# اثر افزودن اینولین و گالاکتواولیگوساکارید بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو

**رقیه اشرفی یورقانلو*[1]، لاله مهریار[2]**

۱- استادیار گروه صنایع غذایی دانشگاه فنی و حرفه‌ای، ارومیه، ایران.
۲- دکتری علوم و صنایع غذایی، مدرس دانشگاه فنی و حرفه‌ای، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۳/۰۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۶/۲۵

## چکیده

در سال‌های اخیر تقاضا برای محصولات پروبیوتیکی بر پایه محصولات غیر لبنی افزایش یافته است. در همین راستا هدف از این تحقیق بررسی امکان استفاده از آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو بعنوان حامل باکتری پروبیوتیک میکروانکپسوله و ارزیابی اثر اینولین و گالاکتوالیگوساکارید (GOS) در غلظت های ۰/۵، ۱ و ۲٪ بر قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله در طول ۲۸ روز نگهداری در آبمیوه و همچنین جایگزین نمودن شکر با شربت ذرت با فروکتوز بالا بدلیل کاهش اثرات سوء مصرف بالای ساکارز بود. نتایج آنالیز واریانس حاکی از اثر معنی دار اینولین و GOS بر قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله در طول زمان نگهداری بود ($p<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین ها نشان داد که بیشترین کاهش در میزان pH در نمونه کنترل بدست آمد که برابر ۰/۴۳-۰/۳۲ بود. در نمونه های تحت تیمار کمترین کاهش pH به نمونه های حاوی ۱٪ اینولین و GOS تعلق داشت که به ترتیب برابر ۰/۲۴ و ۰/۱۱ بود و در مقایسه با نمونه کنترل این اختلاف معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). بطور کلی نتایج نشان داد که اینولین و GOS باعث افزایش زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به نمونه کنترل گردید، بطوریکه با بررسی اثر این دو ترکیب بر تغییرات این باکتری در نمونه های آب میوه این نتیجه حاصل شد که در طول ۲۸ روز نگهداری محصول در دمای یخچال، در نمونه کنترل ۱/۷۸-۱/۷۴ سیکل لگاریتمی کاهش ولی در نمونه های حاوی ۱٪ اینولین و ۲٪ GOS کمترین کاهش در تعداد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به نمونه شاهد و سایر تیمارها صورت گرفت که به ترتیب برابر ۰/۶۶ و ۰/۶۳ سیکل لگاریتمی بود ($p<۰/۰۵$). همچنین افزودن هر دو نوع پری بیوتیک GOS و اینولین در طی میکروانکپسولاسیون باعث افزایش مقاومت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده به کاهش pH و حضور نمک‌های صفراوی در شرایط مشابه دستگاه گوارش گردید که در این شرایط نیز اختلاف معنی داری بین غلظت ۱٪ این دو ترکیب از نظر زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی وجود نداشت در حالیکه غلظت ۲٪ GOS بهتر عمل کرده است. بنابراین طبق نتایج این تحقیق میتوان گفت که پری‌بیوتیک اینولین در حفظ زنده مانی باکتری پروبیوتیک در محیط آبمیوه و دستگاه گوارش تا غلظت ۱٪ بهتر از GOS عمل کرده است ولی در غلظت بالاتر GOS بهتر بود.

**واژه های کلیدی**: اینولین، گالاکتواولیگوساکارید، لاکتوباسیلوس کازئی، زردآلو، پرو بیوتیک

*مسوول مکاتبات: r.ashrafi1@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

**۱- مقدمه**

غذای عملگرا به غذایی اطلاق می‌شود که علاوه بر ارزش غذایی باعث بهبود سلامتی و کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها می‌گردد [۱۹]. مصرف محصولات غذایی حاوی باکتری-های زنده پروبیوتیک برای مصرف کنندگان اثرات سلامت بخش فراوان از جمله بهبود عملکرد سیستم گوارشی، تقویت سیستم ایمنی، کاهش کلسترول خون و خواص ضد سرطانی دارد [۳۱، ۳۶ ]. باکتری‌های پروبیوتیک، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که بعد از مصرف در روده ساکن شده و از طریق بهبود میکروفلور طبیعی روده اثرات مفیدی در سلامتی انسان بر جای می‌گذراند [۲۹]. در کشور ما بیشترین سهم محصولات پروبیوتیک عرضه شده به بازار را محصولات پروبیوتیک بر پایه لبنیات تشکیل می‌دهند [۲]. اما در سال‌های اخیر تقاضا برای محصولات پروبیوتیکی بر پایه محصولات غیر لبنی افزایش یافته است و علت این امر وجود مشکلاتی از قبیل خصوصیات عدم تحمل لاکتوز در برخی از افراد و وجود کلسترول در فرآورده‌های لبنی است که باعث کاهش مصرف این محصولات گشته و به تدریج محصولات پروبیوتیک غیر لبنی توسعه یافته است. آب میوه‌ها می‌توانند حامل مناسبی برای پروبیوتیک و جایگزین خوبی برای فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک باشند [۳۴، ۸، ۲۶]، زیرا این فراورده ها بدلیل غنی بودن از نظر خواص آنتی اکسیدانی، پلی‌فنل‌ها و ویتامین‌ها در دسته غذاهای سالم قرار می‌گیرند. علاوه بر این حاوی قند فراوان و ترکیبات مهار کننده اکسیژن مانند اسید آسکوربیک بوده و باعث تقویت شرایط بی‌هوازی می-گردند و تمامی این عوامل کنار هم باعث افزایش رشد پروبیوتیک‌ها می‌گردند [۲۶، ۲۴، ۲۸، ۱۷]. قابلیت زنده‌مانی این باکتری‌ها در طول تولید و نگهداری برای تأمین اثرات سلامتی‌بخش بسیار مهم می‌باشد، به طوری که در پایان تاریخ مصرف محصول تعداد سلول‌های زنده بایستی $۱۰^{۶}$- $۱۰^{۷}$ cfu در یک میلی‌لیتر یا یک گرم محصول باشد [۱۳]. زیرا تعداد قابل توجهی از این باکتری‌ها در طول تولید و نگهداری و در حین عبور از دستگاه گوارش از بین می-روند؛ بنابراین، یکی از پارامترهای مهم در تولید محصولات پروبیوتیک انتخاب سوش مناسب می‌باشد که در برابر شرایط خاص معده و صفرا و همچنین شرایط نامناسب تولید و نگهداری مقاوم بوده و زنده بماند. لاکتوباسیلوس کازئی یکی از مهم ترین گونه‌های پروبیوتیک می‌باشد و کاربرد وسیعی در فرآورده‌های غذایی پیدا کرده است. لاکتوباسیلوس کازئی یک باکتری گرم مثبت، میله‌ای، غیر اسپورزا و غیر متحرک است. پیاد و همکاران در سال ۲۰۰۶ گزارش کردند که پری بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که رشد یا فعالیت باکتری‌ها در دستگاه گوارش را سرعت می‌بخشند. به طور کلی این ترکیبات تعداد یا فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک و بیفیدوباکترها را افزایش می‌دهند [۲۷]. اینولین و گالاکتو الیگوساکاریدها مثالی از همین ترکیبات هستند. اینولین یک ماده پری‌بیوتیک می باشد که منجر به تحریک رشد باکتری های پروبیوتیک و تولید اسیدچرب کوتاه زنجیر و کاهش pH روده می‌گردد، در نتیجه از فعالیت باکتریهای پاتوژن و جذب کلسترول جلوگیری میکند و از سرطان کولون کاسته و جذب املاح کلسیم و منیزیم را افزایش می دهد [۱۵]. اینولین طعم خنثی و مطبوعی دارد و برای بهتر شدن احساس دهانی، پایداری و قابلیت پذیرش مواد غذایی کم چرب و بعنوان عامل تشکیل بافت کم کالری به کار می رود که این خصوصیت اینولین به توانایی اش برای پیوند با مولکول های آب و تشکیل ژل نسبت داده شده است [۵]. گالاکتو الیگوساکاریدها نیز ترکیبات غیرقابل هضم بر پایه کربوهیدرات می باشند که با فعالیت آنزیمی بتاگالاکتوزیداز در طی واکنش ترانس گالاکتوزیلاسیون لاکتوز تولید شده و ممکن است شامل گلوکز-گالاکتوز، گالاکتوز-گالاکتوز و یا شامل چندین گالاکتوز متصل به گلوکز باشند [۳۰]. این ترکیبات حلالیت بالایی داشته، طعم آنها تا حدودی شیرین است و ویسکوزیته ای مشابه شربت ذرت با فروکتوز بالا دارند. همچنین حضور پیوندهای از نوع بتا، این ترکیبات را به تجزیه در دمای بالا و در محیط اسیدی مقاوم کرده است [۳۳]. در مطالعات انجام شده، مشاهده گردیده است که گالاکتو الیگوساکارید با افزایش باکتریهای لاکتیک اسید باعث افزایش رشد و افزایش

