مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲، صفحات ۴۸-۳۹

تأثیر ریزپوشانی با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم ذرت بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و خصوصیات حسی در کرم مغزی کیک

محمد علی خسروی زنجانی[۱]، بابک غیاثی طرزی[۲]، انوشه شریفان[۲]، حسین باخدا[۳]، نیما محمدی[۴]

۱- نویسنده مسئول: دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد علوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی
پست الکترونیکی : mohammadali_khosravi66@yahoo.com
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۳- استادیار گروه مکانیزاسیون کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۶/۲۵

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات فراوانی روی سودمندی مصرف پروبیوتیک‌ها انجام شده است. هدف این مطالعه، تولید کرِم مغزی کیک حاوی پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده و بررسی نتایج آن با توجه به فواید سلامتی‌بخش بودن و پذیرش حسی محصول از طرف مصرف‌کنندگان بود.

مواد و روش‌ها: لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC 1608) به وسیله‌ی آلژینات کلسیم و نشاسته‌ی مقاوم ذرت، ریزپوشانی شد. تأثیر ناشی از ریزپوشانی روی زنده‌مانی، pH و ویژگی‌های حسی کیک، در طول ۴۰ روز نگهداری در دماهای ^{o}C ۴ و ^{o}C۲۵ و روند اسیدی شدن طی ۴۸ ساعت در محیط کشت MRS مایع، در مقایسه با حالت آزاد ارزیابی شد. اندازه و شکل کپسول‌ها به وسیله میکروسکپ نوری بررسی شد.

یافته‌ها: تغییرات pH محصول حاوی لاکتوباسیلوس کازئیِ ریزپوشانی شده در مقایسه با نوع آزاد کمتر بود. بررسی روند اسیدی شدن نشان داد که لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده، اسید کمتری در مقایسه با حالت آزاد تولید کرده است. بقای لاکتوباسیلوس کازئی به دلیل حفاظت سلول‌ها به وسیله ریزپوشانی، افزایش یافت و پروبیوتیک‌ها در دمای پایین(^{o}C۴) زنده‌مانی بهتری نشان دادند، هم‌چنین افزودن پروبیوتیک‌ها در حالت آزاد و ریزپوشانی شده، تأثیر معنی‌داری روی بافت، رنگ، طعم و بد طعمی محصول نهایی در طول نگهداری نداشت($P>۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: باکتری‌های ریزپوشانی شده و آزاد تأثیر قابل ملاحظه‌ای بر روی ویژگی‌های حسی محصول ندارد. ریزپوشانی به زنده‌مانی بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک در محصول طی مدت نگهداری کمک می‌کند.

واژگان کلیدی: ریزپوشانی، کرم مغزی کیک، آلژینات کلسیم، نشاسته‌ی مقاوم ذرت، لاکتوباسیلوس کازئی

• مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌هایی هستند که اگر به تعداد کافی و به صورت زنده به روده برسند، اثرات سلامتی‌بخش در میزبان بر جای می‌گذارند (۱). از اثرات سلامتی بخش پروبیوتیک‌ها می‌توان به حفظ میکروفلور طبیعی روده، تقویت سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول خون و خواص ضد جهش‌زایی و ضد سرطانی آن‌ها اشاره کرد (۳، ۲). بر اساس استانداردها، برای بروز ویژگی‌های سلامتی بخش پروبیوتیک‌ها باید به تعداد $۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۷}$ cfu از این باکتری‌ها در هر گرم ازمحصول پروبیوتیک وجود داشته باشد (۵، ۴). پری‌بیوتیک‌ها (prebiotics) هم ترکیباتی غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک هستند که رشد یا فعالیت پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کنند، مانند نشاسته‌ی مقاوم ذرت، فروکتوالیگوساکاریدها و گالاکتوالیگوساکاریدها (۶).

گرایش به مواد غذایی پروبیوتیک که از فراورده‌های حاصل از شیر نیستند (non dairy products) در بسیاری از نقاط جهان سبب شده است که امروزه پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی، نظیر انواع غلات صبحانه، غذای کودک و شکلات‌ها مورد استفاده قرار گیرند (۸، ۷). فراورده‌های حاصل از غلات مانند نان، کیک و سایر فراورده‌های آردی و قنادی، منبع

غنی و بسیار خوبی از پروتئین‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی هستند و قشر وسیعی از مردم از جمله کودکان از مصرف‌کنندگان اصلی انواع مختلف این نوع محصولات به شمار می‌روند. بنابراین، تبدیل این محصولات به مواد غذایی عملگرا (functional foods)، می‌تواند نقش مهمی در بهبود سطح سلامت جامعه داشته باشد (۹-۷). از آن جا که پروبیوتیک‌ها در فراوردهای حاصل از غلات و قنادی به علت مغذی نبودن محیط پایه‌ی این فراورده‌ها و هم‌چنین عدم وجود فرایند تخمیر و فعالیت آبی پایین این محصولات رشد و تکثیر محسوس ندارند (۱۰-۷) تکنیک‌های مختلف ریزپوشانی برای افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در این محصولات مورد استفاده قرار گرفته‌اند(۱۰- ۸).

ریزپوشانی (microencapsulation) به عنوان یکی از نوین‌ترین شیوه‌ها عبارت است از پوشش دادن سلول‌های ریز زنده توسط لایه‌ای از هیدروکلوئید در مقیاس میکروسکوپی به منظور محصور کردن و تفکیک کردن آن‌ها از محیط که در نتیجه‌ی آن، زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در شرایط مختلف محیطی افزایش می‌یابد (۱۲، ۱۱، ۹). پروبیوتیک‌ها به صورت ریزپوشانی شده و آزاد در محصولات مختلفی تلقیح شده‌اند؛ مثل: ماست (۱۳، ۵)، دسر یخ زده (۱۴)، شیر(۱۵)، شیر یخزده (۱۶)، شکلات (۱۷)، بستنی (۱۸)، سس مایونز (۲۰، ۱۹)، سوسیس (۲۲، ۲۱)، آب میوه‌ها و سبزی‌ها (۲۵-۲۳)، محصولات بر پایه غلات (۲۷، ۲۶)، غذای کودک (۸)، نان (۲۸)، ماهی (۳۰، ۲۹)، دسر (۳۱، ۲)، پنیر (۳۲). هم‌چنین، تلقیح آن‌ها در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش صورت گرفته است (۳۳، ۴).

