پوشش‌دهی توام باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و بتاکاروتن با استفاده از کازئین و کاراگینان و بررسی ماندگاری در طول زمان و در شرایط شبیه‌سازی شده اسید معده

اعظم پورسیف اله[a]، داود زارع[b*]، مهتا میرزایی[c]

[a] *کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*
[b] *استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران*
[c] *استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۵/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۶/۰۴/۲۷

چکیده

مقدمه: باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بعنوان یک باکتری پروبیوتیک اثرات مفیدی بر سلامت انسان دارد. بتاکاروتن نیز به عنوان آنتی‌اکسیدان در غنی‌سازی بسیاری از فرآورده‌های غذایی بکار می‌رود. این ترکیبات بسیار حساس بوده و معمولا از ماندگاری کمی برخوردارند و ریزپوشانی تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش ماندگاری آن‌ها دارد. در این بررسی اثر ریزپوشانی به روش خشک‌کردن انجمادی برروی زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و پایداری بتاکاروتن، به صورت توام مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: ابتدا امولسیون بتاکاروتن با محلول کازئینات سدیم و کاراگینان تهیه گردید و با یک سوسپانسیون غلیظ از باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* مخلوط شد. سپس نمونه‌ها توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی آبگیری‌شد. در ادامه میزان زنده‌مانی باکتری و ماندگاری بتاکاروتن در نمونه‌های پوشش‌دار شده در زمان صفر و در طی نگهداری در دمای ۴ و ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد به مدت یک ماه و هم‌چنین در شرایط شبیه‌سازی شده اسید معده بررسی گردید و با نمونه ریزپوشانی نشده در شرایط مشابه مقایسه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد ریزپوشانی اثر مثبتی بر روی زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتر و پایداری بتاکاروتن دارد. هم‌چنین حضور بتاکاروتن در نمونه‌های ریزپوشانی شده به‌صورت معنی‌داری ($P<0/05$) باعث افزایش زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده در طول زمان نگهداری شد. ریزپوشانی بر روی زنده‌مانی باکتری در شرایط شبیه‌سازی معده نیز تاثیر مثبت داشت.

نتیجه‌گیری: ریزپوشانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به‌صورت توام با بتاکاروتن به روش خشک‌کردن انجمادی با پوشش کازئین و کاراگینان شرایط مساعدی را برای افزایش زنده‌مانی باکتری و پایداری بتاکاروتن در طول ذخیره سازی و شرایط شبیه سازی شده معده ایجاد کرد.

واژه‌های کلیدی: *بتاکاروتن، بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، پوشش‌دهی، کاراگینان، کازئین*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: davoodz@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

امروزه در سراسر جهان گرایش به تولید و مصرف مواد غذایی فراسودمند، افزایش چشمگیر یافته است و پروبیوتیک‌ها از جمله محصولاتی هستند که به صورت روزافزون در تولید غذاهای فراسودمند کاربرد یافته‌اند (امینی و همکاران، ۱۳۹۱). پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با عمل زیستی خود باعث توازن و بهبود جمعیت میکروبی روده می‌شوند (Champagne *et al.*, 2011). یکی از شناخته شده‌ترین پروبیوتیک‌ها باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* است. این باکتری نقش مهمی در تقویت سیستم ایمنی بدن نسبت به محرک‌های خارجی و فعالیت ضد توموری آن و همچنین افزایش تولید ویتامین‌های B_1، B_2، B_6، B_{12} و اسید فولیک در سیستم گوارش انسان دارد (Saareal *et al.*, 2000). *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* یک باکتری بی‌هوازی و تولید کننده اسیدلاکتیک است. این باکتری به شرایط محیطی بسیار حساس بوده و معمولا از ماندگاری پائینی برخوردار است (Champagne *et al.*, 2011؛ خسروی زنجانی و همکاران، ۱۳۹۲). به همین دلیل کوشش‌های فراوانی برای افزایش زنده‌مانی این باکتری در محصولات غذایی صورت گرفته است.

بتاکاروتن نیز یک ترکیب رنگی، آنتی‌اکسیدان و پیش‌ساز ویتامین A است که به بسیاری از محصولات غذایی اضافه می‌گردد. اما به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی شدید، معمولا دارای پایداری نسبتا پائینی در مواد غذایی است (Donhowe, 2013 ؛Gutierrez *et al.*, 2013). فعالیت بتاکاروتن در حضور برخی از آنزیم‌ها و در مجاورت نور و اکسیژن کاهش می یابد. همچنین در دستگاه گوارش، ترکیباتی نظیر چربی‌ها و پروتئین‌ها، جذب بتاکاروتن را تحت تاثیر قرار می‌دهند. از نظر جذب در سیستم گوارش نیز عوامل زیادی در رژیم غذایی از جمله چربی‌ها و پروتئین جذب بتاکاروتن را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Donhowe, 2013 ؛Mueller & Boehm, 2011). به همین منظور از ریزپوشانی برای افزایش ماندگاری این ماده در محصولات غذایی نیز استفاده می‌شود (هجری و همکاران، ۱۳۸۹؛ Gutierrez *et al.*, 2013). از طرف دیگر، این احتمال وجود دارد که بتاکاروتن بواسطه داشتن فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خارج کردن اکسیژن در دسترس باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بتواند نقش مثبتی بر زنده‌مانی این باکتری داشته باشد.

ریزپوشانی فرایندی است که با قرار دادن مواد جامد، مایع و گاز در کپسول‌های کوچک باعث حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در طول مدت تولید و نگهداری گردیده و مانع از دست رفتن ارزش تغذیه‌ای و متابولیکی آن‌ها می‌شود. (Pinto *et al*, 2015؛ قاسمی ۱۳۹۰). اخیرا، استفاده از کمپلکس‌های پروتئین-پلی‌ساکارید به منظور پوشش در ریزپوشانی مواد غذایی حساس بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌است (Matalanis *et al.*, 2011). انتخاب نوع پروتئین و پلی‌ساکارید به فاکتورهایی نظیر توانایی خود تجمعی ماده برای تشکیل میکرو ذرات، خصوصیات کاربردی ذرات (اندازه، بار و پایداری در برابر شرایط محیطی)، مجاز بودن و قیمت مناسب، کاربرد آسان و پایداری در طی فرایند بستگی دارد (Matalanis *et al.*, 2011). کازئین، پروتئین رشته‌ای با ساختار مارپیچ تصادفی است که ۸۰-۷۵ ٪ پروتئین شیر را شامل می‌شود. این پروتئین به شکل میسلی در شیر وجود دارد (Chen *et al.*, 2006). کازئین‌ها می‌توانند از طریق ایجاد پیوندهای آبگریز، با مواد فعال لیپیدی اتصال برقرار کنند و همچنین با برهمکنش‌های مختلف الکترواستاتیک، هیدروژنی و آبگریز، به پلی‌ساکاریدها متصل شوند (Chen *et al.*, 2006).

