بررسی ماندگاری باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5* و تاثیر آن بر برخی خواص کیفی سس مایونز کم چرب پروبیوتیک

مریم موسوی [1*] ، مریم تاج آبادی ابراهیمی [2]، رضوان پوراحمد [3]

[1] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

[2] گروه میکروبیولوژی، واحد تهران مرکز، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[3] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

تاریخ دریافت:1392/4/27 تاریخ پذیرش: 1392/12/15

چکیده

محصولات پروبیوتیکی با ویژگی‌های ارزشمند تغذیه‌ای و درمانی، از بحث برانگیزترین موضوعات حال حاضر عرصه صنعت، تغذیه و پزشکی هستند. استفاده از مایونز کم چرب و پروبیوتیک کردن این محصول به دلیل مصرف بالای این سس در کشور می‌تواند به ارتقای سطح سلامت جامعه کمک کند. هدف از این تحقیق در درجه اول، بررسی امکان بقای باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در سس مایونز کم چرب با نگهدارنده و بدون نگهدارنده و در درجه بعد، ارزیابی تأثیرگذار بودن حضور این باکتریها بر ویژگی‌های میکروبیولوژیکی، شیمیایی و پایداری بافتی محصول طی نگهداری 8 هفته‌ای در دمای 4 °C بود. 1 گرم از پودر باکتری حاوی 10^{10} باکتری در هر گرم پودر به 10cc سس تلقیح گردید و از هر نمونه 13 سریال رقت گرفته شد. سپس رقتهای گرفته شده به محیط کشتهای انتخابی منتقل گردیدند و پلیت‌های تلقیح شده و شاهد در شرایط هوازی در دمای 37°C به مدت زمان حداقل 72 ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 از 10^7 به $2/2\times10^7$ افزایش یافت. وجود و یا عدم وجود مواد نگهدارنده تاثیری در شاخصهای میکروبیولوژی و شیمیایی پس از 55 روز نگهداری یخچالی نداشت. افزودن باکتری پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بر پایداری بافتی سس پروبیوتیک تا روز 55 نگهداری یخچالی در مقایسه با نمونه شاهد، در سطح 5%، تفاوت معناداری نداشت.

واژهای کلیدی: پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5*، مایونز کم چرب

* مسوول مکاتبات: mzm.mousavi@gmail.com

1- مقدمه

بر اساس تعریف FAO/WHO (2002) ، پروبیوتیک ها عبارتند از: "میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که اگر به مقادیر کافی مصرف شوند، در زمینه حفظ سلامت میزبان خود واجد اثرات مفیدی می‌باشند" (4 و 8).

دو گروه عمده میکروارگانیسمهای پروبیوتیک، لاکتوباسیلوسها (*Lactobacillus spp*) و بیفیدوباکتریومها (*Bifidobactrium*) هستند (16).

پروبیوتیک‌ها نه تنها به عنوان مکمل های غذایی و دارویی بلکه در تهیه فراورده های لبنی، آب میوه‌ها، شکلات‌ها و حتی فرآورده‌های گوشتی نیز به کار می‌روند. پروبیوتیک‌ها در مجرای گوارشی تکثیر شده و با تولید متابولیتهای آنتاگونیستی با میکروفلور ساپروفیت رقابت می‌کنند. این توانایی در بین باکتری‌های اسید لاکتیک مانند لاکتوباسیلها و بیفیدوباکترها وجود دارد (3، 15) .

مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده است که خوردن و استعمال منظم پروبیوتیک‌ها ممکن است سبب کاهش خطر ابتلا به سرطان، بهبود سلامت قلب، بهبود سیستم ایمنی بدن، کاهش علایم یائسگی، بهبود سلامت دستگاه‌های گوارش و ادراری، بروز اثرات ضدالتهابی، ضدمیکروبی و ضدویروسی، کاهش فشارخون، جلوگیری از افزایش وزن و چاقی، جلوگیری از عفونت های ناحیه ادراری- تناسلی و درمان بیماری های آلرژیک مثل اگزما شود (6) .

تداوم و میزان مصرف پروبیوتیک‌ها بر ایفای نقش های مفید درمانی آنها مؤثر است. دریافت روزانه 10^8 تا 10^9 باکتری زنده، به عنوان حداقل تعداد قابل قبول مطرح شده است. بنابراین، مصرف روزانه 100 گرم محصول پروبیوتیک دارای 1×10^6 تا 5×10^8 cfu باکتریهای زنده در هر گرم فرآورده می تواند حد بهینه مورد نظر را تأمین کند (3، 7).

