C تا رسیدن به pH= ۴/۵ است. مطابق با این شکل، سه مرحله رشد مشخص است؛ یعنی فازهای کمون یا پیش- لگاریتمی، لگاریتمی و ثابت رشد. این نواحی با توجه به تغییر زیاد شیب نمودارها در شکل ۱ مشخص می‌شود. مدت زمانی دوره کمون ۶۰ دقیقه، دوره لگاریتمی ۹۰ دقیقه و دوره ثابت رشد ۷۳ دقیقه بود. بنابراین مدت زمان گرمخانه‌گذاری ۲۲۳ دقیقه به طول انجامید. طی این مدت، شیر بازسازی شده با pH= ۶/۳۸ به ماست با pH= ۴/۵۲ تبدیل شد. همچنین روند تغییرات اسیدیته طی تخمیر از ۲۱/۶ به ۱۰۰/۸ درجه درنیک و روند تغییرات پتانسیل احیا از ۲۷ به ۱۳۱ میلی‌ولت بودند. نقطه اوج کاهش pH، افزایش اسیدیته و پتانسیل احیا در دقایق ۱۵۰-۱۲۰ از آغاز گرمخانه گذاری اتفاق افتاد. سرعت‌های میانگین افت pH، افزایش اسیدیته قابل تیتر و افزایش پتانسیل احیا به ترتیب ۰/۰۰۸ (در دقیقه)، ۰/۳۵ (درجه دورنیک در دقیقه) و ۰/۴۶ (میلی ولت در دقیقه) بودند.

جدول ۲- نمایش سطوح کدبندی و واقعی متغیرهای مستقل فرآیند

	علائم مقادیر کد شده و واقعی				
	-۲	-۱	۰	۱	۲
عصاره لیموترش (درصد حجمی- حجمی)	۰/۰	۱/۵	۳/۰	۴/۵	۶/۰
عرق نعنا (درصد حجمی- حجمی)	۰/۰	۱/۰	۲/۰	۳/۰	۴/۰



شکل ۱- تغییرات بیوشیمیایی شیر تلقیح شده با استارتر ماست CH-1 طی تخمیر در دمای ۴۰°C تا رسیدن به pH=۴/۵

- مدل‌سازی امتیاز کلی حسی

جزییات مربوط به انواع مدل، آزمون‌های عدم برازش و مربع R مدل‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده‌اند. مقدار p-value در مدل‌های خطی(Linear) و اثر متقابل دو فاکتور (2FI) نشان می‌دهند که این مدل‌ها در سطح ۰/۰۵ معنادار نیستند (p>۰/۰۵). مقدار p-value در مدل درجه دوم (Quadratic) نسبت به درجه سوم (Cubic) کمتر است. علاوه بر معنادار بودن مدل، مدلی باید انتخاب شود که عدم برازش آن معنادار نباشد (Mohammadi *et al.*, 2016). با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، عدم برازش در مدل درجه دوم برای پاسخ امتیاز کلی حسی غیر معنادار است. بنابراین مدل درجه دوم برای ادامه آنالیز داده‌های امتیاز کلی حسی مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب فاکتورهای مدل برای امتیاز کلی حسی عبارت بودند از عرض از مبدا (Intercept)، درصد افشره لیموترش (X_1)، درصد عرق نعنا (X_2)، X_1X_2، X_1^2 و X_2^2.

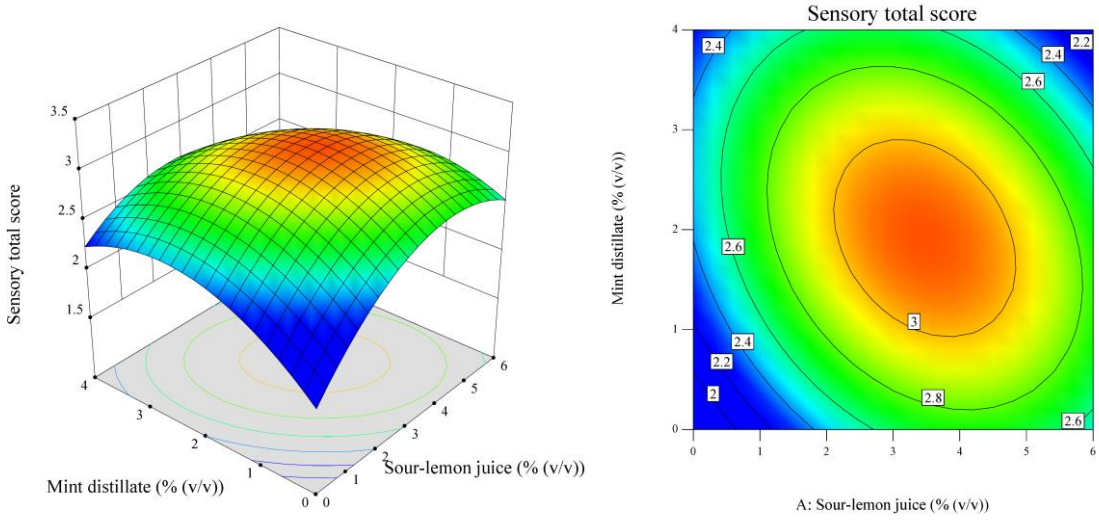
با به کاربردن تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه بر روی داده‌های تجربی، پاسخ امتیاز کلی حسی و متغیرهای آزمون (بر حسب واحدهای واقعی) بر طبق معادله چند جمله‌ای درجه دوم (رابطه ۸) قابل پیش‌بینی خواهند بود.