کاراگینان پلی‌ساکاریدی خطی با گروه آنیونی قوی سولفاتی است و ساختار آن شامل واحدهای تکراری د-گالاکتوپیرانوز است که با پیوند گلیکوزیدی آلفا ۱-۲ و بتا ۱-۴ بهم متصل شده‌اند. کاراگینان‌ها به سه دسته‌ی کاپا، یوتا و لامبدا تقسیم می‌شوند (Bltiz *et al.*, 2009) مطالعات پیشین نشان داده است، کاراگینان می‌تواند با پروتئین‌ها برهمکنش داده و کمپلکس محلول یا نامحلول تولید کند (Bltiz *et al.*, 2009).

در پژوهش‌های متعددی از ترکیبات پروتئین-پلی ساکارید به منظور ریزپوشانی ترکیبات ویتامینی استفاده شده است، به طور مثال نتایج بررسی‌ها نشان می‌دهد که کمپلکس‌های پکتین - بتالاکتوگلوبولین محافظت بهتری را در برابر تخریب ویتامین D_2 نسبت به لایه منفرد بتالاکتوگلوبولین ایجاد می‌کنند (Ron *et al.*, 2010). همچنین Liu و همکاران (۲۰۰۸) با بررسی کمپلکس کیتوزان-زئین حاوی آلفاتوکوفرول نشان دادند که عامل

Archive of SID

www.SID.ir

تشکیل کمپلکس و پایداری سیستم، برهمکنش‌های الکترواستاسیک بین زئین و کیتوزان می‌باشد. Ye و همکاران (۲۰۰۸) نیز با بررسی بیوپلیمرهای کازئینات سدیم و صمغ عربی، توانایی این دو پلیمر را در تشکیل کمپلکس‌های پایدار با اندازه ذرات ۱۰۰–۲۰۰ نانومتر نشان دادند.

از آنجا که باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و بتاکاروتن هر دو از قابلیت‌های بالایی برای استفاده در مواد غذایی برخوردارند، ریزپوشانی توام این دو ماده می‌تواند در غنی‌سازی محصولات غذایی بسیار پرکاربرد باشند. همچنین خواص آنتی اکسیدانی قوی در بتاکاروتن ممکن است خود قابلیت افزایش ماندگاری باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را موجب گردد. لذا هدف از این بررسی ریزپوشانی توام باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و بتاکاروتن به منظور افزایش ماندگاری باکتری بیفیدوباکتر و هم‌چنین غنی‌سازی آن با بتاکاروتن به عنوان یک ترکیب غنی کننده محصولات غذایی و ارزیابی ماندگاری آن در شرایط محیطی و در شرایط سیستم گوارش انسان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- مواد

بتاکاروتن استفاده شده از شرکت ZMC چین و سدیم کازئینات از شرکت DMW هلند خریداری شد. کاراگینان از نوع کاپا از شرکت سیگما خریداری شد. هگزان، گلیسرول، تری سیترات سدیم و اسیدکلریدریک از نمایندگی شرکت مرک آلمان تهیه شدند.

باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (*Bifidobacterium bifidum* PTCC 1644) به صورت خالص و لیوفیلیزه از مرکز کلکسیون میکروب‌های صنعتی ایران در سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و در ۲۰ میلی لیتر محیط‌کشت MRS[1] براث (Merck, Germany) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت در شرایط بی‌هوازی (با استفاده از جار بی‌هوازی و گازپک) فعال گردید. سپس نمونه حاصل در ۹۵ میلی لیتر محیط کشت MRS براث تلقیح شد و تحت شرایط فوق تکثیر گردید. از تک کلنی‌های تشکیل شده بر روی لام گسترش تهیه شد و سپس با استفاده از میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و رنگ آمیزی گرم، شکل و رنگ باکتری‌ها مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۳۲۵ مورد تایید قرار گرفت.

به منظور به دست آوردن بهترین شرایط برای پوشش دهی بتاکاروتن و باکتری *بیفیدوباکتر بیفیدوم* از روش‌آماری یک فاکتور در زمان استفاده شد. مهمترین فاکتورهای مورد ارزیابی شامل غلظت‌های مختلف کازئین و کاراگینان بود که در مقالات مختلف اثر آنها در پوشش دهی باکتری و بتاکاروتن مشخص شده بود (خوش منظر و همکاران، ۱۳۹۲؛ Ye, 2008). برای بهینه سازی شرایط با این روش ابتدا مقدار کاراگینان در غلظت ۰/۰۳ ٪ که توسط بسیاری از محققین گزارش گردیده است (Ji *et al.*, 2008) ثابت نگه داشته شد و غلظت‌های مختلف کازئین مورد بهینه‌سازی قرار گرفت و در مرحله بعد غلظت کازئین در شرایط بهینه ثابت نگه‌داشته شد و غلظت‌های مختلف کارگینان مورد بررسی قرارگرفت (جدول ۱).

- تهیه غلظت‌های مختلف کازئین و کاراگینان:

کازئینات سدیم در غلظت‌های (۲، ۴ و ۶ ٪) تهیه گردید و در آب مقطر دوبار تقطیر با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با دور همزن پایین حل شد. محلول تهیه شده یک شبانه روز در یخچال نگهداری شد. کاراگینان نیز با غلظت‌های (۰/۰۲، ۰/۰۳ و ۰/۰۴ ٪) در آب مقطر با دمای ۸۵ درجه سانتیگراد مخلوط شده و به مدت یک دقیقه هم‌زده شد (ye,2008). سپس نمونه‌های کازئینات به منظور عدم دناتوراسیون به مدت ۵ دقیقه و محلول کاراگینان به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه‌سانتی‌گراد استریل شدند. تمامی ظروف مورد نیاز نیز استریل شدند (خوش‌منظر و همکاران، ۱۳۹۱).

- تهیه امولسیون کازئینات سدیم – بتاکاروتن

در این مرحله ابتدا غلظت‌های تهیه شده از کازئینات سدیم با بتاکاروتن همراه با ۱ ٪ لسیتین (به عنوان امولسیفایر) مخلوط شد و برای همگن شدن به مدت ۳۰ دقیقه روی همزن با دور ۵۰۰ rpm قرار گرفت. برای تهیه ریزذرات در امولسیون، از دستگاه اولتراسونیک ۲۴ KHz استفاده شد. فرایند صوت‌دهی در یک بشر ۱۰۰ میلی‌لیتر با

[1] de Man- Rogasa-Sharpe

Archive of SID
www.SID.ir

۵۰ میلی‌لیتر نمونه در توان ۳۰۰ وات به مدت ۹۰ ثانیه انجام شد و سپس محلول کاراگینان تهیه شده به صورت قطره قطره به این محلول اضافه شد. تمام این مراحل در کنار شعله و یا زیر هود لامینار صورت گرفت (خوش‌منظر و همکاران، ۱۳۹۱).

- تهیه امولسیون به صورت توام بتاکاروتن و باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با پوشش کازئین -کاراگینان

در این مرحله سوسپانسیون میکروبی تهیه شده در مرحله قبل به امولسیون بتاکاروتن با کازئین -کاراگینان اضافه شد. به طوری‌که غلظت نهایی باکتری در هر میلی‌لیتر محلول نهایی $۸/۶ \pm ۰/۱) \times ۱۰^{۷}$ Cfu) باشد، همچنین نمونه‌های فاقد بتاکاروتن نیز در شرایط مشابه تولید و مورد بررسی قرار گرفتند. سپس برای خشک کردن میکروکپسول‌ها از روش خشک‌کردن انجمادی استفاده شد. در این روش ابتدا نمونه به مدت یک شبانه روز در فریزر۲۰- درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفت و در روز بعد به مدت ۳۶ ساعت در دستگاه خشک‌کن انجمادی (مدل Lyovac GT3 ساخت آلمان) با دمای ۵۵- درجه سانتی‌گراد خشک شد (Krasaekoopt *et al.*, 2006). پس از این مرحله میزان زنده‌مانی باکتری توسط روش شمارش کلنی بررسی گردید. هم‌چنین میزان بتاکاروتن پوشش داده شده نیز مورد بررسی قرار گرفت.