تحقیقات گسترده نشان داده است که تعداد باکتری های پروبیوتیک طی نگهداری یخچالی به ویژه در محیط های اسیدی، به طور معنادار کاهش می یابد، بنابراین، حفظ تعداد این باکتری ها طی نگهداری دارای اهمیت فراوان است (14).

سس مایونز اولین بار در سال 1756 توسط یک سر آشپز فرانسوی ساخته شد و تا به امروز جزء یکی از پرمصرف ترین مواد غذایی در دنیا به شمار می رود. مایونز گذشته از طعم مطلوبی که به عنوان چاشنی به انواع سالادها و ساندویچ‌ها می دهد به لحاظ دارا بودن مواد اولیه ای مانند تخم مرغ، نقش موثری در تامین مواد مغذی وانرژی زا برای انسان دارد. با وجود این ، مصرف سس مایونز به علت دارا بودن مقادیر فراوان روغن (حداقل 65% طبق استاندارد ملی ایران) توصیه نمی‌گردد. سس مایونز کم چرب فرآورده غذایی نیمه جامد یا سیال است که از امولسیون شدن جانشین‌های چربی و روغنهای گیاهی به همراه سرکه و افزودنیهای دیگر آماده می‌شود که دارای انرژی و چربی کمتر از سس مایونز و سس‌های سالاد می‌باشد. امروزه در صنعت به منظور کاهش چربی مایونز، سس‌های رژیمی تولید می‌شود. این سس‌ها اغلب دارای پایه نشاسته، ژل و یا سایر ترکیباتی هستند که بافت محصول را به سس مایونز نزدیک می کند (2، 13).

مهمترین فرضیات تحقیق حاضر یکسان بودن خواص حسی مایونز کم چرب پروبیوتیک با مایونز موجود در بازار و همچنین زنده مانی باکتریهای پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مایونز کم چرب تا زمان مصرف به منظور ایفای خواص سلامت بخش آنها در مصرف کننده می باشد.

هدف پژوهش حاضر تولید سس مایونز کم چرب پروبیوتیک است که یک فرآورده پروبیوتیک غیرتخمیری می باشد و علاوه بر سرعت زیاد فرآیند تولید آن (به دلیل عدم وجود مرحله تخمیر)، می‌تواند میکروارگانیسمهای پروبیوتیک را با قابلیت زیستی مطلوب به مصرف کننده برساند (10). ضمن اینکه در این پژوهش از هر دو نوع سس مایونز با نگهدارنده و بدون نگهدارنده به منظور بررسی تاثیر مواد نگهدارنده بر زنده مانی باکتریها استفاده شده است.

با توجه به اینکه در کشورمان محدوده تحقیقات انجام شده در زمینه محصولات پروبیوتیکی در خصوص شیر و فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک می باشد و در مورد سس مایونز پروبیوتیک فقط یک مطالعه در خارج از ایران شده است، لذا در اثر نیاز جامعه به تولید غذاهای با ارزش غذایی بالا و عملگرا تولید سس مایونز کم چرب پروبیوتیک با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5)* برای اولین بار در کشور مورد مطالعه و تولید قرارگرفته است.

2- مواد و روش‌ها

مواد مورد استفاده در فرمولاسیون سس مایونز کم چرب در جدول 1 نشان داده شده است.

جدول 1- مقدار ترکیبات مورد استفاده در فرمولاسیون سس مایونز با نگهدارنده

نوع ترکیب	درصد	نوع ترکیب	درصد
CMC	0/2	روغن	30
شکر	5/5	آب	47/12
نمک	2/5	سرکه	7/5
اسید سیتریک	0/11	تخم مرغ	4/5
بنزوات سدیم	0/0348	گزانتان گام	0/4
سوربات‌پتاسیم	0/0348	گوارگام	0/07
نشاسته	1/61	پودر خردل	0/42

نگهدارنده بکار رفته در مایونز بنزوات سدیم و سوربات پتاسیم می باشد که در تولید مایونز بدون نگهدارنده، این دو ماده حذف شدند. در پژوهش حاضر به منظور تهیه هریک از تیمارها ابتدا آب، مواد پودری و تخم مرغ درون هم زن ریخته شد و پس از اختلاط کامل (به مدت 2 دقیقه) به تدریج ابتدا روغن به صورت قطره قطره و پس از آن به صورت لایه‌ای باریک طی مدت 7 دقیقه اضافه شد. پس از تشکیل امولسیون و ایجاد بافتی مناسب، درآخر سرکه به مخلوط اضافه گردید(1).