Archive of SID

www.SID.ir

تحمل استرس و تعدیل میکروبیوت روده‌ای در موجودات خشک‌زی و آبزی می‌شود [۲۱]. به منظور بهبود زنده مانی پروبیوتیکها و کاهش اثرات تخریبی ناشی از تغییرات pH، تنش های مکانیکی، شرایط ماده غذایی و شرایط نامساعد اسیدی-صفراوی دستگاه گوارش، از فرآیند ریزپوشانی[1] نیز استفاده می شود [۲۲]. از دیدگاه میکروب شناسی، ریز پوشانی عبارت است از پوشش دادن لایه‌ای از هیدرو کلوییدها به دور سلو لهای ریز زنده در مقیاس میکروسکوپی، به منظور محصور کردن و تفکیک کردن آن ها از محیط، که در نتیجه آن، زنده مانی پروبیوتیک ها در شرایط مختلف محیطی افزایش می‌دهد و آزاد سازی هدفمند پروبیوتیک ها را (در مکان و زمان مناسب) در پی دارد در نتیجه ریزپوشانی، می تواند زنده مانی پروبیوتیک ها را در شرایط دشوار و تخریبی دستگاه گوارش بهبود بخشد [۲۲]. در همین راستا کاپلا و همکاران (۲۰۰۶)، بیان نمودند که میکروانکپسولاسیون پروبیوتیک‌ها همراه با پری بیوتیک‌ها، باعث بهبود زنده‌مانی سلول‌ها در محصولات می‌شود اما در سیستم‌های مشابه سازی شده گوارشی تأثیری ندارند [۱۰]. ویوک در سال ۲۰۱۳ میکروانکپسولاسیون پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس پاراپلانتاروم۳۲۱ و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ۲۳۵ را همراه با پری بیوتیک‌های فروکتواولیگوساکارید در dahi (نوعی ماست محلی هندی) بررسی کردند و مشاهده کردند که تعداد سلول‌های میکروانکپسوله شده در مقایسه با سلول‌های آزاد در طی نگهداری در دمای ۴C° بعد از ۲۰ روز بالاتر بود [۳۴]. طبق مطالعه‌ای که توسط کراسیکوت و همکاران نیز در سال ۲۰۰۴ صورت گرفت، میکروانکپسولاسیون لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی در گرانول‌های آلژینات پوشش داده شده با کیتوزان مورد بررسی قرار گرفته و نتایج قابل قبولی از زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها هم در ماست و هم در شرایط شبیه سازی شده گوارشی شامل شیره گوارشی و محلول‌های صفراوی بدست آمد و تعداد باکتری‌های پروبیوتیک‌ها زنده بالاتر از حداقل دوز درمانی بود [۲۳]. از آنجایی که آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو دارای ارزش تغذیه‌ای بالا و طعم مطلوبی می‌باشد، در این تحقیق مورد توجه قرار گرفت و بخاطر اینکه زنده ماندن پروبیوتیک ها به هنگام رسیدن به روده شرط لازم برای بروز اثرات سلامتی بخش این باکتری ها می‌باشد، هدف از این تحقیق بررسی اثر ترکیبات پری بیوتیک اینولین و گالاکتو الیگوساکاریدها بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله در آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو در طی نگهداری آبمیوه به مدت ۲۸ روز بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- روش تهیه آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو

کنسانتره سیب و پوره زردآلوی ارگانیک از کارخانجات منطقه تهیه و در دمای ۱۸°C- تا زمان تهیه آب میوه نگهداری شدند. کنسانتره سیب و پوره زرد آلو به نسبت ۱:۱ مخلوط و سپس تا بریکس ۱۵° با استفاده از آب مقطر و شکر (یا شربت ذرت با فروکتوز بالا) آماده سازی شده و در دمای ۸۰°C به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد.

### ۲-۲- آماده کردن باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

باکتری لاکتوباسیلوس کازئی از مرکز کلکسیون قارچ و باکتری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی خریداری شد. سپس در شرایط استریل، بسته‌ها باز و در ۵mL محیط کشت مایع MRS[2] به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ °C و با شرایط میکروآئروفیل گرمخانه گذاری شد. سپس با پاساژهای مکرر حجم محیط کشت به ۱۲۰ mL رسانده شد و تا بدست آمدن حجم مورد نظر از بیومس ادامه پیدا کرد. در نهایت بیومس توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار در دور ۱۰۰۰۰×g در دمای ۴ °C به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی شد و سپس با استفاده از محلول پپتون استریل ۰.۱٪، دو بار شستشو شده و تا زمان تلقیح در دمای ۴ °C در یخچال نگهداری شد.

[1] Microencapsulation

[2] MRS broth

Archive of SID

www.SID.ir

**۲-۳- میکروانکپسولاسیون باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیبات پری بیوتیک**

میکروانکپسولاسیون توسط تکنیک اکستروژن طبق روش کراسیکوت و همکارا (۲۰۰۴) انجام گرفت [۲۳]. کشت-های باکتری بعد از شستشو به mL ۵ از محلول‌های اینولین (۰/۵، ۱ و ۲٪) یا گالاکتواولیگوساکارید (۰/۵، ۱ و ۲٪) افزوده شدند. سپس با mL ۲۰ از محلول آلژینات سدیم ۲٪ (w/v) که قبلاً در C° ۱۲۱ به مدت ۱۵ دقیقه استریل شده بود، مخلوط گردیدند. سوسپانسیون سلولی با استفاده از یک سوزن[3] mm ۰/۱۱ به داخل کلرید کلسیم ۰/۰۵ مولار استریل تزریق شد. به گرانول‌ها[4] به مدت ۳۰ دقیقه جهت تشکیل ژل زمان داده شد و سپس آب آنها حذف گردیده و در محلول پپتون ۰/۱ ٪ در C° ۴ نگهداری شدند. به منظور پوشش دهی با کیتوزان، گرانول‌های آلژینات توسط کیتوزان در یک روش ۲ مرحله‌ای پوشش داده شدند. کیتوزان با وزن مولکولی پایین (۰/۴ گرم و ویسکوزیته ۱۴MPa در محلول w/v ٪۱ سیگما) در mL ۹۰ آب مقطر حل شده، سپس با mL ۰/۴ از اسید استیک گلاسیال تا حصول غلظت نهایی ۰/۴ درصد (w/v) اسیدی گردید. pH نمونه‌ها نیز با افزودن NaOH ۱ مولار در محدوده ۵/۷ تا ۶ تنظیم گردید. مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شده و حجم محلول به mL ۱۰۰ رسانده و سپس در دمای C°۱۲۱ به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. ۱۵ گرم از گرانول‌های شسته شده در mL ۱۰۰ از محلول کیتوزان غوطه ور شده و به مدت ۴۰ دقیقه به منظور پوشش دهی هم زده شد. گرانول‌های پوشش داده شده با کیتوزان شسته شده و در محلول پپتون ۰/۱ ٪ در دمای C° ۴ نگهداری شدند.

