مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

پوشش دهی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رئوتری* با استفاده از ایزوله پروتئین سویا و آب پنیر و اینولین و بررسی زنده مانی آن طی دوره نگهداری و شرایط شبیه سازی شده دستگاه گوارش

عبد العظیم سلطانی لک[1*]، محمد حسین مرحمتی زاده[2]

۱- کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

۲- دکتری بهداشت مواد غذائی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۷/۱۳

کلمات کلیدی:

پوشش دهی،

لاکتوباسیلوس رئوتری،

ایزوله پروتئین سویا،

آب پنیر و اینولین

DOI: 10.29252/fsct.18.01.07

* مسئول مکاتبات:

a.soltanilak1368@gmail.com

چکیده

با توجه به حساس بودن باکتری های پروبیوتیک به شرایط نگهداری و همچنین شرایط خاص دستگاه گوارش حفاظت از باکتری ها در برابر این شرایط لازم به نظر می رسد. هدف از این پژوهش بررسی اثر ترکیبات انکپسوله کننده ایزوله پروتئین سویا، ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس رئوتری در دستگاه گوارش و طی دوره نگهداری است. همان گونه که از نتایج بر می آید نمونه های ریزپوشانی شده با ایزوله پروتئین سویا رطوبت بالاتری نسبت به نمونه های ریز پوشانی شده با پروتئین آب پنیر داشتند، همچنین اضافه شدن اینولین باعث کاهش محتوای رطوبت نمونه ها شده بود. نتایج میزان فعالیت آبی نیز هم راستا با نتایج محتوای رطوبتی بود. ساختار میکروسکوپی نشان می دهد نمونه های حاوی پروتئین آب پنیر از یکنواختی بیشتری برخوردار هستند. زنده مانی در سیستم شبیه سازی شده معده نشان داد با گذشت زمان تعداد باکتری در سیستم شبیه سازی شده معده کاهش می یابد و بیشترین کاهش در نمونه کنترل اتفاق افتاده است. از بین نمونه های ریزپوشانی شده نمونه ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشترین زنده مانی (۸۶/۳ درصد) را داشته است. همچنین زنده مانی در سیستم شبیه سازی شده روده نشان می دهد با گذشت زمان تعداد باکتری در سیستم شبیه سازی شده روده کاهش می یابد و بیشترین کاهش در نمونه کنترل یعنی نمونه ریزپوشانی نشده اتفاق افتاده است. از بین نمونه های ریزپوشانی شده، نمونه ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشتربن زنده مانی را داشته است. همان گونه که از زنده مانی باکتری پروبیوتیک طی دوره نگهداری بر می آید با گذشت زمان تعداد باکتری کاهش می یابد و بیشترین کاهش در نمونه ریزپوشانی شده با ایزوله پروتین سویا (۸۵/۸ درصد) اتفاق افتاده است. از بین نمونه ها، نمونه ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشترین زنده مانی (۸۸/۷۵ درصد) را داشته است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

۱- مقدمه

پروبیوتیک واژه‌ای یونانی به معنای "برای زندگی" بوده و به میکروارگانیسم‌هایی اطلاق می‌شود که دارای اثرات سلامتی بخش برای انسان و حیوانات بوده و به صورت تکنیکی توسط کمیته کارشناسی FAO/WHO به این صورت تعریف شده اند: " میکروارگانیسم‌های زنده‌ای که در صورت مصرف به تعداد کافی فواید سلامتی فراتر از تغذیه معمولی ارائه خواهند نمود" [۱]. گزارشات متعدد حاکی از فواید سلامتی بخش پروبیوتیک‌های افزوده شده به محصولات غذایی در رابطه با عفونت‌های گوارشی، فعالیت ضد میکروبی، بهبود متابولیسم لاکتوز، کاهش کلسترول سرم، تقویت سیستم ایمنی، خواص ضد جهش زایی، ضد سرطانی، ضد اسهال، بهبود بیماری التهابی روده و کاهش عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد [۲]. استفاده از لاکتیک اسید باکتری‌ها نه تنها باعث بهبود سلامتی مصرف کننده می‌شود، بلکه این میکروارگانیسم‌ها طی نگهداری محصول از طریق رقابت با میکروارگانیسم‌های بیماریزا بر سر مواد مغذی (ویتامین‌ها، املاح و پپتیدها)، تولید اسیدهای آلی و باکتریوسین‌ها (پپتیدهای ضد میکروبی) نقش محافظتی در مقابل پاتوژن‌ها ایفا می‌کنند. ذکر این نکته به جاست که هیچ نوع خواص پاتوژنیک یا تهاجمی در رابطه با لاکتوباسیلوس، بیفیدوباکتری‌ها و لاکتوکوکوس یافت نشده است [۱].

