



## افزایش عمر نگهداری جوانه گندم پروبیوتیک حاوی باسیلوس بادبوس به کمک صمغ زانتان به روش

### انکپسولاسیون از نوع خشک کن انجمادی

عسل کدخدایی<sup>۱</sup>، محمد گلی<sup>۱،۲\*</sup>، محدثه رضانی<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوریهای زیستی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳- بانک میکروارگانیسم ها، مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، جهاد دانشگاهی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	<p>جوانه گندم محصول جانبی آسیاب گندم با مواد مغذی بالا است، اما به دلیل فعالیت شدید لیپاز و لیپوکسیژناز، ماندگاری کوتاهی داشته و مصرف بهینه بسیار محدودی دارد. از این رو، در پژوهش حاضر، جهت افزایش عمر نگهداری جوانه گندم پروبیوتیک حاوی باسیلوس بادبوس از روش انکپسولاسیون از نوع خشک کن انجمادی استفاده شد و تاثیر استفاده از صمغ زانتان : مالتودگسترین در نسبت های مختلف ۰/۳ : ۱ ، ۰/۱ : ۱ و ۰/۳ : ۱ به عنوان دیواره کپسول ها بر خواص آنتی اکسیدانی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی جوانه گندم پروبیوتیک طی ۳۶۰ روز نگهداری بررسی شد. سه تیمار شاهد، حاوی همان نسبت های صمغ های استفاده شده برای تیمارها، بدون باکتری پروبیوتیک نیز تهیه گردید. جهت مقایسات بهتر و اثر تیمارهای اعمال شده، یک نمونه جوانه گندم خالص نیز در روز اول، صدو هشتاد و سیصدو شصتم همراه با نمونه های کپسوله شده مورد بررسی و آزمون قرار گرفت. آزمون ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد و تیمارها با استفاده از نرم افزار اس پی اس و مقایسه میانگین ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۹ درصد ارزیابی شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد صمغ زانتان و مالتودگسترین بعنوان مواد دیواره، سبب بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی در جوانه گندم کپسوله شده گردید. استفاده از باکتری باسیلوس بادبوس به عنوان پروبیوتیک، باعث کاهش معنی دار شاخص های اکسایشی در جوانه گندم شد (<math>P &lt; 0.01</math>). باکتری باسیلوس بادبوس بعنوان پروبیوتیکی قوی می تواند بر افزایش زمان نگهداری جوانه گندم کپسول شده تاثیر گذار باشد. هم چنین صمغ زانتان به عنوان ماده مناسب جهت انکپسولاسیون جوانه گندم جهت افزایش ماندگاری پیشنهاد می شود.</p>
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۶/۲۶	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۱۶	
کلمات کلیدی:	
خواص آنتی اکسیدانی، خشک کن انجمادی، باسیلوس بادبوس، جوانه گندم پروبیوتیک، افزایش ماندگاری.	
DOI: 10.22034/FSCT.20.134.119 DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.134.10.4	
*مسئول مکاتبات: mgolifood@yahoo.com	

## ۱- مقدمه

یکی از موارد محدودیت استفاده از جوانه گندم ماندگاری بسیار کوتاه آن (چند روز تا چند هفته) می‌باشد [۱]. جوانه گندم حاوی مقادیر بالای چربی اشباع و آنزیم‌های هیدرولیتیک و اکسیداتیو لپاز است، که نیاز به روشی جهت غیرفعال کردن آنزیم‌های آن، مانند لپازها برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپید دارد [۲]. برخلاف ارزش تغذیه‌ای بالای جوانه گندم، استفاده محدودی برای مصارف انسانی دارد و بیشترین استفاده آن به منظور تامین خوراک حیوانات است. به این دلیل، تلاش‌های زیادی در جهت افزایش ماندگاری آن، به منظور فراهم آوردن محصولات قابل پذیرش برای مصارف انسانی صورت گرفته است [۳]. برخی از آن‌ها شامل غیرفعال کردن آنزیم‌ها تحت تیمارهای پخت حرارتی، مایکروویو و اکستروژن، بسته بندی در بسته‌های کامپوزیتی سه لایه با پوشش پلی اتیلن، استفاده از بیوتکنولوژی خمیر ترش، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و جداسازی بخش روغن از جوانه گندم می‌باشد. با وجود تأثیرات اثبات شده روش‌های قبلی برای تثبیت جوانه گندم، این تیمارها در بعضی موارد خیلی گران هستند، کاملاً حل کننده نیستند، باعث کاهش ارزش تغذیه‌ای جوانه گندم می‌شوند و استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها نیز به دلیل ایجاد خطر برای سلامتی مصرف کننده با بدگمانی و تردید همراه است [۴]. کپسولاسیون رویکرد موثری است که می‌تواند پایداری شیمیایی/ بیولوژیکی ترکیبات حساس را افزایش دهد و همچنین از آن‌ها در برابر واکنش‌های اجتناب ناپذیر در سیستم‌های غذایی محافظت کند [۵-۷].

گونه *باسیلوس بادپوس* یکی از قدیمی‌ترین اعضای جنس *باسیلوس* که برای اولین بار در سال ۱۹۱۹ جداسازی شد. دمای مطلوب برای این باکتری حدود ۳۷ درجه سانتی‌گراد بوده و رشد ضعیفی در ۲۸ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد دارد. گونه‌های *باسیلوس*، باکتری‌هایی گرم مثبت هستند که میله‌ای شکل بوده و اسپوزا می‌باشند. اغلب آرایش زنجیره‌ای داشته و هوازی یا بی هوازی اختیاری می‌باشند. این جنس، پراکندگی زیادی در طبیعت دارد و در خاک، آب، سطح گیاهان و در بدن حیوانات یافت می‌شود [۸]. گونه‌های *باسیلوس*، به دلیل طیف گسترده‌ای از ویژگی‌های فیزیولوژیکی و توانایی تولید آنزیم‌ها، آنتی‌بیوتیک‌ها و متابولیت‌ها در بسیاری از فرآیندهای پزشکی، دارویی، کشاورزی و صنعتی استفاده می‌شوند. گونه‌های مختلف مواد مغذی مانند ویتامین‌ها (به عنوان مثال، ریوفلاوین، کوبالامین و اینوزیتول) و کاروتنوئیدها را تولید

می‌کنند و برای سنتز چندین مکمل بهداشتی، برای مصرف انسان استفاده می‌شوند [۹ و ۱۰]. علاوه بر این، هاگ‌های *باسیلوس* دارای سابقه طولانی مصرف و استفاده ایمن به عنوان پروبیوتیک‌ها هستند [۱۱].