**۲-۴- تلقیح سلول‌های باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به آب میوه ترکیبی سیب-زرد آلو**

در ظروف آزمایش mL۴۰۰ آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو پاستوریزه شده ریخته شد و سپس تمام نمونه‌ها با باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با دوز $۱۰^{۹}\times$ ۶-۵ باکتری در هر میلی‌لیتر تلقیح شد.

**۲-۵- آزمایشات**

**۲-۵-۱- اندازه گیری ترکیبات آب میوه**

به منظور بررسی تأثیر باکتری لاکتوباسیلوس کازئی بر pH آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو، pH آب میوه در طول ۲۸ روز نگهداری با استفاده از دستگاه pH متر اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری اسیدیته با استفاده از روش پتانسیومتری مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۲ انجام گردید. اندازه‌گیری محتوی قند کل نیز بر اساس روش انجام آزمون قند کل مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۲ به روش فهلینگ انجام گردید [۳].

**۲-۵-۲- شمارش باکتری های پروبیوتیک**

شمارش باکتری های پرروبیوتیک (لاکتوباسیلوس کازئی) در نمونه های آبمیوه تولید شده بلافاصله پس از تولید و در فواصل ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز بهد از نگهداری نمونه های در دمای یخچال با استفاده از محیط کشت MRS agar بر اساس روش استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۳۲۵ صورت گرفت [۱].

**۲-۶- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات**

جهت بررسی نتایج از طرح آماری کاملا تصافی به روش فاکتوریل استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال آلفا برابر با ۰/۰۵ با همین نرم افزار انجام گرفت. متغیرهای فرآیند شامل نوع پری بیوتیک (اینولین و گالاکتوالیگوساکارید)، سطوح مورد استفاده (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) و زمان نگهداری (۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) می باشد که در سه تکرار انجام شد. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel 2010 استفاده شد.

[3] needle
[4] beads

Archive of SID

www.SID.ir

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- بررسی مقایسه‌ای تأثیر شکر و شربت ذرت با فروکتوز بالا در محیط رشد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

ابتدا بعنوان پیش مطالعه تأثیر جایگزینی شکر با شربت ذرت با فروکتوز بالا بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی انکپسوله شده بررسی شد و تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. لذا در ادامه مطالعه تهیه آب میوه با استفاده از شربت ذرت با فروکتوز بالا انجام گرفت. برای انتخاب سوش مناسب از باکتری بایستی ابتدا شرایط فیزیکوشیمیایی آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو مورد بررسی قرار گیرد تا سازگاری باکتری مورد نظر با شرایط آب میوه مشخص گردد. نتایج آزمون‌های ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب میوه ترکیبی سیب- زردآلو در جدول ۱ آورده شده است. نتایج حاصل بیانگر این بود که این آب میوه یک محیط رشد اسیدی برای باکتری است. از جمله معیارهایی که منجر به قابلیت یک آب میوه بعنوان حامل پروبیوتیک می‌گردد تا رشد باکتری پروبیوتیک فراهم شده و در زمان نگهداری تعداد باکتری‌های مذکور کاهش شدید نیابند، عبارتند از: مطلوب بودن pH و میزان قند کل موجود در آب میوه. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی نشان داد که میران قند کل آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو قابل توجه می‌باشد و باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با دارا بودن قابلیت تخمیر قندهای فروکتوز، گالاکتوز، ساکارز، مانوز و تره‌هالوز قابلیت رشد در محیط این آب میوه ترکیبی را پیدا می‌کند [۱۴]. pH آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو طبق جدول ۳/۸ می‌باشد. باکتری مذکور یکی از گونه‌های مقاوم به شرایط اسیدی مانند شیره معده و نمک-های صفراوی می‌باشد و در داخل فرآورده‌های تخمیری نیز وجود دارد. بنابراین، آب میوه ترکیبی سیب-زردآلو نیاز تغذیه‌ای این باکتری را تا حدودی تأمین می‌کند.

**جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب میوه ترکیبی سیب- زردآلو**

| محتوای قند کل (g/L) | اسیدیته (100g/mL) | pH |
|---|---|---|
| ۱۶۰±۵ | ۱/۴±۰/۳ | ۳/۸±۰/۲ |

### ۳-۲- بررسی تغییرات pH

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر ساده اینولین و همچنین اثر متقابل آن با زمان نگهداری بر تغییرات pH معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). در مورد GOS نیز اثر ساده آن معنی دار بود ولی اثر متقابل آن با زمان نگهداری بر کاهش pH موثر نبود ($p>۰/۰۵$). تغییرات pH در هفته‌های اول، دوم، سوم و چهارم برای آب میوه ترکیبی سیب- زردآلو حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در جدول ۲ آورده شده است. نتایج اثر اینولین بر pH در طول ۲۸ روز نگهداری آب میوه ترکیبی سیب- زردآلو نشان داد که با گذشت زمان نگهداری از میزان pH در همه تیمارها کاسته شد بطوریکه در نمونه کنترل از مقدار ۳/۷۵ در روز تولید تا ۳/۴۳ در پایان دوره نگهداری کاهش نشان داد و در مورد نمونه های حاوی اینولین نیز نتیجه مشابهی حاصل شد. طبق نتایج در زمان ثابت نگهداری افزودن اینولین منجر به افزایش pH نمونه های آبمیوه نسبت به نمونه شاهد گردید ($p<۰/۰۵$) ولی بین سطوح مختلف این ترکیب اختلاف معنی داری بدست نیامد ($p>۰/۰۵$). در مورد GOS نیز روند مشابهی بدست آمد بدین صورت که در غلظت ثابتی از این ترکیب با گذشت زمان نگهداری pH همه تیمارها کاهش یافت که البته این تغییرات در نمونه شاهد بیشتر بود بطوریکه از مقدار ۳/۷۹ در روز تولید تا ۳/۳۶ در روز ۲۸ام کاهش یافت و این تغییرات از نظر آماری معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). در حالیکه در مورد تیمارهای حاوی مقادیر مختلف GOS بجز نمونه حاوی ۰٪/۵، اختلاف معنی داری در طول زمان نگهداری از نظر