$$Y= ۱/۷۱۴۴ + ۰/۴۸۳۰\ X_1 + ۰/۵۷۰۲\ X_2 - ۰/۰۴۳۳X_1X_2 - ۰/۰۵۷۵\ X_1^2 - ۰/۱۰۹۵\ X_2^2 \quad (۸)$$

که در آن‌ها، Y مقدار امتیاز کلی حسی است و متغیرهای X_1 و X_2 به ترتیب نشاندهنده درصد افشره لیمو ترش و عرق نعنا هستند. نمودارهای اثرات متقابل متغیرهای مختلف بر امتیاز کلی حسی در مدل درجه دوم به صورت نمودارهای ترازی و ۳ بعدی در شکل ۲ نشان داده شده‌اند. با افزایش مقدار افشره لیموترش تا حدود ۳/۵ درصد (حجمی / حجمی)، مقدار امتیاز کلی حسی افزایش یافته و سپس با افزودن مقادیر بیشتر، این پاسخ کاهش می‌یابد. مقدار امتیاز کلی حسی با افزودن حدود ۲٪ (حجمی / حجمی) عرق نعنا، افزایش یافته و سپس کاهش می‌یابد.

جدول ۳- ارزیابی مدل‌ها برای پاسخ امتیاز کلی حسی

مدل	p-value برای مدل	p-value برای عدم برازش	مربع R تعدیل‌شده	مربع R پیش‌بینی‌شده
خطی	۰/۵۹۳۷	۰/۰۰۲۳	-۰/۰۸۱۲	-۰/۴۹۸۷
2FI	۰/۴۰۲۰	۰/۰۰۲۰	-۰/۱۰۶۲	-۰/۸۲۵۸
درجه دوم	<۰/۰۰۰۳	۰/۰۸۲۸	۰/۸۶۰۴	۰/۵۱۹۸
درجه سوم	۰/۰۳۴۵	۰/۴۳۳۰	۰/۹۴۹۲	۰/۷۵۶۲



شکل۲- نمودارهای اثر متقابل درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و عرق نعنا بر امتیاز کلی حسی

- **مدل‌سازی خاصیت آنتی اکسیدانی**

جزییات مربوط به انواع مدل، آزمون‌های عدم برازش و مربع R مدل‌های مختلف در جدول ۴ نشان داده شده‌اند. با توجه به این جدول، مقدار p-value در مدل‌های اثر متقابل دو فاکتور (2FI) و درجه سوم (Cubic) نشان می‌دهند که این مدل‌ها در سطح ۰/۰۵ معنادار نیستند. با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، عدم برازش در مدل خطی، معنادار بوده ولی در مدل درجه دوم، معنادار نیست. همچنین مدل درجه دوم در مقایسه با مدل خطی، مقادیر مربع R تعدیل شده و مربع R پیش‌بینی شده بزرگتری دارد. بنابراین مدل درجه دوم برای ادامه آنالیز داده‌ها مورد استفاده قرار گرفت. بدین ترتیب فاکتورهای مدل برای IC50 عبارت بودند از عرض از مبدا (Intercept)، درصد افشره لیموترش (X_1)، درصد عرق نعنا (X_2)، X_1X_2، X_1^2 و X_2^2.

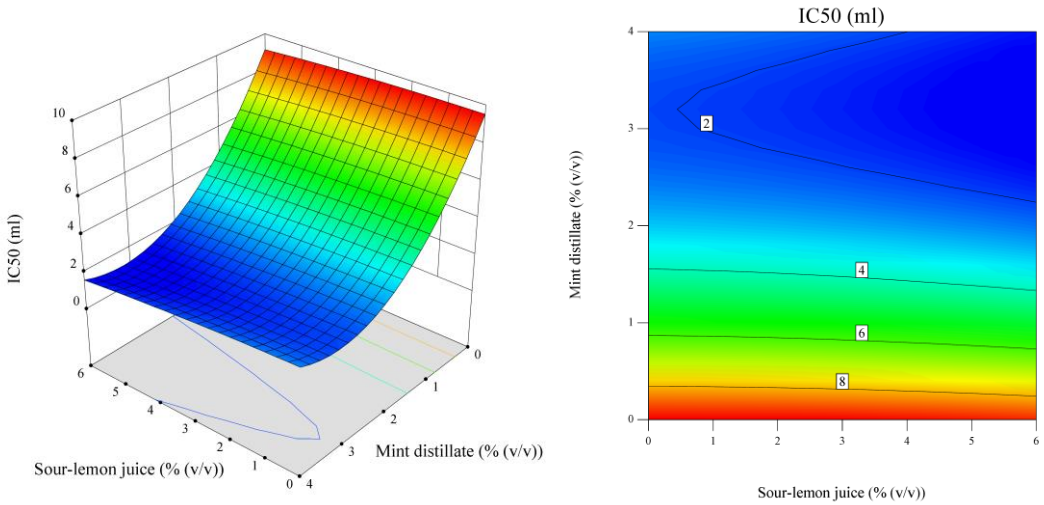
با به کاربردن تجزیه و تحلیل رگرسیون چندگانه بر روی داده‌های تجربی، رابطه بین پاسخ IC50 و متغیرهای آزمون (بر حسب واحدهای واقعی) بر طبق فرمول ۹ خواهد بود.