آلژینات‌کلسیم به میزان گسترده در ریزپوشانی باکتری‌های لاکتیکی و پروبیوتیک‌ها به کار رفته است. آلژینات، پلی‌ساکاریدی خطی و ناهمگن (linear heteropolysaccharide) است که از جلبک‌های گوناگون استخراج می‌شود. D - مانورونیک اسید و L – گلوکورونیک اسید واحدهای تشکیل‌دهنده‌ی آن هستند که با پیوندهای گلیکوزیدی به هم متصل شده‌اند (۳۵، ۳۴، ۱۴). از مزایای ریزپوشانی با آلژینات می‌توان به فناوری آسان و سهولت کار، سمی نبودن آن، ارزان بودن و این که به عنوان افزودنی مجاز غذایی شناخته شده است اشاره کرد (۳۶، ۳۵، ۱۴). کپسول‌های آلژینات را می‌توان به روش‌های امولسیون و اکستروژن (extrusion) تهیه کرد (۱۱). مخلوط کردن آلژینات کلسیم با نشاسته‌ی 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 (۱۳).

پروبیوتیک‌ها در پژوهش‌های مشابه به صورت آزاد و ریزپوشانی نشده در موس شکلاتی (۲) و بافت محصولات بر پایه غلات (۲۷، ۲۶، ۱۰) و ریزپوشانی شده در شکلات سیاه و شیری (۱۷)، بافت نان (۲۸) و غذای کودک (۸) تلقیح شده‌اند. اما تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر تلقیح پروبیوتیک‌ها در کرم مغزی کیک منتشر نشده است. هدف از پژوهش حاضر این است که زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی به صورت ریزپوشانی شده و آزاد در مدت زمان نگهداری بررسی شود و اثرات آن روی ویژگی‌های حسی محصول ارزیابی شود.

• مواد و روش‌ها

آماده سازی باکتری‌های پروبیوتیک: لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei* PTCC 1608) به صورت خالص و لیوفیلیزه از کلکسیون *سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران* خریداری و در ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت MRS مایع (Merck Germany) در دمای $37\ ^{o}C$ به مدت ۲۴ ساعت فعال شدند. سپس نمونه‌ی حاصل در ۹۵ میلی‌لیتر محیط کشت MRS مایع تلقیح شد و تحت شرایط فوق تکثیر شد. بیومس حاصل به وسیله‌ی سانتریفوژ ۱۵۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه در دمای $25\ ^{o}C$ جدا سازی شد و در دو مرحله با محلول استریل ۰/۱ درصد آب پپتونه شسته شد (۳۳).

ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها: ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با استفاده از روش امولسیون و در شرایط استریل انجام شد. ابتدا ۳ گرم آلژینات‌سدیم (شرکت Sigma- Aldrich، آمریکا) و ۲ گرم نشاسته‌ی مقاوم ذرت (شرکت national starch، انگلستان) به آرامی به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. پس از حل شدن در اتوکلاو استریل شد. پس از آن که محلول با محیط هم‌دما شد، محلول آلژینات با سوسپانسیون میکروبی (۱/۰٪) به مدت ۵ دقیقه مخلوط شد تا همگن شود. برای تشکیل امولسیون، مخلوط حاصل به ۵۰۰ میلی‌لیتر روغن ذرت حاوی ۰/۲ درصد امولسیفایر توئین ۸۰ (شرکت Merck ، آلمان) ریخته شد. با استفاده از همزن مغناطیسی (سرعت ۵۰۰ rpm) به مدت ۳۰ دقیقه امولسیون یکنواختی تشکیل شد. به منظور تشکیل کپسول‌ها به محلول مورد نظر،کلرید کلسیم ۰/۱ مولار اضافه و پس از ۳۰ دقیقه که کپسول‌ها ته نشین شدند، به منظور

جداسازی کپسول‌ها از سانتریفوژ ۳۵۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. کپسول‌های جدا شده با محلول آب پپتونه ۰/۱ درصد شسته و در دمای ^{o}C ۴ نگهداری شد (۱۸، ۱۳).

شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در کپسول‌ها: ۱ گرم از کپسول‌های تهیه شده با ۹ میلی‌لیتر محلول استریل بافر فسفات ۰/۱ مولار به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق هم زده شد تا کپسول‌ها به طور کامل حل و باکتری‌ها آزاد شوند. سپس باکتری‌ها در محیط MRS آگار کشت داده شدند و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ^{o}C ۳۷ گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش باکتری‌ها در ۳ تکرار صورت پذیرفت (۱۹). برای شمارش تعداد باکتری‌ها در کرم مغزی کیک، ۱۰ گرم از کرم کیک را با ۹۰ میلی‌لیتر محلول استریل بافر فسفات ۰/۱ مولار پراکنده کرده و به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه استومکر (شرکت Funk Gerber، آلمان) هم زده شده تا باکتری‌ها به طور کامل آزاد شدند. سپس با استفاده از محیط MRS آگار، مطابق روش ذکر شده شمارش صورت گرفت (۱۳).