- بررسی اثر کاراگینان برروی زنده‌مانی باکتری و پایداری بتاکاروتن ریزپوشانی شده

پس از به‌دست آمدن شرایط بهینه کازئین، مقدار کازئین در شرایط بهینه ثابت نگه‌داشته شد و اثر غلظت‌های مختلف کاراگینان در زندمانی و ریزپوشانی بتاکاروتن ارزیابی گردید. به این منظور غلظت ۰/۰۳ ٪ از محلول بتاکاروتن در روغن زیتون تهیه گردید و با سوسپانسیون باکتری مخلوط شد به ترتیبی که غلظت نهایی باکتری در محلول کازئین $۸/۶ \pm ۰/۱) \times ۱۰^{۷}$ Cfu/ml) بود. سپس این محلول توسط خشک کن انجمادی خشک گردید و پودر حاصل از نظر میزان زنده مانی باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

- ارزیابی ماندگاری نمونه‌های ریزپوشانی شده

در این مرحله نمونه‌های ریزپوشانی شده *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به روش خشک‌کردن انجمادی با پوشش کازئین - کاراگینان که در شرایط بهینه از کازئین و کاراگینان تهیه شده بود در مقایسه با نمونه شاهد بیفیدوباکتر بدون پوشش در شرایط یکسان در دمای ۴ و ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد و در روزهای اول، دهم، بیستم و سی‌ام تعداد باکتری و غلظت بتاکاروتن در آنها ارزیابی گردید.

- بررسی زنده‌مانی باکتری در شرایط شبیه سازی معده

محیط شبیه‌سازی شده معده مطابق روش Annan *et al.*, 2008 تهیه شد. به این منظور پپسین با محلول سدیم کلرید ۰/۵ ٪ تا رسیدن به غلظت ۳ g/L مخلوط شد. pH آن با اسید کلریدریک ۰/۱ مولار به ۱/۵ رسید و سپس محلول با استفاده از فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل شد (Annan *et al.*, 2008).

پس از آن، ۱۰ لوله درپوش‌دار استریل و در هر کدام به میزان ۹ میلی‌لیتر از محلول شبیه‌سازی شده معده ریخته‌شد. در پنج لوله به میزان یک گرم از نمونه کپسول‌ها با تعداد $۷/۶ \pm ۰/۱) \times ۱۰^{۶}$ Cfu/gr) باکتری و در پنج لوله دیگر به میزان یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری بدون پوشش با تعداد $۸/۹ \pm ۰/۲) \times ۱۰^{۷}$ Cfu/ml) باکتری اضافه شد و لوله‌ها در زمان‌های ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌سانتیگراد گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گذشت زمان‌های مورد بررسی، زنده‌مانی باکتری با استفاده از روش پورپلیت ارزیابی گردید (Annan *et al.*, 2008).

- نحوه شمارش باکتری‌های ریزپوشانی شده

برای شمارش باکتری‌های زنده در طی آزمایشات انجام شده ابتدا یک گرم از کپسول‌های تهیه شده با ۹ میلی‌لیتر محلول استریل بافر فسفات (۰/۱ M وpH برابر۷) پراکنده شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق هم‌زده شد تا کپسول‌ها به طور کامل حل و باکتری‌ها در محلول بافر آزاد شوند. سپس با استفاده از محیط جامد MRS آگار و روش رقت‌سازی، باکتری‌ها کشت داده شده و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در شرایط بی‌هوازی گرمخانه‌گذاری شدند و تعداد کلنی‌ها در هر رقت شمارش شد (Sultana *et al.*, 2000؛ رضایی‌مکرم و همکاران، ۱۳۸۷). تمامی آزمایشات به‌صورت سه تکرار صورت

Archive of SID

www.SID.ir

پذیرفت.

- تعیین غلظت بتاکاروتن در نمونه‌های ریزپوشانی شده

برای اندازه‌گیری بتاکاروتن در نمونه‌های ریزپوشانی شده ابتدا یک گرم از نمونه به ۱۰ میلی لیتر محلول متانول –آب که به نسبت ۱ به ۱ تهیه شده بود اضافه گردید و پس از هموژنیزه کردن توسط دستگاه ورتکس ۱۰ میلی‌لیتر هگزان به آن اضافه شد و به آرامی مخلوط گردید. در نهایت لوله‌ها در دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید و فاز هگزان جداسازی شده و جذب آن در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و با استفاده از رابطه (۱) غلظت نهایی بتاکاروتن در نمونه‌ها محاسبه گردید (Ozcelik *et al.*, 2009).

رابطه ۱: اندازه‌گیری میزان غلظت بتاکاروتن (De Carvalho *et al.*, 2012)

$$\text{غلظت بتاکاروتن } (\mu g/g) = \frac{A \times V\,(ml) \times 10^6}{A_{1cm}^{1\%} \times 100 \times G(g)}$$

A = مقدار جذب در طول موج ۴۵۰

V = حجم کل حلال مصرفی

G = مقدار گرم نمونه مورد بررسی

$A_{1cm}^{1\%}$ = ضریب خاموشی = ۲۵۰۰

- بررسی میزان رطوبت

از آنجا که یکی از فاکتورهای اساسی در ماندگاری محصولات غذایی و بویژه پروبیوتیک‌ها مقدار رطوبت آنها است محتوای رطوبت پودرها به روش وزنی توسط خشک کردن در آون (Shimifann ساخت ایران) تحت دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت اندازه‌گیری شد (Ozcelik *et al.*, 2009). وزن نمونه و ظرف با (M_1) و وزن ظرف و نمونه پس از خشک کردن با (M_2) مشخص گردید، سپس طبق رابطه (۲) رطوبت پودرها بدست آمد.

رابطه ۲: درصد رطوبت (هجری و همکاران، ۱۳۸۹)

$$\text{درصد رطوبت} = \frac{(M_1 - M_2)}{\text{وزن ماده اولیه}} \times 100$$

- تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌های به دست آمده بر اساس آزمایش‌های انجام شده در سطح اطمینان ۹۵ ٪ انجام شد. آزمایشات به صورت سه تکرار بود و برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون توکی و روش آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد.