$$(۹)\ Y= ۹/۵۳۰۰ - ۰/۰۰۱۱\ X_1 - ۴/۷۱۱۸\ X_2 - ۰/۰۲۱۶\ X_1X_2 - ۰/۰۱۰۹\ X_1^2 + ۰/۷۴۰۴\ X_2^2$$

که در آن‌ها، Y مقدار IC50 است و متغیرهای X_1 و X_2 به ترتیب درصدهای (حجمی / حجمی) افشره لیموترش و عرق نعنا را نشان می‌دهند. نمودارهای اثرات متقابل متغیرهای مختلف بر IC50 در مدل درجه دوم به صورت نمودارهای ترازی و ۳ بعدی در شکل ۳ نشان داده شده‌اند. همانطور که مشاهده می‌شود، افزایش درصد (حجمی / حجمی) افشره لیموترش و/یا عرق نعنا باعث کاهش مقدار IC50 شده و بنابراین تاثیر مثبتی بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی داشتند. عرق نعنا نسبت به افشره لیموترش، خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری در محصول ایجاد کرد.

جدول ٤- ارزیابی مدل‌ها برای پاسخ IC50

مدل	p-value برای مدل	p-value برای عدم برازش	مربع R تعدیل‌شده	مربع R پیش‌بینی‌شده
خطی	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۱	۰/۷۲۵۵	۰/۵۵۴۳
2FI	۰/۹۲۳۹	<۰/۰۰۰۱	۰/۶۹۵۴	۰/۴۹۲۳
درجه دوم	<۰/۰۰۰۱	۰/۸۱۲۲	۰/۹۹۸۰	۰/۹۹۶۹
درجه سوم	۰/۶۱۳۰	۰/۷۹۵۱	۰/۹۹۷۷	۰/۹۹۷۴

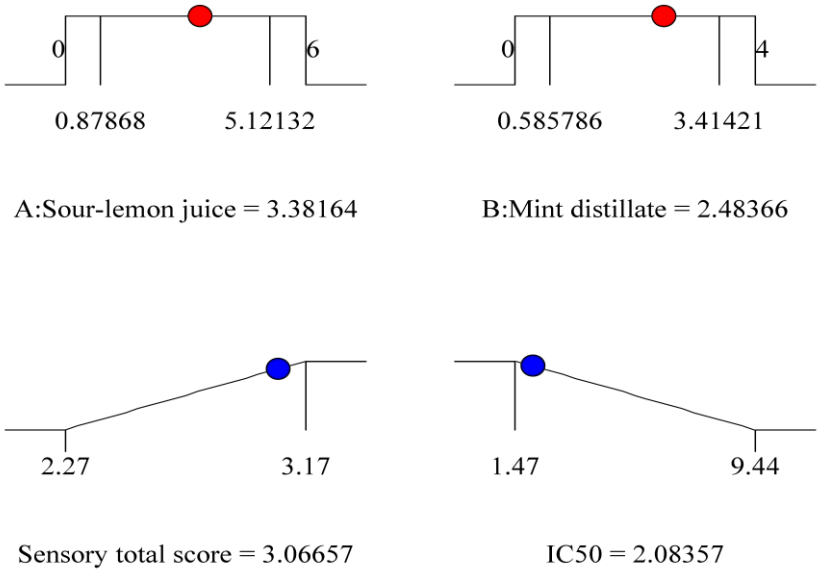


شکل ۳- نمودارهای اثر متقابل درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و عرق نعنا بر IC50