بررسی شکل و اندازه‌ی کپسول‌ها: شکل ذرات به وسیله میکروسکپ نوری (مدل Motic BA300) با بزرگنمایی ×۴۰ بررسی شد. برای تعیین اندازه‌ی ذرات از میکروسکپ نوری (مدل Leica DMLB) استفاده شد. قطر کپسول‌ها به وسیله‌ی آنالیز تصویری نرم‌افزار Leica Qwin 550 برای ۱۱۰ نمونه‌ی تصادفی ریزپوشانی شده محاسبه شد.

بررسی فعالیت متابولیکی و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در داخل کپسول‌ها: به منظور بررسی تأثیر کپسول‌ها بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی به صورت آزاد($۲/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/ml) و ریزپوشانی شده ($۲/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/g) به طور جداگانه در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MRS مایع در دمای ^{o}C ۳۷ گرمخانه گذاری شد. تغییرات pH محیط کشت برای هر نمونه به مدت ۴۸ ساعت مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در داخل کپسول‌ها، کپسول‌ها محلول بافر فسفات شکسته شدند و شمارش مستقیم پروبیوتیک‌های آزاد شده انجام گرفت.

تهیه‌ی کرم مغزی کیک: کرم مغزی کیک، با استفاده از این مواد تهیه شد: شکر (۲۱/۸ ٪)، نشاسته‌ی ذرت (۷/۲٪)، پودر شیر پس‌چرخ (۶/۵٪)، روغن (۲۸ ٪)، لسیتین (۰/۶ ٪)، مونوگلیسرید (۲ ٪)، شربت اینورت (۱۹/۳ ٪)، آب (۱۴٪)، نمک (۰/۳٪) و اسانس وانیل (۰/۳٪). تغییرات pH کرم مغزی طبق استاندارد ملی ایران (شماره‌ی ۳۷) به وسیله‌ی دستگاه pH متر (مدل pH 537 Weilheim، شرکت Heydolph، آلمان) انجام گرفت (۳۷). a_w کرم مغزی به وسیله دستگاه Novasina Axair AG (سوئیس) سنجیده شد (۲). سپس در دمای ^{o}C ۲۵ پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده به طور جداگانه به کرم مغزی تلقیح شد. به طوری که در هر گرم از کرم مغزی cfu ۵×۱۰^{۱۱} باکتری وجود داشت. سپس کرم مغزی به وسیله‌ی سرنگ استریل به داخل کیک‌های اسفنجی که از قبل پخته شده و با محیط هم‌دما شده بودند، تزریق شد. کیک‌ها بسته‌بندی و در دو دمای مختلف (۴ و ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد) به مدت ۴۰ روز نگهداری شدند.

ارزیابی حسی کرم مغزی: برای ارزیابی حسی یک پانل شامل ۱۰ نفر از افراد آموزش دیده، نمونه‌های کیک‌های حاوی کرم مغزی را به صورت مجزا در دمای اتاق ارزیابی کردند. فرایند با استفاده از یک سری ویژگی مهم کرم مغزی از قبیل طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی سنجیده شد. امتیازها براساس نمره‌دهی هدونیک از ۱ تا ۸ (امتیاز ۸ برای بهترین و امتیاز ۱ برای بدترین حالت) در نظر گرفته شد (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری: طراحی آزمایش‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. مقایسه‌ی بین نتایج به دست آمده به وسیله‌ی آزمون‌های آماری چنددامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار $SPSS_{20}$ انجام شد. برای ارزیابی حسی آزمون ناپارامتری فریدمن به کار رفت.

• یافته‌ها

بررسی فعالیت پروبیوتیک‌ها در داخل کپسول‌ها: به منظور بررسی تأثیر کپسول‌ها بر فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک، تغییرات pH محیط کشت توسط لاکتوباسیلوس کازئی آزاد و ریزپوشانی شده تلقیح شده در ۵۰ میلی‌لیتر محیط کشت MRS مایع طی ۴۸ ساعت ارزیابی شد (جدول ۱). کاهش pH برای لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده کمتر از نوع آزاد در مدت زمان مشابه بود و زمانی که طول کشید تا باکتری‌های ریزپوشانی شده pH محیط را تا میزان مشخصی کاهش دهند، به طور معنی‌داری بیشتر از نوع آزاد بود ($P<۰/۰۵$). به طور مثال، زمانی که به طول انجامید تا لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی

شده pH محیط را از ۶ به ۵/۲ برساند، حدود ۲۴ ساعت بود، اما این زمان برای لاکتوباسیلوس کازئی آزاد حدود ۸ ساعت بود.

تعیین اندازه و شکل ظاهری کپسول‌ها: مشاهده با میکروسکپ نوری نشان داد (شکل ۱) که کپسول‌ها کروی هستند. قطر میانگین ۱۱۰ نمونه‌ی کپسول با استفاده از آنالیز تصویری حدود ۲/۳ ± ۱۲۰ میکرومتر محاسبه شد.

تغییرات pH کرم مغزی طی نگهداری: تغییرات pH در طول نگهداری در دمای ^{o}C ۴ به مدت ۴۰ روز در جدول ۲ نشان داده شده است. pH نمونه‌های شاهد در طول نگهداری تغییر نکرد. pH نهایی پس از ۴۰ روز نگهداری کرم مغزی با لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده بیشتر از کرم مغزی تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی به صورت آزاد بود. برای مثال، pH برای لاکتوباسیلوس کازئی آزاد بعد از ۲۰ روز نگهداری، به ۵/۵۹ رسید، در حالی که برای پروبیوتیک ریزپوشانی شده حتی پس از ۴۰ روز نگهداری در کرم مغزی pH به ۵/۵۹ نرسید.

زنده‌مانی باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده در کرم مغزی: تأثیر دمای ^{o}C ۲۵ و ^{o}C ۴ بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده و آزاد طی ۴۰ روز نگهداری در شکل ۲ نشان داده شده است. با مقایسه‌ی این نمودارها نقش و تأثیر ریزپوشانی در طی نگهداری قابل ملاحظه بود. زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی آزاد و ریزپوشانی شده در کرم مغزی پس از ۴۰ روز نگهداری در جدول ۳ نشان داده شده است. با توجه به یافته‌های حاصل، لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده زندمانی بیشتری را در مقایسه با حالت آزاد نشان داد ($P<۰/۰۵$).