یافته‌ها

بر اساس نتایج به دست آمده بهترین شرایط ریزپوشانی توام بتاکاروتن و باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به ترتیب شامل غلظت‌های ۴ و ۰/۰۳ درصد از کازئین و کاراگینان بود که نتایج آن در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱-نتایج غلظت‌های مختلف کازئین و کاراگینان برروی میزان زنده‌مانی *بیفیدوباکتر بیفیدوم* و پایداری بتاکاروتن با روش یک فاکتور در زمان

ردیف	بلوک	کازئین (٪)	کاراگینان (٪)	درصد لگاریتمی زنده‌مانی باکتری	پایداری بتاکاروتن ٪
۱	۱	۲	۰/۰۳	۴۲/۱۵	۸۴/۳۱
۲	۱	۴	۰/۰۳	۸۵/۷۱	۸۹/۲۷
۳	۱	۶	۰/۰۳	۷۶/۵۳	۹۰/۰۴
۴	۱	۴	۰/۰۲	۸۵/۷۱	۷۲/۳۱
۵	۱	۴	۰/۰۳	۸۵/۷۱	۸۹/۲۷
۶	۱	۴	۰/۰۴	۸۵/۷۱	۳۱/۱۸

نتایج حاصل از ریزپوشانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با استفاده از غلظت‌های به دست آمده از کازئین –کاراگینان در حضور و عدم حضور بتاکاروتن نیز در جدول ۲ نشان داده شد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده در حضور و عدم حضور بتاکاروتن

نمونه	تعداد اولیه باکتری	تعداد باکتری ریزپوشانی شده	٪ لگاریتمی زنده‌مانی
کپسول توام بتاکاروتن و بیفیدوباکتر	(۸/۶ ±۰/۱)×۱۰^{۷}Cfu/ml	(۷/۵ ±۰/۱)×۱۰^{۶}Cfu/gr	۸۵/۷۱
کپسول بیفیدوباکتر با پوشش	(۸/۹ ±۰/۲)×۱۰^{۷}Cfu/ml	(۸/۷ ±۰/۱۶)×۱۰^{۴}Cfu/gr	۵۷/۱۴

- بررسی پایداری بتاکاروتن و زنده‌مانی باکتری‌های ریزپوشانی شده

پس از مشخص شدن غلظت‌های مناسب کازئین و کاراگینان، اثر دما و زمان بر روی زنده‌مانی باکتری و پایداری بتاکاروتن درشرایط بهینه بدست آمده، در طول مدت یک ماه، به فواصل زمانی ۱۰ روز و در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه‌سانتیگراد مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای این منظور نمونه ریزپوشانی شده بتاکاروتن و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با پوشش کازئین-کاراگینان در مقایسه با نمونه شاهد بیفیدوباکتر بدون پوشش تولید شد و در روزهای اول، دهم، بیستم و سی‌ام در شرایطی یکسان در دمای ۴ و ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شد. نتایج حاصل در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.

همانگونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌گردد نمونه کپسوله نشده از بیفیدوباکتر در طول ذخیره‌سازی در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد زندمانی مطلوبی نداشته و در روز سی‌ام تعداد باکتری به صفر رسید. در صورتی‌که نمونه ریزپوشانی شده به همراه بتاکاروتن در همین شرایط، زنده‌مانی مطلوب و قابل قبولی داشت و می توان بیان کرد که پوشش کازئین و اثر آنتی‌اکسیدانی بتاکاروتن، هر دو اثر مثبتی در میزان زنده‌مانی باکتری‌ها در زمان ذخیره سازی داشته است (حدود ۸۳/۳۳ ٪)، به گونه‌ای که در پایان دوره ذخیره سازی تعداد باکتری حدود ۴ سیکل لگاریتمی شمارش شد.

نمودار ۲ زنده‌مانی باکتری‌ها به صورت کپسوله و آزاد را در دمای ۲۵ درجه‌سانتیگراد نشان می‌دهد. در این نمودار، تعداد باکتری‌ها در نمونه‌ی آزاد با شیب تندی کاهش یافته به طوری که از روز بیستم تعداد باکتری‌ها به صفر رسید. در مقابل تعداد باکتری، در نمونه‌های ریزپوشانی شده بیفیدوباکتر و بتاکاروتن در طول ذخیره‌سازی با سرعت کمتری کاهش پیدا کرد و می‌توان گفت در بازه زمانی بیشتر امکان زنده‌مانی باکتری وجود دارد.

- پایداری بتاکاروتن نمونه بهینه شده در طول زمان ذخیره‌سازی یک ماه با فواصل ۱۰ روز

در این مرحله پایداری بتاکاروتن نمونه بهینه شده در طول زمان ذخیره‌سازی یک ماه با فواصل ۱۰ روز در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید (نمودار ۳).

با توجه به نمودار ۳ میزان درصد ریزپوشانی بتاکاروتن در طول ذخیره‌سازی کاهش داشته است به طوری که در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از روز اول تا روز سی‌ام ۷ ٪ کاهش و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۱۵ ٪ افت مشاهده شد. هم‌چنین نتایج نشان داد که پایداری بتاکاروتن در دمای ۴ درجه‌سانتیگراد تا روز بیستم کاهش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) نشان نداد درصورتیکه روز سی‌ام کاهش معنی‌داری نسبت به روز صفر نشان داد (نمودار ۳). همچنین پایداری بتاکاروتن در دمای ۲۵ درجه‌سانتیگراد کمتر بود بطوریکه تا روز دهم کاهش معنی‌داری مشاهده نشد اما در طی روزهای بیستم و سی‌ام کاهش معنی‌داری را نسبت به روز صفر نشان داد.

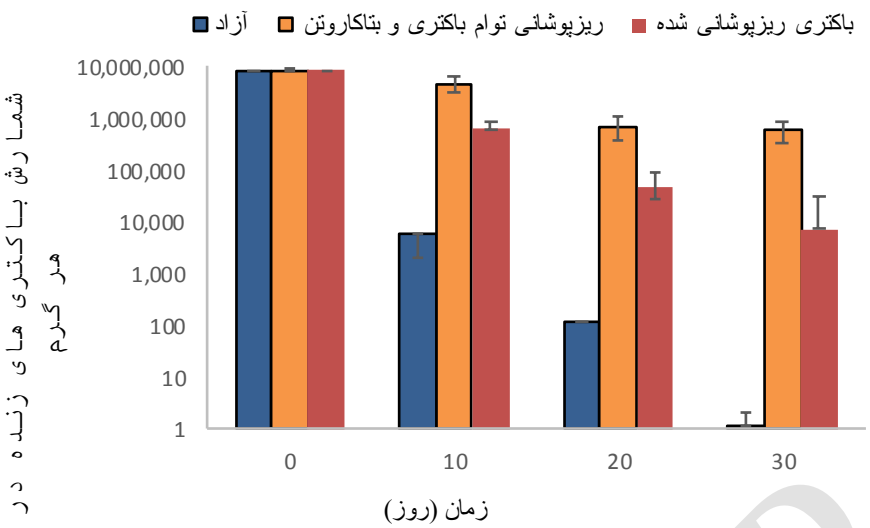
- بررسی زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده بهینه در شرایط شبیه سازی شده معده

در این مرحله پایداری نمونه بهینه کپسوله شده و نمونه آزاد در شرایط شبیه‌سازی شده معده با روش Annan و همکاران (۲۰۰۸) در سه تکرار مقایسه شد (جدول ۲).