کپسوله کردن فرایندی است که به موجب آن ترکیبات فعال و دیگر مواد درونی، درون یک پوسته قرار می‌گیرند تا از این مواد محافظت شود و یا در یک زمان معین آزاد شوند. از هیدروکلوئیدها جهت ساخت پوسته کپسول استفاده می‌شود. اینگونه پوسته‌ها قابل خوردن و زیست تخریب پذیرند، همچنین قادرند بعنوان یک سد بین بخش دورنی و محیط اطراف عمل کنند [۳]. سیستم‌های کپسول سازی هیدروکلوئیدی مشهور شامل آلژینات- نشاسته، ترکیبات ژل پروتئین آب پنیر، آلژینات- پوشش داده شده با ژلاتین، و دیگر موارد می‌باشد [٤]. در خانواده هیدروکلوئیدها، اینولین بیشتر از سایرین مورد مطالعه قرار گرفته و در تمام کشورها به عنوان غذا و یا ترکیباتی از غذا به صورت نامحدود استفاده می‌شود [۵]. اینولین مشتق شده از کربوهیدرات که جایگزین چربی است یا فیبر رژیمی، دارای ظرفیت ژلی در آب می‌باشد و یک افزودنی غذایی عملکردی می‌باشد، بدلیل خصوصیات پری بیوتیک که در روده کوچک هضم نمی‌شود اما در کولون توسط لاکتیک اسید باکتریا مانند استارتر کالچرهای ماست تخمیر می‌شود. اینولین باعث ارتقا رشد باکتری‌های سالم شده و جذب کلسیم و منیزیم و عملکرد ایمنی را افزایش می‌دهد و سطح کلسترول و لیپید سرمی را کاهش می‌دهد [٦]. همچنین، مطالعات مختلف نشان داده کـه رژیم غذایی حاوی اینولین و فروکتوالیگوساکاریدها رشد بیفیدوباکترها و لاکتوباسیلوس‌ها را تحریک نموده، سبب افزایش تولید ویتامین B و K شده و به صورت انتخابی از رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن بـه ویژه فوزوباکترها و کلستریدیوم‌ها جلوگیری می‌کند [۷].

تا کنون درون پوشانی باکتری لاکتوباسیلوس رئوتری به کمک پوشش‌های ایزوله پروتئین سویا و ایزوله پروتئین آب پنیر گزارش نشده است. همچنین زنده مانی این باکتری تحت حضور پری بیوتیک اینولین نیز جای بررسی دارد. با توجه به حساس بودن باکتری‌های پروبیوتیک به شرایط نگهداری و همچنین شرایط خاص دستگاه گوارش حفاظت از باکتری‌ها در برابر این شرایط لازم به نظر می‌رسد. ترکیبات انکپسوله کننده با ایجاد یک لایه‌ی محافظتی از از بین رفتن پروبیوتیک‌ها جلوگیری می‌کنند، همچنین اینولین با ایجاد نقش پری بیوتیکی باعث افزایش تعداد و زنده مانی باکتری می‌شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

ایزوله پروتئین آب پنیر (Hilmar، آمریکا)، ایزوله پروتئین سویا (YUWANG، چین)، اینولین (Sensus، آمریکا) محیط کشت MRS (مرک، آلمان) در این پژوهش مورد استفاده قرار گرفت. سایر مواد شیمیایی و آنزیم‌ها از جمله کلرید سدیم، بایل اگزالات، لیتیم کلراید، هیدروکلریدریک اسید، پپسین و پانکراتین از شرکت مرک آلمان خریداری شد.

۲-۲- روش‌ها

۲-۲-۱- آماده سازی باکتری

ابتدا مایه تلقیح به صورت انتقال کلونی تک به یونیورسال حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط MRS براث و انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ٢٤ ساعت تهیه شد. در مرحله بعد اضافه کردن یونیورسال حاوی ۱۰ میلی لیتر محیط MRS براث و کلونی باکتری رشد کرده به ارلن ۲۵۰ میلی لیتری که حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محیط MRS براث بوده و

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، دور rpm ۵۰ به مدت ۲٤ ساعت، سپس این محیط حاوی باکتری را سانتریفیوژ کرده (۲ دقیقه، rpm ۵۰۰۰) و پلت باکتری را جدا شد. از این محیط براث حاوی باکتری ۱ میلی لیتر به صورت پورپلیت برای بدست آوردن کانت باکتری کشت داده شد. سپس این پلت در ۱ میلی لیتر محیط MRS براث پخش کرده و آن را به ۱۰۰ میلی لیتر محلول حاوی مواد انکپسوله اضافه شد. برای هر ۱۰۰ میلی لیتر از محلول حاوی مواد انکپسوله شده مراحل بالا انجام شد [۸]. در این تحقیق چهار تیمار ایزوله پروتئین سویا (۲۰درصد) و ایزوله پروتئین سویا (۲۰ درصد) + اینولین (٤ درصد) و ایزوله پروتئین آب پنیر (۲۰ درصد) و ایزوله پروتئین آب پنیر (۲۰ درصد) + اینولین (٤ درصد) تهیه شد.