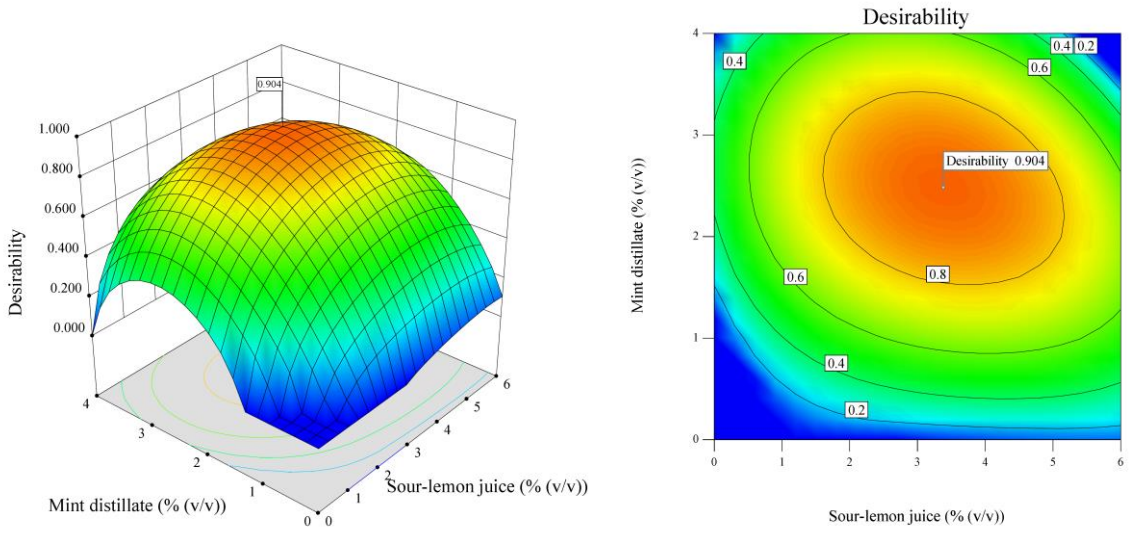
- **بهینه‌سازی عددی**

مطابق با شکل ۴، استفاده از ۳/۳۸۲ درصد (حجمی/ حجمی) افشره لیمو ترش و ۲/۴۸۴ درصد (حجمی/ حجمی) عرق نعنا منجر به تولید نوشیدنی شد که امتیاز کلی حسی ۳/۰۶۷، IC50 ۲/۰۸۴ میلی‌لیتر و مطلوبیت ۰/۹۰۴ داشت.

نمودارهای اثرات متقابل متغیرهای مختلف بر درجه مطلوبیت به صورت نمودارهای ترازی و ۳ بعدی در شکل ۵ نشان داده شده‌اند. مطابق با این شکل، بیشترین درجه مطلوبیت در نقطه‌ای با مختصات افشره لیمو ترش ۳/۳۸۲ درصد (حجمی/ حجمی) و عرق نعنا ۲/۴۸۴ درصد (حجمی/ حجمی) قرار دارد. بنابراین تیمار بهینه بهترین حالت را از نظر ویژگی‌های حسی و آنتی‌اکسیدانی داشت.



شکل ٤- نمودار پلکانی مقدار متغیرهای مستقل و وابسته در تیمار بهینه



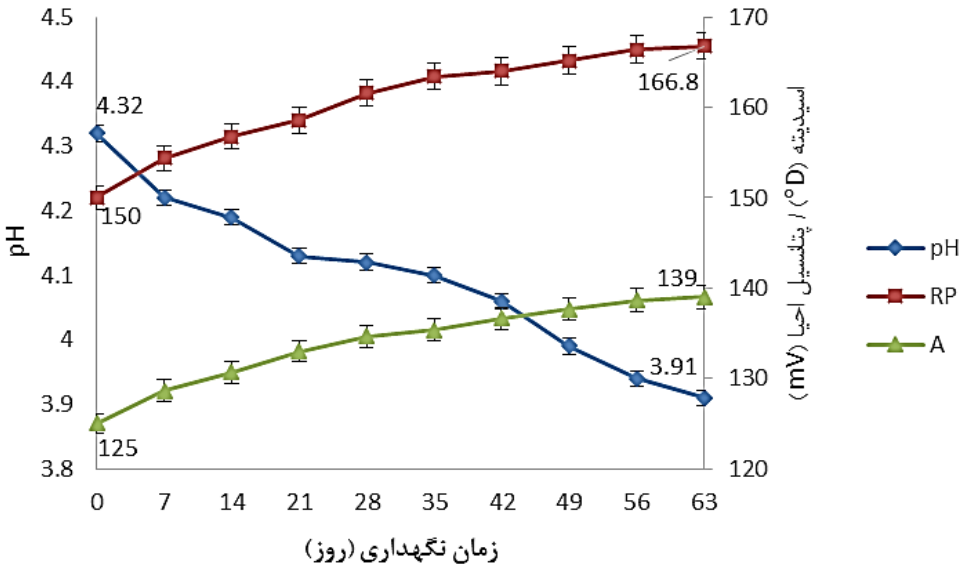
شکل ٥- نمودارهای اثر متقابل درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و عرق نعنا بر درجه مطلوبیت

- ویژگی‌های بیوشیمیایی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال

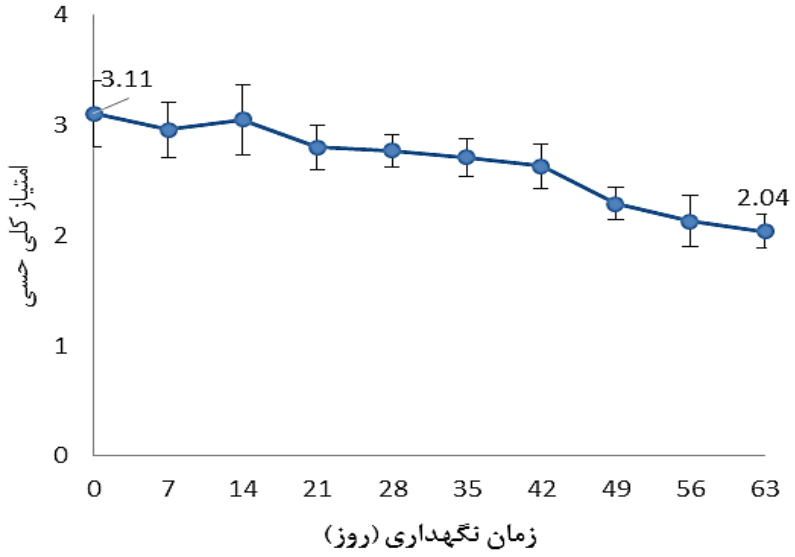
ویژگی‌های بیوشیمیایی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال در شکل ۶ نشان داده شده است. این شکل نشان می‌دهد که تغییرات بیوشیمیایی تیمار بهینه حاصل از مرحله قبل طی ۶۳ روز دوره نگهداری در دمای یخچال معنادار بود.