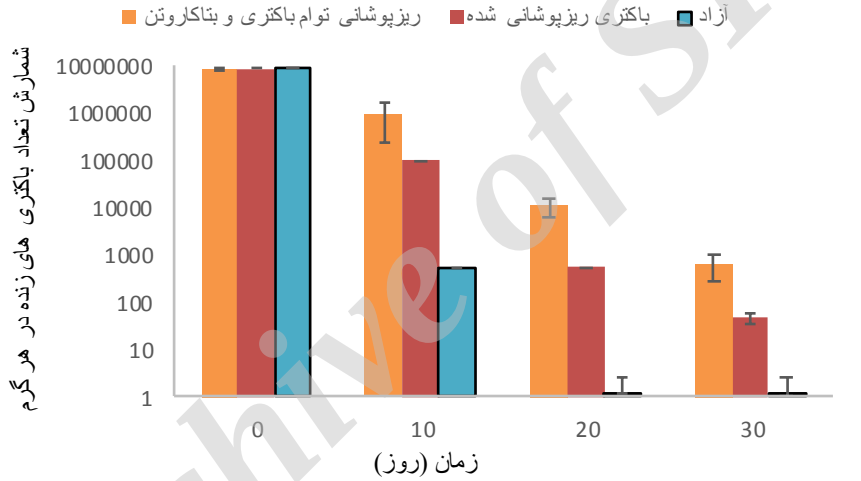
نتایج بر روی پایداری نمونه در شرایط شبیه‌سازی شده معده نشان داد که ریزپوشانی بیفیدوباکتر بر روی زنده‌مانی باکتری در شرایط شبیه‌سازی معده تاثیر مثبت دارد. تعداد باکتری زنده پس از گذشت دو ساعت در این شرایط به ۱۰^{۳} Cfu/gr ×(۳/۲ ±۰/۳) باکتری رسید (حدود ۵۰ ٪)، در صورتی‌که نمونه آزاد بیفیدوباکتر در شرایط اسیدی معده زنده‌مانی مطلوبی نداشت، به‌گونه‌ایی که پس از گذشت ۳۰ دقیقه قرارگرفتن نمونه آزاد در شرایط شبیه‌سازی معده در حدود ۵۷/۱۴ ٪ افت در تعداد باکتری داشت و این به دلیل عدم تحمل بیفیدوباکتر در pH کمتر از ۴ می‌باشد.

Archive of SID

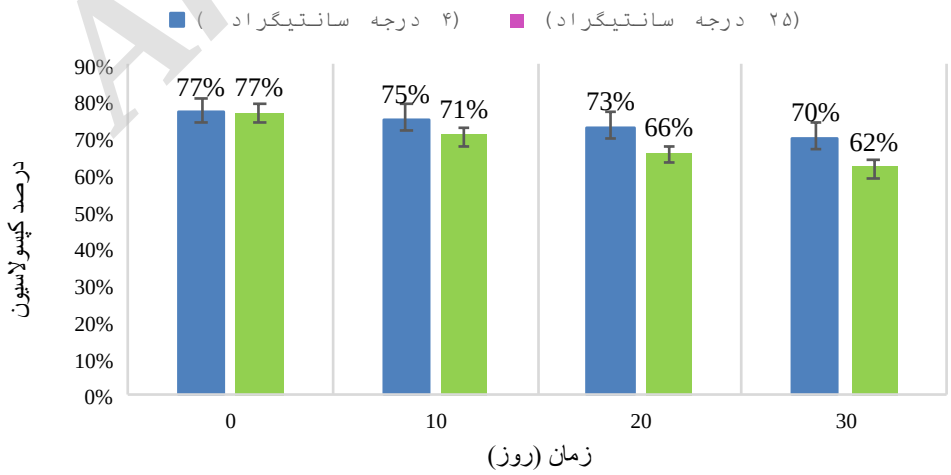
www.SID.ir



نمودار ۱ - مقایسه شمارش باکتری آزاد و ریزپوشانی شده در طول ذخیره‌سازی به مدت ۳۰ روز در دمای ٤ درجه‌سانتیگراد



نمودار ۲- مقایسه شمارش باکتری آزاد و ریزپوشانی شده در طول ذخیره‌سازی به مدت ۳۰ روز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد



نمودار۳ -بررسی درصد بتاکاروتن کپسوله شده در نمونه‌های بهینه در طول ذخیره‌سازی یک ماه در دو دمای ٤ و ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- شمارش باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* آزاد و ریزپوشانی شده در شرایط شبیه سازی معده

زمان	نمونه ریزپوشانی شده	نمونه آزاد
صفر	(۸/۶ ±۰/۱)× ۱۰^{۶} Cfu/gr	(۸/۹ ±۰/۲)× ۱۰^{۷} Cfu/ml
۳۰ دقیقه	(۶/۷ ±۰/۲)× ۱۰^{۶} Cfu/gr	(۲/۴ ±۰/۱)×۱۰^{۳} Cfu/ml
۶۰ دقیقه	(۱/۳ ±۰/۲)× ۱۰^{۶}Cfu/gr	۰
۹۰ دقیقه	(۵/۱ ±۰/۱)×۱۰^{۵}Cfu/gr	۰
۱۲۰ دقیقه	(۳/۲ ±۰/۳)× ۱۰^{۳} Cfu/gr	۰

- بررسی میزان رطوبت نمونه‌ی ریزپوشانی‌شده

بررسی میزان رطوبت نمونه ریزپوشانی‌شده که طبق روش توضیح داده‌شده (رابطه ۲) اندازه‌گیری شد، نشان داد پودر ریزپوشانی شده دارای ۰/۳ ± ۳/۹ ٪ رطوبت می‌باشد.

بحث

بررسی موجود نشان داد که تعداد باکتری در نمونه ریزپوشانی شده با کازئین- کاراگینان فاقد بتاکاروتن با روش خشک‌کردن انجمادی در پایان ذخیره‌سازی به (۷/۳ ±۰/۱۶)×۱۰^{۳}Cfu/gr رسید. در این نمونه‌ها کازئین به عنوان ماده پوشش دهنده دارای اثر مثبتی بر روی زنده‌مانی باکتری‌ها بوده است، به طوریکه حضور این پوشش به خوبی ماندگاری باکتری خشک شده را در مقایسه با نمونه ریزپوشانی نشده افزایش داده است (P < ۰/۰۵). مطالعاتی که توسط دیگر محقیق بر روی ریزپوشانی باکتری بیفدوباکتریوم بیفیدوم صورت پذیرفته است نشان می‌دهد که ترکیباتی نظیر کازئین و آلژینات (Krasaekoopt *et al.*, 2006؛ خسروی‌زنجانی و همکاران، ۱۳۹۲)، کازئین و کیتوزان (محمدی و همکاران، ۱۳۹۲) به خوبی قادر به افزایش زنده‌مانی این باکتری در طی فرآیند خشک کردن هستند.

کازئینات به عنوان پوشش کپسول از تخریب ترکیبات حساس به نور، تجزیه آنزیمی و شیمیایی محافظت می‌کند. مهمترین مکانیسم محافظت کنندگی کازئین، جلوگیری از تخریب ناشی از واکنش با اکسیژن و رادیکال‌های تولید شده در فرایند اکسایش با پرتوهای فرابنفش است. این حفاظت احتمالا به دلیل خاصیت ضداکسندگی گروه‌های تیول پروتئین می‌باشد. هم‌چنین پروتئین باعث به تله افتادن ترکیبات محلول در چربی و در نتیجه کاهش فعالیت و واکنش‌های شیمیایی با عوامل اکسنده مثل اکسیژن و رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Ron *et al.*, 2010; Semo *et al.*, 2007؛ خوش منظر و همکاران، ۱۳۹۱). احتمالا این مکانیسم‌ها در مورد افزایش ماندگاری باکتری بیفیدوباکتریوم ریزپوشانی شده در این تحقیق نیز موثر بوده‌اند.