۲-۲-۲- ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک به روش خشک کن پاششی

در این تحقیق محلول حاوی پودر پروبیوتیک در درجه حرارت ورودی ۱۰۰ درجه سانتی گراد، دمای خروجی ۳ ± ٦۰ درجه سانتی گراد، دبی خوراک ۰/۵ لیتر بر ساعت، دمای خوراک ورودی ۲۵ درجه سانتی گراد، دبی هوای ورودی ۵۰۰ متر مکعب بر ساعت و فشار هوای ورودی ۰/۸ بار استفاده شد. سرانجام پودر تولید شده در یک ظرف شیشه ای که به سیکلون متصل است، جمع آوری شد. نهایتا پودر تهیه شده درون پلیت درب بسته درون جعبه لیتیم کلرید در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد تا انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد [۹ و ۱۰].

۲-۲-۳- ارزیابی ویژگی‌های پودر

۲-۲-۳-۱- تعیین رطوبت

با استفاده از روش آون گذاری در دمای ۲ ± ۱۰۵ درجه سانتی گراد و مطابق روش AOAC [۱۱] انجام گرفت. یک ظرف آلومینیومی را ابتدا به مدت ۱ ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی گراد قرار داده و پس از سرد شدن آن را به دقت وزن کرده، سپس ۳ تا ۵ گرم از نمونه را در ظرف ریخته و جهت اندازه گیری رطوبت در آون ۱۰۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد و پس از ۳ ساعت ظرف حاوی نمونه را همراه درب آن وزن کرده و سپس دوباره در آون قرار داده و هر یک ساعت تا رسیدن به وزن ثابت توزین شد.

۲-۲-۳-۲- اندازه گیری میزان فعالیت آبی

برای اندازه گیری فعالیت آبی وزن مساوی از هر نمونه آسیاب شد، سپس در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد درون دستگاه سنجش فعالیت آبی مئل نوازینا ساخت سوئیس اندازه گیری شد [۱۲].

۲-۲-۳-۳- شرایط شبیه سازی شده معده و روده

مقاومت به شرایط شبیه سازی شده ی هضم در معده، به این ترتیب که مقدار ۰/۰۵ گرم از پودر پروبیوتیک، با محلول شبیه سازی شده‌ی معده ترکیب شد. محلول شبیه سازی معده، حاوی کلرید سدیم ۰/۹ درصد و پپسین ۰/۳ درصد بوده و با هیدروکلریدریک اسید ۰/۵ نرمال pH روی ۲ تنظیم شد. برای شمارش میکروبی نمونه‌ها به مدت ۳۰ و ۹۰ دقیقه در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد و دور همزن rpm ۱۰۰ قرار داده شده، به اندازه ی ۱ سی سی از نمونه‌ی مخلوط پروبیوتیک با محلول شبیه سازی شده معده برداشته و پس از رقیق کردن متوالی، برای ارزیابی زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رئوتری*، بر روی MRS آگار به روش کشت عمقی، کشت داده شدند [۱۳].

محیط شبیه سازی شده روده حاوی کلرید سدیم ۰/۹ درصد ، پانکراتین ۰/۲ درصد و بایل اگزالات ۰/٦ درصد بوده و pH با سود ۱ مولار به ٦ رسانده و نمونه مورد نظر به آن اضافه شد. سپس نمونه‌ها در در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد و دور همزن rpm ۱۰۰قرار داده شده و در زمان‌های ۳۰ و ۹۰ دقیقه مراحل کشت باکتری مطابق مراحل بالا انجام شد [۱۳].

۲-۲-۳-٤- زنده مانی طی دوره نگهداری

پودرهای تولیدی نگهداری شده در جعبه محلول لیتیم کلراید اشباع در شرایط رطوبت نسبی ۱۱ درصد نگهداری شد. از هر نمونه به مقدار ۰/۰۵ گرم برداشته و بعد از همگن کردن، رقت سازی تا رقت ۸ انجام گرفت و سپس از رقت‌های ٦، ۷ و ۸ هر نمونه ۱ سی سی برداشته و بصورت پورپلیت در محیط کشت MRS آگار، کشت داده شد و به مدت ٤۸ ساعت، در انکوباتور ۳۷ درجه گرمخانه گذاری گردید. بعد از ٤۸ ساعت کلنی‌های رشد کرده *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* روی پلیت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

شمارش شدند. کشت میکروبی و شمارش ابتدا هر هفته سپس یک هفته در میان انجام گرفت [۹].

۲-۲-٤- آنالیز آماری

کلیه آزمایش‌ها درقالب طرح کاملا تصادفی و در سه تکرار انجام گرفته و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ($p<۰/۰۵$) انجام گرفت. رسم منحنی‌ها با نرم افزارExcel انجام شد. میانگین و انحراف معیار هر عدد محاسبه شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های کمی با نرم افزار SAS V 9.1 انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رطوبت و فعالیت آبی

شکل ۱ میزان رطوبت نمونه‌های پودر تولیدی را نشان می‌دهد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های ریزپوشانی شده با ایزوله سویا رطوبت بالاتری نسبت به نمونه‌های ریز پوشانی شده با پروتئین آب پنیر داشتند همچنین اضافه شدن اینولین باعث کاهش محتوای رطوبت نمونه‌ها شده بود. در این بین نمونه ریزپوشانی شده با ایزوله پروتئین سویا بیشترین و نمونه ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و ٤ درصد اینولین کمترین میزان محتوای رطوبت را داشتند.