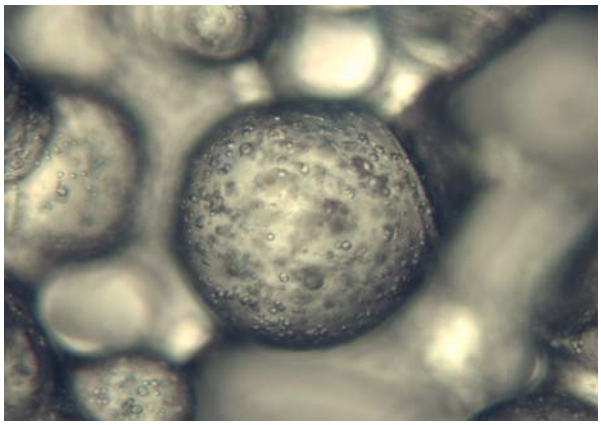
ارزیابی حسی: ارزیابی حسی کیک‌های حاوی کرم مغزی در طول نگهداری در جدول ۴ نمایش داده شده است. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در طعم، رنگ و بافت کرم مغزی حاصل نشد ($P>۰/۰۵$).

جدول ۱. تغییرات pH محیط کشت MRS مایع در مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ^{o}C ۳۷

ساعت / زمان	لاکتوباسیلوس کازئی آزاد	لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده
۰[(a)*]	۶± ۰/۱	۶± ۰/۱
۸[(b)*]	۵/۲± ۰/۱	۵/۸±۰/۱
۱۶[(c)*]	۴/۸± ۰/۲	۵/۵±۰/۱
۲۴[(d)*]	۴/۲± ۰/۱۵	۵/۲±۰/۱۳
۳۲[(e)*]	۴± ۰/۲	۵± ۰/۱
۴۰[(f)*]	۳/۸± ۰/۱	۴/۹± ۰/۲
۴۸[(g)*]	۳/۶± ۰/۱۸	۴/۷± ۰/۱۲

اعداد جدول میانگین سه تکرار ±انحراف معیار هستند.

*سطوحی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح $P<۰/۰۵$ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.



شکل۱. تصویر میکروسکپ نوری از کپسول حاوی لاکتوباسیلوس کازئی با بزرگنمایی ×۴۰

جدول ۲ . تغییرات pH کرم مغزی طی ۴۰ روز نگهداری در دمای ^{o}C ۴

روز	شاهد	لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده	لاکتوباسیلوس کازئی آزاد
۰[(a)*]	۶± ۰/۱	۶± ۰/۱	۶± ۰/۱
۱۰[(b)*]	۶± ۰/۱	۵/۹۵± ۰/۱۵	۵/۷± ۰/۲
۲۰[(c)*]	۶± ۰/۱	۵/۹۲± ۰/۱۸	۵/۵۹± ۰/۲
۳۰[(c)*]	۶± ۰/۱	۵/۸۸± ۰/۲۲	۵/۵۸± ۰/۱۳
۴۰[(c)*]	۶± ۰/۱	۵/۸۸± ۰/۲	۵/۵۸± ۰/۱

اعداد جدول، میانگین سه تکرار ±انحراف معیار هستند.

*سطوحی که با حروف مختلف نشان داده شده‌اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح $P<۰/۰۵$ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۳. زنده‌مانی پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده طی ۴۰ روز نگهداری در دماهای ۲۵°C و ۴°C

	لاکتوباسیلوس کازئی (cfu/g)			
زمان (روز)	ریزپوشانی شده ۴°C	آزاد ۴°C	ریزپوشانی شده ۲۵°C	آزاد ۲۵°C
۰[(a)*]	(۵± ۰/۱)×۱۰^{۱۱}	(۵± ۰/۱)×۱۰^{۱۱}	(۵± ۰/۱)×۱۰^{۱۱}	(۵± ۰/۱)×۱۰^{۱۱}
۱۰[(b)*]	(۲/۱± ۰/۲)×۱۰^{۱۰}	(۷/۳± ۰/۲)×۱۰^{۷}	(۶± ۰/۳)×۱۰^{۹}	(۵/۲± ۰/۲)×۱۰^{۶}
۲۰[(c)*]	(۵± ۰/۲)×۱۰^{۹}	(۳/۵± ۰/۱)×۱۰^{۵}	(۵/۸± ۰/۲)×۱۰^{۸}	(۲/۲± ۰/۱)×۱۰^{۴}
۳۰[(d)*]	(۴/۴± ۰/۱)×۱۰^{۸}	(۴/۱± ۰/۳)×۱۰^{۴}	(۲/۳± ۰/۱)×۱۰^{۷}	(۳/۱± ۰/۳)×۱۰^{۳}
۴۰[(d)]	(۶/۶± ۰/۲)×۱۰^{۷}	(۴± ۰/۲)×۱۰^{۳}	(۵/۵± ۰/۲)×۱۰^{۶}	(۳/۶± ۰/۲)×۱۰^{۲}