- ارزیابی حسی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال

شکل ۷ امتیاز کلی حسی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال را نشان می‌دهد. مطابق این شکل و با آنالیز واریانس یک‌طرفه، مشخص شد که امتیاز کلی حسی نوشیدنی تا ۴۲ روز نگهداری در ۵°C تغییر معناداری نداشت ($p>0/05$) ولی در پایان دوره نگهداری، حدود ۱ واحد کاهش می‌یابد.



شکل ٦- ویژگی‌های بیوشیمیایی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال



شکل ۷- ویژگی‌های حسی تیمار بهینه طی دوره نگهداری در دمای یخچال

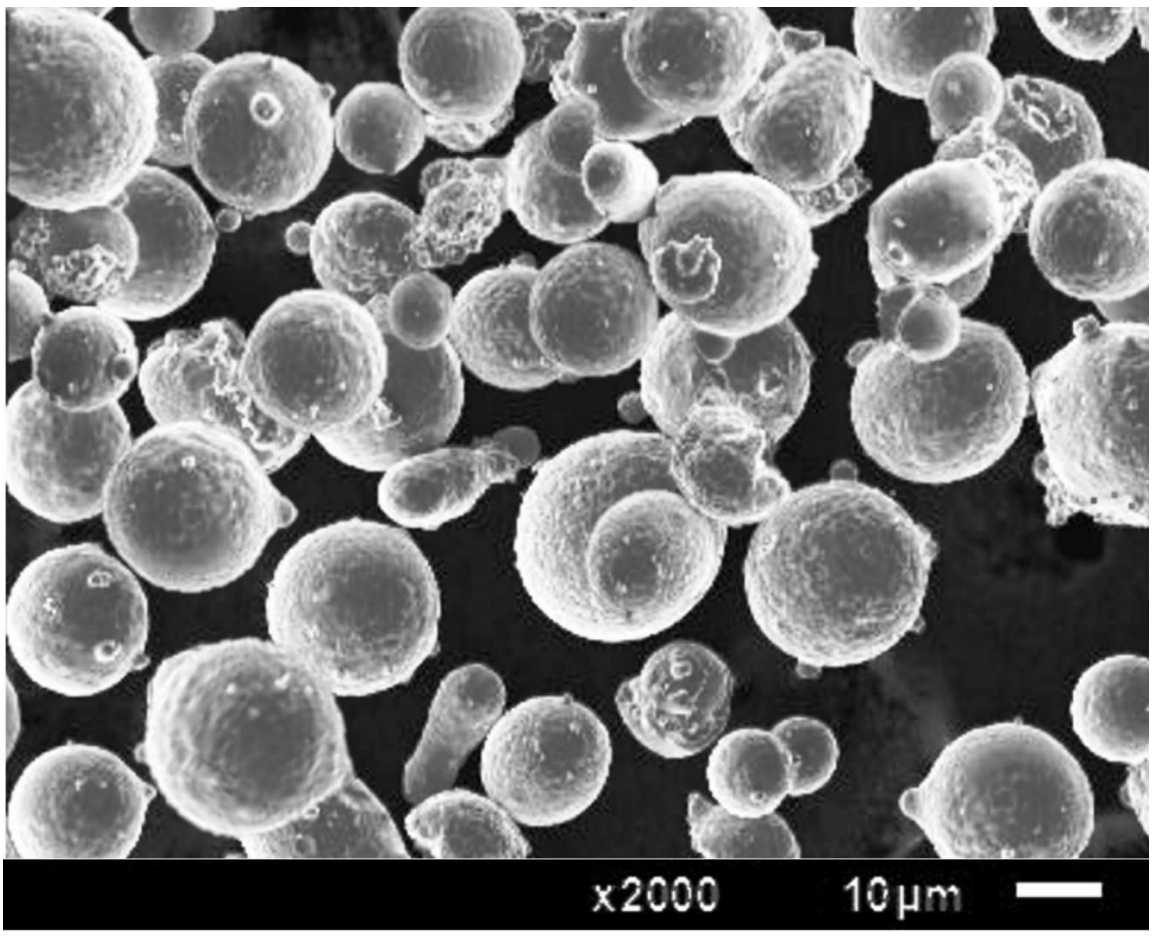
- تولید پودر نوشیدنی

ویژگی‌های کیفی پودر نوشیدنی در دماهای مختلف هوای گرم ورودی به خشک‌کن پاششی در جدول ۵ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به دست آمده، بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های پودر نشان داد که تغییر دمای هوای گرم ورودی در هنگام خشک کردن، سبب ایجاد تفاوت معنی دار در ویژگی‌های کیفی نمونه‌های پودر شد.