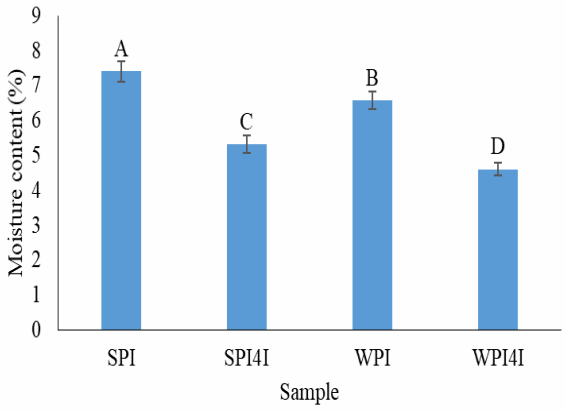

Fig 1 Moisture content of powder samples (SPI: soy protein isolate 20%, SPI4I: soy protein isolate 20% + inulin 4%, WPI: whey protein isolate 20%, WPI4I: whey protein isolate 20% + inulin 4%)

نتایج میزان فعالیت آبی نیز هم راستا با نتایج محتوای رطوبتی بود (شکل ۲). Chavez و Ledeboer [١٤] میزان فعالیت آبی پودر پروبیوتیک را در محدوده ۰/۲۱ تا ۰/٤۰ گزارش کردند. در روش‌های انکپسوله کننده دمای فرایند خشک کردن تاثیر زیادی روی فعالیت آبی پودر تولیدی دارد [۱۵]. فعالیت آبی اندازه گیری شده در محدوده‌ی گزارش شده برای اسپری درایرهای صنعتی یعنی محدوده‌ی حدود ۰/۲ می‌باشد [۱٦]. فعالیت آبی حدود ۰/۲ در محدوده فعالیت آبی گزارش شده برای زنده مانی بهتر میکروارگانیسم‌ها می‌باشد [۱۷]. Muhammad و همکاران [۱۲] از نشاسته سیب زمینی مقاوم و پتاسیم آلژینات و پکتین برای انکپسوله کردن *L. plantarum* به کمک اسپری درایر و گزارش کردند که نمونه نشاسته سیب زمینی مقاوم با ۰/۲۲ و نمونه پکتین با ۰/۱٦ بیشترین و کمترین فعالیت آبی را داشتند.

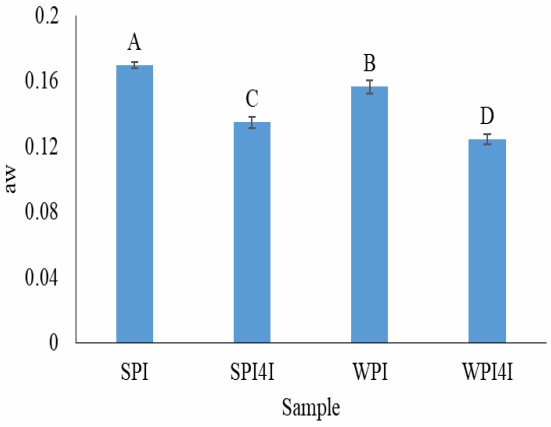

Fig 2 aw of powder samples (SPI: soy protein isolate 20%, SPI4I: soy protein isolate 20% + inulin 4%, WPI: whey protein isolate 20%, WPI4I: whey protein isolate 20% + inulin 4%)

۳-۲- ساختار میکروسکوپی

ساختار میکروسکوپی ذرات به صورت مستقیم اثر فراوانی روی ویژگی‌های توده خشک شده، خاصیت جریان پذیری و دانسیته پودرها می‌گذارد [۱۸]. شکل ۳ ساختار میکروسکوپی میکروکپسول‌های تشکیل شده با مواد انکپسوله کننده مختلف را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد نمونه‌های حاوی پروتئین آب پنیر از یکنواختی بیشتری برخودار هستند. مهاجرت وی پروتئین از میکروکپسول‌ها و ویژگی‌های پوسته محکم ایجاد شده بر اتصال بین ذرات در طول فرایند اثر می‌گذارد [۱٦]. در خشک کردن شکستگی و ترک روی سطح میکروکپسول‌ها دیده نشد. این موضوع به مقاومت به نیروهای مکانیکی و تشکیل ذرات کروی در روش‌های مختلف خشک کردن کمک می‌کند [۱۹]. علاوه بر این با انکپسولاسیون نفوذپذیری کاهش یافته و محافظت از ذرات افزایش پیدا می‌کند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