همچنین نتایج نشان داد غلظت‌های مختلف کازئین بر روی پایداری بتاکاروتن موثر است، به گونه‌ایی که با افزایش غلظت کازئین پایداری بتاکاروتن ریزپوشانی شده نیز افزایش می‌یابد (P < ۰/۰۵) (جدول ۱). مطالعاتی که توسط دیگر پژوهشگران انجام گردیده است نشان می‌دهد که کازئینات می‌تواند از ترکیبات حساس نظیر ویتامین D کپسوله شده در برابر نور و یا اکسیژن محافظت کند (Semo *et al.*, 2007؛ خوش منظر و همکاران، ۱۳۹۱). احتمالا همین مکانیسم در افزایش پایداری بتاکاروتن نیز موثر بوده‌است.

کاراگینان نیز یکی از ترکیبات مهم است که معمولا در ریزپوشانی محصولات غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که اثر کاراگینان بر روی زنده‌مانی بیفیدوباکتر بی‌معنی بود. Ji *et al.*, 2008 و خوش منظر و همکاران (۱۳۹۲)، گزارش کردند که کاراگینان بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* تاثیری ندارد، زیرا نه عملکرد ویتامینی دارد و نه باعث بی‌هوازی بودن محیط می‌گردد. لیکن کاراگینان برهمکنش خوبی با کازئین دارد که به پایداری بتاکاروتن کپسوله شده کمک می‌کند. بنابر مطالعات Ji و همکاران (۲۰۰۸) برهمکنش کاراگینان با کازئین در ریزپوشانی ترکیبات محلول در چربی مثبت بوده و درصد کارایی ریزپوشانی را افزایش می‌دهد (Ji *et al.*, 2008). نتایج این بررسی نیز نشان داد که حضور کارگینان در ریزپوشانی بتاکاروتن بسیار موثر می باشد.

سطح میسل کازئین باز و متخلخل است و برهمکنش الکترواستاتیک دو مولکول کازئین و کاراگینان مابین

Archive of SID

www.SID.ir

ناحیه‌ی دارای بار مثبت کاپاکازئین و باقیمانده آمینواسیدی ۹۷ و ۱۱۲ کازئین و بار منفی گروه سولفات کاراگینان رخ می‌دهد. پتانسیل زتا میسل کازئین، هنگامی که غلظت کاراگینان افزایش می‌یابد بسیار منفی‌تر می‌شود و این نشان‌دهنده‌ی برهمکنش الکترواستاتیک بین بار مخالف کازئین و کاراگینان است (Fleet, 2009).

بتاکاروتن نیز یک ترکیب آنتی‌اکسیدان قوی است. نتایج اثر بتاکاروتن بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ریزپوشانی شده نشان داد که حضور بتاکاروتن اثر مثبتی بر روی زنده‌مانی این باکتری کپسوله شده داشته است ($P < ۰/۰۵$). در این خصوص کپسول‌های توام بتاکاروتن و بیفیدوباکتر حدود ۸۵/۷۱ ٪ زنده‌مانی را نشان دادند در حالیکه کپسول‌هایی با عدم حضور بتاکاروتن، حدود ۵۷/۱۴ درصد زنده‌مانی را نشان دادند (جدول ۲). متاسفانه مطالعات زیادی در مورد تاثیر بتاکاروتن بر روی زنده‌مانی باکتری‌ها در دسترس نیست اما به نظر می‌رسد خواص آنتی‌اکسیدانی بتاکاروتن تاثیر بسزایی در افزایش زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* که یک باکتری بی‌هوازی می‌باشد دارد.

از آنجایی‌که بتاکاروتن یک آنتی‌اکسیدان قوی است می‌تواند از طریق مکانیسم‌های متعدد، از جمله اتصال به یون‌های فلزی، به تله انداختن اکسیژن، تخریب هیدروپراکسیدها به اشکال غیر رادیکالی، جذب تابشUV یا غیر فعال کردن اکسیژن یگانه عمل کرده، شروع واکنش‌های زنجیره‌وار رادیکالی را به تأخیر بیاندازند (Mueller & Boehm, 2011) و ممکن است این مکانیسم‌ها در افزایش زنده‌مانی باکتری‌های بی‌هوازی موثر باشد.

براساس نتایج به دست آمده شرایط بهینه برای ریزپوشانی توام بتاکاروتن و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* غلظت ۴ ٪ از کازئین و غلظت ۰/۰۳ ٪ از کاراگینان در نظر گرفته شد.

- بررسی اثر دما بر روی نمونه‌های ریزپوشانی شده و مقایسه آن با نمونه آزاد

با توجه به نمودارهای ۱ و ۲ می‌توان عنوان نمود که زمان و دمای نگهداری محصول بر روی زنده‌مانی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* تأثیر معنی‌داری دارد ($P < ۰/۰۵$). مطالعاتی که توسط دیگر پژوهشگران انجام گردیده است نشان می‌دهد که دمای نگهداری یک فاکتور موثر در مرگ سلولی است. نگهداری در دمای بالا، باعث کاهش تعداد پروبیوتیک‌ها می‌شود. به همین دلیل کاهش دمای نگهداری منجر به افزایش بقای باکتری‌ها در طی مدت نگهداری شده است (خسروی‌زنجانی و همکاران ۱۳۹۲).

مطالعات انجام شده بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده با پوشش‌های مختلف مانند کیتوزان، کازئین – پکتین و آلژینات در طول ذخیره‌سازی در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه‌سانتی‌گراد نشان داد که پوشش مورد استفاده در فرآیند خشک کردن برای حفاظت از میکروارگانیسم‌ها موثر است و مقاومت بیشتری نسبت به نمونه شاهد در طول نگهداری دارد. علت این امر می‌تواند مربوط به نوع پوشش و برهمکنش آن‌ها به عنوان پوشش دهنده کپسول باشد (Krasaekoopt *et al.*, 2006; Shamekhi *et al.*, 2011).

همچنین افزودن کاراگینان باعث بهبود ساختار کپسول‌های تشکیل شده با کازئینات می‌شود و ساختاری یکپارچه و یکنواخت ایجاد می‌کند (Ji *et al.*, 2008؛ خوش منظر و همکاران، ۱۳۹۱).

- پایداری بتاکاروتن نمونه بهینه‌شده در طول زمان ذخیره‌سازی یک ماه با فواصل ۱۰ روز در دمای ٤ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد

با توجه به نمودار ۳ مقدار بتاکاروتن ریزپوشانی شده در طول ذخیره‌سازی در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد کاهش ۷ درصدی داشته‌است درصورتیکه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۱۵ ٪ افت را نشان داد. به طور کلی می‌توان گفت که افزایش دما و زمان ماندگاری کپسول‌ها، باعث کاهش مقدار بتاکاروتن ریزپوشانی شده می‌شود ($P < ۰/۰۵$).