ساختار مورفولوژیک پودر تولید شده در دمای هوای ۱۷۰ °C با بزرگنمایی ×۲۰۰۰ در شکل ۸ نشان داده شده است. اکثر ذرات پودر به شکل کروی با قطر حدود ۲۰ میکرومتر بوده و اندازه‌های یکنواختی داشتند. سطوح این ذرات صاف بودند ولی در بعضی از آن‌ها فرورفتگی و شکستگی دیده شد.

جدول ۵- ویژگی‌های کیفی پودر در دماهای مختلف هوای گرم ورودی به خشک‌کن پاششی

دمای هوای گرم (°C)	رطوبت (٪)	حلالیت (٪)	a_w	ΔE	پذیرش حسی
۱۵۰	۶/۰۱^{a}	۷۶/۴۴^{d}	۰/۱۶۶^{a}	۴/۳۲^{e}	۲/۶۶^{d}
۱۵۵	۵/۷۲^{b}	۷۸/۹۲^{c}	۰/۱۵۵^{b}	۴/۴۰^{e}	۲/۷۰^{d}
۱۶۰	۵/۷۰^{b}	۸۲/۶۶^{b}	۰/۱۵۸^{b}	۴/۹۷^{d}	۲/۶۷^{d}
۱۶۵	۵/۳۴^{c}	۸۷/۹۰^{a}	۰/۱۳۳^{c}	۵/۱۱^{c}	۲/۷۵^{c}
۱۷۰	۵/۳۱^{c}	۸۶/۱۴^{a}	۰/۱۲۹^{c}	۵/۰۹^{c}	۲/۹۴^{a}
۱۷۵	۴/۹۸^{d}	۷۹/۰۳^{c}	۰/۱۱۱^{d}	۷/۱۴^{b}	۲/۸۲^{b}
۱۸۰	۴/۸۵^{e}	۷۵/۹۹^{d}	۰/۱۰۳^{e}	۸/۵۱^{a}	۲/۸۴^{b}



شکل ۸- تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی پودر بهینه شده و خشک شده پاششی در دمای ۱۷۰°C

بحث

مقدار p-value در مدل‌های خطی(Linear) و اثر متقابل دو فاکتور (2FI) برای امتیاز کلی حسی در جدول ۳ نشان می‌دهند که این مدل‌ها در سطح ۰/۰۵ معنادار نیستند (p>۰/۰۵). مقدار p-value در مدل درجه دوم (Quadratic) نسبت به درجه سوم (Cubic) کمتر است. علاوه بر معنادار بودن مدل، مدلی باید انتخاب شود که عدم برازش آن معنادار نباشد. با در نظر گرفتن سطح معناداری ۰/۰۵، عدم برازش در مدل درجه دوم برای پاسخ امتیاز کلی حسی غیر معنادار است. بنابراین مدل درجه دوم برای ادامه آنالیز داده‌های امتیاز کلی حسی مورد استفاده قرار گرفت. با توجه به جدول ۴، مدل درجه دوم برای پاسخ IC50 نیز به عنوان بهترین مدل آنالیز مورد استفاده قرار گرفت. در نهایت با بهینه‌یابی مدل‌ها به این نتیجه خواهیم رسید که با افزودن ۳/۳۸۲ درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و ۲/۴۸۴ درصد (حجمی / حجمی) عرق نعنا به دوغ، نوشیدنی تولید شد که امتیاز کلی حسی ۳/۰۶۷، IC50 ۲/۰۸۴ میلی‌لیتر و مطلوبیت ۰/۹۰۴ داشت.

مطابق شکل ۸، تغییرات بیوشیمیایی تیمار بهینه طی ۶۳ روز دوره نگهداری در دمای یخچال، معنادار بود (p<۰/۰۵). این تغییرات در اثر پس اسید سازی (post-acidification) استارترهای سنتی ماست (حتی در دمای یخچال) رخ می‌دهد. برای جلوگیری از پس اسید سازی، می‌توان از کنترل pH با استفاده از شوک گرمایی در حضور کشت آغازگر ماست پیش از افزودن باکتری‌های پروبیوتیک و نگهداری در دمای یخچال استفاده کرد (Christopher *et al*., 2009). قابلیت زیستی باکتری‌های کشت استارتر طی دوره ماندگاری نوشیدنی، به طور مستقیم توسط نگهداری در دمای یخچال از طریق اثرگذاری بر قابلیت بقای سلول‌ها و به طور غیرمستقیم به واسطه تولید متابولیت‌های پادمیکروبی در فرآورده‌های تخمیری (به ویژه در صورت وجود کشت‌های حامی لاکتیکی) ، تحت تاثیر قرار می‌گیرد (Mortazavian and Sohrabvandi, 2006). دمای پایین، رشد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* و در نتیجه بیش اسیدسازی آن‌ها را محدود می‌کند. Marshal در سال ۱۹۹۲ فرآیند غیرفعال کردن گرمایی را به منظور ممانعت از پس اسید سازی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* طی دوره نگهداری در دمای یخچال پیشنهاد کرد، بدین صورت که فرآورده تخمیری در معرض دمای ۸۵°C به مدت زمان ۵ دقیقه قرار می‌گیرد. فرآیند شوک گرمایی افزون بر افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها طی دوره نگهداری در دمای یخچال، ماندگاری ماست را به دلیل تثبیت طعم فرآورده افزایش می‌دهد (Mortazavian and Sohrabvandi, 2006; Marshall, 1992).