Archive of SID

www.SID.ir

میزان pH مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). همانطور که مشاهده می شود مشابه اینولین در مورد GOS نیز در بیشتر موارد در زمان ثابت نگهداری افزایش این ترکیب در فرمولاسیون آبمیوه تاثیر معنی داری بر pH نداشته است (جدول ۲). در واقع باکتری‌های میکروانکپسوله شده با استفاده از پری‌بیوتیک‌ها در طول زمان نگهداری آبمیوه اسید تولید کرده و باعث کاهش pH محصول می‌گردند که این کاهش pH در هفته اول بطور معنی داری بیشتر از هفته دوم، سوم و چهارم است (p<۰/۰۵). می‌توان نتیجه گرفت که با کاهش تعداد باکتری‌ها، مصرف قند و تولید اسید نیز از هفته دوم به بعد کاهش می‌یابد. در نهایت با مقایسه میزان کاهش pH در تیمارهای حاوی اینولین و GOS مشخص شد که در هر دوحالت بیشترین کاهش pH به نمونه شاهد تعلق داشت که ۳۲/۴۳-۰/۰ می باشد. کمترین تغییرات pH نیز در نمونه های حاوی ۱٪ اینولین و ۱٪ GOS بدست آمد که به ترتیب برابر ۰/۲۴ و ۰/۱۱ بود (جدول ۲). بنابراین می توان گفت که نمونه های حاوی GOS نسبت به تیمارهای حاوی اینولین کمتر دچار تغییرات pH شده اند که شاید به دلیل مصرف کمتر این ترکیب توسط باکتریهای پروبیوتیک و مخمرهای موجود در آبمیوه و همچنین نقش بافری این ترکیبات باشد. نتایج این مطالعه با نتایج بدست آمده توسط نال نالکیکول و چارالامپوپولوس (۲۰۱۱) همخوانی دارد. این محققان باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم را در آب میوه‌های انار و لیمو مورد بررسی قرار دادند و pH آب انار از ۳/۲۵ به ۳/۲۱ و pH آب لیمو از ۲/۵۲ به ۲/۵۱ رسید که این نتایج نشان دهنده تغییرات جزئی در pH آب میوه در طی زمان بوده است [۲۵]. همچنین نتایج دینگ و شاه در سال ۲۰۰۸ که قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در آب سیب بررسی کردند حاکی از کاهش pH آب سیب از ۲/۹ به ۲/۴ بود که این تغییرات pH در آب سیب پروبیوتیک معنی دار نبود [۱۷]. نتایج تحقیقات توتونچی و همکاران در سال ۱۳۹۴ نیز در تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک نشان داد که تغییرات pH در آب انگور قرمز تلقیح شده با لاکتوباسیلوس کازئی در طول نگهداری بسیار کم بود در حالی که این تغییرات در تلقیح با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قابل توجه بود و علت این مسئله فعالیت بالا و قابلیت زنده مانی بیشتر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و توانایی آن در تولید مقادیر بیشتری از اسید لاکتیک در مقایسه با لاکتوباسیلوس کازئی بود [۲].

**جدول ۲- اثر اینولین و گالاکتوالیگوساکارید بر تغییرات pH آب‌میوه ترکیبی سیب-زردآلو حاوی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده در در طول ۴ هفته نگهداری در دمای یخچال**

| تیمار | زمان نگهداری (روز) | | | | | میزان کاهش pH |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۷ | ۱۴ | ۲۱ | ۲۸ | |
| شاهد | ۳/۷۵±۰/۰۵۵$^{ab}$ | ۳/۷۰±۰/۱$^{abc}$ | ۳/۴۷±۰/۰۲۵$^{e}$ | ۳/۴۵±۰/۰۹۲$^{e}$ | ۳/۴۳±۰/۰۵۷$^{e}$ | ۰/۳۲ |
| اینولین ۰/۵٪ | ۳/۸۰±۰/۰۱۱$^{a}$ | ۳/۶۳±۰/۰۵۷$^{bcd}$ | ۳/۶۳±۰/۰۷۶$^{bcd}$ | ۳/۷۷±۰/۰۵۱$^{ab}$ | ۳/۴۹±۰/۰۹۶$^{ed}$ | ۰/۳۱ |
| اینولین ۱٪ | ۳/۷۴±۰/۰۴$^{ab}$ | ۳/۶۸±۰/۰۳۲$^{abc}$ | ۳/۶۹±۰/۱۰$^{abc}$ | ۳/۵۷±۰/۱۵$^{cde}$ | ۳/۵۰±۰/۰۸۹$^{ed}$ | ۰/۲۴ |
| اینولین ۲٪ | ۳/۷۸±۰/۰۷۲$^{ab}$ | ۳/۷۲±۰/۰۷۵$^{abc}$ | ۳/۶۶±۰/۱۱$^{abc}$ | ۳/۶۳±۰/۰۶۳$^{bcd}$ | ۳/۴۷±۰/۱۱$^{e}$ | ۰/۳۱ |
| شاهد | ۳/۷۹±۰/۰۵$^{a}$ | ۳/۷۱±۰/۱۰$^{abcd}$ | ۳/۵۳±۰/۰۷$^{cdef}$ | ۳/۴۶±۰/۰۸۶$^{ef}$ | ۳/۳۶±۰/۰۵۷$^{f}$ | ۰/۴۳ |
| GOS ٪۰/۵ | ۳/۷۴±۰/۰۸۳$^{abc}$ | ۳/۷۲±۰/۰۲۵$^{abcd}$ | ۳/۷۱±۰/۱۷۵$^{abcd}$ | ۳/۵۶±۰/۱۵۲$^{cdef}$ | ۳/۵۳±۰/۱۵۸$^{cdef}$ | ۰/۲۱ |
| GOS ٪۱ | ۳/۷۳±۰/۰۵۷$^{abc}$ | ۳/۷۰±۰/۰۱۱$^{abcd}$ | ۳/۶۸±۰/۱۲۶$^{abcd}$ | ۳/۶۹±۰/۱۳۱$^{abcd}$ | ۳/۶۲±۰/۱۵۸$^{bcde}$ | ۰/۱۱ |
| GOS ٪۲ | ۳/۷۷±۰/۰۵۵$^{ab}$ | ۳/۶۳±۰/۱۴۱$^{bcde}$ | ۳/۵۲±۰/۱۷۰$^{cdef}$ | ۳/۴۸±۰/۰۸$^{ef}$ | ۳/۵۳±۰/۲۳۶$^{cdef}$ | ۰/۲۴ |

حروف غیر مشترک نشان دهنده معنی داری بودن اختلاف میانگین ها در سطح p<۰/۰۵ می باشد.

