Archive of SID

مطالعه‌ی تاثیر پوشش‌دار کردن باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به وسیله‌ی آلژینات و صمغ عربی در کنسرو مربای هویج

آذر راهی[۱]، **محمدحسین مرحمتی‌زاده**[۲*]

[۱] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.
[۲] گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۲۸

چکیده

به منظور بهبود قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محصولات لبنی، امروزه از تکنیک ریزپوشانی با پوشش های مختلف هیدروکلوئیدی استفاده می‌شود. کنسرو مربای پروبیوتیک شده به عنوان یک محصول پروبیوتیک باید حاوی تعداد کافی از این باکتری باشد بدین جهت به‌منظور حفاظت از این سلول‌های پروبیوتیک از تکنیک ریزپوشانی بوسیله‌ی صمغ عربی و آلژینات انجام شد. ریزپوشانی پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* DSM 1643 و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* 1644 به‌وسیله‌ی صمغ عربی وآلژینات انجام شد و تاثیر ناشی از ریزپوشانی بروی زنده‌مانی و ویژگی‌های حسی کنسرو مربای هویج مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل ارزیابی ماندگاری باکتری‌ها در کنسرو مربا در بازه‌های زمان مختلف نشان داد اگرچه طی دوره نگهداری، میزان کاهش در تعداد پروبیوتیک‌ها معنی‌دار بود اما این فراورده توانست تا پایان دوره نگهداری، به خوبی تعداد پروبیوتیک‌ها را در محصول حفظ کند. بررسی میزان افت باکتری‌ها حاکی از تفاوت معنادار بین حالت ریزپوشانی شده و آزاد بود. زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها به دلیل حفاظت سلول‌ها به‌وسیله ریزپوشانی، افزایش یافت و از نظر آماری تفاوت معناداری در زنده‌مانی پروبیوتیک‌های پوشش‌دار شده به‌وسیله‌ی صمغ عربی و آلژینات دیده نشد. هم‌چنین افزودن پروبیوتیک‌ها در حالت آزاد و ریزپوشانی شده، تأثیر معنی‌داری بر روی بافت، رنگ و طعم محصول نهایی در طول نگهداری نداشت.

کلمات کلیدی: آلژینات، باکتری‌های پروبیوتیک، ریزپوشانی، صمغ عربی، کنسرو مربای هویج

* drmarhamati@kau.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سبک زندگی و عادات غذایی نقش مهمی را در سلامت کلی افراد ایفا می کنند، در سال‌های اخیر شواهد زیادی خواص درمانی باکتری‌های پروبیوتیک را نشان می‌دهند (۱). برحسب تعریف پروبیوتیک‌ها به میکروارگانیسم‌های زنده‌ای ابلاغ می‌شود که اگر به مقدار معین دریافت بشوند توانایی ایجاد ویژگی‌های سلامت بخشی خاصی هستند که این ویژگی‌ها فرای خواص معمول مواد غذایی است (۲). پروبیوتیک‌ها با تعدیل ایمنی، کاهش کلسترول و جلوگیری از برخی سرطآن‌ها نقش درمانی ایفا می کنند (۳). جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب در روده ی بزرگ و کوچک (۵و۴) و کنترل التهاب آلرژیک است، استفاده از پروبیوتیک‌ها از دهه‌ی گذشته عمومیت پیدا کرده است و به طور کل به یک بازار جهانی تبدیل شده است. برحسب استانداردها برای بروز ویژگی‌های سلامت بخشی این باکتری‌ها باید به تعداد ۱۰۰۰۰۰۰۰ عدد در هر گرم از محصول مصرف شده وجود داشته باشند (۸، ۷ و ۶). در واقع باکتری‌ها باید به یک اندازه‌ی مناسب به روده برسند (۷ و ۴).

عوامل زیادی بروی زنده‌مانی و نحوه‌ی فعالیت این باکتری‌ها تاثیرگذار هستند از جمله تغییرات محیطی نظیر pH، دما، اکسیژن محلول کاهش قابل توجه باکتری‌ها و سلول‌های زنده را شاهد هستیم . علاوه بر شرایط نامطلوب در طی تولید یک محصول، سلول‌های پروبیوتیک پس از مصرف در معرض آنزیم‌های هیدرولایتیک مختلف، شرایط اسیدی معده و نمک‌های صفراوی دستگاه گوارش قرار می گیرد (۱۰و۹). در واقع یکی از چالش‌های مهم در توسعه محصولات پروبیوتیک حفظ تعداد قابل توجه سلول‌های زنده در طی تولید محصول و مدت زمان عمر مفید آن تا لحظه‌ی رسیدن به مرحله‌ی مصرف رسیدن به روده‌ی انسان می‌باشد.

در این پژوهش یکی از مساعل مهم مورد بحث بوجود آوردن شرایط مناسب برای زنده ماندن باکتری باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس[1] و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم*[2] در کنسرو مربای هویج می‌باشد، با توجه به مراحل مختلف و مهم‌تر از همه فرآیند پاستوریزاسیون و قند محصول مورد نظر راهکارهای درست و کاربردی در جهت تولید محصول بررسی شد. میکروکپسولاسیون یکی از بزرگترین فرآوری‌های آفرینش محسوب می‌شود و نقطه‌ی آغازین حیات به‌شمار می‌رود و طی دو تا سه میلیارد سال طبیعت با محصور کردن مولکول‌های حیاتی در واحدهای ساختمانی بنام سلول امکان حیات را برای کره‌ی خاکی میسر نموده است. انسان با الهام از طبیعت سعی کرده است تا ترکیبات مورد نیاز خود را تلغیظ-پوشش‌دهی و حفاظت نماید که در مقیاس میکروسکوپی این پدیده را میکروکپسولاسیون می‌نامند (۱۲-۱۱). در واقع ریزکپسوله کردن باکتری‌های پروبیوتیک درون دانه‌های هیدروکلوییدی یکی از تکنیک‌های است که اخیرا در جهت بهبود بقا و فعالیت‌های سلول تحت شرایط نا مطلوب استفاده شده است (۱۵، ۱۴ و۱۳).

از مواد مختلفی در جهت پوشش‌دار کردن استفاده می‌شود از جمله آلژینات و کلسیم آلژینات نسبت به سایر مواد محافظت کننده برای پوشش دار کردن پروبیوتیک‌ها به دلیل سادگی، غیرسمی بودن و قیمت پایین آن رایج است، با این حال کاربرد آلژینات بدلیل پایداری فیزیکی آن در حضور عوامل آنتی ژن مانند یون سدیم و منیزیم یا عوامل چلات کننده مانند فسفات به دلیل میل ترکیبی بالای آن‌ها با کلسیم و تخریب ژل‌های آلژینات محدود می‌شود (۱۵،۱۸). سدیم- کاراگینان از جمله موادی هستند که به تنهایی یا به صورت ترکیب با دیگر پلیمرها در جهت پوشش‌دار کردن استفاده می‌شوند (۱۵، ۲۱). میکروکپسول‌های آلژینات-پلی ان لایزین بدلیل ترکیب طبیعی و میل بالای آن سبب افزایش بقا پروبیوتیک‌ها در طی مدت نگهداری می‌شوند. نتایج کراساکوپ در سال نشان داده گرانول‌های کیتوزان پوشش یافته بوسیله‌ی آلژینات حفاظت بهتری را از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی لاکتوباسیلوس[3] نسبت

[1] *Lactobacillus acidophilus*
[2] *Bifidobacterium bifidum*
[3] *Lactobacillus casei*

www.SID.ir

Archive of SID

به گرانول‌های پلی ان لایزین پوشش یافته بوسیله ی آلژینات در مجاورت نمک ۶ درصد انجام می دهند.