دمای ورودی خشک‌کن عامل بسیار موثر بر روی کیفیت پودر است. هنگامی که دمای خشک‌کن به اندازه کافی بالا باشد، رطوبت سطح ذرات به سرعت تبخیر شده و پوسته آنها سخت و خشک می‌شود، بنابراین فرصتی برای تخلیه بخار موجود در ذرات پودر وجود نخواهد داشت و تخلخل پودر بیشتر می‌شود (Chegini and Ghobadian, 2007; Banat *et al*., 2002). عدم حلالیت کافی پودرهای لبنی مشکلاتی را در هنگام استفاده صنعتی از آنها ایجاد می‌کند (Rashidi *et al*., 2015). با توجه به نتایج به دست آمده، میزان حلالیت پودر خشک شده در دماهای ۱۶۵ و ۱۷۰°C نسبت به سایر نمونه‌ها بیشتر بود. کازئین‌ها در حالت طبیعی دارای مقدار زیادی آب هستند (۴/۴ میلی لیتر آب در هر گرم کازئین) و اتصال با آب از طریق پیوندهای هیدروژنی با قسمت آبدوست زنجیره پروتئین برقرار است. مقداری از قسمتهای آبدوست زنجیره پروتئینی طی خشک کردن تخریب می‌شود و طی بازسازی و با افزودن آب، جذب آب توسط کازئین‌ها به میزان حالت طبیعی نخواهد بود (Rashidi *et al*., 2015). این پدیده نیز یکی از علل کاهش حلالیت پودرهای لبنی در دماهای بیش از ۱۷۰°C است (Gaiani *et al*., 2006).

کاهش pH میزان پروتئین‌های نامحلول را که در اثر متراکم شدن و لخته شدن با لاکتوز تشکیل شده‌اند، افزایش می‌دهد (Parris *et al*., 1989; Rashidi *et al*., 2015). بنابراین در نمونه‌های پودر با توجه به کاهش pH به حدود ۴/۵ و کمتر از آن و همچنین استفاده از حرارت بیش از ۱۷۰°C و دناتوره شدن برگشت ناپذیر پروتئین‌ها، حلالیت نمونه‌های نوشیدنی در بهترین حالت حدود ۸۷/۹۰٪ بود. با توجه به جدول ۵ بهترین دمای هوای گرم ورودی برای تولید پودر ۱۷۰°C بود. به این دلیل که در این دما بیشترین درصد حلالیت و پذیرش حسی به همراه درصد رطوبت، فعالیت آبی و تغییرات رنگ مناسب مشاهده

شد.

با توجه به شکل ۱۰ سطح ذرات پودر صاف بود ولی در بعضی از آن‌ها فرورفتگی و شکستگی دیده شد. این نتایج پیشتر هم در مورد محصولات لبنی پودری که توسط خشک‌کن پاششی، خشک شده بودند؛ به اثبات رسیده بود (Hall and Hedrick, 1971).

نتیجه‌گیری

افزودن ۳/۳۸۲ درصد (حجمی / حجمی) افشره لیمو ترش و ۲/۴۸۴ درصد (حجمی / حجمی) عرق نعنا به دوغ منجر به بیشترین امتیاز کلی حسی و کمترین IC50 (بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی) شد. همچنین این نوشیدنی به مدت ۴۲ روز با کیفیت حسی مناسب، قابل نگهداری است. برای نگهداری طولانی مدت و تولید پودر نوشیدنی بر پایه دوغ توسط خشک‌کن پاششی، دمای هوای گرم ورودی ۱۷۰°C باعث بیشترین درصد حلالیت و پذیرش حسی شد.

سپاسگزاری

از مرکز تحقیقات تغذیه و معاونت پژوهشی علوم پزشکی شیراز بدلیل حمایت‌های مالی؛ و همچنین از مرکز تحقیقات و نوآوری، سازمان اتکا به دلیل حمایت‌های علمی و پژوهشی، صمیمانه قدردانی می‌شود.

منابع

بی نام. (۱۳۸۷). دوغ ساده- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۳.

مرتضویان، ا. م. (۱۳۸۶). بررسی اثرات عوامل اساسی فرمول بندی و فرایند ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها بر ویژگی‌های کیفی دوغ پروبیوتیک. رساله دکتری رشته مهندسی کشاورزی- علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران.

Altug, T. & Elmacy, Y. (2005). Sensory Evaluation in Foods. *Izmir, Meta Publication*, 130.

Banat, F., Jumah, R., Al-Asheh, S. & Hammad, S. (2002). Effect of operating parameters on the spray drying of tomato paste. *Engineering in life sciences*, 2, 403-407.