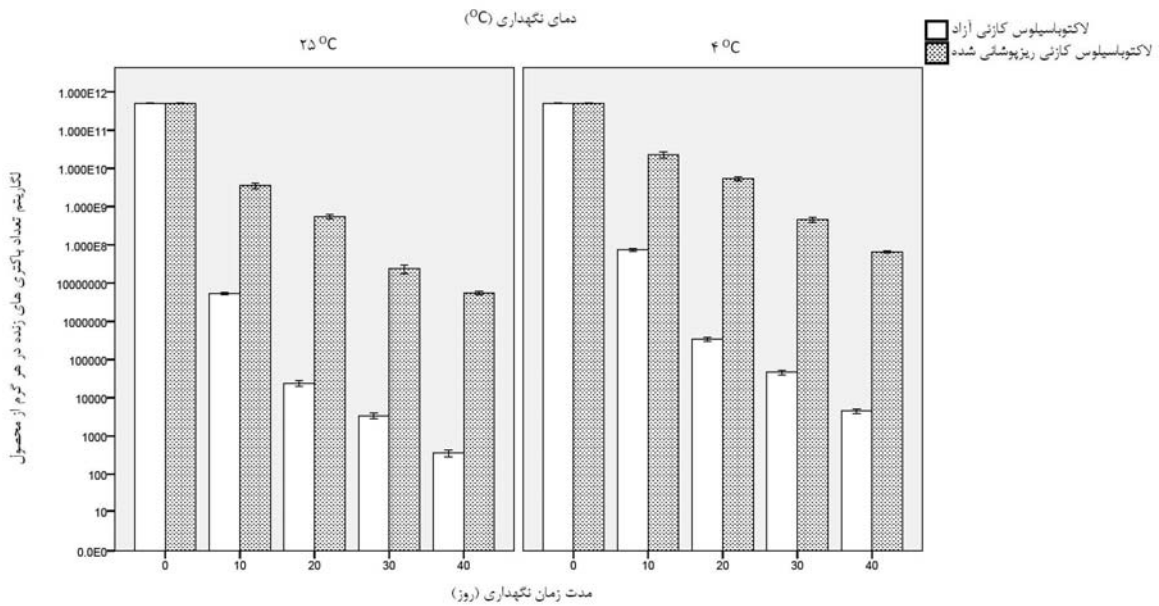
اعداد جدول میانگین سه تکرار ±انحراف معیار هستند.

*سطوحی که با حروف مختلف نشان داده شده اند، بر اساس آزمون دانکن در سطح P <۰/۰۵ با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند.

جدول ۴ . ارزیابی حسی کرم مغزی کیک

نمونه ها	رنگ	طعم	بافت	میانگین پذیرش کلی
	۱-۸	۱-۸	۱-۸	۱-۸
A	۷/۴۷	۷/۱۵	۷/۵۳	۷/۳۷
B	۷/۴۱	۷/۱۰	۷/۵۴	۷/۳۵
C	۷/۴۰	۷/۱۴	۷/۵۴	۷/۳۶

A: کرم مغزی با *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد ، B: کرم مغزی با *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده ،C: کرم مغزی بدون *لاکتوباسیلوس کازئی* (شاهد).



شکل ۲. روند کاهش *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد و ریزپوشانی شده در کرم مغزی طی ۴۰ روز نگهداری در دو دمای ۲۵ °C و ۴ °C

• بحث

از آن‌جا که پروبیوتیک‌ها در غذاهایی که از فراورده‌های شیری نیستند، به دلیل مغذی نبودن محیط پایه این فراورده‌ها، عدم وجود فرایند تخمیر و فعالیت آبی پایین، قابلیت رشد و تکثیر ندارند، فرایند ریزپوشانی می‌تواند تأثیر مهمی در زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در این محصولات داشته باشد. از آن‌جا که قشر وسیعی از مردم از جمله کودکان مصرف‌کنندگان اصلی انواع مختلف کیک هستند، تبدیل کیک به یک ماده‌ی غذایی هدفمند، می‌تواند نقش مهمی در بهبود وضعیت سلامتی داشته باشد.

بررسی فعالیت پروبیوتیک‌ها در کپسول‌ها : روند تغییرات pH نشان داد (جدول ۱) کاهش pH محیط کشت MRS مایع برای لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده کمتر از نوع آزاد در مدت زمان مشابه است و زمانی که طول کشیده است تا باکتری‌های ریزپوشانی شده pH محیط را تا به میزان مشخصی کاهش دهند، به طور معنی‌داری بیشتر از نوع آزاد بود($P<۰/۰۵$). زیرا در اثر فرایند ریزپوشانی،کپسول‌ها سرعت انتقال و فعالیت‌های متابولیکی پروبیوتیک‌ها را کاهش می‌دهند. در نتیجه، کاهش pH محیط توسط باکتری‌ها در مدت زمان طولانی‌تری نسبت به نوع آزاد صورت می‌گیرد (۳۸). در تحقیقی مشابه *Sultana* و همکاران در سال ۲۰۰۰ زمان کاهش pH را از ۶ به ۵ برای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده با آلژینات کلسیم حدود ۳۰ ساعت گزارش کردند (۱۳). *همایونی* و همکاران نیز کاهش pH تا ۴ برای لاکتوباسیلوس‌های ریزپوشانی شده را ۵۰ ساعت گزارش کردند (۱۸). *Larisch* و همکاران دریافتند که پوشش آلژینات سدیم و پلی لیزین زمان کاهش pH را در مقایسه با نوع آزاد ۱۷٪ افزایش می‌دهد. آن‌ها گزارش کردند که قطر و اندازه‌ی کپسول‌ها بر سرعت انتقال جرم و سطح تبادلات کپسول با محیط کشت تأثیرگذار است (۳۸).