مطالعات انجام شده بوسیله‌ی لکا و چن نشان داد که استفاده‌ی توام از ترکیبات پروبیوتیک (فروکتواولیگو ساکارید- ایزو مالتو اولیگوساگارید و پپتید) کلسیم آلژینات حفاظت بهتری را انجام می‌دهند. در همین راستا در این پژوهش راهکارهایی مناسب در جهت تولید یک محصول کنسروی پروبیوتیک بررسی شد. در ابتدای تحقیق یک مرحله‌ی جداسازی از محصولات لبنی سنتی انجام شد و در مرحله‌ی دوم باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* پوشش‌گذاری شدند و به محصول مورد نظر جهت بررسی اضافه شد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی میکروارگانیسم‌ها

باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (DSM 1643) و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (1644) به صورت خالص و لیوفیلیزه از کلکسیون سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری و در ۲۰ml محیط کشت MRS براث (مرک[1] آلمان) در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ h به ترتیب در شرایط هوازی و بی‌هوازی فعال گردیدند. سپس نمونه حاصل در ۹۵ml محیط کشت MRS براث تلقیح شد و تحت شرایط فوق تکثیر گردید (۱۶).

فرایند ریز پوشانی بوسیله‌ی صمغ عربی

مقدار ۵ml سوسپانسیون سلول‌های پروبیوتیکی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و ۵ml سوسپانسیون سلول‌های پروبیوتیکی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* به ۵۰ml شیر کم چرب که پاستوریزه شده است تلقیح می‌کنیم و پس از آن شیر حاوی سلول‌های پروبیوتیکی در انکوباتور شیکردار در دمای ۳۷ °C قرار می‌دهیم. برای ریزپوشانی از روش امولوسیون استفاده می‌کنیم (۱۷). بدین منظور مخلوطی از ۲ درصد صمغ عربی، ۲ درصد ژلاتین، ۹ درصد آلبیومین تخم‌مرغ و ۹/۹۲ درصد ساکارز برای ریزپوشانی ۲ درصد سلول‌های پروبیوتیکی که با ۲ درصد شیر کم‌چرب از قبل تلقیح کردیم، تهیه می‌کنیم. مقدار ۲g صمغ عربی به ۵۰ml شیر کم چرب محتوی سلول‌های پروبیوتیک اضافه می‌کنیم و به آرامی هم می‌زنیم تا همگن شود و کلوخه‌ای نگردد. سپس ۱g ژلاتین به آرامی اضافه می‌کنیم و در حالی که با هم زن شیشه‌ای استریل هم می‌زنیم ۳g پودر البومین و ۰/۰۵g ساکارز با درجه خلوص ۹۹/۹ درصد اضافه می‌کنیم. همه‌ی مراحل فوق را در شرایط استریل انجام می‌دهیم و در نهایت به محصول مورد نظر اضافه می‌کنیم.

آماده‌سازی مایه تلقیح

کشت *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و *لاکتوباسیلوس ورمی‌فرم* به منظور تهیه مایه تلقیح در محیط MRS broth کشت داده و به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شد. شمارش سلول‌های زنده مایه تلقیح با استفاده از روش کشت استاندارد و همان نوع محیط کشت و گرمخانه‌گذاری به مدت ۲۴ h در دمای ۳۷ °C انجام شد (۱۱ و ۱۰، ۵).

فرایند ریزپوشانی بوسیله‌ی آلژینات

عمل ریزپوشانی باکتری پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* با استفاده از روش ژلاتیناسیون خارجی که توسط ترایو ۲۰۰۳ در سال انجام گرفت (۱۱). بدین ترتیب که ابتدا مقدار ۱۰g از آلژینات سدیم با ویسکوزیته‌ی متوسط در ۱L آب مقطر با استفاده از همزن مغناطیسی حل می‌کنیم. سپس به مدت یک شب در یخچال در دمای ۹°C نگه می‌داریم تا آلژینات به خوبی آب جذب بکند سپس به بیرون از یخچال منتقل و مدتی در دمای آزمایشگاه نگه می‌داریم تا با محیط هم دما بشود و سپس ۱۸g از محلول آلژینات با ۱g از سوسپانسیون باکتریایی مخلوط می‌کنیم و سپس مخلوط حاصل را با استفاده از پیپت استریل در ۱۰g روغن نباتی مایع (کلزا) حاوی توین ۸۹ (۵g/l) توسط همزن مغناطیسی در ۹۰۰ rpm در حال هم خوردن می‌باشد اضافه می‌کنیم و برای ۵۹min به صورت یکنواخت پراکنده می‌شود سپس با اضافه کردن ۱۰۰ml از یک

[1] Merck Germany

www.SID.ir

Archive of SID

امولسیون حاوی یون کلسیم (حاصل انحلال ۶۰g روغن مایع کلزا، توین ۸۰ و ۰/۱ M کلرور کلسیم) عمل ژلاتیناسیون آغاز می‌شود. عمل هم زدن برای ۲۰min دیگر نیز ادامه پیدا می‌کند تا ریزپوشش‌های آلژینات شکل بگیرد. بعد از این مدت، ۳۰min دیگر هم زدن را ادامه می‌دهیم تا عمل ژلاتیناسیون کامل شود. در نهایت سیستم دو فازی تشکیل می‌گردد که فاز رویی روغن و فاز پایینی آن دانک‌های آلژینات سدیم ته‌نشین شده در محلول کلرور کلسیم هستند. در این حالت فاز روغنی را جدا کرده و ریزپوشش‌های آلژینات با استفاده از سانتریفیوژ با نیروی ۵۰۰ g و در دمای ۹°C برای ۲min جداسازی می‌گردد. عمل شستشو دانک‌ها نیز با استفاده از محلول ۹/۲ درصد پپتون واتر وبا استفاده از سانتریفیوژ انجام می‌گیرد.

تهیه‌ی مربای هویج فراوری شده

در این مرحله سلول‌های باکتریایی پوشش‌دار شده را به طور مستقیم به درون تیمارهای مورد نظر طبق ترتیب زیر اضافه می‌کنیم. سلول‌های پوشش‌دار شده را قبل از عمل پاستوریزاسیون به تیمارها اضافه می‌کنیم، ۱۵ تیمار (کنسرو مربا) محتوی باکتری‌های تنها بدون پوشش، پوشش‌دار شده و پوشش‌دار شده به میزان دو برابر برای هرنوع پوشش‌گذاری و تیمارهای محتوی هر دو باکتری همراه با یکدیگر بودند. پس از آن عمل پاستوریزاسیون در دمای ۶۳°C (پاستوریزاسیون در دمای پایین) انجام شد.

بررسی تیمارها از نظر زنده‌مانی باکتری‌ها در طی یک ماه

برای ارزیابی زنده‌مانی باکتری‌های پوشش‌دار شده در تیمارهای مورد نظر در فاصله‌های زمانی ۰، ۷، ۱۴، ۲۱، ۳۰ روز شمارش میکروبی تیمارها به صورت جداگانه مطابق با روش استاندارد پلیت کانت (S.P.C) و بر اساس واحد تشکیل دهنده‌ی کلنی[1] (C.F.U) انجام شد و آنالیز آماری صورت گرفت و نتایج قبیل طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی سنجیده شد. امتیازها براساس ثبت شد.

ارزیابی حسی مربای هویج

برای ارزیابی حسی یک پانل شامل ۱۰ نفر از افراد آموزش دیده، نمونه‌های مربای هویج را به صورت مجزا در دمای اتاق ارزیابی کردند. فرایند با استفاده از یک سری ویژگی مهم از نمره‌دهی هدونیک از ۱ تا ۸ امتیاز ۸ برای بهترین و امتیاز ۱ برای بدترین حالت در نظر گرفته شد (۱۸).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS13 برای لاکتوباسیلوس‌ها مورد تجزیه قرارگرفته است. در این پژوهش نتایج به‌دست آمده از آزمایشات با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شده با ۳ تکرار توسط spss انجام گردید مقایسه بین نتایج به وسیله آزمون‌های آماری ANOVA و dancan در سطح P≤ ۰/۰۵ برای بررسی اختلاف معنی‌دار میانگین‌ها و برای ارزیابی حسی نیز آزمون ناپارامتری فرید من انجام گرفت نمودارها نیز با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شده‌اند، در ادامه جدول و نمودارهای میله‌ای هر کدام از فاکتورهای مورد نظر با استفاده از نرم‌افزار spss ترسیم گردید.