2-1 تهیه و کشت باکتری مورد آزمون

در این تحقیق ازکشت باکتریایی تجاری شامل کشت تک سویه لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس*[1] به صورت خشک شده انجمادی از شرکت کریستین هنسن (Chr- Hansen) دانمارک استفاده شد. کشت باکتری پروبیوتیک به صورت درصد وزنی در شرایط آسپتیک مورد استفاده قرار گرفت. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط کشت MRS Broth به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتیگراد و 10% دی اکسید کربن کشت و تکثیر گردید(9).

محیط کشتهای مورد استفاده MRS Agar و MRS Broth از شرکت Merck آلمان بود.

[1] *Lactobacillus acidophilus La-5*

2-2 شاخص‌های مورد آزمون

2-2-1 تعیین pH

سنجش pH با استفاده از pH متر (متروم مدل 691 – سوئیس) و اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون با استفاده از استاندارد ملی ایران با شماره 2454، پس از گذشت 24 ساعت اندازه‌گیری شد(11، 12).

2-2-2 اندازه گیری اسیدیته قابل تیتر

برای اندازه گیری اسیدیته قابل تیتر، 1 گرم از نمونه با 10cc آب مقطر در ارلن ریخته شد و با سود 0/1 نرمال در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد. مقدار این شاخص بر حسب درجه دورنیک از فرمول زیر محاسبه شد: (11، 12)

اسیدیته قابل تیتر (درجه درنیک) = حجم سود مصرفی (میلی‌لیتر) × 0/6

2-3 ارزیابی حسی و شاخص پایداری بافتی

موارد بررسی شده در ارزیابی حسی رنگ، طعم، بو و بافت محصول نهایی بود. در مورد ویژگی بافت (یکنواختی و سفتی)، قوام سس مایونز مد نظر بود بدین صورت که تیمارهایی که پس از برداشتن با قاشق دارای بافت با ثبات تری باشد، دارای امتیاز بیشتری بودند.

2-3 تعیین تعداد باکتریها در هر گرم از پودر

در شرایط آسپتیک 1 گرم پودر باکتری در 9cc محلول رینگر حل و 13 رقت از آن آماده شد. سپس کشت آماده شده به پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS Agar منتقل شدند و در دمای 37 درجه سانتیگراد به مدت 72 ساعت گرمخانه گذاری شدند. باکتریهای لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* در انکوباتور CO_2 دار قرار داده شدند. تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* 10^{10} در هر گرم پودر باکتری بود که مقدار مناسب و قابل قبولی است (2).

2-4 تلقیح باکتری پروبیوتیک به نمونه‌ها

2 لوله آزمایش استریل که یکی از آنها حاوی 10cc سس بدون نگهدارنده و دیگری حاوی 10cc سس با نگهدارنده بودند آماده گردید و به هر کدام از آنها 1 گرم از پودر لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* تلقیح گردید و از هر نمونه در 13 لوله آزمایش که حاوی 9cc محلول رینگر بود، سریال رقت گرفته شد.

در مرحله بعد به میزان 1000µL از رقتهای گرفته شده از هر 2 نمونه، به محیط کشت MRS Agar تلقیح شدند و پلیت‌ها در شرایط هوازی در دمای 37°C به مدت زمان حداقل 72 ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (9).

سپس نمونه های سس تلقیح شده به یخچال منتقل شدند (دمای 4°C) و در طی دوره نگهداری یخچالی، هر 25 روز به مدت 55 روز بررسی گردیدند (0- 25-55 روز).

5-2 رشد و بقای میکروبی

برای بررسی بقای باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی نگهداری محصول و تأثیر آن بر ویژگی های سس پروبیوتیک و مقایسه با نمونه شاهد، نمونه برداری بلافاصله بعد از تلقیح و در روزهای 25 و 55 ، در نمونه‌های پروبیوتیک و نمونه شاهد انجام شد(9).