شکل و اندازه‌ی کپسول‌ها: مشاهده میکروسکپ نوری نشان داد که ذرات آلژینات کلسیم با نشاسته‌ی مقاوم ذرت، کروی هستند (شکل ۱). آلژینات کلسیم هنگام ایجاد ژل منافذی ریزی دارد که حضور نشاسته‌ی مقاوم ذرت می‌تواند علاوه بر خاصیت پری‌بیوتیکی، ساختار کپسول آلژینات کلسیم را بهبود بخشد (۱۳). میانگین اندازه‌ی کپسول‌های آلژینات کلسیم و نشاسته‌ی مقاوم ذرت حدود ۲/۳ ± ۱۲۰ میکرومتر محاسبه شد ، این ابعاد در حد میکرون بود که در مقایسه با انواع گزارش شده توسط برخی محققان که در حد میلی‌متر بوده است (۳۹، ۱۳) بافت نرم‌تری را در کرم مغزی کیک ایجاد می‌کند. هم‌چنین، کوچک تر بودن و کروی بودن کپسول‌ها باعث تغییرات کمتری در بافت محصول می‌شود و از بروز پدیده شنی شدن در ماده غذایی جلوگیری می‌کند (۳۸، ۳۳، ۲۰). اگر کپسول‌ها بسیار کوچک باشند، نمی‌توانند محافظ خوبی برای پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی باشند و این موضوع باعث نابودی پروبیوتیک‌ها می‌شود(۱۸، ۱۴). گزارش شده است کپسول‌های کوچک‌تر از ۱۰۰ میکرومتر نمی‌توانند در سطح معنی‌داری موجب افزایش بقای پروبیوتیک‌ها در شرایط اسیدی معده شوند(۱۵). *Truelstrup* و همکاران گزارش کردند که کپسول‌های بزرگ‌تر از ۱ میلی‌متر موجب خشن شدن بافت مواد غذایی می‌شوند (۱۵).

تغییرات pH کرم مغزی طی نگهداری: تغییرات pH در طول نگهداری در دمای $4\ ^{o}C$ به مدت ۴۰ روز ارزیابی شد. تغییرات pH باکتری‌های ریزپوشانی شده به طور معنی‌داری کمتر از حالت آزاد بود. pH کرم مغزی همراه با لاکتوباسیلوس کازئی آزاد بعد از ۴۰ روز نگهداری به ۵/۵۸ رسید، در حالی که برای پروبیوتیک ریزپوشانی شده پس از ۴۰ روز نگهداری در کرم مغزی به ۵/۸۸ رسید. که ممکن است به دلیل کندی در جذب مواد مغذی و هم‌چنین آزادسازی متابولیت‌ها از طریق پوشش آلژینات کلسیم ریزپوشانی شده باشد(۴۰). گزارش شده است که یکی از عوامل مؤثر در فعالیت متابولیکی باکتری‌های ریزپوشانی شده در محصولات، اندازه‌ی لایه‌ی آلژینات است (۳۸). با افزایش اندازه‌ی لایه‌ی آلژینات، آزادسازی متابولیت‌های حاصل از باکتری‌های داخل کپسول و جذب مواد مغذی کندتر صورت می‌گیرد(۳۸). شمارش میکروبی پروبیوتیک‌ها نشان داد که پروبیوتیک‌ها در داخل کپسول‌ها زنده هستند و فرایند ریزپوشانی باعث کاهش تعداد پروبیوتیک‌ها نشده است. *Sultana* و همکاران نیز گزارش کردند که ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با آلژینات کلسیم منجر به کاهش تعداد باکتری‌ها نمی‌شود (۱۳).

زنده‌مانی باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده در کرم مغزی: ریزپوشانی لاکتوباسیلوس کازئی با آلژینات کلسیم و نشاسته‌ی مقاوم ذرت، کاهش معنی‌داری را بعد از ۴۰ روز نگهداری به ترتیب در دماهای $4^{o}C$ و $25^{o}C$ نشان داد (شکل ۲) ($P<۰/۰۵$). به طوری که در دمای $4^{o}C$ زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده پس از نگهداری ۴۰ روز بیشتر از لاکتوباسیلوس کازئی با ساختار مشابه در دمای $25^{o}C$ بود. تعداد باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده پس از ۴۰ روز نگهداری در دمای $4^{o}C$ به ترتیب ۸/۰۹ و ۳/۸۷ سیکل لگاریتمی کاهش نشان دادند. *Sultana* و همکاران در سال ۲۰۰۰ گزارش کردند که ریزپوشانی در ماست تعداد لاکتوباسیلوس کازئی را افزایش می‌دهد (۱۳). کاهش ۴ سیکل لگاریتمی در تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس‌های آزاد در سس مایونز بعد از نگهداری در دمای $5\ ^{o}C$ گزارش شده است(۱۹). *همایونی* و همکارن نیز گزارش کردند که ریزپوشانی لاکتوباسیلوس‌ها در بستنی باعث افزایش

زنده‌مانی آن‌ها طی نگهداری در دمای $-20^{o}C$ شده است (۱۸). در کرم مغزی، بیشتر باکتری‌های زنده مانده در پوشش آلژینات کلسیم با نشاسته‌ی مقاوم ذرت محصور شده بودند.

بیشتر گونه‌های لاکتوباسیلوس کازئی به a_w کمتر از ۰/۸حساس هستند (۸، ۷) و a_w کرم مغزی ۰/۵۵ اندازه‌گیری شد. از آن که درجه‌ی حرارت (شکل ۲) بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی تأثیرگذار است و یک عامل مؤثر در مرگ سلولی است، کاهش تعداد باکتری‌ها در نتیجه‌ی نگهداری در دمای بالاست که در صورت کافی نبودن مواد مغذی و a_w ، سرانجام مرگ سلولی رخ می‌دهد. با این حال، تنش‌های مکانیکی در زمان مخلوط کردن سوسپانسیون میکروبی و کرم مغزی و همچنین نقش a_w به کاهش بیشتر تعداد سلول‌های باکتریایی منجر می‌شود. نتایج نشان می‌دهد که زنده‌مانی باکتری‌ها در شرایط نامطلوب وابسته به a_w پایین و دمای نگهداری است. این یافته با نتایج پژوهش *Nebesny* و همکاران مطابقت دارد (۷). با مقایسه‌ی بین زنده‌مانی ۱۰ تا ۴۰ روز از زمان نگهداری (جدول ۳) تفاوت معنی‌داری ($P<0/05$) بین لاکتوباسیلوس‌های آزاد و ریزپوشانی شده مشاهده شد. به علاوه ، سلول‌های ریزپوشانی شده، در دمای نگهداری $4^{o}C$ به زمان طولانی‌تری برای کاهش یک سیکل لگاریتمی نیاز داشتند، اما سلول‌های آزاد کاهش ناگهانی شدیدی در سیکل لگاریتمی خود نشان دادند. باکتری‌های پروبیوتیک در دمای نگهداری $4^{o}C$ از زنده‌مانی بیشتری در مقایسه با دمای نگهداری $25^{o}C$ برخوردار هستند. از این رو ملاحظه می‌شود که دمای نگهداری، یک عامل تأثیرگذار، در زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها است. وقتی لاکتوباسیلوس‌کازئی در آلژینات کلسیم به همراه نشاسته‌ی مقاوم ذرت ریزپوشانی شده است، زنده‌مانی بیشتری نسبت به حالت آزاد مشاهده می‌شود. نقش ریزپوشانی در طول نگهداری کرم مغزی با دماهای $4^{o}C$ و $25^{o}C$ معنی‌دار بود ($P<0/05$).