Archive of SID

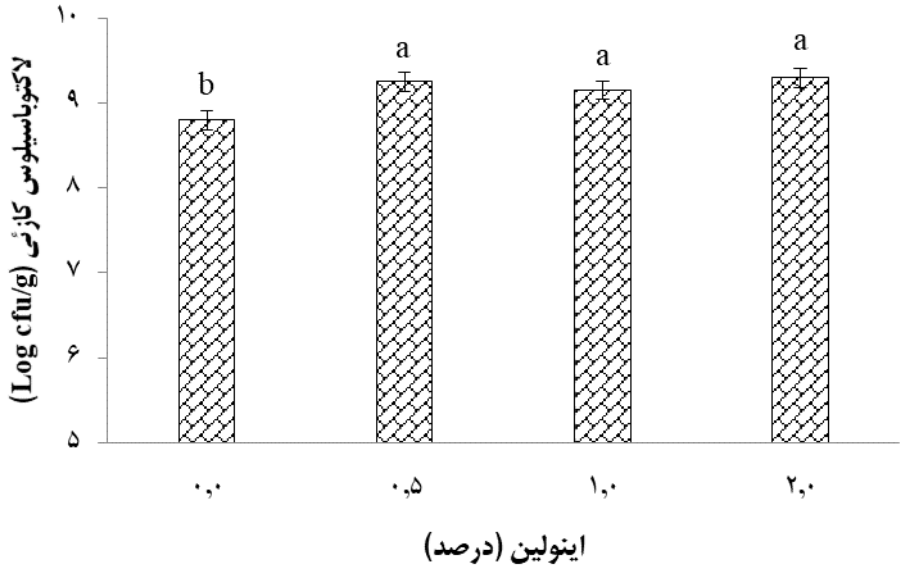
www.SID.ir

**۳-۳- اثر اینولین بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی**

قابلیت زنده‌مانی سلول‌های باکتری به گونه‌های مورد استفاده، شرایط موجود در محیط، اسیدیته نهایی محصول و میزان اکسیژن موجود بستگی دارد [۱۶]. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر ساده اینولین و همچنین اثر متقابل این ترکیب با زمان نگهداری بر قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در آب میوه ترکیبی سیب- زردآلو معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). با مقایسه میانگین ها توسط آزمون دانکن مشخص شد که افزودن اینولین در غلظت های مختلف تاثیر مثبتی بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو نسبت به نمونه کنترل داشته است ولی اختلاف معنی داری بین غلظت های مختلف این ترکیب مشاهده نشد (شکل ۱). تعداد اولیه باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده تلقیح شده در محدوده $\log cfug^{-1}$ ۹/۸-۸/۹ بود. نتایج اثر اینولین در طول ۴ هفته نگهداری نمونه های آب سیب بر تغییرات باکتری پروبیوتیک در جدول ۳ آورده شده است. همانطور که مشاهده می شود در نمونه شاهد تعداد اولیه باکتری‌های میکروانکپسوله شده در ابتدای دوره نگهداری برابر $\log cfug^{-1}$ ۹/۷۷ بود که در انتهای هفته اول و دوم نگهداری به ترتیب تا میزان ۹/۶۵ و $cfug^{-1}$ ۸/۴۵ کاهش نشان داد و این روند کاهشی تا انتهای دوره نگهداری (روز ۲۸ ام) ادامه یافت و در پایان هفته چهارم این میزان به $\log cfug^{-1}$ ۸/۰۳ رسید. بدین ترتیب پس از ۴ هفته نگهداری تعداد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در نمونه شاهد حدود ۱/۸ سیکل لگاریتمی کاهش نشان داد. با افزودن اینولین در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به فرمولاسیون آبمیوه این روند کاهشی با شیب کندتری صورت گرفت که حاکی از افزایش قدرت زنده مانی این باکتری در حضور ترکیب پری بیوتیک اینولین می باشد، بطوریکه پس از ۴ هفته نگهداری نمونه های آبمیوه تعداد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده در تیمارهای حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد اینولین به ترتیب برابر ۸/۶۰، ۸/۷۰ و $\log cfug^{-1}$ ۸/۷۶ بود که بترتیب معادل ۱، ۰/۶۶ و ۰/۹ سیگل لگاریتمی کاهش در تعداد باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی می‌باشد و طبق نتایج مقایسه میانگین ها اختلاف معنی داری هم بین این تیمارها از نظر آماری وجود نداشت ($p>۰/۰۵$). در واقع اینولین که یکی از مهمترین ترکیبات پری بیوتیکی بوده، بعنوان منبع کربن و انرزی توسط باکتریهای پروبیوتیک مورد استفاده قرار گرفته و باعث افزایش بقای آن ها در محصول شده است [۳۲]، در نهایت تعداد باقی مانده باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در محصول در سطح قابل قبولی قرار داشت. لازم به ذکر است که با وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها و نمونه کنترل بدلیل اینکه در همه نمونه ها چه شاهد و چه تحت تیمار، باکتری پروبیوتیک بصورت ریزپوشانی شده استفاده گردید لذا اثر مثبت فرایند ریزپوشانی در حفظ بقا و زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی باعث شده است که حتی در نمونه شاهد نیز در طول ۲۸ روز نگهداری میزان این باکتری فقط ۱/۸ سیکل کاهش یافته است. در تحقیقی مشابه گلستانی و همکاران (۱۳۹۵) با بررسی اثر اینولین بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک و خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی سینبیتیک تخمیری و غیر تخمیری گزارش دادند که قابلیت زیستی باکتری های پروبیوتیک نمونه های بستنی حاوی ۲ درصد اینولین بطور معنی داری بالاتر از نمونه های حاوی یک درصد اینولین و فاقد آن بود. در این نمونه ها تعداد باکتری های پروبیوتیک در روز اول پس از تولید $\log cfu/ml$ ۶/۹ بود که پس از گذشت ۱۶ هفته به $\log cfu/ml$ ۶/۸۳ رسید. همچنین طبق گزارش این محققین اینولین بر افزایش حجم و سرعت ذوب شدن بستنی نیز تاثیر معنی داری داشت، بطوریکه نمونه های حاوی ۲درصد اینولین، افزایش حجم و سرعت ذوب بالاتری نشان دادند ولی خصوصیات فیزیکوشیمیایی تحت تاثیر زمان نگهداری قرار نگرفت [۴]. آکین و همکاران (۲۰۰۷) نیز بستنی سین بیوتیک حاوی اینولین (در دوز ۱ و ۲٪) تولید کرده و اظهار داشتند که افزودن اینولین باعث بهبود زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس شده و تعدادشان با افزایش اینولین افزایش پیدا کرد که علت آن به تاثیر پری بیوتیکی اینولین مربوط می باشد [۶].

Archive of SID

www.SID.ir




**شکل ۱- اثر اینولین بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده در آب‌میوه ترکیبی سیب-زردآلو**

**جدول ۳- اثر اینولین بر قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی (Log cfu/g) میکروانکپسوله شده در آب‌میوه ترکیبی سیب-زردآلو در طول ۴ هفته نگهداری در دمای یخچال**

| تیمار | زمان نگهداری (روز) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۷ | ۱۴ | ۲۱ | ۲۸ | سیکل کاهشی |
| شاهد | ۹/۷۷±۰/۲۰۸$^{a}$ | ۹/۶۵±۰/۲۰۵$^{ab}$ | ۸/۴۵±۰/۲۵۱$^{gf}$ | ۸/۳۳±۰/۱۱۵$^{fg}$ | ۸/۰۳±۰/۱۵۲$^{g}$ | ۱/۷۴ |
| اینولین ۰/۵٪ | ۹/۶۵±۰/۱۱۵$^{ab}$ | ۹/۴۰±۰/۳۸$^{abc}$ | ۹/۳۳±۰/۲۰۸$^{abc}$ | ۹/۰±۰/۱۷۳$^{cde}$ | ۸/۶۰±۰/۳۴۶$^{ef}$ | ۱/۰۵ |
| اینولین ۱٪ | ۹/۳۶±۰/۳۲۱$^{abc}$ | ۹/۳۳±۰/۱۵۲$^{abc}$ | ۹/۱۰±۰/۴۱۶$^{bcd}$ | ۸/۹۵±۰/۲۵۱$^{cde}$ | ۸/۷۰±۰/۳۶۰$^{def}$ | ۰/۶۶ |
| اینولین ۲٪ | ۹/۶۶±۰/۲۰۷$^{a}$ | ۹/۴۵±۰/۲۵۰$^{abc}$ | ۹/۳۶±۰/۴۸۰$^{abc}$ | ۹/۰۵±۰/۱۲۰$^{cde}$ | ۸/۷۶±۰/۲۰۸$^{def}$ | ۰/۹ |
| شاهد | ۹/۷۶±۰/۲۰۸$^{a}$ | ۹/۶۳±۰/۲۰۵$^{a}$ | ۸/۵۱±۰/۲۵۱$^{efg}$ | ۸/۲۹±۰/۱۱۵$^{fg}$ | ۷/۹۸±۰/۱۵۲$^{g}$ | ۱/۷۸ |
| GOS ٪۰/۵ | ۹/۵۵±۰/۰۵۷$^{a}$ | ۹/۴۳±۰/۱۵۲$^{ab}$ | ۹/۰۶±۰/۲۵۲$^{bcd}$ | ۸/۷۷±۰/۳۲۱$^{edf}$ | ۸/۴۴±۰/۳۱۰$^{efg}$ | ۱/۱۲ |
| GOS ٪۱ | ۹/۶۵±۰/۳۰۵$^{a}$ | ۹/۴۷±۰/۱۱۵$^{ab}$ | ۹/۳۳±۰/۳۲۲$^{abc}$ | ۹/۰۳±۰/۲۰۸$^{bcd}$ | ۸/۸۵±۰/۲۰۵$^{ed}$ | ۰/۸۰ |
| GOS ٪۲ | ۸/۹۶±۰/۲۰۸$^{cd}$ | ۸/۸۳±۰/۳۰۵$^{ed}$ | ۸/۶۵±۰/۲۳۱$^{edf}$ | ۸/۴۳±۰/۲۱$^{efg}$ | ۸/۳۳±۰/۴۰۵$^{fg}$ | ۰/۶۳ |