بر این اساس، هدف از انجام این تحقیق افزایش ماندگاری جوانه گندم پروبیوتیک با توجه به تاثیر خواص آنتی‌اکسیدانی پروبیوتیک‌ها و با استفاده از تکنیک انکپسولاسیون به روش خشک کن انجمادی توسط صمغ زانتان-مالتودگسترین بود.

## ۲- مواد و روشها

### ۲-۱- مواد

مواد اولیه مصرفی، در تولید کپسول‌های پروبیوتیک جوانه گندم شامل جوانه گندم (شرکت کلیل جوانه، ایران)، صمغ زانتان و مالتودگسترین (شرکت سیگما، آمریکا)، باکتری پروبیوتیک *بادپوس* (مرکز ذخایر ژنتیکی، ایران) و محیط کشت *YPG agar* و *TSA* (مرک، آلمان) و همچنین تمامی مواد شیمیایی جهت انجام آنالیزهای شیمیایی تستهای اکسایش (مرک، آلمان) تهیه گردید.

### ۲-۲- روش اجرای طرح

در این پژوهش، ریزپوشانی جوانه گندم پروبیوتیک شده با استفاده از باکتری *باسیلوس بادپوس* به روش خشک‌کن انجمادی انجام شد. از نسبت‌های مختلف صمغ زانتان و مالتودگسترین بر اساس جدول ۱، به عنوان دیواره کپسول‌ها برای ریزپوشانی استفاده گردید. سه تیمار شاهد، حاوی همان نسبت‌های صمغ‌های استفاده شده برای تیمارها، بدون باکتری پروبیوتیک نیز تهیه شد. جهت مقایسات بهتر و اثر تیمارهای اعمال شده، یک نمونه جوانه گندم خالص نیز همراه با نمونه‌های کپسوله شده مورد بررسی و آزمون قرار گرفت. آزمون‌های پراکسید، آنیزیدین، توتوکس، اسیدیت، تیوباریتوریک اسید و شمارش کلی باکتری پروبیوتیک به صورت دوره‌ای در روز ۰، ۱۸۰ و ۳۶۰م بر روی نمونه‌ها انجام شد.

**Table 1** Mixing ratio of the Gums used for the walls of the capsules

Treatments	Xanthan	Maltodextrin
1 : 0.3	0.3	1
1 : 0.1	0.1	1
1 : 0.03	0.03	1

## ۲-۳- ریزپوشانی جوانه گندم پروبیوتیک حاوی

### باسیلوس بادبوس

مقدار ۵۰۰ گرم از هر تیمار برای هر بازه زمانی روز ۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ از دوره نگهداری تیمار تهیه شد. ابتدا برای هر تیمار، ۱۲۵ گرم جوانه گندم با ۱۱۵ گرم آب مخلوط شد و سپس ۳۵ گرم باکتری *باسیلوس بادبوس* ( $1.4 \times 10^8$  cfu/gr) در کنار شعله به آن افزوده شد. سپس در بخش دیگر، با استفاده از دستگاه همزن، ۳۰۰ گرم آب مقطر با ۱۲۵ گرم صمغ زانتان: مالتودگسترین براساس نسبت‌های ذکر شده در جدول ۱ به طور کامل مخلوط شد و ظرف حاوی جوانه گندم، *باسیلوس بادبوس* و آب مقطر به این مخلوط اضافه شده و درون ۶ عدد پلیت تقسیم گردید. برای رسیدن به دمای مناسب جهت وارد کردن نمونه‌ها به خشک‌کن انجمادی، امولسیون تهیه شده به مدت ۲۴ ساعت در فریزر با دمای ۴۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به خشک‌کن انجمادی انتقال داده شد. جهت تهیه نمونه شاهد، تمامی مراحل ذکر شده به جز افزودن باکتری انجام شد.

### ۲-۴- استخراج روغن

قبل از انجام آزمون‌های اکسیداسیون، در ابتدا نمونه‌های تولید شده با استفاده از آسیاب برقی پودر و همگن شدند. سپس ۴۵۰ گرم نمونه پودر شده، درون بشر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر توزین شده و تقریباً دو برابر وزن نمونه به میزان ۸۵۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر به عنوان حلال به آن اضافه گردید. درب بشرها با استفاده از فویل آلومینیومی پوشانده شد و ۴۸ ساعت زمان داده شد تا روغن از نمونه خارج شود. پس از زمان داده شده، از کاغذ صافی عبور داده و پترولیوم اتر مخلوط صاف شده با استفاده از دستگاه روتاری با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و دور ۷۶ جدا شد و روغن باقی مانده جهت انجام آزمون‌ها بدست آمد.

## ۲-۵- آزمایشات انجام شده روی روغن

### استخراجی

جهت استخراج روغن، نمونه‌های تولید شده با استفاده از آسیاب برقی پودر شدند. هر نمونه به مقدار معین درون بشر توزین و ۶۰۰ میلی‌لیتر پترولیوم اتر به آن اضافه گردید. درب بشرها با فویل آلومینیومی پوشانده شد. پس از ۲۴ ساعت، روغن خارج شده از نمونه از صافی عبور داده شد و پترولیوم

اتر مخلوط صاف شده با استفاده از دستگاه روتاری از روغن جدا شد و روغن جهت انجام آزمون‌ها بدست آمد.

### ۲-۵-۱- آزمون پراکسید

عدد پراکسید به روش یدومتری بدست آمد. برای این کار ۲ گرم روغن استخراجی به همراه ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک - کلروفرم (۱:۱) و ۰/۵ میلی‌لیتر پتاسیم یدید اشباع درون ارلن ریخته شد و به مدت ۲ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر چسب نشاسته اضافه گردید. مخلوط حاصل با استفاده از تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تا از بی رنگ دن تیترا شد و حجم مصرفی تیوسولفات ثبت شد. برای نمونه شاهد تمامی مراحل بدون روغن اولیه انجام شد [۱۲]. در این رابطه S، میزان تیوسولفات سدیم مصرفی برای تیتراسیون نمونه روغن، B، میزان تیوسولفات سدیم مصرفی برای تیتراسیون شاهد، N، نرمالیتیه سولفات سدیم و W مقدار وزن روغن بر حسب گرم می‌باشد.

$$\text{عدد پراکسید} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{W}$$

### ۲-۵-۲- عدد آنیزیدین

۳ گرم روغن استخراج شده را درون بالنی توزین و توسط هگزان به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و میزان جذب آن در طول موج ۳۵۰ نانومتر خوانده شد ( $A_b$ ). ۵ میلی‌لیتر از محلول  $A_b$  را برداشته و ۱ میلی‌لیتر معرف آنیزیدین (۰/۲۵) گرم پاراآنیزیدین که با اسید استیک به حجم ۱۰۰ رسانده شده است) به آن اضافه گردید. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب آن در ۳۵۰ نانومتر خوانده شد ( $A_s$ ) [۱۳].  $A_s$  میزان جذب چربی بعد از واکنش با آنیزیدین،  $A_b$  جذب محلول چربی، W وزن نمونه، V حجمی که نمونه در آن حل شد بر حسب میلی‌لیتر و ۱/۲ ضریب تصحیح برای رقیق‌سازی محلول نمونه با یک میلی‌لیتر واکنشگر آنیزیدین می‌باشد.

$$\text{آنیزیدین} = \frac{V \times (12 \times A_s - A_b)}{W}$$

### ۲-۵-۳- عدد توتوکس

محاسبه عدد توتوکس از مجموع دو برابر عدد پراکسید به اضافه عدد آنیزیدین حاصل شد [۱۲].