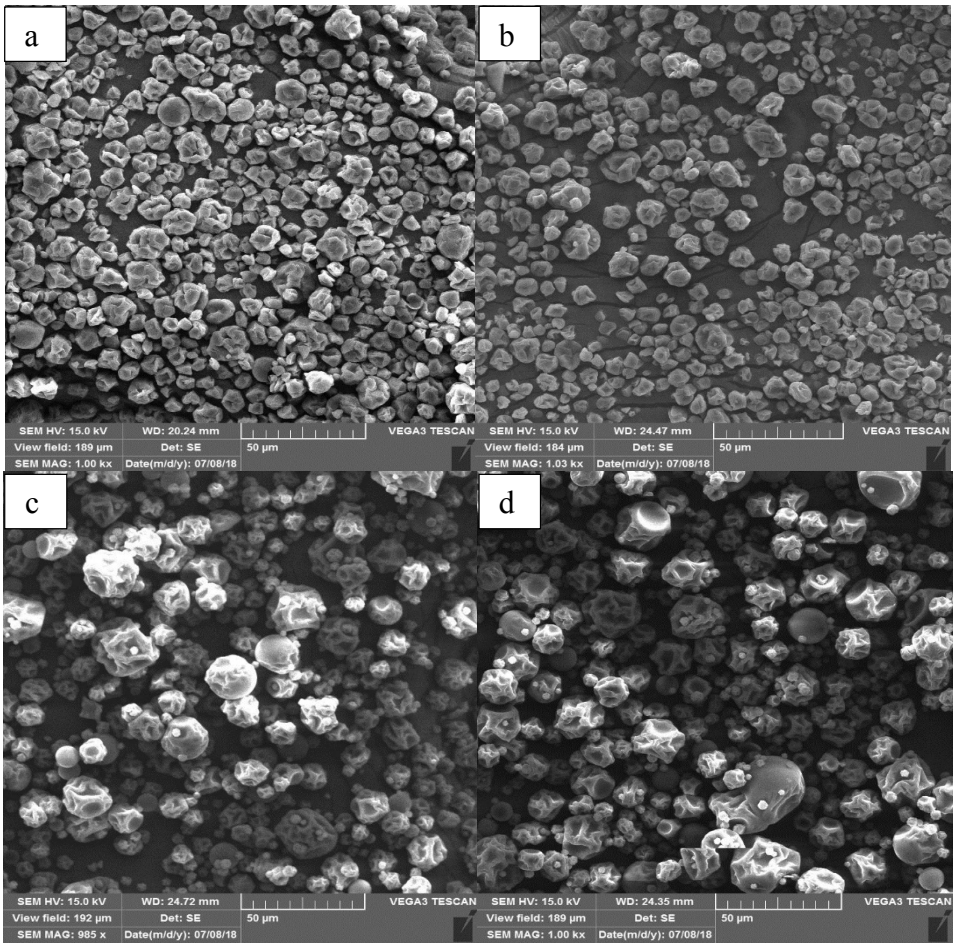

Fig 3 SEM micrograph of powder samples (a: soy protein isolate 20%, b: soy protein isolate 20% + inulin 4%, c: whey protein isolate 20%, d: whey protein isolate 20% + inulin 4%)

۳-۳- زنده مانی در دستگاه گوارش

شکل ٤ میزان زنده مانی در سیستم شبیه سازی شده معده را نشان می‌دهد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید با گذشت زمان تعداد باکتری در سیستم شبیه سازی شده معده کاهش می‌یابد و بیشترین کاهش در نمونه کنترل یعنی نمونه ریزپوشانی نشده اتفاق افتاده است. از بین نمونه‌های ریزپوشانی شده نمونه‌ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشترین زنده مانی را داشته است. که دلیل آن تشکیل یک پوسته محافظت کننده مناسب روی سطح باکتری به کمک پروتئین ایزوله‌ی آب پنیر می‌باشد [۱٦]. همچنین گزارش شده است که میکروکپسول‌های فروکتوالیگوساکارید و وی پروتئین دناتوره شده کاهش زنده مانی کمتری نسبت به میکروکپسول‌های فروکتوالیگوساکارید و وی پروتئین نشان دادند [۲۰]. خروج گروه‌های سولفیدریل و هیدروفوبیک به دلیل دناتوره شدن، سرعت جذب آب را کاهش داده و در نتیجه سرعت خروج سلول‌ها از میکروکپسول‌های فروکتوالیگوساکارید و وی پروتئین دناتوره شده کاهش می‌یابد [۲۱].

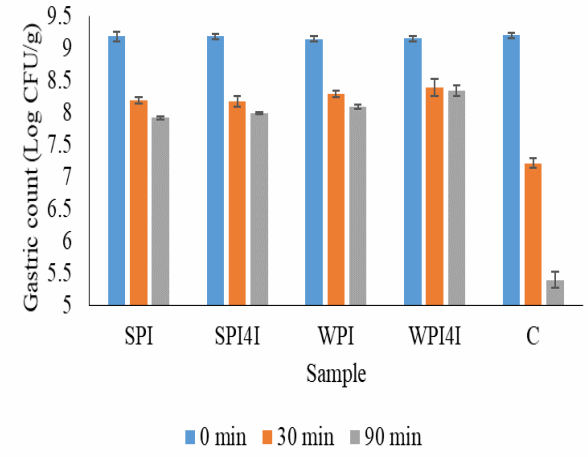

Fig 4 Viability of bacteria in gastric condition (SPI: soy protein isolate 20%, SPI4I: soy protein isolate 20% + inulin 4%, WPI: whey protein isolate 20%, WPI4I: whey protein isolate 20% + inulin 4%, C: free bacteria)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

Coghetto و همکاران [۲۲] از الکترو اسپرینگ برای انکپسوله کردن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در سدیم آلژینات و مخلوط سدیم آلژینات پکتین استفاده کردند. نمونه انکپسوله شده و انکپسوله نشده در برابر شرایط شبیه سازی شده معده قرار گرفتند. نتایج این تحقیق نشان داد که زنده مانی نمونه کنترل به میزان ٦ لگاریتم باکتری بر میلی لیتر بعد از ۱۲۰ دقیقه کاهش یافت درحالی که نمونه انکپسوله شده تنها ۲/۹ لگاریتم باکتری بر میلی لیتر بعد از ۱۲۰ دقیقه کاهش یافت.