حروف غیر مشترک نشان دهنده معنی داری بودن اختلاف میانگین ها در سطح p<۰/۰۵ می باشد

### ۴-۳- اثر گالاکتوالیگوساکارید بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

طبق نتایج انالیز واریانس که در جدول ۱ نشان داده شده است، ترکیب گالاکتوالیگوساکارید (GOS) نیز مانند اینولین بر قابلیت زیستی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در طول زمان نگهداری معنی دار بود (p<۰/۰۵). طبق نتایج مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن مشخص شد که بطور کلی افزودن مقادیر مختلف این ترکیب به فرمولاسیون آبمیوه ترکیبی سیب-زرد آلو، تاثیر مثبت و فزاینده ای بر قابلیت زنده مانی باکتریهای پروبیوتیک داشته است و بیشترین تاثیر به تیمار حاوی ۱٪ GOS می باشد که نسبت به سایر تیمارها معنی دار می باشد

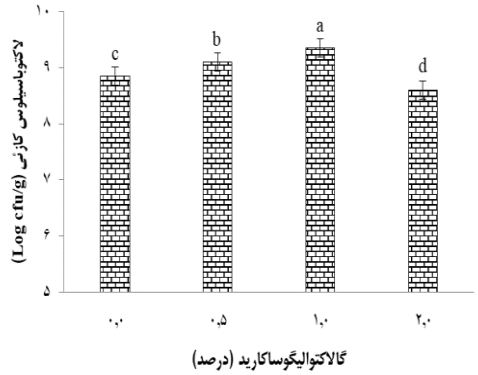
Archive of SID

www.SID.ir

(شکل ۲). اثر GOS بر قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی (Log cfu/g) میکروانکپسوله شده در آب‌میوه ترکیبی سیب-زردآلو در طول ۴ هفته نگهداری در دمای یخچال در جدول ۳ ارائه شده است. طبق نتایج این جدول تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طی ۴ هفته نگهداری به طور معنی داری کاهش یافت ($p<۰/۰۵$)، که مشاهده روند کاهش باکتری مشخص نمود که باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در تیمارهای حاوی مقادیر مختلف GOS بویژه در سطح ۲-۱٪ توانستند تعداد خود را در سطح مطلوب و مورد نیاز حفظ کنند. همانطور که مشاهده می شود در تیمارهای حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ درصد GOS در پایان دوره نگهداری تعداد باکتری پروبیوتیک به ترتیب برابر ۸/۴۴، ۸/۸۵ و ۸/۳۳ سیگل لگاریتمی بود که نشان دهنده ۱/۱۲، ۰/۸ و ۰/۶۳ سیکل لگاریتمی کاهش در تعداد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی بود (جدول ۳). بنابراین در طول ۴ هفته نگهداری نمونه های آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو در دمای یخچال بیشترین حفظ و بقای باکتری در تیمار ۲٪ GOS نسبت به تعداد اولیه آن می باشد که البته اختلاف معنی داری با نمونه حاوی ۱٪ این ترکیب نداشته است ($p>۰/۰۵$). در این تیمارها نیز مانند نمونه‌های حاوی اینولین به دلیل استفاده از فرایند ریزپوشانی برای حفظ بقای بیشتر باکتری پروبیوتیک تفاوت بین نمونه شاهد و تحت تیمار اگرچه معنی دار است ولی چندان چشمگیر نیست. در تحقیقاتی مشابه چن و همکاران (۲۰۰۵) گزارش دادند که زنده‌مانی لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم انکپسوله شده در آلژینات با استفاده از فروکتواولیگوساکارید، در مقایسه با سلول‌های آزاد در شیر در نگهداری یخچالی ۱۰۰ بار بالاتر بود [۱۲]. مطالعات یئو و لیونگ (۲۰۱۰) نیز نشان داد که افزودن فروکتواولیگوساکارید به شیر سویا موجب افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تا $۱۰^۷$ cfu/mL می-شود [۳۵]. فرگوسن و همکاران (۲۰۱۰) هم اثر GOS را بعنوان یک مکمل غذایی پری بیوتیکی بر میکروبیوت روده و ایمنی تیلاپیا قرمز پرواری بررسی کردند و نتیجه گرفتند که این مکمل غذایی موجب تعادل جمعیت فلور باکتریایی روده شده و همچنین موجب تحریک پاسخ ایمنی غیراختصاصی می‌شود [۱۸]. در نهایت با مقایسه کلی اثر اینولین و GOS بر قابلیت زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو مشخص شد که اینولین بهتر از GOS عمل نموده است (شکل ۳). همانطور که در جدول ۲ نیز مشاهده می شود اینولین در غلظت های ۰/۵ و ۱٪ سبب حفظ بیشتر این باکتری پروبیوتیک نسبت به نمونه کنترل و تیمارهای حاوی غلظت یکسانی از GOS گردیده است بطوریکه در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱٪ اینولین میزان کاهش این باکتری در طول ۲۸ روز نگهداری آبمیوه در دمای یخچال به ترتیب برابر ۱/۰۵ و ۰/۶۶ سیکل لگاریتمی بود ولی در تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱٪ GOS میزان این کاهش به ترتیب برابر ۱/۱۲ و ۰/۸۰ سیکل بود که البته در غلظت یکسان اختلاف قابل توجهی با هم نداشتند ($p>۰/۰۵$). این در حالی بود که در غلظت ۲٪ روند تاثیرگذاری متفاوت بود بطوریکه با افزایش غلظت اینولین قابلیت زنده مانی باکتری پروبیوتیک کاهش معنی داری نسبت به غلظت های پایین تر نشان داد و میزان کاهش باکتری به ۰/۹۰ سیکل افزایش یافت. در مورد پری بیوتیک GOS با افزایش غلظت قابلیت زنده مانی باکتری بیشتر شد و پس از ۴ هفته نگهداری محصول میزان کاهش به ۰/۶۳ سیکل رسید که با اینولین ۱٪ در یک سطح قرار داشتند (جدول ۳). بنابراین بطو کلی میتوان گفت که اینولین تا غلظت ۱٪ اثر مطلوبی بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی داشته است در حالی که غلظت های بالاتر این ترکیب منجر به کاهش بیشتر باکتری می گردد، ولی در مورد GOS تا غلظت ۲٪ نیز زنده مانی باکتری ها افزایش یافته است.

Archive of SID

www.SID.ir




**شکل ۲- اثر ساده گالاکتوالیگوساکارید بر تغییرات شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده در آب-میوه ترکیبی سیب-زردآلو**