نتایج

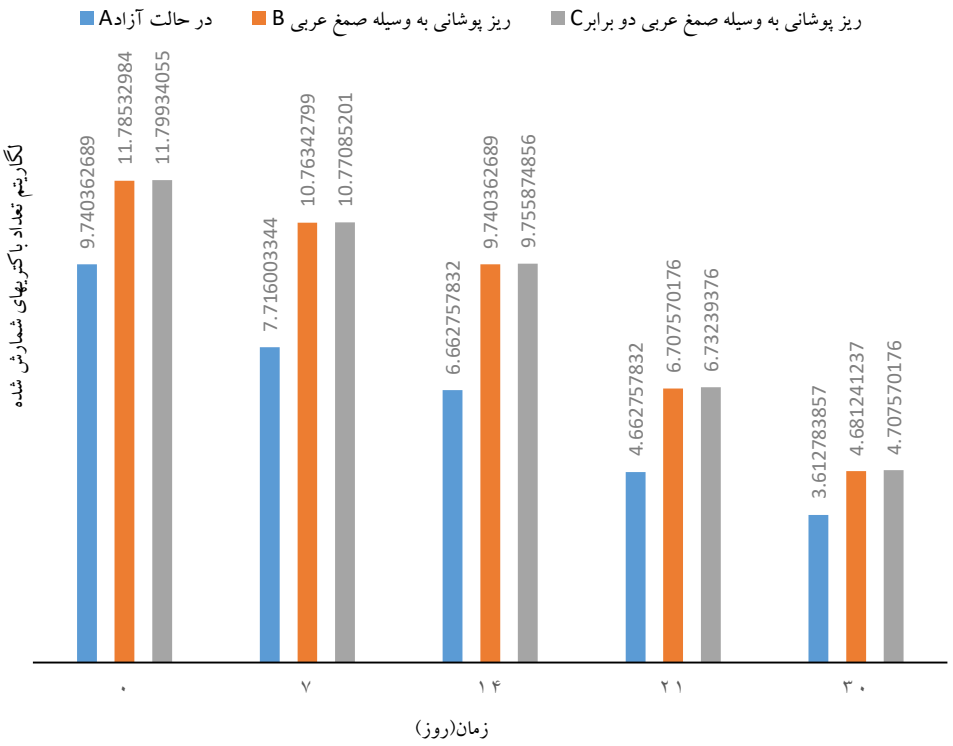
زنده‌مانی تیمارها در مدت زمان یک‌ماه در حالت‌های مختلف

میانگین و انحراف معیار تعداد باکتری‌های زنده در تمام تیمارها در حالت‌های مختلف در طول زمان محاسبه شد. مشاهده میانگین‌های تعداد باکتری‌های زنده شمارش شده ملاحظه می‌شود که تعداد باکتری‌ها درتمام تیمارها در هر سه حالت با گذشت زمان کاهش یافته‌اند البته این کاهش در تعداد باکتری‌های حالت آزاد به نظر محسوس‌تر می‌باشد. نتایج حاصل به صورت نمودار برای هر تیمار نشان داده شده

[1] Colony Forming Unit

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

است.

تاثیر تعاملی زمان و حالت

برای بررسی تاثیر زمان و ریزپوشانی در زنده‌مانی باکتری‌ها در تیمارهای مختلف از آزمون مدل خطی عمومی[1] استفاده شده است و همانطور که ملاحظه می‌شود آزمون معنادار است (p-value کمتر از ۰/۰۵ بدست آمده است) و نشان می‌دهد زمان و حالت اثر تعاملی معنادار بر زنده مانی تعداد باکتری‌ها دارند.نتایج به صورت نمودار نشان داده شده است.

بررسی اختلاف معنادار بین تعداد باکتری‌های شمارش شده حالت ریزپوشانی بوسیله صمغ عربی و ریزپوشانی بوسیله آلژینات

برای بررسی تفاوت‌های معنادار در سطح ۵ درصد بین تعداد باکتری‌های شمارش شده حالت ریزپوشانی بوسیله صمغ عربی و ریزپوشانی بوسیله آلژینات در زمان‌های مختلف از آزمون تی مستقل استفاده شد که با توجه به نزدیکی میانگین تعداد باکتری‌های شمارش شده اگر چه تعداد باکتری‌های زنده شمارش شده در حالت ریزپوشانی بوسیله آلژینات به میزان نامحسوسی کمتر بود اما از لحاظ آماری بیشتر اختلاف‌ها معنادار نبودند.

ارزیابی حسی تیمارها در طی یک ماه

ارزیانی حسی مرباها نشان داد که ریزپوشانی تاثیری بر ویژگی‌های حسی مرباها ندارد به علاوه مقدار آزمون خی دو برابر با ۶/۰۲۸ و سطح معناداری برابر با (sig=۰/۹۱۵) می‌باشد، که بیشتر از ۰/۰۵ می‌باشد.(p>۰/۰۵).نتایج در جدول ۱ نشان داده شد.