شکل ۵ میزان زنده مانی در سیستم شبیه سازی شده روده را نشان می‌دهد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید با گذشت زمان تعداد باکتری در سیستم شبیه سازی شده روده کاهش می‌یابد و بیشترین کاهش در نمونه کنترل یعنی نمونه ریزپوشانی نشده اتفاق افتاده است. از بین نمونه‌های ریزپوشانی شده نمونه‌ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشترین زنده مانی را داشته است. Coghetto و همکاران [۲۲] به بررسی اثر الکترواسپینینگ بر زنده مانی باکتری انکپسوله شده با سدیم آلژینات و مخلوط سدیم آلژینات پکتین *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پرداختند. زنده مانی باکتری‌ها در شرایط شبیه سازی شده روده مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه کنترل به میزان ٤/۲ لگاریتم و نمونه انکپسوله شده ۲/۷ لگاریتم تعداد باکتری بر میلی لیتر کاهش پیدا کرده است.

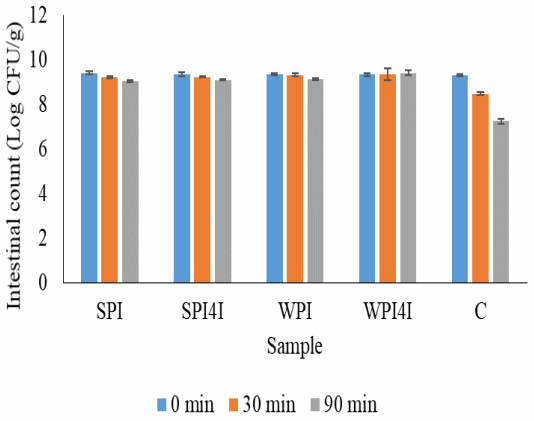

Fig 5 Viability of bacteria in intestinal condition (SPI: soy protein isolate 20%, SPI4I: soy protein isolate 20% + inulin 4%, WPI: whey protein isolate 20%, WPI4I: whey protein isolate 20% + inulin 4%, C: free bacteria)

۳-٤- زنده مانی طی دوره نگهداری

کاهش زنده مانی در طول دوره نگهداری عموما به دلیل اکسیداسیون چربی‌های غشای باکتری است و کاهش محتوای رطوبت و دمای نگهداری فاکتورهای مهمی روی زنده مانی باکتری هستند [۲۳]. شکل ٦ میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک طی دوره نگهداری را نشان می‌دهد.

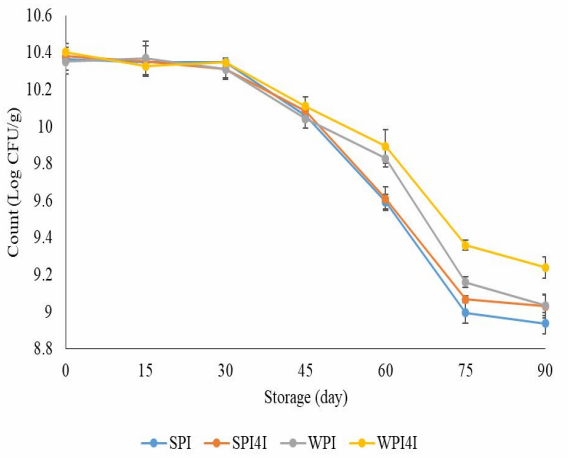

Fig 6 Viability of powder samples during storage (SPI: soy protein isolate 20%, SPI4I: soy protein isolate 20% + inulin 4%, WPI: whey protein isolate 20%, WPI4I: whey protein isolate 20% + inulin 4%)