### ۲-۵-۴- عدد اسیدیتیه

۱ گرم روغن نمونه به همراه ۳۰ میلی‌لیتر اتانول و ۱ میلی‌لیتر فنل فتالین ۰/۰۱ درون ارلنی ریخته شد و تیتراسیون با استفاده از سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ ارغوانی انجام شد [۱۴].

**پلی لیتر سود 0.1 نرمال مصرفی 2.82 × = اسیدیته وزن نمونه**

**۲-۵-۵- عدد تیوباریتوریک اسید**

۰/۲ گرم از روغن استخراج شده را داخل بالن ۲۵ میلی لیتری ریخته و با بوتانول به حجم رسانده شد. ۵ میلی لیتر از آن را برداشته و به لوله آزمایشگاهی خشک انتقال داده شد. سپس ۵ میلی لیتر محلول تیوباریتوریک اسید به آن اضافه گردید و لوله آزمایشگاهی در حمام آبی ۹۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از ۲ ساعت، لوله از حمام خارج و سرد شد. در آخر، میزان جذب آن در ۵۳۰ نانومتر خوانده شد. تمامی مراحل برای نمونه شاهد نیز انجام شد [۱۵].

**50 × (جذب نمونه شاهد - جذب نمونه) = تیوباریتوریک اسید وزن نمونه**

**۲-۶- شمارش کلی**

**۲-۶-۱- آماده سازی محیط های کشت**

جهت جداسازی و شمارش باکتری‌ها و مخمر و قارچ از نمونه‌ها، لازم بود که محیط‌های جامد جداسازی در مرحله اول تهیه و آماده‌سازی شوند. برای این منظور از محیط‌های کشت YPG agar و TSA استفاده شد که محیط کشت اول جهت جداسازی قارچ و مخمر و محیط کشت دوم جهت جداسازی باکتری پروبیوتیک در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفت. بعد از تهیه، محیط‌ها در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه و در فشار دو اتمسفر اتوکلاو شده و در پلیت‌های ده سانتی‌متری توزیع شدند [۱۶].

**۲-۶-۲- آماده سازی نمونه زیستی تحویلی**

مقدار ۱ گرم از هر یک از نمونه‌ها به لوله درپوش دار حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی افزوده شد. این لوله که حاوی نمونه اولیه بود، به مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا باکتری‌ها از سطوح نمونه وارد سرم شوند. طی این مدت چندین بار ورتکس انجام شد. سپس ۱ میلی لیتر از لوله حاوی نمونه اصلی به لوله دیگری که حاوی ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی بود، انتقال یافته و ورتکس انجام شد. این روند تا تهیه رقت  $10^{-5}$  انجام گردید. در مرحله بعد، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت‌های  $10^{-1}$  و  $10^{-2}$  جهت ارزیابی و شمارش قارچ‌ها و مخمرها روی پلیت‌های محیط کشت YPG agar به صورت پورپلیت پخش شده و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته گرماگذاری صورت گرفت. همچنین ۱۰۰ میکرولیتر

از رقت‌های  $10^{-4}$  و  $10^{-5}$  جهت ارزیابی و شمارش باکتری پروبیوتیک روی پلیت‌های محیط کشت TSA به صورت پورپلیت پخش شده و در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد به مدت یک هفته گرماگذاری شد. از هریک از نمونه‌های فوق سه تکرار سه تایی، طی سه هفته متوالی تهیه شده و جهت تایید نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت شمارش میکروارگانسیم در هر پلیت از رابطه زیر استفاده شد:

= شمارش (CFU/ml)

$10 \times$  عکس رقت  $\times$  تعداد میکروارگانسیم خوانده شده روی پلیت

**۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری**

داده‌های بدست آمده از این پژوهش، در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. آنالیز آماری نمونه‌ها توسط اس پی اس اس انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند و نمودارها با استفاده از نرم افزار اکسل رسم شد.

### ۳- نتایج

**۳-۱- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر تغییرات عدد**

**اسیدیته کل و مقایسه با نمونه شاهد**

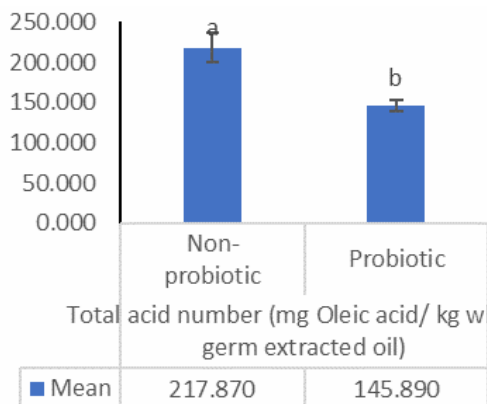
طبق آنالیز واریانس جدول ۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد اسیدیته کل (میلی گرم/کیلوگرم) معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۱ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان بر تغییرات اسیدیته را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر اسیدیته بعد از افزودن صمغ زانتان در مقادیر ۰/۳، ۱/۰ و ۳/۰ درصد در مقایسه با نمونه شاهد بصورت معنی‌داری کاهش یافته است. شکل ۲ اثر مستقل استفاده از باکتری پروبیوتیک بر تغییرات اسیدیته را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر اسیدیته بعد از افزودن باکتری پروبیوتیک بصورت معنی‌داری کاهش یافته است. شکل ۳ اثر مستقل زمان نگهداری ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با روز صفر بر تغییرات مقادیر اسیدیته را نشان می‌دهد. با توجه به داده‌ها مقادیر این شاخص در روزهای ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با

معنی داری کاهش یافته است. همچنین مقادیر اسیدیته در تیمار ۰۳/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۱۸۰ روز در مقایسه با تیمارهای با شرایط مشابه و در زمان های ۰ و ۳۶۰ روز بصورت معنی داری بالاتر می باشد. اگرچه تفاوت معنی داری میان دوتیمار حاوی ۰۳/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ روز مشاهده نمی شود. مقادیر اسیدیته کل در تیمار ۱/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمار ۱/۰ درصد زانتان، با پروبیوتیک و زمان ۱۸۰ روز بصورت معنی داری کاهش یافته است. مقادیر اسیدیته کل در تیمار ۳/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۱۸۰ روز در مقایسه با تیمارهای ۳/۰ درصد زانتان با و بدون پروبیوتیک و زمان ۳۶۰ روز بصورت معنی داری افزایش یافته است.