**شکل ۳- اثر نوع پری بیوتیک بر زنده مانی باکتری پروبیوتیک**

### ۵-۳- زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله در سیستم شبیه سازی شده دستگاه گوارشی

نتایج بدست آمده از بررسی قابلیت زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده در سیستم شبیه سازی شده دستگاه گوارشی در آب میوه ترکیبی سیب زرد-آلو و جداول تجزیه واریانس مربوطه در جداول ۵ و ۶ آورده شده است. همانطور که از جدول تجزیه واریانس نیز مشخص می‌شود، مقدار اینولین، GOS، زمان نگهداری و اثرات متقابل آنها بر زنده مانی باکتری معنی دار بود ($p<۰/۰۵$). بر طبق نتایج بدست آمده از این تحقیق، افزودن هر دو نوع پری بیوتیک GOS و اینولین در طی میکروانکپسولاسیون باعث افزایش مقاومت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده به کاهش pH و حضور نمک‌های صفراوی در شرایط مشابه دستگاه گوارش گردید. همانطور که نتایج نشان می‌دهد تعداد باکتری انکپسوله شده بدون ترکیبات پری بیوتیک (شاهد) در شرایط مشابه دستگاه گوارشی از مقداراولیه ۹/۰ تا ۲/۶۶ $\log cfug^{-1}$ کاهش یافت که معادل ۶/۳۴ سیکل لگاریتمی کاهش در میزان باکتری پروبیوتیک می باشد و این تغییرات از نظر آماری معنی دار می باشد ($p<۰/۰۵$). افزودن GOS و اینولین تأثیر مثبتی بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده داشت بطوریکه در تیمارهای حاوی ۱٪ و ۲٪ اینولین میزان کاهش باکتری در طول ۱۲۰ دقیقه قرار گرفتن در شرایط مشابه دستگاه گوارش به ترتیب برابر ۳/۴۱ و ۳/۵۱ سیکل لگاریتمی بود که اختلاف معنی داری بین آن ها وجود نداشت ($p>۰/۰۵$) ولی نسبت به نمونه کنترل اختلاف قابل توجهی دارند (جدول ۶). افزودن GOS نیز با تاثیری مشابه با اینولین در غلظت های ۱ و ۲درصد باعث افزایش قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک گردید بطوریکه در تیمارهای حاوی ۱ و ۲ درصد این ترکیب، میزان کاهش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در شرایط دستگاه گوارش به ترتیب برابر ۳/۵۳ و ۲/۸۱ سیکل لگاریتمی بود. همانطور که مشاهده می شود در مقایسه این دو ترکیب پری بیوتیکی GOS نسبت به اینولین در زنده-مانی تاحدودی مؤثرتر بود بطوریکه پایین‌ترین میزان کاهش تعداد باکتری در غلظت ۲ ٪ GOS بود که معادل $\log cfug^{-1}$ ۲/۸۱ بود و در مقایسه با نمونه شاهد (نمونه بدون پری بیوتیک) ۱۰۰۰ بار بهتر بود. به طور کلی ترکیبات پری بیوتیک تأمین کننده منابع کربن و نیتروژن برای باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشند [۷]. در طی گذشت زمان تعداد باکتری‌ها کاهش یافت و این کاهش تعداد سلول‌ها در ۶۰ دقیقه اول بسیار قابل توجه بود و علت این مسأله شرایط اسیدی شیره معده بود و سپس به طور قابل توجهی بعد از ۱۲۰ دقیقه تعداد باکتری‌ها افزایش یافتند. نتایج مطالعات چن و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که میزان زنده مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارشی در صورت استفاده از پری بیوتیک‌ها (فروکتواولیگوساکاریدها) ۱۰۰۰ بار بیشتر از

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط مشابه بدون پری بیوتیک بود که با نتایج این تحقیق مطابقت کامل دارد [۱۲]. خسروی زنجانی و همکاران (۱۳۹۲) نیز تاثیر ریزپوشانی بر روی زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شرایط شبیه سازی شده معده و روده را مورد بررسی قرار دادند. در مطالعه آن ها باکتریهای پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به روش امولسیون با آلژینات کلسیم، نشاسته مقاوم ذرت و اینولین ریزپوشانی شدند و در شرایط شبیه سازی شده مایع معده (با حضور پپسین و pH=۱/۵) و روده (با حضور پانکراتین و نمکهای صفراوی و pH=۱/۵) به مدت ۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. نتایج نشان داد، ریزپوشانی پروبیوتیک ها در سطح معنی دار منجر به افزایش بقای پروبیوتیک ها در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان شد. نشاسته مقاوم ذرت، بقای پروبیوتیکها را در شرایط معده و روده انسان بهبود بخشید و هیچ تاثیری بر اندازه کپسولها نداشت [۳]. نتیجه این تحقیق با گزارش کاواری و همکاران در سال ۲۰۱۰ نیز تطابق دارد. این محققین تأثیر کوئرستین در زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس گاسری میکروانکپسوله شده را بررسی کردند و اثر مثبت این ترکیب را بر قابلیت زیستی باکتریهای پروبیوتیک تایید کردند [۱۱]. بابو و همکاران نیز در سال ۲۰۱۱ گزارش دادند که افزودن اینولین باعث افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی MTCC 1423 میکروانکپسوله شده با آلژینات–نشاسته با مقاومت بالا با استفاده از تکنیک امولسیون گردید [۹]. فرتیزن–فریر و همکاران (۲۰۱۱) نیز گزارش دادند که میکروانکپسوله کردن بیفیدوباکتریوم BB12 با استفاده از خشک کن پاششی با شیر پس چرخ بازسازی شده و همچنین پری بیوتیک‌هایی از قبیل اینولین، اولیگوفروکتوز و اینولین غنی سازی شده با اولیگوفروکتوز باعث افزایش میزان زنده مانی این باکتری در طی دوره نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد در مقایسه با محصول تولیدی که فقط از شیر پس چرخ بازسازی شده استفاده نموده بودند، گردید [۲۰].

**جدول ۶- اثر اینولین و گالاکتوالیگوساکارید بر قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی (Log cfu/g) میکروانکپسوله شده در سیستم شبیه سازی شده دستگاه گوارشی در طول ۱۲۰ دقیقه نگهداری در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد**

| تیمار | زمان نگهداری (دقیقه) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۶۰ | ۱۲۰ | میزان کاهش (سیکل لگاریتمی) |
| شاهد | ۹/۰±۰/۲۶۴$^{a}$ | ۴/۷۷±۰/۴۷۲$^{c}$ | ۲/۶۶±۰/۲۸۸$^{e}$ | ۶/۳۴ |
| اینولین ۱٪ | ۸/۳۶±۰/۱۵۲$^{b}$ | ۴/۰۶±۰/۲۵۱$^{d}$ | ۴/۹۵±۰/۲۵۰$^{c}$ | ۳/۴۱ |
| اینولین ۲٪ | ۸/۶۶±۰/۳۰۵$^{ab}$ | ۳/۸۵±۰/۴۱۶$^{d}$ | ۵/۱۵±۰/۳۷۸$^{c}$ | ۳/۵۱ |
| شاهد | ۹/۰±۰/۲۶۴$^{a}$ | ۴/۷۷±۰/۴۷۲$^{c}$ | ۲/۶۶±۰/۲۸۸$^{e}$ | ۶/۳۴ |
| GOS ۱٪ | ۸/۶۰±۰/۲۶۴$^{a}$ | ۳/۸۶±۰/۴۷۲$^{d}$ | ۵/۰۷±۰/۲۸۸$^{c}$ | ۳/۵۳ |
| GOS ۲٪ | ۷/۷۸±۰/۳۶۰$^{b}$ | ۳/۵۵±۰/۱۵۵$^{d}$ | ۴/۹۷±۰/۳۰۵$^{c}$ | ۲/۸۱ |

حروف غیر مشترک نشان دهنده معنی داری بودن اختلاف میانگین ها در سطح $p<۰/۰۵$ می باشد

Archive of SID

www.SID.ir

## ۴- نتیجه‌گیری

ریزپوشانی به عنوان یکی از جدیدترین شیوه‌ها، تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر زنده مانی پروبیوتیک ها دارد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر ترکیبات پری بیوتیک اینولین و گالاکتوالیگوساکارید بر زنده مانی باکتریهای پروبیوتیک ریزپوشانی شده در آبمیوه ترکیبی سیب-زرد آلو و همچنین در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان بود. نتایج این مطالعه نشان داد که زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده تحت تأثیر میزان ترکیبات پری بیوتیک قرار گرفت، بطوریکه نمونه های حاوی مقادیر مختلف (۰/۵، ۱ و ۲ درصد) اینولین و GOS پس از ۲۸ روز نگهداری در دمای یخچال دارای باکتری پروبیوتیک بیشتری نسبت به نمونه کنترل بودند و این اختلاف از نظر آماری معنی دارد بود. همچنین طبق نتایج مشخص شد که فرایند ریزپوشانی به همراه افزودن ترکیبات اینولین و GOS به طور قابل ملاحظه ای زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی را در شرایط مشابه دستگاه گوارش بهبود بخشید، بطوریکه بقای باکتری های پروبیوتیک ریزپوشانی شده پس از ۱۲۰ ساعت نگهداری در شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش، بصورت معنی داری بیشتر از تیمار فاقد ترکیبات پری بیوتیک بود. در مجموع موثرترین تیمارها در شرایط این پژوهش شامل غلظت ۱٪ اینولین و ۲٪ GOS بود که از نظر آماری در یک سطح قرار داشتند. بر اساس نتایج بدست آمده، می‌توان از اینولین و GOS در غلظت های مناسب بعنوان پری بیوتیک در افزایش زنده مانی باکتری های پروبیوتیک بهره جست.