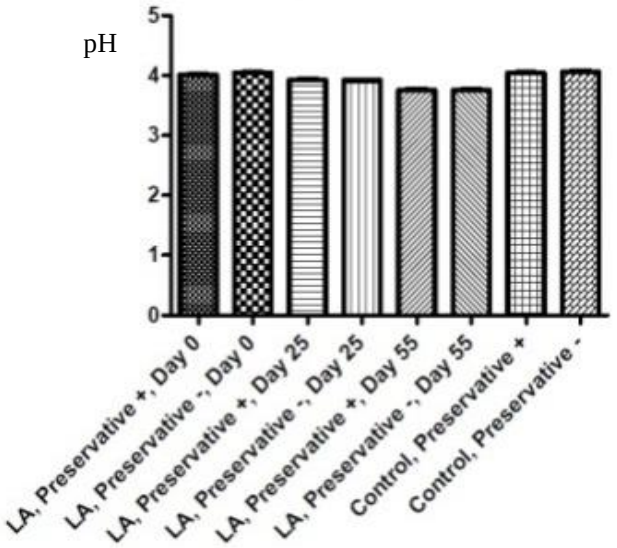
6-2 روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

اطلاعات این پروژه بوسیله نرم افزار Prism (version 5.00) با طرح پایه کاملا تصادفی انجام شد. همچنین با توجه به اینکه این آزمایش در دوره های ماندگاری 3 زمانه کنترل شد، اثر زمان نیز به عنوان اثر اصلی در نظر گرفته شد.

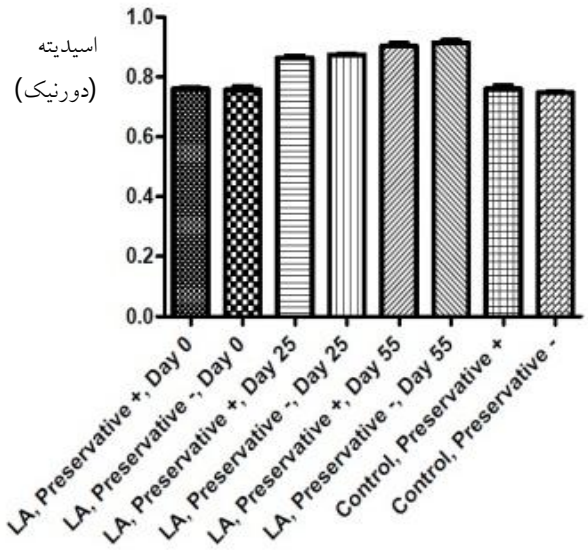
3- نتایج و بحث

بیشترین کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیتر طی 8 هفته نگهداری یخچالی در روز 55، به ترتیب در تیمارهای دارای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5 بدون نگهدارنده و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس حاوی نگهدارنده بودند (شکل‌های 1 و 2 ، جدول 2)

با این وجود pH کلیه تیمارهای تلقیح شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محدوده pH استاندارد مایونز و سسهای سالاد (pH<4/1) قرار داشت. همچنین اسیدیته کلیه تیمارها نیز در محدوده استاندارد تصویب شده قرار داشت (TA>0/6) که مطابق استاندارد ملی ایران شماره 2454 بود.



شکل 1- تغییرات pH در تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی 55 روز نگهداری یخچالی



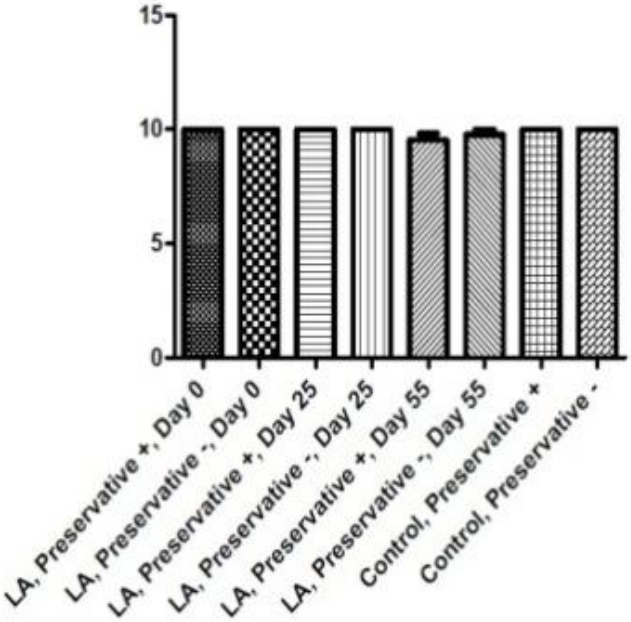
شکل 2- تغییرات اسیدیته قابل تیتر در تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی 55 روز نگهداری یخچالی

جدول 2- میانگین pH و اسیدیته قابل تیتر کلیه تیمارها

تیمار	pH	اسیدیته قابل تیتر
PA(0)	3/9[a]	0/7[a]
PA(25)	3/85 [b]	0/77[b]
PA(55)	3/7 [c]	0/80[c]
WA(0)	3/87 [a]	0/7[a]
WA(25)	3/78 [b]	0/79[b]
WA(55)	3/69 [c]	0/85[c]
P(0,25,55)	4/00 [a]	0/7[a]
W(0,25,55)	4/00 [a]	0/7[a]

میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند ($P < 0.05$).