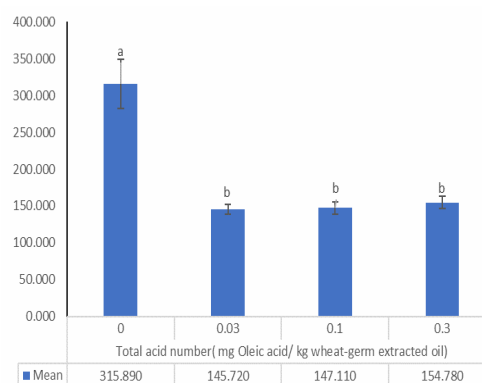
روز صفر بصورت معنی داری کاهش یافته است. شکل ۴ اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد اسیدیته کل (میلی گرم/کیلوگرم) را نشان می دهد. با توجه به شکل بالاترین و پایین ترین مقادیر عدد اسیدیته در تیمارهای درصد صفر صمغ زانتان، بدون پروبیوتیک و در روز ۳۶۰ و درصد ۱/۰ درصد صمغ زانتان، بدون پروبیوتیک و در روز ۳۶۰، مشاهده شد. مقادیر اسیدیته در تیمارهای درصد صفر زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمار کنترل (صفر درصد زانتان، بدون پروبیوتیک، روز صفر) بصورت معنی داری افزایش یافته است. همچنین مقادیر اسیدیته در تیمارهای حاوی صمغ زانتان، با یا بدون باکتری پروبیوتیک و در زمان های ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمارهای بدون صمغ زانتان و پروبیوتیک در هر دو زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز بصورت

**Table 2** Analysis of variance of changes in total acidity number (mg of linoleic acid/kg of oil extracted from wheat germ), peroxide value (meq of oxygen/kg of oil extracted from wheat germ), anisidine value, thiobarbituric acid value (mg of malondialdehyde/kg of oil extracted from wheat germ), and totox value (meq of oxygen/kg of oil extracted from wheat germ)

Source	Mean Square				
	Total acidity number	Peroxide value	Anisidine value	TBA value	Totox value
Corrected Model	38418***	4.27***	4.25***	19.73***	35.08***
Intercept	2241884***	188.1***	132.16***	19823.46***	1517.21***
Treatment	96369***	12.33***	11.55***	25.82***	108***
Probiotic	593 <sup>ns</sup>	0.33*	0.000 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	1.40 <sup>ns</sup>
Time	57319***	0.44**	7.51***	106.11***	4.94***
Treatment * Probiotic	381 <sup>ns</sup>	0.05 <sup>ns</sup>	0.003***	0.13 <sup>ns</sup>	0.51 <sup>ns</sup>
Treatment * Time	33063***	5.13***	2.85 <sup>ns</sup>	7.63***	35.06***
Probiotic * Time	383 <sup>ns</sup>	0.47**	0.003***	0.40**	0.94*
Treatment * Probiotic * Time	38418 <sup>ns</sup>	0.06 <sup>ns</sup>	0.011 <sup>ns</sup>	0.03 <sup>ns</sup>	0.31 <sup>ns</sup>
Error	212	0.07	0.007 <sup>ns</sup>	0.06	0.22
R Squared	0.986	0.963	0.996	0.992	0.984
Adjusted R Squared	0.981	0.948	0.994	0.989	0.978



**Fig 2** The effect of probiotics on total acidity number of probiotic wheat germ oil



**Fig 1** Effect of xanthan gum treatment on total acidity number of probiotic wheat germ oil

است. شکل ۷ اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد پراکسید (میلی اکی والان/کیلوگرم) را نشان می‌دهد. با توجه به شکل بالاترین و پایین‌ترین مقادیر پراکسید به ترتیب مربوط به تیمار درصد صفر صمغ زانتان، بدون پروبیوتیک، زمان ۳۶۰ روز و تیمار ۰۳/۰ درصد زانتان، با یا بدون پروبیوتیک، زمان ۳۶۰ روز مشاهده شد. مقادیر عدد پراکسید در تیمارهای صفر درصد زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمار کنترل (صفر درصد زانتان، بدون پروبیوتیک، روز صفر) بصورت معنی‌داری افزایش یافته است. عدد پراکسید در تیمارهای ۰۳/۰ درصد زانتان، حاوی پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمار ۰۳/۰ درصد زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ روز و تیمار شاهد، بصورت معنی‌داری کاهش یافته است.

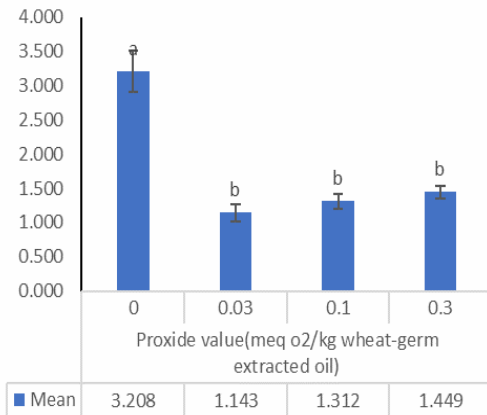


Fig 5 The effect of xanthan gum treatment on the peroxide values of probiotic wheat germ oil

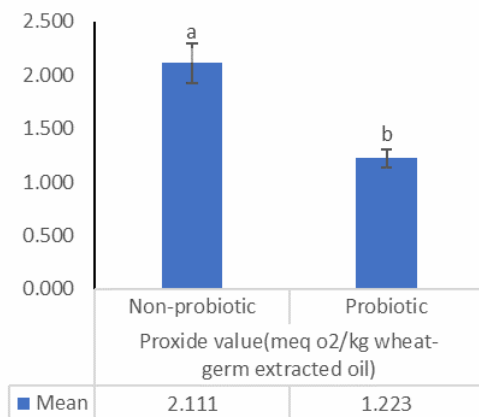


Fig 6 Effect of probiotic bacteria on peroxide values of probiotic wheat germ oil