۵-منابع


۱. بی نام، ۱۳۸۷. استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۵، ماست پروبیوتیک، ویژگی ها و روش آزمون، چاپ اول.

۲. توتونچی، پ.، حصاری، ج.، مرادی، م.، فتحی آچاچلویی ، ب. ۱۳۹۴. ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5 . نشریه پژوهشهای صنایع غذایی. دوره ۲۵، شماره ۴، صفحه ۶۵۵-۶۶۶.

۳. خسروی زنجانی، م. ع، محمدی، ن.، بهروز نسب، ک.، صولتی، ا. ع. ۱۳۹۲. تاثیر ریزپوشانی بر روی زنده مانی لاکتوباسیلوس کازئی وبیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شرایط شبیه سازی شده معده و روده. مجله پژوهش های بالینی دامپزشکی، دوره جهارم، شماره اول. ۳۹-۲۹.

۴. گلستانی، م.، پوراحمد، ر.، مهدوی عادلی، ح. ر. ۱۳۹۵. اثر اینولین بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک و خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی بستنی سینبیتیک تخمیری و غیر تخمیری. مچله علوم غذایی و تغذیه، سال سیزدهم، شماره سوم؛ ۳۲-۲۵.

5. Akalin , A. S., Karagozlu, C. & Unal, G. 2007. Rheological properties of reduced-fat and low-fat ice cream containing whey protein isolate and inulin. European Food Research Technology, 227, 889–895.
6. Akin, M. B., Akin, M. S. & Kirmaci, Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. Food Chemistry, 104, 93-99.
7. Ann, E. Y., Kim, Y., Oh, S., Imm, J. Y., Park, D. J., Han, K. S., & Kim, S. H. 2007. Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus ATCC 43121 with prebiotic substrates using a hybridisation system. International journal of food science & technology, 42(4), 411-419.
8. Antunes, A. E. C., Liserre, A. M., Coelho, A. L. A., Menezes, C. R., Moreno, I., Yotsuyanagi, K., & Azambuja, N. C. 2013. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. LWT-Food Science and Technology, 54(1), 125-131.
9. Babu, G., Rath, S., & Nithyalakshmi, V. 2011. Probiotic viability of freeze dried synbiotic microcapsules in skim milk powder at ambient storage condition. Int J Food Saf, 13, 62-68.


Archive of SID

www.SID.ir

10. Capela, P., Hay, T.K.C. 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(2), 203-211.
11. Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & del Carmen Villarán, M. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. International journal of food microbiology, 142(1), 185-189.
12. Chen, K. N., Chen, M. J., Liu, J. R., Lin, C. W., & Chiu, H. Y. 2005. Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. Journal of Food Science, 70, 260-266.
13. De Vos, P., Faas, M. M., Spasojevic, M., & Sikkema, J. 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. International Dairy Journal, 20(4), 292-302.
14. De Vuyst, Luc, and Erick J. Vandamme. 1994. "Lactic acid bacteria and bacteriocins: their practical importance." Bacteriocins of lactic acid bacteria. Springer US, 1-11.
15. Di Criscio, T., Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E. & Panfil, G. 2010. Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. Journal of Dairy Science, 93, 4555-4564.
16. Dickerman, J. M., & Liberman, S. 1952. Studies on the chemical nature of an antibiotic present in water exteacts of cabbage. Journal of Food Science, 17(1-6), 438-441.
17. Ding, W. K., & Shah, N. P. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. International Food Research Journal, 15(2), 219-232.
18. Fergusen, R.M.W.; Merrifield, D.L.; Harper, G.M.; Rawling, M.D.; Mustafa, S.; Picchietti, S.; Balcazar, J.L. and Davies, S.J. 2010. The effect of Pediococcus acidilacticion the gut microbiota and immune status of ongrowing red tilapia (Oreochromis niloticus). Journal of Applied Microbiology ISSN. Vol. 507, pp: 215-292.
19. Ferrari, C. K. 2007. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. Maturitas, 58(4), 327-339.
20. Fritzen-Freire, C. B., Prudencio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Pinto, S. S., Negrao- Murakami, A. N., & Murakami, F. S. 2011. Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics. Food Research International, 45(1), 306-312.
21. Hoseinifar, S.H.; Khalili, M.; Khoshbavar Rostami, H. and Esteban, M.A. 2013. Dietary galactooligosaccharide affects intestinal microbiota, stress resistance, and performance of Caspian roach (Rutilus rutilus) fry. Fish and Shellfish Immunology xxx. 5-10.
22. Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT - Food Science and Technology 39(10), 1221-1227.
23. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. 2004. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. International dairy journal, 14(8), 737-743.
24. Martins, E. M. F., Ramos, A. M., Vanzela, E. S. L., Stringheta, P. C., de Oliveira Pinto, C. L., & Martins, J. M. 2013. Products of vegetable origin: a new alternative for the consumption of probiotic bacteria. Food Research International, 51(2), 764-770.
25. Nualkaekul, S., & Charalampopoulos, D. 2011. Survival of Lactobacillus plantarum in model solutions and fruit juices. International Journal of Food Microbiology, 146 (2), 111-117.
26. Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice

www.SID.ir

fermented with Lactobacillus casei. Food Research International, 44(5), 1276-1283.
27. Piad, R., Samaniego, L. M., Perez, M., Boucourt, R., Medina, E., Laurencio, M., & Milián, G. 2006. Prebiotic activity of an enzymatic yeast cream hydrolyzate on egg-laying hens productive indicator. Cienciay Tecnologia Alimentari, 5, 226-230.
28. Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. Food microbiology, 27(1), 1-11.
29. Ross, R. P., Fitzgerald, G., Collins, K., & Stanton, C. 2002. Cheese delivering biocultures--probiotic cheese. Australian Journal of Dairy Technology, 57 (2), 71-78.
30. Sangwan,V., Tomar, S. K., Singh, R. R. B., Singh, A. K. & Ali, B. 2011. Galactooligosaccharides: novel components of designer foods. Journal of Food Science, 76(4), 103-111.
31. Stanton, C., Desmond, C, Fitzgerald, G. F., Collins, K. & Ross, R. P. 2005,a. Environmental adaptation of probiotic lactobacilli toward improvement of performance during storage. International Dairy Journal, 12, 183-190.
32. Stanton, C., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., & Van Sinderen, D. 2005,b. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. Current opinion in biotechnology, 16(2), 198-203.
33. Torres, D. P. M., Goncalves, M. F., Teixeira, J. A. & Rodrigues, L. R. 2010. Galacto-Oligosaccharides: production, properties, applications, and significance as prebiotics. Comprehensive Reviews inFood Science and Food Safety, 9, 438-454.
34. Vivek, K. B. 2013. Use of encapsulated probiotics in dairy based foods. International Journal of Food, Agriculture and Veterinary Sciences, 3(1), 188-199.
35. Yeo, S. K., & Liong, M. T. 2010. Effect of prebiotics on viability and growth characteristics of probiotics in soymilk. Journal of the Science of Food and Agriculture, 90, 267-275.
36. Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. Bioresource technology, 97(12), 1427-1430.

Archive of

www.SID.ir