PA: تیمار با نگهدارنده + لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، WA: تیمار بدون نگهدارنده + لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس P: تیمار شاهد با نگهدارنده، W: تیمار شاهد بدون نگهدارنده



شکل 3- تغییرات بافت در تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس طی 55 روز نگهداری یخچالی

طبق اطلاعات بدست آمده از جدول شماره 3 در روز صفر و بلافاصله پس از تلقیح، بین تعداد لاکتوباسیلوس‌ها در نمونه شاهد و تیمارهای حاوی نگهدارنده تلقیح شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس اختلاف معناداری مشاهده شد($P<0.05$) (مقایسه زیستی طی 55 روز نگهداری یخچالی در هر تیمار)، بطوری که جمعیت نهایی لاکتوباسیلوس‌ها در تمامی تیمارهای تلقیح شده با این باکتریها به جز تیمار WA، در پایان روز 55 نگهداری بطور معناداری بیشتر از روز صفر بود ($P<0.05$).

در پایان دوره 55 روزه ، بافت (یکنواختی و سفتی)، رنگ، طعم و بو در تیمارهای دارای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بدون نگهدارنده دارای امتیاز پایینتری نسبت به تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس حاوی نگهدارنده بود اما این تفاوت معنادار نبود(شکل 3).

جدول 3- میانگین تعداد باکتریهای پروبیوتیک در محیط MRS Agar طی 55 روز نگهداری یخچالی

تیمارها	دوره نگهداری (روز)		
	0	25	55
PA	$1\times10^{7\,a}$	$2/1\times10^{7\,b}$	$2/2\times10^{7b}$
WA	1×10^{7a}	$10^{7\,b}$	$1/2\times10^{7\,b}$
P	$0^{\,a}$	$0^{\,a}$	$0^{\,a}$
W	$0^{\,a}$	$0^{\,a}$	$0^{\,a}$

*میانگین هایی که در یک ستون با حروف متفاوت نشان داده شده اند، به طور معنادار با یکدیگر متفاوتند ($P < 0.05$).

**PA: تیمار با نگهدارنده + لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، WA: تیمار بدون نگهدارنده + لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس P: تیمار شاهد با نگهدارنده، W: تیمار شاهد بدون نگهدارنده

بطور کلی بیشترین شدت تغییرات طی 8 هفته نگهداری یخچالی در روز 55، به ترتیب در تیمارهای دارای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بدون نگهدارنده و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس حاوی نگهدارنده بودند.

با توجه به رشد سلولهای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5 از زمان تلقیح تا پایان هفته هشتم، افزایش قابلیت زیستی این گونه می‌تواند به دلیل رشد مطلوب در دمای یخچالی و نیز پروتئولیتیک بودن آنها باشد. نتایج حاصله با یافته‌های AnaLúcia و همکاران در سال 2011 که در مورد تلقیح لاکتوباسیلوس کازئی در آب سیب تحقیق کرده بود، همخوانی داشت (5).

این محققین نشان دادند که افزودن لاکتوباسیلوس کازئی به آب سیب تخمیری، روش مناسبی برای تولید آب سیب پروبیوتیکی است و تغییری در خصوصیات حسی محصول در مقایسه با آب سیب معمولی ایجاد نمی‌کند (5).

تیمارهای حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محدوده زمانی 55-25 روز نگهداری یخچالی، بیشترین تغییرات بیوشیمیایی را در شاخص های pH و اسیدیته قابل تیتر متحمل شدند، اما این امر باعث نامناسب شدن محیط برای ماندگاری پروبیوتیک ها و کاهش قابلیت زیستی آنها بعد از روز 55 نشد. این مسأله با پژوهش روحی لنگرودی در سال 1390 که در مورد شیر کاکائو پروبیوتیکی بود همخوانی نداشت. دلیل عدم کاهش باکتریهای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ممکن است آداپته شدن سریع با شرایط محیطی متفاوت، رشد ملایم، توانایی رشد در شرایط اسیدی، خاصیت پروتئولیتیکی و مقاوم بودن به شرایط نامساعد حاصل از تخمیر باشد.