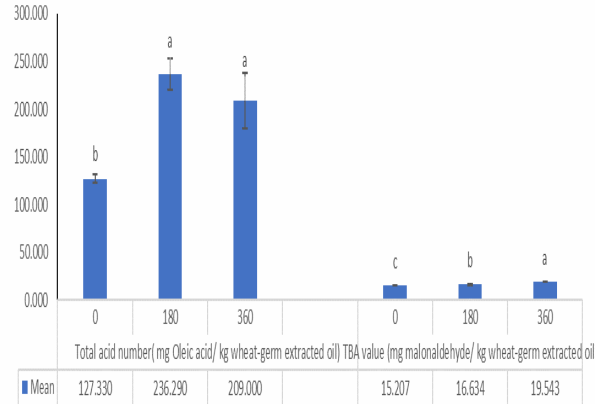


Fig 3 Effect of storage time on total acidity number and thiobarbituric acid value of probiotic wheat germ oil

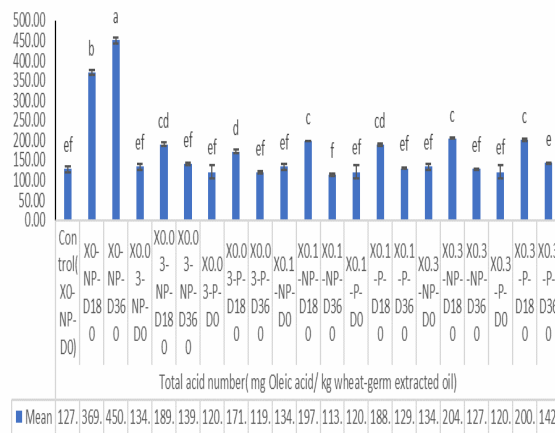


Fig 4 The interaction effect of treatment-probiotic-time on changes in total acidity number of probiotic wheat germ oil. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)

### ۲-۳- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری

#### پروبیوتیک و زمان نگهداری بر تغییرات عدد

#### پراکسید و مقایسه با نمونه شاهد

طبق آنالیز واریانس جدول ۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، پروبیوتیک و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد پراکسید (میلی اکی والان/کیلوگرم) معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۵ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان بر تغییرات پراکسید را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر پراکسید بعد از افزودن صمغ زانتان در مقادیر ۰۳/۰، ۱/۰ و ۳/۰ درصد در مقایسه با نمونه شاهد بصورت معنی‌داری کاهش یافته است. شکل ۶ اثر مستقل استفاده از باکتری پروبیوتیک بر تغییرات پراکسید را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر پراکسید بعد از افزودن باکتری پروبیوتیک بصورت معنی‌داری کاهش یافته



معنی داری افزایش یافت. شکل ۱۱ اثر متقابل تیمار- پروبیوتیک-زمان، بر عدد آنزیدین را نشان می‌دهد. با توجه به ارزیابی اطلاعات ارائه شده، تیمارهای صفر زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۳۶۰ روز و تیمار ۳/۰ زانتان، بدون پروبیوتیک و در زمان ۱۸۰ روز به ترتیب دارای بالاترین و پایین ترین مقادیر آنزیدین می‌باشند. مقادیر عدد آنزیدین در تیمارهای بدون زانتان و پروبیوتیک در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز بصورت معنی داری در مقایسه با تیمار کنترل افزایش یافته است. مقادیر عدد آنزیدین در تیمارهای حاوی ۰۳/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری بصورت معنی داری افزایش میابد. مقادیر عدد آنزیدین در تیمارهای حاوی ۱/۰ و ۳/۰ درصد زانتان، با و بدون پروبیوتیک در زمان های ۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ روز از نظر مقادیر عدد آنزیدین تغییر معنی داری را با یکدیگر نشان نمی‌دهند.

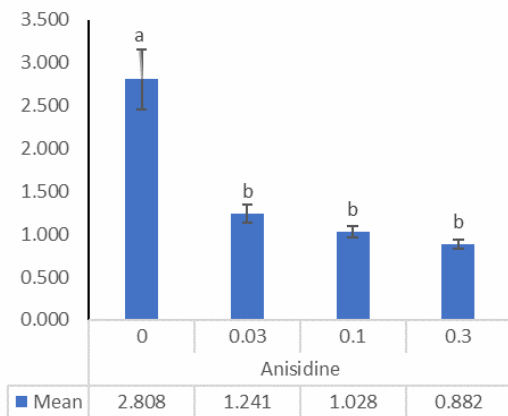


Fig 8 The effect of xanthan gum treatment on the anisidine value of probiotic wheat germ oil

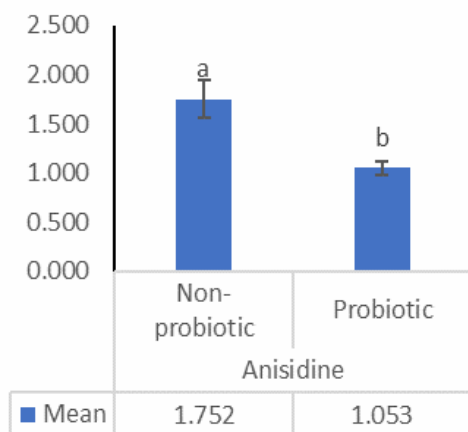


Fig 9 The effect of probiotic bacteria on the anisidine value of probiotic wheat germ oil

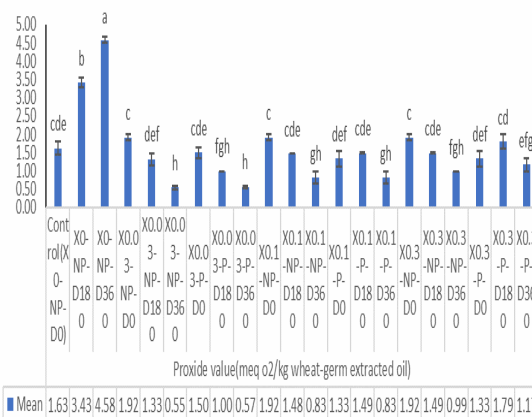


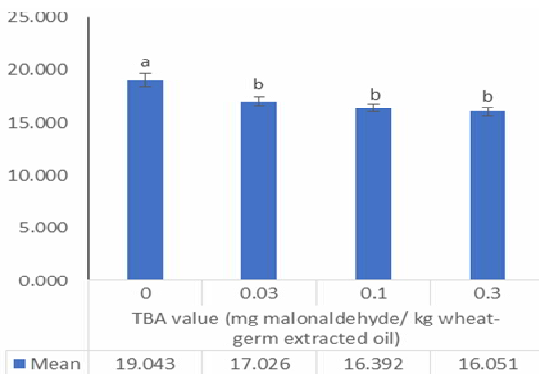
Fig 7 Treatment-probiotic-time interaction effect on the peroxide values of probiotic wheat germ oil. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)

مقادیر شاخص فوق در تیمار ۱/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمارهای مشابه در زمان صفر و ۱۸۰ روز، بصورت معنی داری کاهش یافته است. همچنین میان تیمارهای ۱/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۳۶۰ روز از نظر عدد پراکسید تغییرات معنی داری مشاهده نمی‌شود. عدد پراکسید در تیمار ۳/۰ زانتان، بدون پروبیوتیک و زمان ۳۶۰ روز در مقایسه با تیمارهای ۳/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک و زمان ۰ و ۱۸۰ روز بصورت معنی داری کاهش یافته است.