همان گونه که از نتایج بر می‌آید با گذشت زمان تعداد باکتری کاهش می‌یابد و بیشترین کاهش در نمونه ریزپوشانی شده با ایزوله پروتین سویا اتفاق افتاده است. از بین نمونه‌ها نمونه‌ی ریزپوشانی شده با پروتئین آب پنیر و حاوی اینولین بیشترین زنده مانی را داشته است. Librán و همکاران [۲٤] از الکترو اسپری برای انکپسوله کردن باکتری‌های پروبیوتیک استفاده کردند. در این تحقیق از وی پروتئین، فیبروسول، زئین و پلی ونیل پروپیلن برای انکپسولاسیون استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که پس از ٦۰۰ روز نگهداری زنده مانی بالای لگاریتم ٤ بود و نمونه‌ی وی پروتئین بیشترین و نمونه مالتودکسترین کمترین زنده مانی را در بیفیدوباکتری‌ها داشتند. Hoobin و همکاران [۲۵] گزارش کردند که سیالیت سلول‌ها و میزان رطوبت ماتریکس اثر معنی داری بر پروبیوتیک‌ها در طول دوره نگهداری دارند. نتایج مشابهی نشان داده که اضافه کردن کربوهیدرات باعث افزایش زنده مانی سلول‌ها در طول دوره نگهداری شده و اضافه کردن کربوهیدرات به وی پروتئین یا نسبت‌های ۱ به ۱ و ۱ به ۱/۵ به دلیل کاهش نفوذ اکسیژن و تبخیر آب باعث افزایش زنده مانی شده است [۲۱]. López-Rubio و همکاران [۲٦] از الکترواسپری و فریز درایر برای انکپسوله کردن بیفیدوباکتری استفاده کردند. آنها گزارش کردند که زنده مانی نمونه‌های فریز درایر شده بعد از ۸۰ روز به صفر رسید اما نمونه الکترواسپری شده پس از ۱۰۰ روز کانت بالای

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

لگاریتم ۷ داشت. Coghetto و همکاران [۲۲] از الکترواسپری برای انکپسوله کردن باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به همراه سدیم آلژینات و مخلوط سدیم آلژینات پکتین استفاده کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که نگهداری در یخچال به مدت ۲۱ روز زنده مانی باکتری تا لگاریتم ۹ برای نمونه انکپسوله شده و تا لوگاریتم ۱ برای نمونه کنترل کاهش یافت.

٤- نتیجه گیری کلی

درون‌پوشانی فرایندی است که به موجب آن ترکیبات حساس، درون یک پوسته قرار می‌گیرند تا از این مواد محافظت شود و یا در یک زمان معین آزاد شوند. هدف از این پژوهش بررسی اثر ترکیبات انکپسوله کننده ایزوله پروتئین سویا، ایزوله پروتئین آب پنیر و اینولین بر زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رئوتری* در دستگاه گوارش و طی دوره نگهداری است. نتایج تحقیق نشان داد که پوشش ایزوله پروتئین آب پنیر حاوی اینولین بهترین فرمول برای ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس رئوتری* است و بیشترین زنده مانی در دستگاه شبیه سازی شده گوارش و طی دوره نگهداری در این نمونه دیده شد. همچنین بررسی نتایج ویژگی‌های فیزیکوشیمایی مانند عکس‌های میکروسکوپی، محتوای رطوبتی و فعالیت آبی نشان داد نمونه‌ها از پایداری بالایی برخوردار بوده و ذرات ساختار یکنواختی داشتند.

٥- منابع

[1] Sadiq, F. A., Yan, B., Tian, F., Zhao, J., Zhang, H., & Chen, W. 2019. Lactic Acid Bacteria as Antifungal and Anti□Mycotoxigenic Agents: A Comprehensive Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 18, 1403-1436.

[2] Rivera_Espinoza, Y., & Gallardo_Navarro, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. Food Microbiology, *27*, 1–11.

[3] Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. 2011. An overview of encapsulation technologies for food applications. Procedia in Food Science, 1, 1806–1815.

[4] Vidhyalakshmi, R., Bhakyaraj, R., & Subhasree, R. S. 2009. Encapsulation "The future of probiotics"-A review. Advances Biological Research, 3(3-4), 96–103.

[5] Ahmed, W., & Rashid, S. 2019. Functional and therapeutic potential of inulin: A comprehensive review. Critical reviews in food science and nutrition, 59, 1-13.

[6] Le Bastard, Q., Chapelet, G., Javaudin, F., Lepelletier, D., Batard, E., & Montassier, E. 2020. The effects of inulin on gut microbial composition: a systematic review of evidence from human studies. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 39, 403-413.

[7] Birmani, M., Nawab, A., Ghani, M., Li, G., Xiao, M., & An, L. 2019. A Review: role of inulin in animal nutrition. Journal of Food Technology Research, 6, 18-27.

[8] Gomez-Mascaraque, L. G., R. C., Murfin, R., Perez-Masia, G., Sanchez, A., Lopez-Rubio. 2016. Optimization of electrospraying conditions for the microencapsulation of probiotics and evaluation of their resistance during storage and in vitrodigestion. LWT, 23, 23-34.

[9] Sunny-Roberts, E. O., Knorr,, D. 2009. The protective effect of monosodium glutamate on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus rhamnosus* E-97800 (E800) strains during spray-drying and storage in trehalose-containing powders. International Dairy Journal. 19: 209–214.

[10] Ying, D., Sun, J., Sanguansri, L., Weerakkody, R., & Augustin, M.A. 2012. Enhanced survival of spraydried microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in the presence of glucose. J Food Eng. 109, 597-602.

[11] AOAC. 2012. Official methods of analysis (19th ed). Washington: Association of Official Analytical Chemists.

[12] Muhammad, Z., Ramzan, R., Huo, G.-C., Tian, H., & Bian, X. 2017. Integration of polysaccharide-thermoprotectant formulations for microencapsulation of *Lactobacillus plantarum*, appraisal of survivability and physico-biochemical properties during storage of spray dried powders. Food Hydrocolloids. 66, 286-295.