Chegini, G. & Ghobadian, B. (2007). Spray dryer parameters for fruit juice drying. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3, 230-236.

Christopher, M., Reddy, V. P. & Venkateswarlu, K. (2009). Viability during storage of two Bifidobacterium bifidum strains in set and stirred flavoured yoghurts containing whey protein concentrates. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 8, 25-31.

Eastman, J. E. & Moore, C. O. (1984). *Cold-water-soluble granular starch for gelled food compositions*. U. S. Patent. 06, 438, 088.

Ferdousi, R., Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosravi-Darani, K. & Homayouni Rad, A. (2013). Evaluation of probiotic survivability in yogurt exposed to cold chain interruption. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 12, 139-144.

Forooghi Nia, S., Abbasi, S. & Hamidi Esfahani, Z. (2007). Individual and combined effect of addition of gum tragacanth and guar gum on stabilization of Doogh. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 2, 15-25.

Gaiani, C., Scher, J ,.Schuck, P., Hardy, J., Desobry, S. & Banon, S. (2006). The dissolution behaviour of native phosphocaseinate as a function of concentration and temperature using a rheological approach. *International Dairy Journal*, 16, 1427-1434.

Hall, C. W. & Hedrick, T. I. (1971). *Drying of milk and milk products*. Westport, Connecticut, USA, AVI Publishing Co. Inc.

ISIRI (2006). Dried milk-Determination of moisture content (Reference method), Institute of Standard and Industrial Research of Iran.

Koc, B., Yilmazer, M. S., Balkir, P. & Ertekin, F. K. (2010). Spray drying of yogurt: Optimization of process conditions for improving viability and other quality attributes. *Drying Technology*, 28, 495-507.

Marshall, V. M. (1992). Inoculated ecosystems in a milk environment. *Journal of Applied Bacteriology*, 73.

Mohammadi, R., Mohammadifar, M. A., Mortazavian, A. M., Rouhi, M., Ghasemi, J. B. & Delshadian, Z. (2016). Extraction optimization of pepsin-soluble collagen from eggshell membrane by response surface methodology (RSM). *Food chemistry*, 190, 186-193.

Mohammadi, R., Rouhi, M. & Mortazavian, A. (2011). Effects of music waves on

fermentation characteristics and viability of starter cultures in probiotic yogurt. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 66**,** 193-196.

Mortazavian, A., Ehsani, M., Azizi, A., Razavi, S., Mousavi, S., Sohrabvandi, S. & Reinheimer, J. (2008). Viability of calcium-alginate-microencapsulated probiotic bacteria in Iranian yogurt drink (Doogh) during refrigerated storage and under simulated gastrointestinal conditions. *Australian journal of dairy technology*, 63**,** 25-30.

Mortazavian, A. & Sohrabvandi, S. (2006). *Probiotic and Probiotic foods*, Tehran, Ata publishing.

Parris, N., Barford, R., White, A. & Mozersky, S. (1989). Effect of processing temperature and storage time on nonfat dry milk proteins. *Journal of Food Science*, 54**,** 1218-1221.

Rashidi, K., Mashayekh, M., Mortazavian, A. M. & Amiri, Z. (2015). Effects of fat and dry matter content on some properties of Doogh powder produced in laboratory scale. *Journal of Food Science and Technology*, 12**,** 71-78.

Riaz, R. A. & Ali, A. (1986). Effect of pre heating and packaging on chemical and reconstitutional characteristics of spray-dried whole milk. *Food Science and Technology*, 23**,** 36-44.

Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian , A. M. & Sarlak, Z. (2015). Combined effects of replacement of sucrose with d-tagatose and addition of different probiotic strains on quality characteristics of chocolate milk. *Dairy Science & Technology*, 95**,** 115-133.

Sangatash, M., Jamab, M., Karajian, R ,. Nourbakhsh, R., Gholsai, F., Vosough, A. & Mohsenzadeh, M. (2011). Evaluation of microbiological contamination sources on swelling of Iranian yoghurt drink during production processes. *J Food Res*, 1**,** 45-55.

Sarlak, Z., Rouhi, M., Mohammadi, R., Khaksar, R ,.Mortazavian, A. M., Sohrabvandi, S. & Garavand, F. (2017). Probiotic biological strategies to decontaminate aflatoxin M 1 in a traditional Iranian fermented milk drink (Doogh). *Food Control*, 71**,** 152-159.

Schanda, J. (2007). *Colorimetry: understanding the CIE system*. John Wiley & Sons.

Shrestha, A. K., Howes, T., Adhikari, B. P. & Bhandari, B. R. (2007). Water sorption and glass transition properties of spray dried lactose hydrolysed skim milk powder. *LWT-Food Science and Technology*, 40**,** 1593-1600.

Son, S. & Lewis, B. A. (2002). Free radical scavenging and antioxidative activity of caffeic acid amide and ester analogues: structure-activity relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50**,** 468-472.

Tamime, A. & Robinson, R. (1999). Yogurt Science and Technology. Woodhead Publ. Cambridge, England, and CRC Press, Boca Raton, FL.