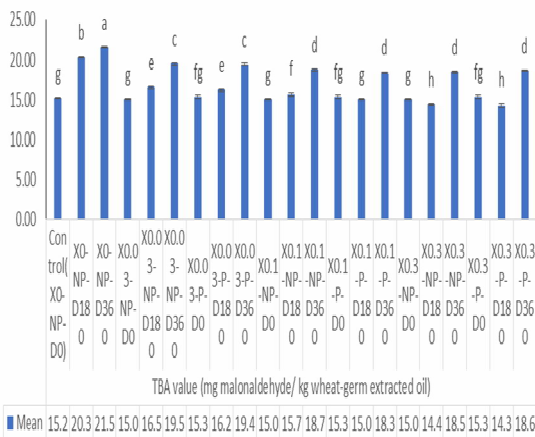
### ۳-۳- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر عدد آنزیدین و مقایسه با نمونه شاهد

طبق آنالیز واریانس جدول ۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، پروبیوتیک، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات آنزیدین معنی دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۸ اثر مستقل تیمار بر عدد آنزیدین را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر آنزیدین پس از اضافه کردن صمغ زانتان در مقادیر ۰۳/۰، ۱/۰ و ۳/۰ در مقایسه با نمونه کنترل بدون صمغ زانتان، بصورت معنی داری کاهش یافت. شکل ۹ اثر مستقل باکتری پروبیوتیک بر عدد آنزیدین را نشان می‌دهد. با توجه به شکل مقادیر آنزیدین بعد از افزودن باکتری پروبیوتیک بصورت معنی داری کاهش یافته است. شکل ۱۰ اثر مستقل زمان نگهداری بر عدد آنزیدین را نشان می‌دهد. این شاخص در زمان‌های ۱۸۰ و ۳۶۰ روز در مقایسه با زمان صفر بصورت

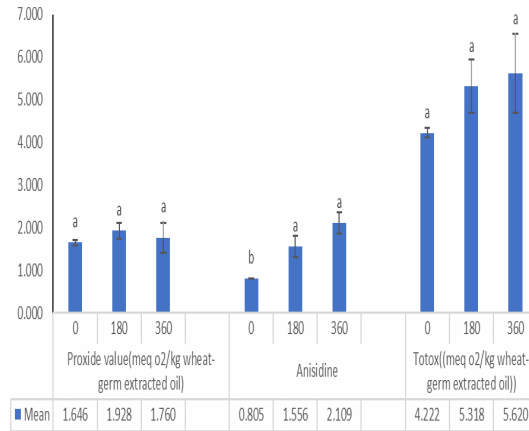
افزایش روزهای نگهداری بصورت معنی داری افزایش میابد. بطوریکه بالاترین مقادیر آن به ترتیب مربوط به زمان ۳۶۰ روز و سپس ۱۸۰ روز می باشد. شکل ۱۳ اثر متقابل تیمار- پروبیوتیک-زمان، بر تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) را نشان می دهد. با توجه به نمودار تیمارهای صفر زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۳۶۰ روز و تیمار ۳/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک و در زمان ۱۸۰ روز به ترتیب دارای بالاترین و پایین ترین مقادیر این شاخص می باشند. مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) در تیمارهای حاوی صفر، ۰۳/۰ و ۱/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری بصورت معنی داری افزایش میابد. اگرچه در مورد تیمار حاوی ۳/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری روند متفاوتی مشاهده می شود. بصورتی که مقادیر عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) در زمان ۱۸۰ روز در مقایسه با زمان ۰ و ۳۶۰ روز بصورت معنی داری کاهش میابد.



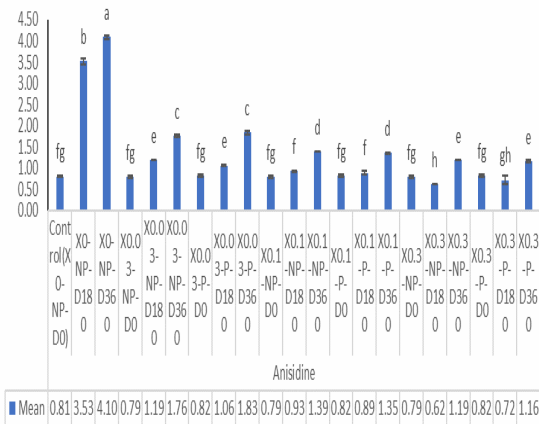
**Fig 12** The effect of xanthan gum treatment on the thiobarbituric acid value of probiotic wheat germ oil



**Fig 13** Treatment-probiotic-time interaction effect on thiobarbituric acid value of probiotic wheat germ oil. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)



**Fig 10** Effect of storage time on the anisidine value of probiotic wheat germ oil



**Fig 11** Treatment-probiotic-time interaction effect on the anisidine value of probiotic wheat germ oil. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)

### ۳-۴- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر عدد

#### تیوباربیتوریک اسید و مقایسه با نمونه شاهد

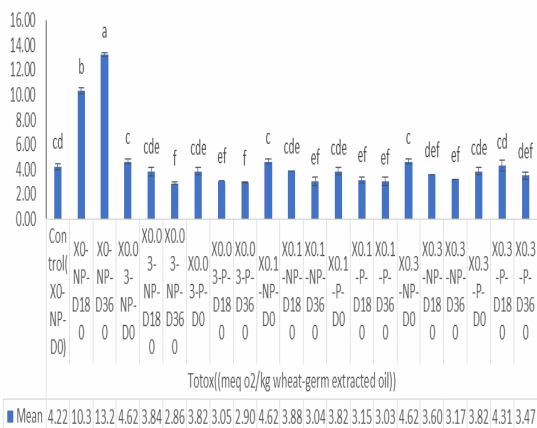
طبق آنالیز واریانس جدول ۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، زمان نگهداری و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) معنی دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۱۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان بر تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) را نشان می دهد. با توجه به شکل مقادیر این شاخص پس از اضافه کردن صمغ زانتان در مقادیر ۱/۰، ۰۳/۰ و ۳/۰ در مقایسه با نمونه کنترل بدون صمغ زانتان، بصورت معنی داری کاهش یافت. شکل ۳ اثر مستقل زمان نگهداری بر تغییرات عدد تیوباربیتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) را نشان می دهد. نتایج نشان می دهد که مقادیر این شاخص با