ارزیابی حسی: ارزیابی حسی کیک‌های حاوی کرم مغزی (جدول ۴) نشان داد که افزوده شدن لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده تأثیری بر ویژگی‌های حسی کرم مغزی در سطح معنی‌داری نداشته است ($P>0/05$) و طعم در هیچ یک از نمونه‌ها تغییری نکرده است. پذیرش کلی در طعم، رنگ و بافت همه‌ی نمونه‌ها خوب بود و بد طعمی در طول نگهداری ملاحظه نشد. در هیچ یک از نمونه‌های کرم مغزی بادکردگی یا شنی شدن مشاهده نشد.

در مجموع یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که ریزپوشانی لاکتوباسیلوس کازئی می‌تواند به طور قابل ملاحظه‌ای زنده‌مانی آن را در کرم مغزی کیک بهبود دهد؛ به طوری که زنده‌مانی تعداد باکتری‌های ریزپوشانی شده پس از ۴۰ روز نگهداری در حد استانداردهای جهانی باشد. در این مطالعه با تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک به کرم مغزی و تلقیح کرم مغزی به داخل کیک، از آسیب حرارتی پروبیوتیک‌ها جلوگیری شد و پروبیوتیک‌ها تحت هیچ فرایند دمایی و حرارتی قرار نگرفتند. هم‌چنین، این پژوهش نشان داد محصولاتی مانند کرم مغزی با استفاده از فرایند ریزپوشانی می‌توانند بستر مناسبی برای پروبیوتیک‌ها باشند. افزودن باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده باعث کندی تولید اسید در طول دوره نگهداری می‌شود. آنالیز حسی کرم مغزی نشان داد که افزودن لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده تأثیر معنی‌داری بر رنگ، طعم و بافت محصول ندارد.

سپاسگزاری

از مسئولان و کارکنان محترم *مجتمع آزمایشگاه رازی*، *دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم وتحقیقات تهران* برای همکاری در انجام این پژوهش قدردانی می‌شود.

• References

1. Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 1989; 66: 365-78.
2. Aragon Alegro LC, Alegro JHA, Cardarelli HR, Chiu MC, Saad SMI. Potentially probiotic and symbiotic chocolate mousse. LWT-Food Sci Technol 2007; 40: 669-75.
3. Adams MR, Safety of industrial lactic acid bacteria. J Biotechnol 1999; 68: 171-8.
4. Sabikhi L, kapila S. Resistance of Microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* LA1 to Processing Treatments and Simulated Gut Conditions. Food Bioprocess Technol 2007; 3: 586-93.
5. Capela P, Hay TKC, Shah NP. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and

freeze-dried yoghurt. Food Res Int 2006; 39: 203-11.

6. Schrezenmeir J, de Vrese M. Probiotics, prebiotics, and symbiotic approaching a definition. Am J Clin Nutr 2001; 77: 361-64.

7. Nebesny E, Zyzelewicz D, Motyl I, Libudzisz Z. Dark chocolates supplemented with Lactobacillus strains. Eur Food Res Technol 2006; 225: 33-42.

8. Weinbreck F, Bodnár I, Marco M. Can encapsulation lengthen the shelf-life of probiotic bacteria in dry products. Int J Food Microbiol 2009; 136: 364-7.

9. Muthukumarasamy P, Holley RA. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated Lactobacillus reuteri. Int J Food Microbiol 2006; 111: 164-9.

10. Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. Food Microbiol 2010; 27: 1-11.

11. Kailasapathy K. Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. Ciim Curr Iss Intest Microbiol 2002; 3: 39-48.

12. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. Evaluation of encapsulation technique of probiotic for yoghurt. Int Dairy J 2003; 13: 3-13.

13. Sultana K, Godward G, Reynolds N, Arumugaswamy R, Peiris P, Kailasapathy K. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. Int J Food Microbiol 2000; 62: 47-55.

14. Sheu TY, Marshall RT, Heymann H. Improving survival of culture bacteria in frozen desserts by Micro entrapment. J Dairy Sci 1993; 76: 1902-7.

15. Truelstrup-Hansen L, Allan-Wojtas P, Jin YL, Paulson AT. Survival of ca-alginate microencapsulated Bifidobacterium spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. Food Microbiol 2002; 19: 35-45.

16. Sheu TY, Marshall RT. Microencapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels. J Food Sci 1993; 54: 557-61.

17. Possemiers S, Marazorati M, Verstraete W, Van de Wiele T. Bacteria and chocolate: a successful combination for probiotic delivery. Int J Food Microbiol 2009; 141: 97-103.