نوع ترکیبات به‌کار گرفته شده به عنوان مواد پوشش دهنده بر روی پایداری کاروتنوئید ریزپوشانی شده موثر است. Liang و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نموده‌اند که مواد محلول در چربی که به عنوان هسته به کار می‌روند از طریق شکاف‌های موجود در سطح ذرات می‌توانند به سطح آمده و در معرض هوا قرار گرفته و اکسید شوند که این امر به نوع و میزان مواد تشکیل دهنده دیواره بستگی دارد.

Archive of SID
www.SID.ir

صمغ کاراگینان به‌دلیل داشتن خاصیت امولسیفایری از جمله رایج‌ترین ماده پوششی مورد استفاده در ریزپوشانی ترکیبات حساس از جمله کاروتنوئیدها است (Ji *et al.*, 2008).

نکته قابل توجه در این بررسی تاثیر بتاکاروتن بر روی زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طول زمان ذخیره‌سازی است. همان‌گونه که نتایج نشان می‌دهد زنده‌مانی باکتری در نمونه‌های دارای بتاکاروتن در مقایسه با نمونه‌های ریزپوشانی شده بدون بتاکاروتن به شکل معنی‌داری بهتر می‌باشد. مطالعات کمی در مورد اثر آنتی اکسیدانی ترکیبات بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها انجام شده است. به عنوان مثال یک بررسی بر روی اثر ترکیباتی با خواص آنتی‌اکسیدانی بر روی زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به عنوان یک پروبیوتیک انجام گردیده است و نتایج نشان داد که خواص آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها می‌شود و همچنین اثر محرکی بر رشد آن‌ها دارند (Chodak *et al.*, 2008). در هرحال چگونگی و مکانیسم اثر بتاکاروتن در افزایش ماندگاری این باکتری نیاز به پژوهش و بررسی‌های بیشتر دارد.

- پایداری باکتری ریزپوشانی شده در شرایط شبیه‌سازی شده معده

نتایج بررسی پایداری نمونه‌ها در شرایط شبیه‌سازی شده معده نشان داد که ریزپوشانی بیفیدوباکتر بر روی زنده‌مانی باکتری در شرایط شبیه‌سازی معده تاثیر مثبت دارد ($P < ۰/۰۵$).

با توجه به مطالعات دیگر محققین، بقاء باکتری‌های بیفیدوباکتریوم در شیره اسیدی معده، معمولا به طور قابل توجهی پایین است. میزان بقاء در محدوده‌ای در حدود ۱ تا ۳۰ ٪ متغییر است که به جنس، گونه باکتری و شرایط مورد آزمایش بستگی دارد. به همین دلیل افزایش زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم‌ها در شرایط اسیدی به روش ریزپوشانی با مواد پوشش دهنده‌ی مختلف مورد توجه پژوهشگران است (Collado *et al.*, 2006 ؛Takahashi *et al.*, 2004).

در همین زمینه محققانی، زنده‌مانی انواع پروبیوتیک‌ها نظیر باکتری لاکتوباسیلوس گاسری، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسلوس کازئی و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را با پوشش‌هایی مثل آلژینات کلسیم، لیزین و کیتوزان ریزپوشانی کرده و در شرایط شبیه سازی شده معده ارزیابی کردند. نتایج نشان داد ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها باعث افزایش مقاومت آن‌ها نسبت به شرایط مشابه معده می‌شود و قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد (havarria *et al.*, 2011; Krasaekoopt *et al.*, 2006). در بررسی حاضر نیز اثر ریزپوشانی بر روی زنده‌مانی باکتری در شرایط شبیه‌سازی شده معده به طور کاملا واضح و معنی‌دار مشاهده گردید.

- میزان رطوبت نمونه ریزپوشانی شده

در این تحقیق، درصد رطوبت نمونه‌های ریزپوشانی شده با روش خشک‌کردن انجمادی ۰/۳ ± ۳/۹ ٪ بود. که احتمالا این مقدار مربوط به نوع پوشش کپسول‌ها می‌باشد. با توجه به گزارش‌های علمی هر چه رطوبت پودر نهایی حاصل از خشک‌کردن کمتر باشد زنده‌مانی باکتری بیشتر خواهد بود (Ozcelik *et al.*, 2009). اما حد استانداردی برای پودرهای کپسوله شده بیان نشده است. در تحقیقات مشابهی که توسط محققین انجام شده است رطوبت پودر باکتری با پوشش مالتودکسترین ۰/۷ ± ۳/۵ ٪ (Donhowe, 2013) و با پوشش آلژینات ۰/۲ ± ۴/۱۲ ٪ (Shamekhi *et al.*, 2011) گزارش گردیده است.

نتیجه‌گیری

در مجموع این پژوهش نشان داد، ریزپوشانی اثر بسیار مثبت و معنی‌داری در افزایش پایداری باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در طول زمان خشک‌کردن و هم‌چنین در طول زمان ذخیره‌سازی در دماهای مختلف دارد. هم‌چنین ریزپوشانی می‌تواند به خوبی پایداری بتاکاروتن را افزایش دهد. ضمنا نتایج نشان داد که بتاکاروتن نیز به عنوان یک ترکیب آنتی‌اکسیدان می‌تواند اثر مثبتی بر روی زنده‌مانی باکتری در طی فرآیند خشک کردن و در طول زمان ذخیره‌سازی داشته باشد. بنابراین، ریزپوشانی توام باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و بتاکاروتن نه تنها موجب ایجاد یک محصول غنی پروبیوتیکی و آنتی‌اکسیدانی می‌گردد بلکه حضور بتاکاروتن خود می‌تواند ماندگاری باکتری *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را نیز افزایش دهد و این موضوع برای اولین بار است که گزارش می‌گردد.

Archive of SID

www.SID.ir

همچنین نتایج نشان داد که پوشش کازئین-کاراگینان اثر محافظت کنندگی بر روی *بیفدوباکتریوم بیفیدوم* در شرایط شبیه‌سازی شده اسیدی معده دارد.

سپاسگزاری

بدینوسیله صمیمانه از همکاری مسئولان و کارکنان محترم سازمان پژوهشهای علمی و صنعتی ایران، بویژه آقای مهندس مرادی تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

امینی، م. افشین پژوه، ر. و یعقوبی، الف. (۱۳۹۱). بررسی و کاربرد انواع پری بیوتیک ها در صنایع غذایی و نقش آن‌ها در سلامتی انسان. ماهنامه آموزشی و پژوهشی فناوری نوین غذا، شماره ۳۱و۳۲، صفحات ۲۱-۲۵.

بی نام. (۱۳۸۸). روش شمارش میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک ویژگی‌ها و روش آزمون. استاندارد ملی ایران. شماره ۱۱۳۲۵. چاپ اول.

خسروی زنجانی، م.ع. محمدی، ن. بهروز نسب، ک. و صولتی، الف.ع. (۱۳۹۲). تاثیر ریزپوشانی بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده. مجله پژوهش‌های بالینی دامپزشکی. دوره چهارم، شماره ا ، صفحات ۲۹-۳۹.