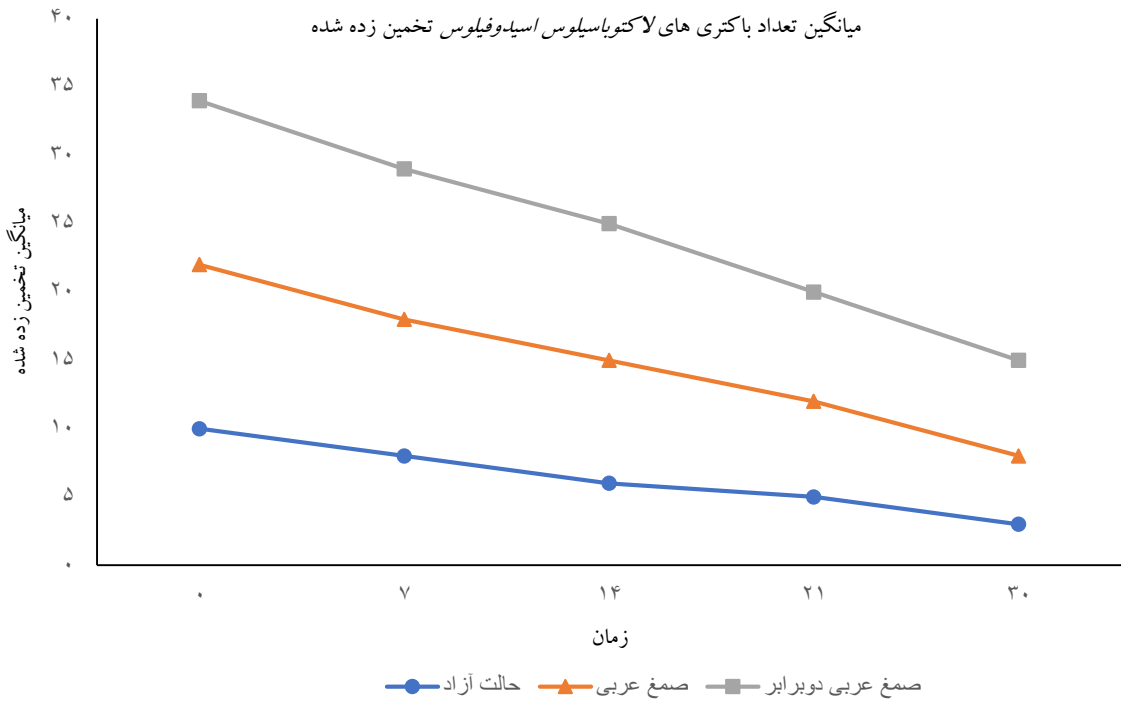
جدول ۱. نتایج آزمون فرید من

N	۳
Chi-square	۶،۰۲۸
df	۱۲
Asymp. Sig.	۰،۹۱۵

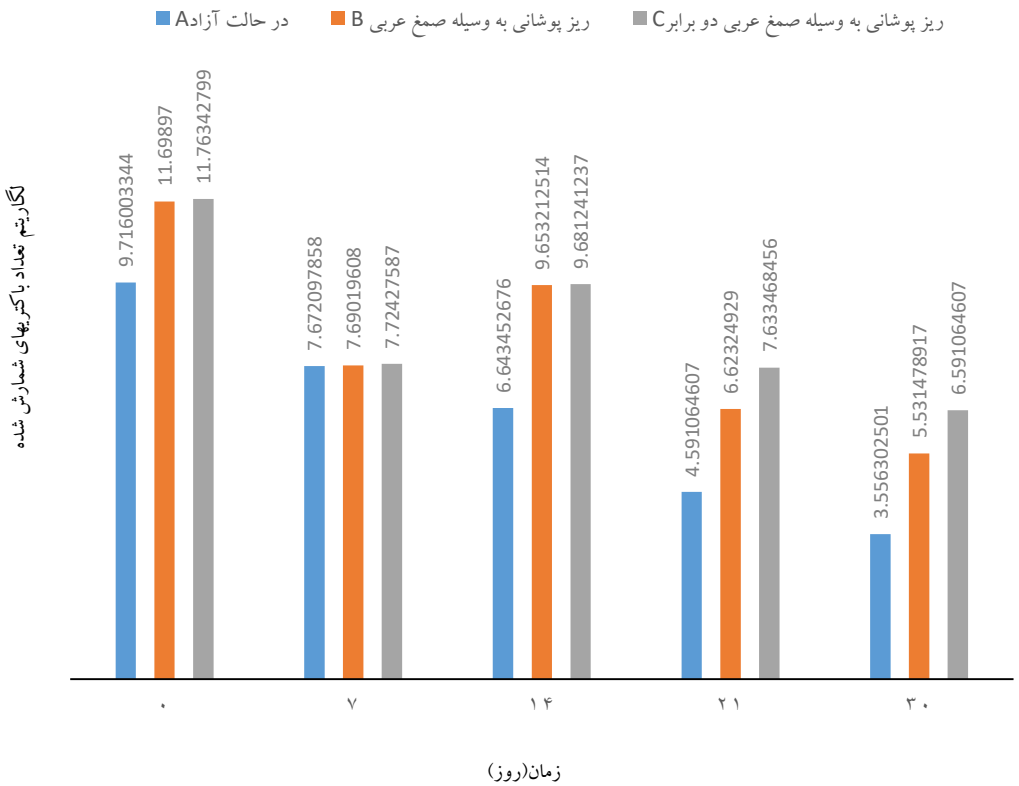
[1] General Linear Model

www.SID.ir

Archive of SID



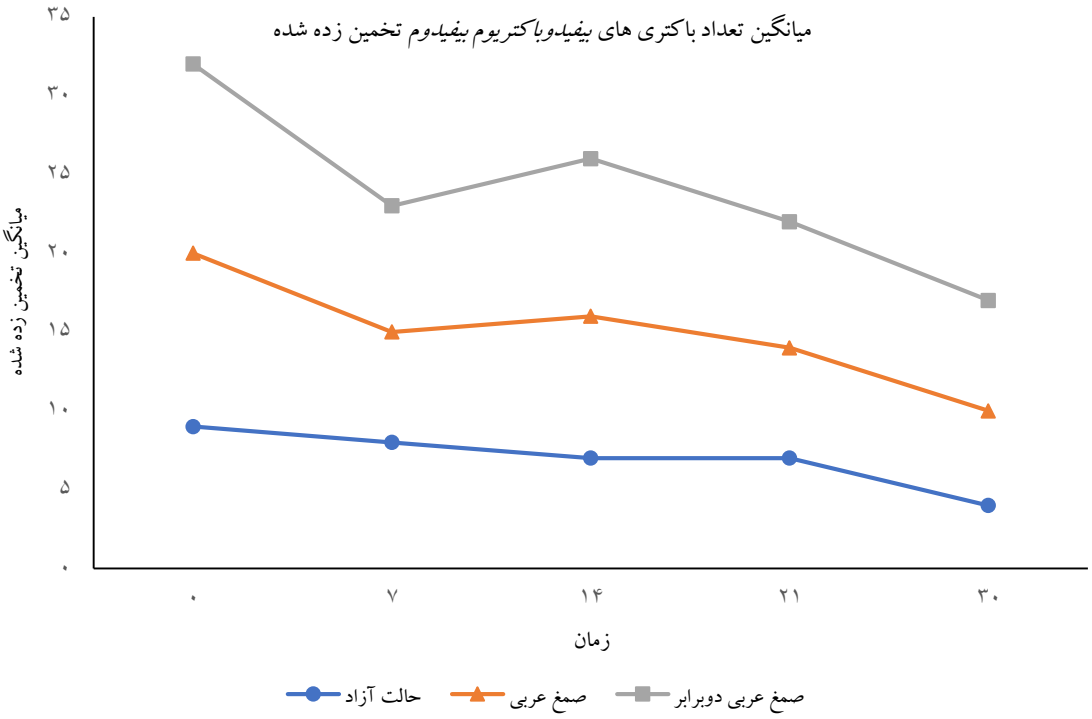
شکل۲. تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی



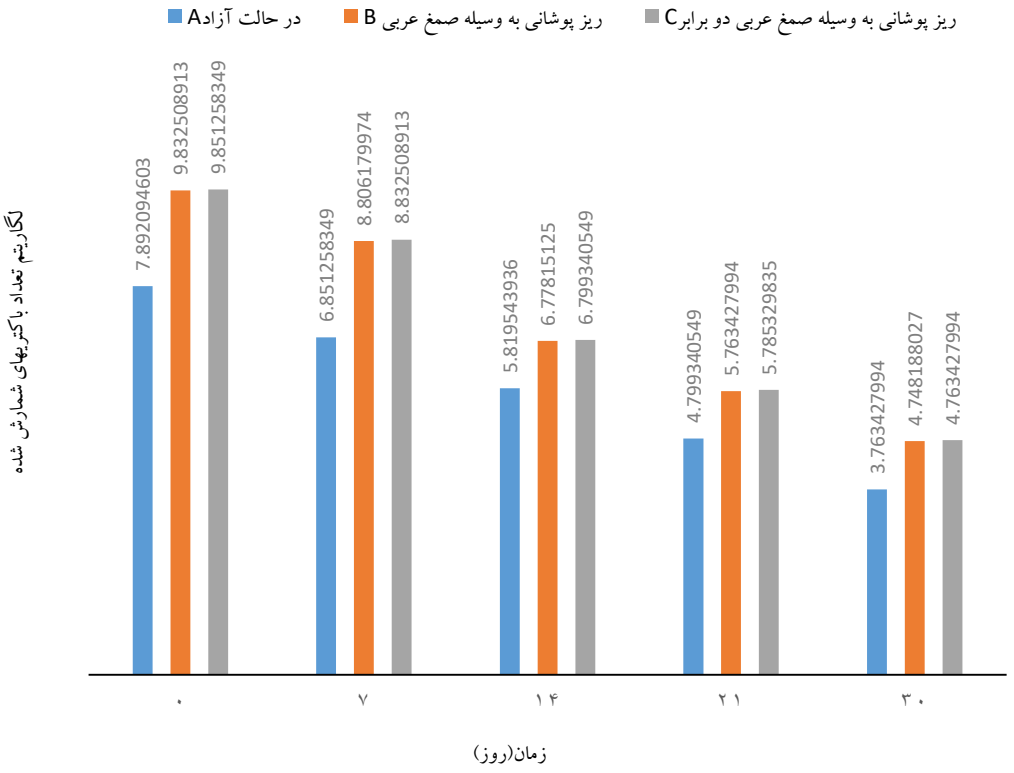
شکل۳ . زنده‌مانی باکتری *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