[13] Lima da Silva, P. D., de Fátima Bezerra, M., Olbrich dos Santos, K. M., Pinto Correia, R. T. 2015. Potentially probiotic ice cream from goat's milk: Characterization and cell viability during processing, storage and simulated gastrointestinal conditions. LWT. 62: 452-457.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

[14] Chávez, B., & Ledeboer, A. 2007. Drying of probiotics: optimization of formulation and process to enhance storage survival. Drying Technology, 25(7-8), 1193-1201.

[15] Costa, S. S., Machado, B. A. S., Martin, A. R., Bagnara, F., Ragadalli, S. A., & Alves, A. R. C. 2015. Drying by spray drying in the food industry: Micro-encapsulation, process parameters and main carriers used. African Journal of Food Science, 9(9), 462-470.

[16] Ha, H.-K., Rankin, S. A., Lee, M.-R., & Lee, W.-J. 2019. Development and characterization of whey protein-based nano-delivery systems: A review. Molecules, 24, 3254.

[17] Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V., & Charalampopoulos, D. 2012. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in pomegranate juice. Carbohydrate polymers. 90(3), 1281-1287.

[18] Rezvankhah, A., Emam-Djomeh, Z., & Askari, G. 2020. Encapsulation and delivery of bioactive compounds using spray and freeze-drying techniques: A review. Drying Technology, 38(1-2), 235-258.

[19] Jafari, S. M., Assadpoor, E., Bhandari, B., & He, Y. 2008. Nano-particle encapsulation of fish oil by spray drying. Food Research International. 41(2), 172-183.

[20] Crittenden, R., & Playne, M. J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. Trends in Food Science and Technology. 7(11), 353-361.

[21] Perez-gago, M., & Krochta, J. 2001. Denaturation time and temperature effects on solubility, tensile properties, and oxygen permeability of whey protein edible films. Journal of Food Science. 66(5), 705-710.

[22] Coghetto, C. C., Brinques, G. B., Siqueira, N. M., Pletsch, J., Soares, R. M. D., & Ayub, M. A. Z. 2016. Electrospraying microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* enhances cell viability under refrigeration storage and simulated gastric and intestinal fluids. Journal of Functional Foods, 24, 316-326.

[23] Santivarangkna, C., Kulozik, U., & Foerst, P. 2008. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes. Journal of Applied Microbiology. 105(1), 1-13.

[24] Librán, C., Castro, S., & Lagaron, J. 2017. Encapsulation by electrospray coating atomization of probiotic strains. Innovative in Food Science and Emerging Technology. 39, 216-222.

[25] Hoobin, P., Burgar, I., Zhu, S., Ying, D., Sanguansri, L., & Augustin, M. A. 2013. Water sorption properties, molecular mobility and probiotic survival in freeze dried protein-carbohydrate matrices. Food & Function, 4(9), 1376-1386.

[26] López-Rubio, A., Sanchez, E., Wilkanowicz, S., Sanz, Y., & Lagaron, J. M. 2012. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids. Food Hydrocolloids. 28, 159–167.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Encapsulation of *Lactobacillus reuteri* probiotic bacteria using soy protein isolate and whey protein isolate and inulin and Evaluation of its viability during storage and simulated gastrointestinal conditions

SoltaniLak, A. A.[1*] , Marhamati Zade, M. H. [2]

1.Master of Food Industry, Faculty of Agriculture, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.
2. PhD. of food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received 10 August 2020
Accepted 4 October 2020

Keywords:

Hyssopus officinalis,
Antimicrobial effect,
Inhibition zone,
Antibiotic.

DOI: 10.29252/fsct.18.01.07

*Corresponding Author E-Mail:
a.soltanilak1368@gmail.com

ABSTRACT

Because of the sensitivity of probiotic bacteria to storage conditions as well as to the specific digestive system, protection of the bacteria against these conditions seems necessary. The aim of this study was to investigate the effect of encapsulation by soy protein isolate, whey protein isolate and inulin on the viability of *Lactobacillus reuteri* in gastrointestinal condition and during storage. As can be seen from the results, the soy protein isolate-coated samples had higher moisture content than the whey protein-coated samples, and the addition of inulin reduced the moisture content of the samples. The results of water activity were also similar with the results of moisture content. The microscopic structure results show that the samples containing whey protein are more uniform. Survival results in the simulated gastric system indicate that the number of bacteria in the simulated gastric system decreases over time and the largest decrease occurred in the control sample. Between the microencapsulated samples, whey protein-encapsulated had the highest viability (86.3 %). Also, survival results in the simulated intestinal system show that the number of bacteria in the simulated intestinal system decreases during storage and the largest decrease occurred in the control sample, (un-coated sample). Among the encapsulated samples, the sample containing whey protein and inulin had the highest viability (88.75 %). As can be seen from the viability of the probiotic bacteria during the shelf life, the bacterial count decreased over time and the highest decrease occurred in the soybean protein isolate sample. Among the samples, the whey protein-coated sample with inulin had the highest viability.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-12]