خوش منظر، م. قنبرزاده، ب. همیشه کار، ح. صوتی‌خیابانی، م و رضایی‌مکرم، ر. (۱۳۹۱). بررسی عوامل موثر بر اندازه ذرات، پتانسیل زتا و ویژگی های رئولوژیک پایا در سامانه کلوئیدی حاوی نانو ذرات کاپاکاراگینان-کازئینات سدیم. نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی، شماره ۴ ، صفحات ۲۷۲-۲۵۵.

رضایی‌مکرم، ر. مرتضوی، ع. حبیبی‌نجفی، م. شهیدی، ف و خمیری، م. (۱۳۸۷). اثر میکروانکپسولاسیون آلژینات کلسیم بر قابلیت زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی. دوره ۷، شماره ۲، صفحات ۶۰-۵۱.

قاسمی، س. (۱۳۹۰). تهیه نانو کپسول های کازئین حاوی اسیدهای چرب بلند زنجیر چند غیر اشباعی با استفاده از تغییرات pH و اعمال فراصوت. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس.

محمدی، ن. خسروی زنجانی، م. ع. اهری، ح. غیاثی طرزی، ب. و باخدا، ح. (۱۳۹۲). تاثیر ریزپوشانی با پوشش کیتوزان بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در بستنی. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هشتم، شماره ۴. صفحات ۱۳۴ - ۱۲۵.

هجری، ع. خسروی، ع. قرنجیک، ک. و حجازی، م. الف. (۱۳۸۹). تهیه پودر میکروکپسوله بتاکاروتن با قابلیت استفاده در محیط‌های آبی. نشریه علمی - پژوهشی علوم و فناوری رنگ ۴ . صفحات ۱۶۷ -۱۶۱.

Annan, N. T., Borza, L. & Hansen, T. (2008). Encapsulation in alginate-coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions. Food Research International, 41, 184–193.

Bltiz, H. D., Grosch, W. & Schieberle, P. (2009). Food chemistry fouth edition springer-verlag.

Champagne, C.P., Paul Ross, R., Saarela, M., Flemming Hansen, K. & Charalapopoulos, D. (2011). Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices (Review). Journal of Food Microbiology 149, 185–193.

Chavarria, M. I., Maranon, R., Ares, F. C., Ibanez, F. & Villaran, M. D. C. (2010). Microencapsulation of a prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. International Journal of Food Microbiology, 142,185-189.

Chen, L. G., Remondetto, E. & Subirade, M. (2006). Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. Trends in Food Science & Technology, 17, 272–283.

Chodak, A. D., Tarko, T. & Statek, M. (2008). "The effect of antioxidants on Lactobacillus Casei cultures". Technologia Alimentaria, 7(4), 39-51.

Collado, M. C., Moreno, Y., Cobo, J. N., Mateos, J. A. & Hernan des, M. (2006). Molecular detection of bifidobactrium animals DN-173010 in human faeces during fermented milk administration. Food Res. Trends in Food Science & Technology, 39, 530-535.

De Carvalho, L. M., Gomes, P. B., Godoy, R.L.O., Pacheco, S., do Monte, P. H. F., de Carvalho, J. L. V., Nutti, M. R., Neves, A. C.

Archive of SID

www.SID.ir

L., Vieira, A. C. R. & Ramos, S. R. R. (2012). Total carotenoid content, α-carotene and β-carotene. Food Research International 47, 337–340.

Donhowe, E.G. (2013). Microencapsulation of Beta carotene: Characterization, in vitro release, and bioavailability. A Thesis Submitted to the Graduate Faculty of The University of Georgia in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree, pp. 10-84.

Flett, K. L. (2009). Aggregated proticles of casein micelles and kappa-carageenan as avalue- added functional ingredient. A thesis presented to the faculty of graduate studies of the University of Guelph.

Hansen, L. T., Allan-Wojtas, P.M., Jin, Y. L. & Paulson, A.T. (2002). Survival of Ca-alginate microencapsulated Bifidobacterium spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. Food Microbiology, 19, 35-45.

Gutierrez, F. J., Albillos, S.M., Sanz, E. C., Cruz, Z., Estreda, C. G. & Guerra, A. G. (2013). Methods for the nanoencapsulation of b-carotene in the food sector (Review). Trends in Food Science & Technology, 32, 73-83.

Ji, S., Corredig, M. & Goff, H. D. (2008). Aggregation of casein micelles and κ-carrageenan in reconstituted skim milk. Food Hydrocolloids, Volume 22, Issue 1, 56-64.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. & Deeth, H. (2006). Survival of probiotics encapsulated in chitosan- coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. LWT-Food Science & Technology. 39, 177-183.

Mueller, L. & Boehm, V. (2011). Antioxidant activity of β-Carotene compounds in different in vitro assays, Molecules 16, 1055-1069.

Liang, R., Huang, Q., Ma, J., Shoemaker, C. F. & Zhong, F (2013). Effect of relative humidity on the store stability of spray-dried betacarotene nanoemulsions. Food Hydrocolloids, 33, 225-233.

Liu, Z., Jiao, Y., Zhou, C. & Zhang, Z. (2008). Polysaccharides based nanoparticles as drug delivery systems, Advanced Drug Delivery Review. 60, 1650-1662.

Ozcelik, B., Karadag, A. & Ersen, S. (2009). Bioencapsulation of Beta-Carotene in Three different methods. XVIIth International Conference on Bioencapsulation, Groningen, Netherlands. September, pp. 24-26.

Pinto, S. S., Fritzen-Freire, C. B., Benedetti, S., Murakami, F.S., Petrus, J. C., Prudêncio, E. S. & Amboni, R. D. (2015). Potential use of whey concentrate and prebiotics as carrier agents to protect Bifidobacterium-BB-12 microencapsulated by spray drying. Food Research International, 67, 400–408.

Ron, N., Zimet, P., Bargarum, J. & Livney Y. D. (2010). Betalactoglobulin Polysaccharide complexes as nanovehicles for hydrophobic nutraceuticals in non-fat foods and clear beverages. International Dairy Journal, 20, 686-693.

Saarela, M., Mogensen, G., Fonde´n c, R., Ma¨tto, J. & Sandholm, T. M. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological Properties. Journal of Biotechnology, 84, 197–215.

Semo, E., Kesselman, E. & Livney, Y.D. (2007). Casein micelle as a natural Nanocapsular vehicle for nutraceaticals. Food Hydrocolloid, pp. 1-4.

Shamekhi, F., Mustafa, SH., Ariff, A. & Manap, Y. (2011). Improved cell viability of bifidobacterium during freeze drying, storage and gastrointestinal tract transit by microencapsulation for incorporation into infant formulae. Dairy Journal, 8, 83-97.

Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. & Kailas-apathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. International Journal of Food Microbiology, pp. 47-55.

Takahashi, N., Xiao, J. Z., Miyaji, K., Yaeshiima, T., Hiramatsu, A. & Iwatsuki, K. (2004). Selection of acid tolerant bifidobacteria and evidence for a low- pH-inducible acid tolerance response in *bifidobacterium longum*. Journal of Dairy, pp .340-345.

Ye, A. (2008). Complexation between milk proteins and poly saccharides via electrostatic interaction". International Journal of Food Science and Technology, 43, 406-413.

Archive of SID

www.SID.ir