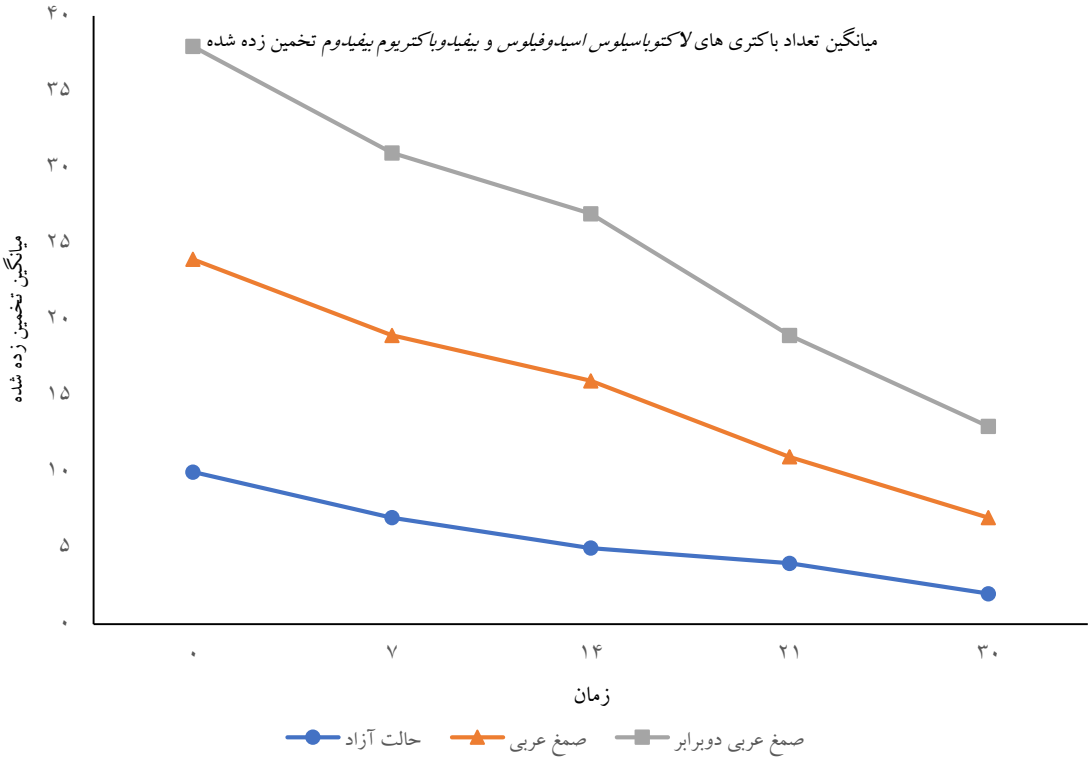
شکل۴. تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی



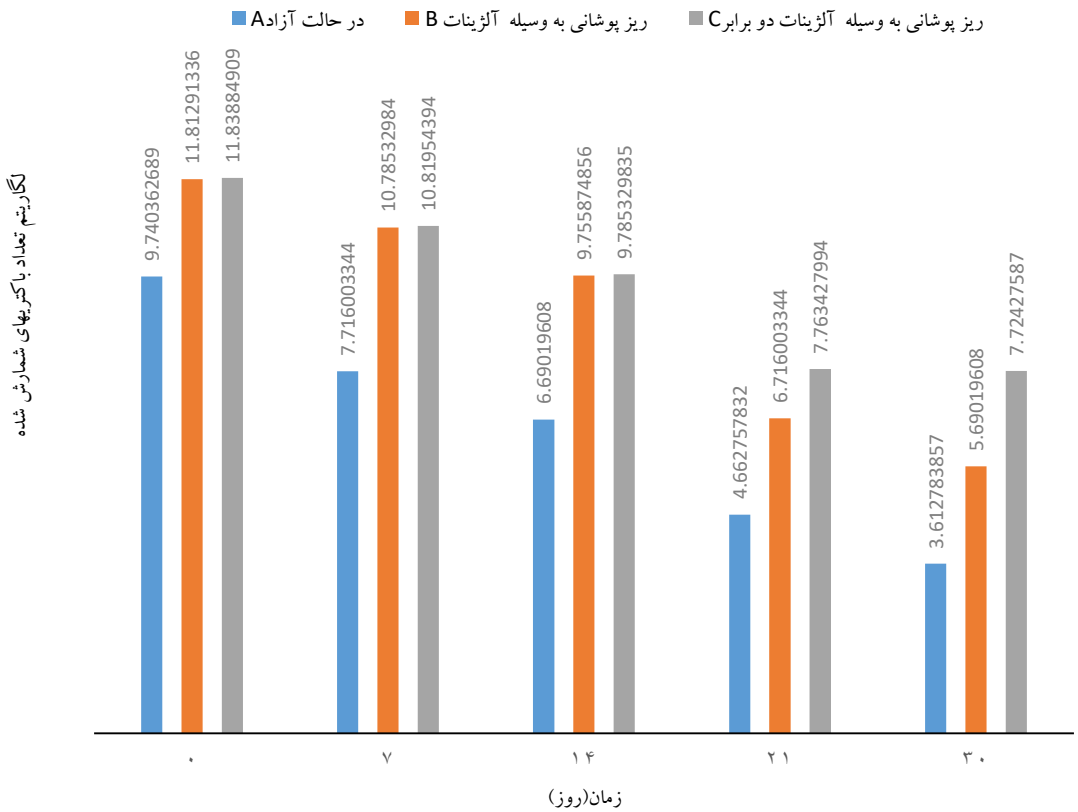
شکل۵. زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



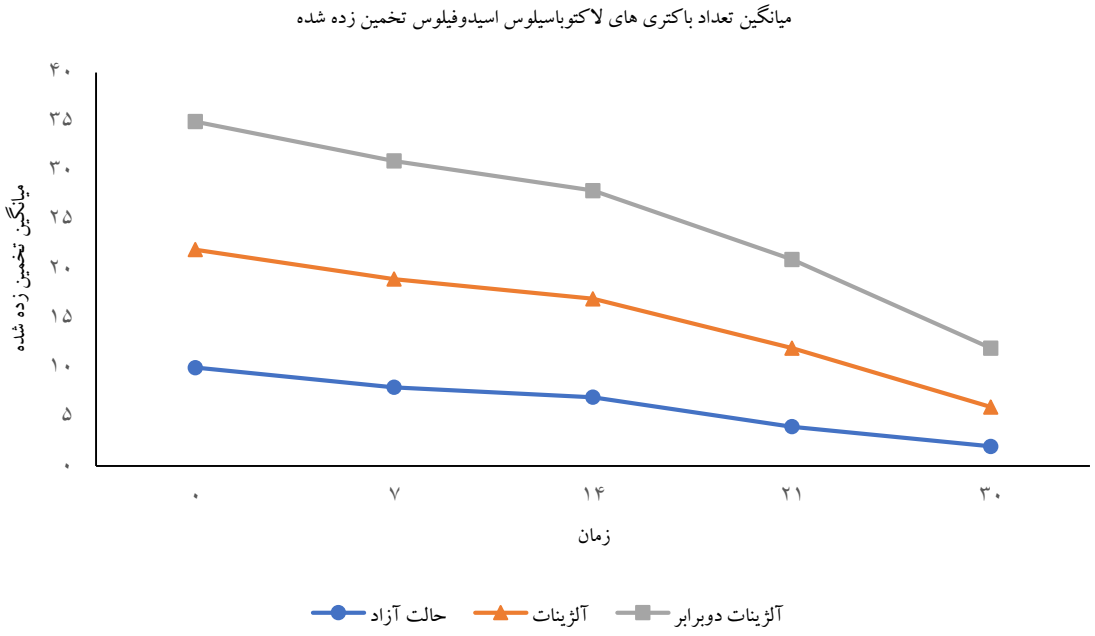
شکل ۶. نمودار تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی



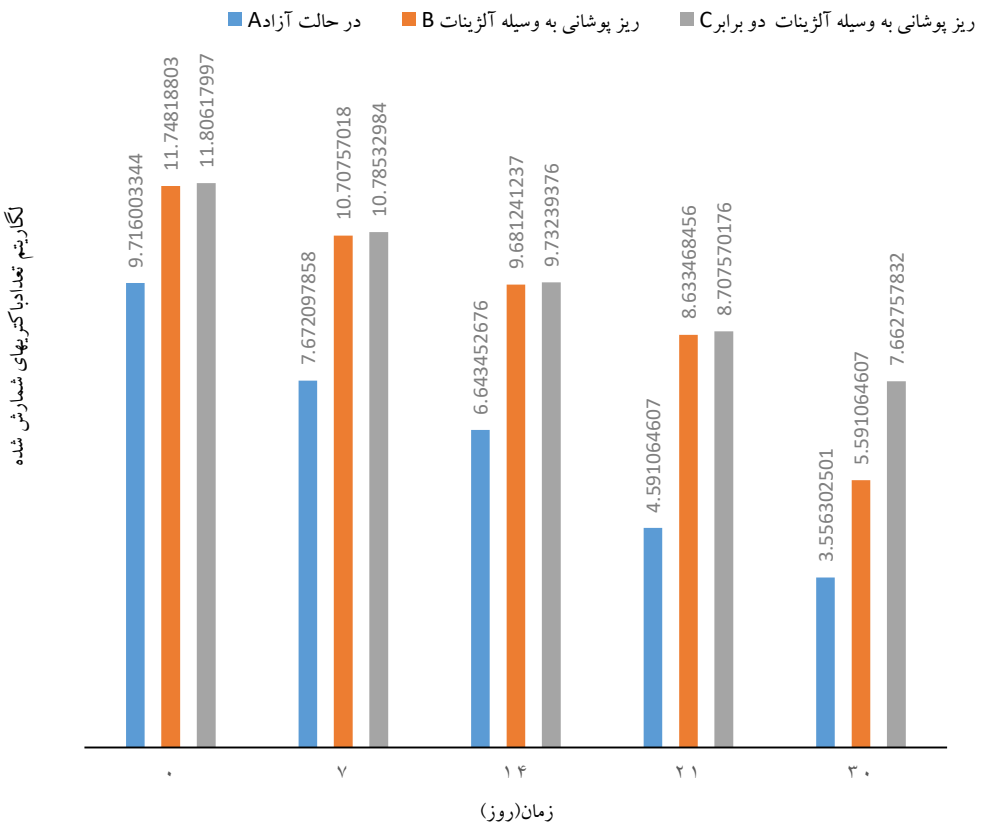
شکل۷. زنده‌مانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



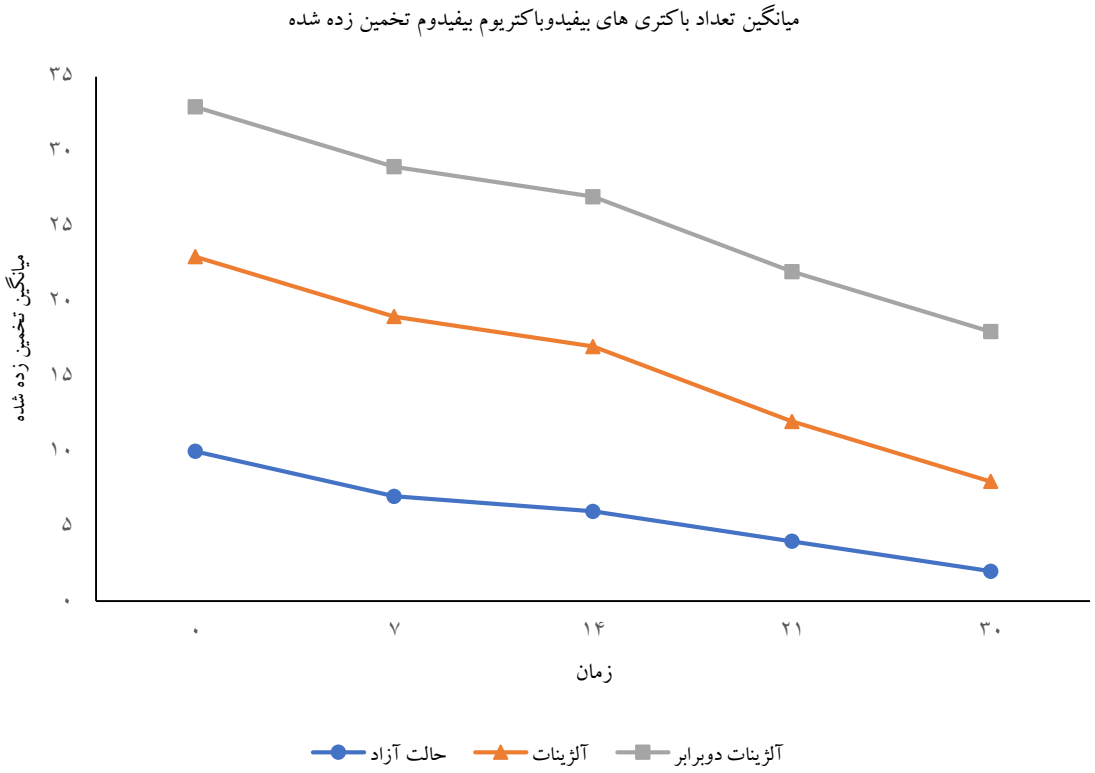
شکل ۸. تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی



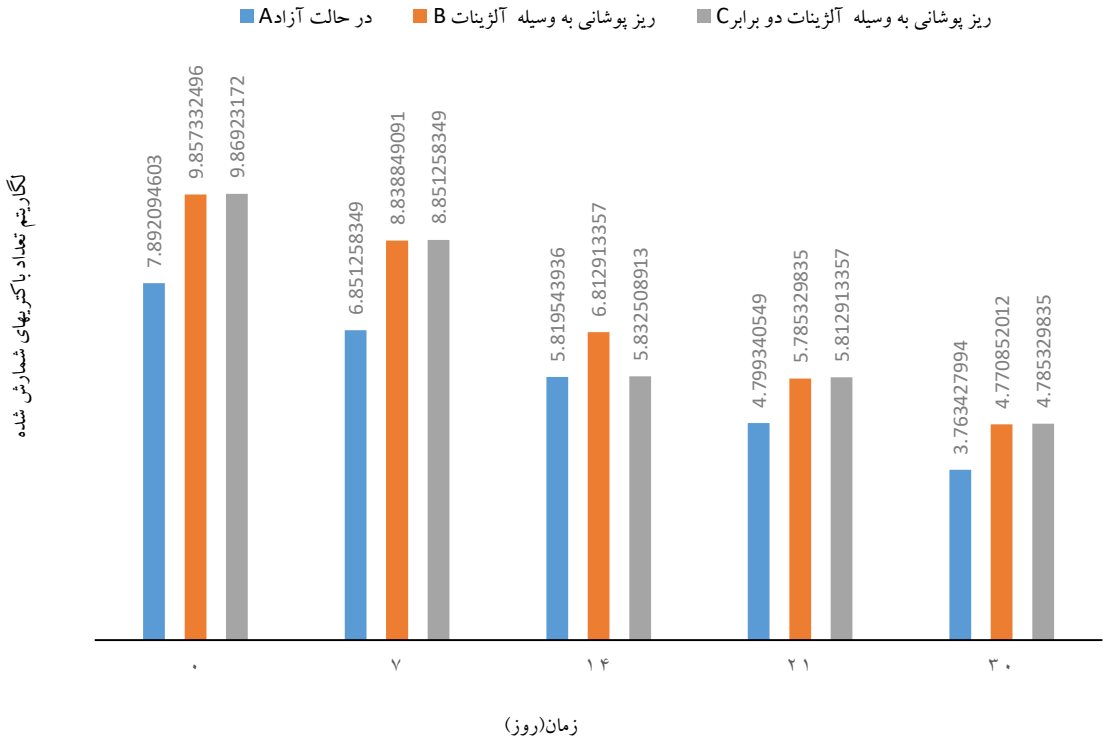
شکل ۹. زنده مانی باکتری *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