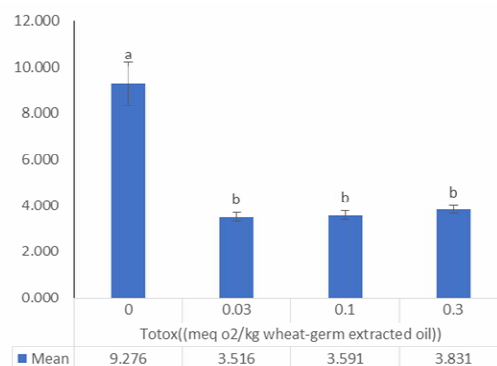
### ۳-۵- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر عدد توتوکس و مقایسه با نمونه شاهد

طبق آنالیز واریانس جدول ۲ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، پروبیوتیک و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد توتوکس (میلی اکی والان/کیلوگرم) معنی دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۱۴ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان و شکل ۱۵ اثر مستقل پروبیوتیک بر تغییرات عدد توتوکس (میلی اکی والان/کیلوگرم) را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد مقادیر این شاخص با افزودن مقادیر ۰.۳، ۱/۰ و ۳/۰ زانتان و باکتری پروبیوتیک در مقایسه با نمونه شاهد بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد.

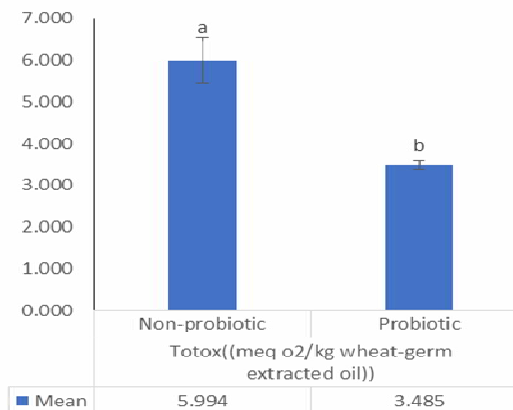
روز و تیمار ۰.۳/۰ زانتان، با و بدون پروبیوتیک و در زمان ۳۶۰ روز به ترتیب دارای بالاترین و پایین‌ترین مقادیر این شاخص می‌باشند. مقادیر این شاخص در تیمارهای بدون زانتان و پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری در مقایسه با نمونه شاهد بصورت معنی‌داری افزایش می‌یابد. در صورتیکه درمورد سایر تیمارهای حاوی مقادیر مختلف زانتان، با و بدون پروبیوتیک با افزایش زمان نگهداری روندی معکوس مشاهده می‌شود.



**Fig 16** The interaction effect of treatment-probiotic-time on changes in the totox value of probiotic wheat germ oil. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)



**Fig 14** The independent effect of xanthan gum treatment on changes in totox value of probiotic wheat germ oil



**Fig 15** The independent effect of probiotics on changes in totox value of probiotic wheat germ oil

### ۳-۶- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر شمارش پروبیوتیک (CFU/گرم)

طبق آنالیز واریانس جدول ۳ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر شاخص شمارش پروبیوتیک (CFU/گرم) معنی دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. با توجه به شکل ۱۷ با افزودن مقادیر ۳/۰ زانتان در مقایسه با ۰.۳/۰ بصورت معنی‌داری کاهش می‌یابد. اگرچه میان تیمارهای ۱/۰ و ۳/۰ زانتان از لحاظ این شاخص تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. شکل ۱۸ اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان را بر شاخص شمارش پروبیوتیک (CFU/گرم) نشان می‌دهد. بالاترین و پایین‌ترین مقادیر این شاخص به ترتیب در تیمارهای حاوی ۰.۳/۰، ۱/۰ و ۳/۰ زانتان، حاوی پروبیوتیک و زمان ۳۶۰ روز مشاهده شد. اگر چه میان تیمارهای حاوی ۰.۳/۰، ۱/۰ و ۳/۰ زانتان، در روز صفر از نظر شمارش این شاخص با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند.

شکل ۱۶ اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات عدد توتوکس (میلی اکی والان/کیلوگرم) را نشان می‌دهد. با توجه به نمودار تیمارهای صفر زانتان، بدون پروبیوتیک در زمان ۳۶۰

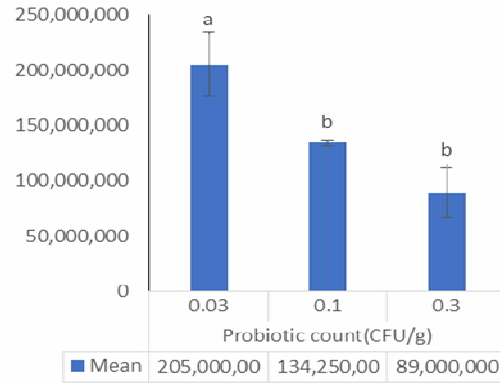
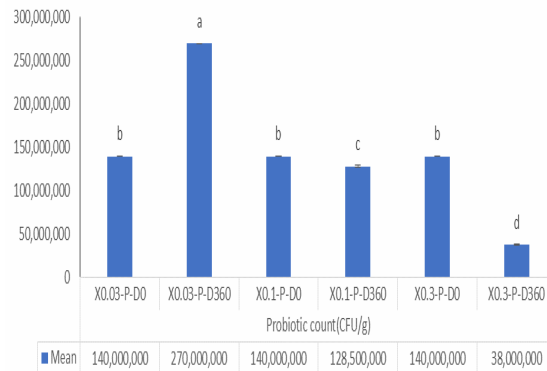
**Table 7** Analysis of variance of probiotic count (CFU/gram)

Source	Log Sum of Squares	df	Log mean square	F-value
Corrected Model	16.915	5	16.216	10207.78***
Intercept	17.564	1	17.564	227823.68***
Treatment	16.613	2	16.312	12738.59***
Time	14.134	1	14.134	84.55***
Treatment * Time	16.613	2	16.312	12738.59***
Error	13.286	12	12.207	-

R Squared = 1.00 (Adjusted R Squared = 1.00)

### ۳-۷- بررسی تاثیر تیمار صمغ زانتان، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری بر شمارش کپک و مخمر

طبق آنالیز واریانس جدول ۴ اثر مستقل تیمار صمغ زانتان، پروبیوتیک و اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر تغییرات شمارش کپک و مخمر (CFU/گرم) معنی دار ( $P < 0.01$ ) بوده است. شکل ۱۹ و ۲۰ به ترتیب اثر مستقل تیمار زانتان و پروبیوتیک بر مقادیر این شاخص را نشان می‌دهد. با توجه به نمودارها بالاترین و پایین‌ترین مقادیر این شاخص به ترتیب در تیمار ۱/۰ و ۳/۰ زانتان مشاهده شد. همچنین میان این تیمارها با مقدار ۰۳/۰ زانتان تفاوت معنی داری از لحاظ شمارش کپک و مخمر مشاهده نشد. همچنین افزودن باکتری پروبیوتیک بصورت معنی‌داری سبب افزایش این شاخص در مقایسه با نمونه بدون پروبیوتیک می‌شود. شکل ۲۱ اثر متقابل تیمار-پروبیوتیک-زمان بر شاخص شمارش کپک و مخمر (CFU/گرم) را نشان می‌دهد.