18. Homayouni A, Ehsani MR, Azizi A, Yarmand MS, Razavi SH. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream . Food Chem 2008; 111: 50-5

19. Khalil AH, Mansour EH. Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. J Food Sci 1998; 63 (4): 702-5.

20. Mohammadi N, Ahari H, Fahimdanesh M, Zanjani MAK, Anvar A, Shokri E. Survival of alginate-prebiotic microencapsulated Lactobacillus acidophilus in mayonnaise sauce. Iranian J Vet Med 2012; 6(4): 259-264.

21. Muthukumarasamy P, Holley RA. Microbiological and sensory quality of dry fermented sausages containing alginate-microencapsulated Lactobacillus reuteri. Int J Food Microbiol 2006; 111(2): 164-9.

22. Ammor MS, Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. Meat Sci 2007; 76(1): 138-46.

23. Sheehan VM, Ross P, Fitzgerald GF. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. Innov Food Sci Emerg 2007; 8(2): 279-84.

24. Luckow T, Delahunty C. Which juice is 'healthier'? a consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. Food Qual Prefer 2004; 15(7–8): 751-9.

25. Yoon KY, Woodams EE, Hang YD. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. J Microbiol 2004; 42(4): 315-8.

26. Charalampopoulos D, Pandiella SS, Webb C. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. J Appl Microbiol 2002; 92(5): 851-9.

27. Helland MH, Wicklund T, Narvhus JA. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria, in maize porridge with added malted barley. Int J Food Microbiol 2004; 91(3): 305-13.

28. Altamirano-Fortoul R, Moreno-Terrazas R, Quezada-Gallo A, Rosell CM. Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. Food Hydrocoll 2012; 29(1): 166-74.

29. Riebroy S, Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. Effect of iced storage of bigeye snapper (Priacanthus tayenus) on the chemical composition, properties and acceptability of Som-fug, a fermented Thai fish mince. Food Chem 2007; 102(1): 270-80.

30. Thapa N, Pal J, Tamang J. Microbial diversity in Ngari, Hentak and Tungtap, fermented fish products of north-east India. *World J* Microb Biot 2004; 20(6): 599-607.

31. Heenan CN, Adams MC, Hosken RW, Fleet GH. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. LWT - Food Sci Technol 2004; 37(4): 461-6.

32. Zomorodi S, Asl AK, Rohani SMR, Miraghaei S. Survival of Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum and Bifidobacterium bifidum in free and

microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. Int J Dairy Technol 2011; 64(1): 84-91.

33. Mokarram RR, Mortazavi SA, Najafi MBH , Shahidi F. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. Food Res Int 2009; 42: 1040-5.
34. Fahimdanesh M, Mohammadi N, Ahari H, Zanjani MAK, Hargalani FZ, Behrouznasab K. Effect of microencapsulation plus resistant starch on survival of Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum in mayonnaise sauce. Afr J Microbiol Res 2012; 6(40): 6853-6858.
35. Allan-Wojtas P, Hansen LT, Paulson AT. Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. LWT-Food Sci Technol 2008; 41:101-8.
36. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth, H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. Int Dairy J 2004; 14: 737-43.
37. Institute of Standards and Industrial Research of Iran,Biscuit- specifications and test methods. ISIRI no 37. 6rd revision, Karaj: ISIRI; 2009 [in Persian].
38. Larisch BC, Poncelet D, Champagne CP, Neufeld RJ. Microencapsulation *of Lactococcus lactis subsp. cremoris*. J Microencap 1994; 11: 189-95.
39. Arnaud JP, Lacroix C, Choplin L. Effect of agitation rate on cell release rate and metabolism during continuous fermentation with entrapped growing. Biotechnol Tech 1992; 6: 265-70.
40. Marshall VM, Tamime AY. Starter cultures employed in the manufacture of biofermented milks. Int Dairy J 1997; 50: 35-9.

Effect of microencapsulation with calcium alginate and resistant maize starch on survival of *Lactobacillus casei* and sensory properties of cream-filled cake

*Khosravi Zanjani MA[*1] , Ghiasi Tarzi B[2] , Sharifan A[2], Bakhoda H[3] , Mohammadi N[4]*

*1-*Corresponding Athur: M.Sc. in Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran .Email: mohammadali_khosravi66@yahoo.com*

2-Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Assistant prof, Dept. of Agricultural Mechanization, Faculty of Agriculture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4-Department of Food Science and Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received 11 Jun, 2012 **Accepted 15 Sept, 2012**

Background and Objective: Investigations have shown benefits effects of probiotics. The purpose of this study was to develop a microencapsulated probioticproduct based on cream-filled cake and determine its sensory charactersitics and acceptability by consumers.

Material and Methods: *Lactobacillus casei* PTCC 1608 was encapsulated with calcium alginate and resistant maize starch beads and used to prepare a cream-filled cake. A control cake sample was prepared using ordinary, free*Lactobacillus casei* PTCC 1608. Bacterial survival, pH and sensory characteristics of the experiomental and control cake samples were compared during 40 days of storage at 4^{o}Cand 25^{o}C. In addition, acidification kinetics in the 2 samples, over a period of 48 hours, after inoculation in an MRS broth (de Man-Rogasa-Sharpe) was dtermined.The size and shape of the microcapsules were determined by optical microscopy.

Results: pH changes in the microencapsulated cake were less during storage. Furthermore, in the encapsulated cake the amount of acid produced was lower than that of the free culture. Survival of the bacteria was hihgher in the cake sample prepared with encapsulated bacteria due to protection of cells by microencapsulation. Survival of the probiotics was better at the lower temperature (4 ^{o}C).Finally, addition of probiotic cultures, whether in the free or encapsulated state, did not significantly affect texture, colour, flavour or after-taste of the product during storage($p>0.05$).

Conclusion: The free and encapsulated probiotic bacteria do not substantially alter the overall sensory characteristics of a cream-filled cake. However, microencapsulation helps to enhance the survival of probiotic bacteria in the product during storage.

Keywords: Microencapsulation, Cream-filled cake, Calcium alginate, Resistant maize starch, *L.casei*