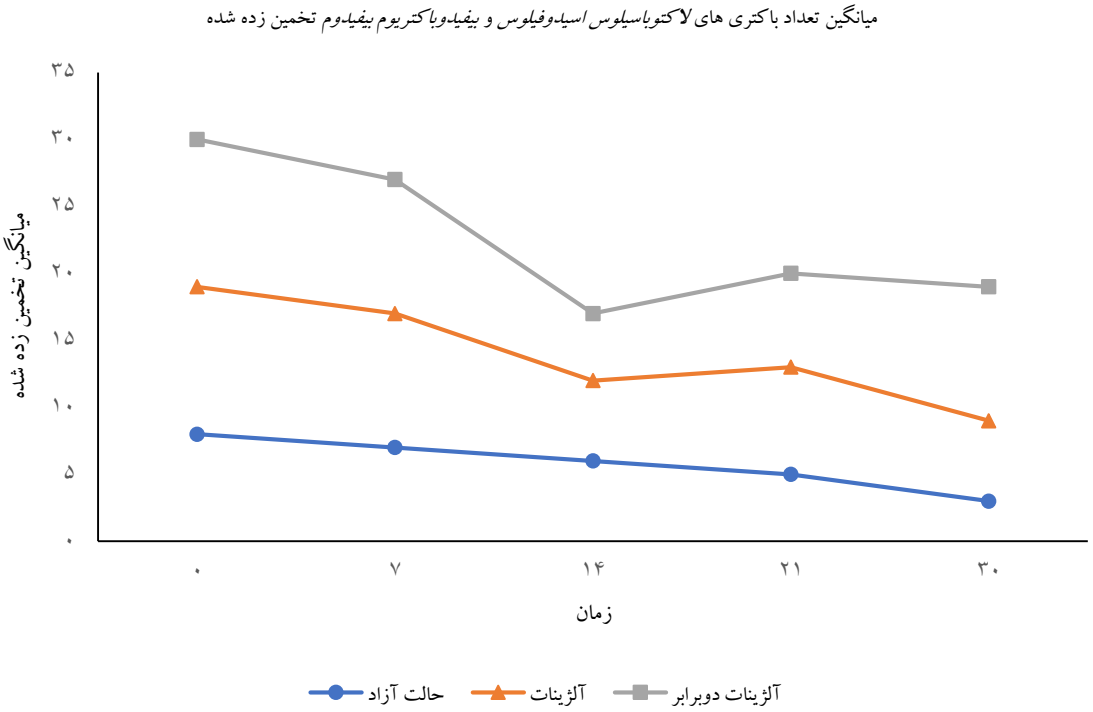
شکل ۱۰. تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی



شکل ۱۱. زندهمانی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدو باکتریوم بیفیدوم* در مدت زمان یک ماه در حالت‌های مختلف

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱۲. تاثیر تعاملی زمان و حالت به طور کلی

جدول ۱. نتایج آزمون فرید من

N	۳
Chi-square	۶،۰۲۸
df	۱۲
Asymp. Sig.	۰،۹۱۵

بررسی اختلاف معنادار بین تعداد باکتری‌های شمارش شده حالت ریزپوشانی بوسیله صمغ عربی و ریزپوشانی بوسیله آلژینات

برای بررسی تفاوت‌های معنادار در سطح ۵ درصد بین تعداد باکتری‌های شمارش شده حالت ریزپوشانی بوسیله صمغ عربی و ریزپوشانی بوسیله آلژینات در زمآن‌ها ی مختلف از آزمون تی مستقل استفاده شد که با توجه به نزدیکی میانگین تعداد باکتری‌های شمارش شده اگر چه تعداد باکتری‌های زنده شمارش شده در حالت ریزپوشانی بوسیله آلژینات به میزان نامحسوسی کمتر بود اما از لحاظ آماری بیشتر اختلاف‌ها معنادار نبودند.

ارزیابی حسی تیمارها در طی یک ماه

ارزیانی حسی مرباها نشان داد که ریزپوشانی تاثیری بر ویژگی‌های حسی مرباها ندارد به علاوه مقدار آزمون خی دو برابر با ۶/۰۲۸ و سطح معناداری برابر با(sig=۰/۹۱۵) می‌باشد، که بیشتر از۰/۰۵ می‌باشد.(p>۰/۰۵).نتایج در جدول ۱ نشان داده شد.

بحث و نتیجه‌گیری

پوشش‌دار کردن باکتری‌ها: با توجه به اینکه هیچ گونه اندازه‌گیری برای ارزیابی سایز کپسول‌ها دراین تحقیق انجام نشده است اما می‌توان بر اساس مشاهدات و نتایج حاصل از ارزیابی حسی اینگونه بیان نمود که اندازه ذرات باید در حد مناسبی شکل گرفته باشد زیرا در روش‌های متعارف ریزپوشانی نظیر اکستروژن و خشک کردن پاششی ابعاد کپسول‌ها بزرگتر هستند، که این امر منجر به بوجود آمدن احساس دهانی و شنی شدن در مصرف کننده می‌شود (۱۹ و ۹) در صورتی که اندازه کپسول‌ها بسیار کوچک باشند

www.SID.ir

Archive of SID

نمی‌توانند محافظ خوبی برای پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی باشند و این امر باعث نابودی پروبیوتیک‌ها می‌شود (۲۱ و ۲۰). گزارش شده است کپسول‌های کوچکتر از ۱۰۰µm نمی‌توانند در سطح معنی‌داری موجب افزایش بقای پروبیوتیک‌ها در شرایط اسیدی معده شوند(۲۲). هنسن و همکاران گزارش کردند که در صورت اضافه شدن کپسول‌های حاوی باکتری‌های پروبیوتیک به مواد غذایی، کپسول‌های بزرگتر از ۱ mm موجب خشن شدن بافت مواد غذایی می‌شود (۲۲).

زنده مانی باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده بوسیله-ی صمغ عربی و آلژینات در طی یک ماه با یکدیگر مقایسه شده است. ریزپوشانی به طور معنی‌داری زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را در کنسرو مربا بهبود بخشید به طوری که برای مثال در مورد تعداد بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ریزپوشانی شده با آلژینات جمعیت اولیه $۵/۶\times۱۰^{۹}$ cfu/g در کنسرو مربا و بعد از ۳۰ رو نگهداری این تعداد به $۴/۱\times۱۰^{۳}$ cfu/g رسید که زنده‌مانی باکتری‌ها را در مقایسه با نوع آزاد، با توجه آنالیزهای انجام شده تفاوت معناداری را نشان داد و زنده مانی پروبیوتیک‌ها را در این دوره‌ی نگهداری بهبود بخشید. این نتایج با یافته‌های سلطانا و همکاران در سال ۲۰۰۰ متفاوت است، این گروه زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها را در شرایط اسیدی معده انجام دادند، و بر اساس نظر این گروه ریزپوشانی تاثیری بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی ندارد (۹). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که استفاده از آلژینات و صمغ عربی در سطح معنی‌داری، قابلیت زنده‌مانی هر دو باکتری را افزایش می‌دهد. برینکوس و همکاران در سال ۲۰۱۱ با ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با آلژینات کلسیم و کیتوزان، قابلیت زنده‌مانی این باکتری را در شرایط مشابه مایع معده بهبود دادند (۲۳). در واقع یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد که قابلیت زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی در شرایط مشابه مایع معده بیشتر از *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* است که احتمالا می‌تواند ناشی از مقاومت کلی بیشتر لاکتوباسیلوس‌ها به شرایط اسیدی، نسبت به بیفیدوباکتریوم‌ها باشد (۹-۱۹). نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد که در تمام تیمارها تعداد باکتری‌ها در هر سه حالت با گذشت زمان کاهش یافته‌اند البته این کاهش در تعداد باکتری‌های حالت آزاد به نظر محسوس‌تر می‌باشد. با توجه به نتایج حاصله کاهش تعداد باکتری‌های زنده در نمونه‌های حاوی سلول‌های ریزپوشانی شده تفاوت زیادی با یکدیگر نداشت که این نتیجه موید این است که ریز پوشانی اثر بیشتری بر حفظ بقا سلول‌های طی زمان داشت. این نتایج با یافته‌های خسروی زنجانی و همکارانش در سال ۱۳۹۲ مطابقت داشت آن‌ها زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوم آزاد و ریزپوشانی شده به‌وسیله‌ی کیتوزان مورد بررسی قرار دادند و نقش و تأثیر ریزپوشانی در طی ۱۰۰ روز نگهداری قابل ملاحضه بود و پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده، زنده‌مانی بیشتری را در مقایسه با حالت آزاد نشان داده است.