4- نتیجه گیـری

مقایسه شاخص‌های شیمیایی، میکروبیولوژیکی، حسی و شاخص پایداری بافتی در تیمارهای مورد آزمون با شاهد (بدون تلقیح کشت پروبیوتیک) در روز 55 نگهداری یخچالی با روز صفر نشان داد که تنها عامل ایجاد تغییرات در این شاخص‌ها در سس مایونز، تخمیر توسط میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک تلقیح شده بوده است. بطور کلی از لحاظ قابلیت زیستی، همه تیمارها طی 55 روز نگهداری یخچالی دارای حداقل جمعیت قابل قبول پروبیوتیک‌ها (10^7cfu/ml) برای مایونز بودند.

5- منابع

1- امیرکاویی، ش.، 1384. تولید سس‌های سالاد کم کالری .پایان نامه ی کارشناسی ارشد، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس ص 118.

2- پورجعفر، ه. ح. میرزایی، ع. همایونی‌راد 1390. بررسی ویژگی‌های ریخت شناسی و حفاظتی دانک های حاصل از ریزپوشانی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به عنوان فلور طبیعی و غالب روده انسان. *مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ارتش جمهوری اسلامی ایران*، سال نهم شماره 4 ، 240-233.

3- روحی لنگرودی، م. 1390. فرمولاسیون شیر کاکائو پروبیوتیک با قند جایگزین T تاگاتوز. پایان نامه کارشناسی ارشد، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شهید بهشتی، 24-10.

4-خسروی دارانی، ک. کوشکی، م.ر. 1387. پروبیوتیک ها در شیر و فرآورده های آن. جلد اول. انتشارات مرز دانش. تهران، صفحات 1-45.

5- Ana Lúcia, F.P. Tatiane, C.M. and Sueli, R. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Research International*, 44(5):1276– 1283.

6- Cross, M.L. 2002. Microbes versus microbes: Immune signals generated by probiotic Lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. Federation of European Microbiological *Societies Immunology and Medical Microbiology*, 34(4): 245-253.

7- Cruz, A. G. Antunes, A. E.C. Sousa, A. O. P. Faria, J. A. F. Saad, S. M. I. 2009. Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9): 1233–1239.

8- Depree, J. A. and Savage, G. P. 2001. Physical and flavour stability of mayonnaise. *Trends in Food Science and Technology*, 12(5-6): 157– 163.

9- Khalil, A. H. & Mansour, E. H. 1998. Alginate encapsulated Bifidobacteria survival in mayonnaise. *Journal of Food Science*, 63(4): 702–705.

10- Maragkoudakis, P. A. Miaris, C. Rojez, P. Manalis, N. Magkanari, F. Kalantzopoulos, G. Tsakalidou, E. 2006. Production of traditional Greek yoghurt using Lactobacillus strains with probiotic potential as starter adjuncts. *International Dairy Journal*, 16(1): 52–60.

11- Mortazavian, A.M. Ehsani, M.R. Mousavi, S.M. Sohrabvandi, S. and Reinheimer, J. 2009. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic microorganism in yogurt. *International Journal of Dairy Technology*, 60(2): 123-127.

12- Mortazavian, A.M, Ehsani, M.R. Sohrabvandi, S. and Reinheimer, J.A. 2007. MRS bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. *Milchwissenschaft*, 62(3) 270-272.

13- Mun, S. Kim, Y.L. Kang, C. Kang, C. Shim, J. Kim, Y. 2009. Development of reduced-fat mayonnaise using 4[alpha] GTase- modified rice starch and Xanthan gum. *International Journal of Biological Macromolecules*. 44(5): 400-407.

14- Picot, A. Lacroix, C. 2004. Encapsulation of Bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yogurt. *International Dairy Journal*, 14 (6): 505-515.

15- Reuter, G. 2001. Probiotics possibiliter and limitations of their application in food, animal feed and in pharmaceutical preparations for men and animals. *Berl Munch Tieraztl Wochenschr*, 114(11):410-419.

16- Hu¨tt, J. Shchepetova, K. Lo˜ivukene, T. Kullisaar and Mikelsaar, M. 2006. Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against entero- and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology* 100(6):1324–1332.