اختلاف معنادار بین تعداد باکتری‌های شمارش شده حالت ریزپوشانی بوسیله صمغ عربی و ریزپوشانی بوسیله آلژینات مورد بررسی قرار گرفت و هرچند تعداد باکتری‌های زنده شمارش شده در حالت ریزپوشانی بوسیله آلژینات به میزان نامحسوسی کمتر بود اما از لحاظ آماری اختلاف معنادار نداشتند.

نتایج ارزیابی حسی مرباها نشان داد که ریزپوشانی تاثیری بر ویژگیهای حسی مرباها ندارد و این دست آورد مطابق نتایج خسروی زنجانی در سال ۱۳۹۲ بود که ویژگی‌های حسی بستنی را در حضور پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده وآزاد بررسی کرده بود و فاقد تاثیر بود.

منابع

1. Agheyisi, R. 2005, Ga-121 probiotics: Ingredients, supplements, foods. Technical report, Business Communication Company, Inc, Norwalk, CT.

2. Guarner, F., Schaafsma, G. J., 1998. probiotics, International Journal of Food Microbiology, 39,(3), 237-238.

3. Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. lwt lebensmittel-wissenschaft und technologie. Food Science and Technology. 39 (10) :1221-1227.

www.SID.ir

Archive of SID

4. Kailasapathy, K., and Chin. 2000 Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bi¯dobacterium spp*. *Immunology and Cell Biology*, 78:80,88.

5. Orrhage, K., and Nord, C.E. 2000, Bi-dobacteria and Lactobacilli in human health. *Drugs Under Expperimental and Clinical Resesarch*, 26(3):95,111.

6. Shah, N. P. 2002, Bifidobacterium spp: Applications in fermented milks. In: Encyclopaedia of Dairy Science, London: Academic press, 147–151.

7. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. 2003, Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int Dairy J.* 13: 3-13

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

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

10. Lankaputhra, W.E.V. Shah, N.P. 1995, Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bi¯dobacterium spp* in the preence of acid and bile salts. *Cultured Dairy Products Journal*, 30(3):2,7.

11. Trau, D., Rrnneberg, R. 2003, Encapsulation of glucose oxidase microparticles within a nanoscale layer by layer film: immobilization and biosensor applications, Biosensors and Bioelectronics; 18, 1491- 1499.

12. Mokarram, R.R., Azizi, M. 1996, Micro encapsulation and its applications in food industries, In: proceeding of the 8th national congress of food industry, 219 - 225. Tehran. Iran.

13. O'Riordan, K., Andrews, D., Buckle, K., Conway, P. 2001, Evaluation of mi- croencapsulation of a bi¯dobacterium strain with starch as an approach to prolonging viability during storage. *Journal of Applied Microbiology*, 91:1059- 1066.

14. Desmond, C., Ross, R. P., O'Callaghan, E., Fitzgerald, G., Stanton, C. 2002, Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray-dried powders containing gum acacia. *Journal of Applied Microbiology*, 93:1003-1011.

15. Adhikari, K., Mustapha, A., Grun, I.U. 2003, Survival and metabolic activity of microencapsulated *Bi¯dobacterium longum* in stirred yogurt. *Journal of Food Science*, 68(1):275, 280.

16. 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(8):1040-5

17. Vladimirovich, S. 2010, Probiotic oatbased food and process for making the same, U.S.A Patent Application Publication , US2010/0098805A1.

18. Khalil, A.H., Mansour, E.H. 1998, Alginate encapsulated bifidobacteria survival in mayonnaise. *J Food Sci.* 63: 702-705.

19. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H.C. 2006, Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT- and conventionally treated milk during storage. LWT - Food Science and Technology, 39(2), 177-183.

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

21. Sheu, T. Y., Marshall, R. T. 1993, Microentrapment of Lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*, 54(3):557-561.

22. . Mandal, S., Puniya, A.K., Singh, K. 2006, Effect of alginate concentrations on survival of microencapsulated Lactobacillus casei NCDC-298. International Dairy Journal 16(10), 1190-1195.

23. Hansen LT,Allan wojtas PM, Jin YP, Paulson AT, (2009). Sorvival of Ca-alginate Microencapsolated Bifidobacterium spp. In milk and simulated gastrointestinal conditions. Food microbial. 19(1):35-45.

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

25. Brinques, G.B., Ayub, M.A.Z. 2011, Effect of microencapsulation on survival of Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. Journal of Food Engineering 103(2), 123-128.

26. Cardinal, M. J., Meghrous, J., Lacroix, C. and Simard R. E. 1997. Isolation of

27. *Lactococcuslactis* strain producing inhibitory activity against *Listeria*. Food Biotechnology.11: 129.

28. Drake, M., Small, C.L., Spence, K.D. and Swanson, B.G. (1996). Rapid detection and identification of *Lactobacillus* sp. in dairy products by using the polymerase chain reaction. Journal of Food Protection. 59:1031-1036

29. Khosravi Zanjani MA, Ghiassi Tarzi BG, Sharifan A, Bakhoda H, Mohammadi N. Effect of microencapsulation with calcium alginate and resistant maize starch on survival of Lactobacillus casei and sensory properties of cream-filled cake. Iranian J Nutr Sci Food Tech. 1392; 8(1): 39-48 [In persian].

www.SID.ir

Archive of SID

The effects of Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* by alginate and Arabic gum in canned carrot jam

Azar Rahi[1], **Mohammad Hosein Marhamatizadeh[2*]**

[1] Department of Microbiology, Kazerun Branch, Islamic Azad University, kazerun, Iran.
[2] Department of Food Hygiene, Veterinary Faculty, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran.

Abstract

Microencapsulation technique with various hydrocolloidal coatings is used to improve viability potential of probiotics in processed food. As a probiotic product, canned jam should contain a sufficient number of viable probiotic bacteria. In this study, we evaluated the protective effects of Arabic gum and alginate on the survival of two important probiotic bacteria, Lactobacillus acidophilus DSM 1643 and Bifidobacteriumbifidum1644. Microencapsulation of these two probiotic bacteria was carried out by alginate and Arabic gum, and their impacts on the survivability and the sensory characteristics of canned carrot jam were examined for one month. According to our results, although the reduction in the number of probiotics in canned jam at different time was significant, this product was able to retain a good number of probiotic bacteria. There was a significant difference between the dropped number of coated and free bacteria. However, no significant difference was observed in the survival rate of probiotics coated by Arabic Gum and alginate. Moreover, the addition of free and encapsulated probiotics had no significant impact on texture, color and flavour of the final product during the maintenance time. The probiotic survival can be enhanced by cell protection through encapsulation.

Keywords: : alginate, arabic gum, canned carrot jam, microencapsulation, probiotic bacteria

[*] drmarhamati@kau.ac.ir

www.SID.ir