**Fig 17** Independent effect of xanthan gum treatment on probiotic bacteria count**Fig 18** Treatment-probiotic-time interaction effect on probiotic bacteria count. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; D: day)**Table 8** Analysis of variance of mold and yeast counts (CFU/gram)

Source	Log sum of squares	df	Log mean square	F-value
Corrected Model	10.67	11	9.63	18799.27***
Intercept	10.53	1	10.53	149744.57***
Treatment	9.93	2	9.63	18956.77***
Probiotic	10.20	1	10.20	70219.31***
Time	6.86	1	6.86	32.24***
Treatment * Probiotic	8.92	2	8.62	1840.70***
Treatment * Time	9.73	2	9.43	11839.99***
Probiotic * Time	9.34	1	9.34	9646.04***
Treatment * Probiotic * Time	10.14	2	9.84	30809.73***
Error	6.73	24	5.35	-

R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

## ۴- بحث و نتیجه گیری

### ۴-۱- تعیین بهترین نسبت صمغ زانتان و مالتودگسترین برای تولید کپسول با بررسی نسبت‌های مختلف برای تشکیل دیواره کپسول‌ها

تحويل بهبود یافته مواد کپسوله شده به این معنی است که این مواد به طور کامل پس از رهایش کنترل شده به نقطه هدف تحويل داده می‌شوند و این موضوع به انتخاب مواد پوشش مناسب برای کپسولاسیون بستگی دارد. افزودن مقادیر مالتودگسترین: زانتان برابر با نسبت‌های ۱:۳/۰، ۱:۱/۰ و ۱:۰۳/۰، بصورت معنی‌داری سبب کاهش مقادیر عدد اسیدی کل (میلی گرم/کیلوگرم)، پر اکسید (میلی اکی والان/کیلوگرم)، آنیزیدین، عدد تیوباربتوریک اسید (میلی گرم/کیلوگرم) و توتوکس (میلی اکی والان/کیلوگرم) می‌شود. روغن جوانه گندم به دلیل وجود آنزیم های لیپاز و لیپوکسیژناز در طی نگهداری در معرض اکسیداسیون است. روغن جوانه گندم، در شرایط ذخیره سازی نامطلوب به دلیل غلظت بالای اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه تحت اکسیداسیون قرار می‌گیرد. مطالعات مختلف روش‌ها و پارامترهای مختلف را برای افزایش ماندگاری و استقامت روغن در طول ذخیره سازی ارزیابی کردند. کپسولاسیون جوانه گندم توسط مواد پوششی مختلف از جمله مالتودگسترین، کنسانتره پروتئین آب پنیر، کازئینات سدیم، صمغ عربی، کیتوزان ارزیابی شد. راندمان کپسولاسیون مالتودگسترین: کازئینات سدیم در نسبت ۱:۳ نسبت به سایر مواد پوشش دهنده بصورت معنی‌داری بالاتر بود. علاوه بر این، پایداری اکسیداتیو روغن کپسول شده و یکپارچگی توکوفرول در طی ۲۴ روز نگهداری در دمای ۱۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد، در مقایسه با روغن جوانه گندم بصورت معنی‌داری بالاتر بود. همچنین آن‌ها گزارش کردند مقادیر توتوکس کپسول‌ها در مقایسه با روغن تازه بصورت معنی‌داری کاهش یافته است [۱۷]. نتایج گزارش شده با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد.

### ۴-۲- بررسی اثر زمان بر تغییرات ویژگی‌های

### اکسایشی جوانه گندم کپسوله شده

مقادیر این شاخص به ترتیب در تیمارهای ۱/۰ زانتان، حاوی پروبیوتیک، روز ۳۶۰، تیمار ۰۳/۰ زانتان، حاوی پروبیوتیک و روز ۱۸۰، تیمار ۱/۰ بدون پروبیوتیک، روز ۱۸۰، زانتان، حاوی پروبیوتیک، روز ۳۶۰، تیمار ۱/۰ زانتان، حاوی پروبیوتیک و روز ۱۸۰ افزایش و در تیمار ۳/۰ زانتان، حاوی پروبیوتیک، روز ۱۸۰، تیمار ۰۳/۰ زانتان، بدون پروبیوتیک و روز ۳۶۰ و تیمار ۳/۰ زانتان، بدون پروبیوتیک، روز ۱۸۰ بصورت معنی‌داری کاهش میابد. مقادیر این شاخص در تیمار ۰۳/۰ و ۳/۰ زانتان، بدون پروبیوتیک و زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

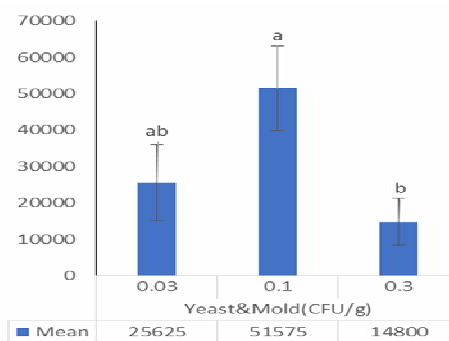


Fig 19 Independent effect of xanthan gum treatment on mold and yeast counts

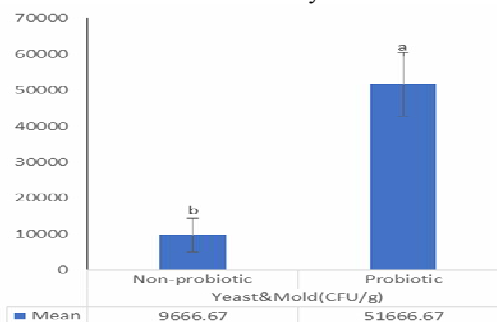


Fig 20 Independent effect of probiotics on mold and yeast counts

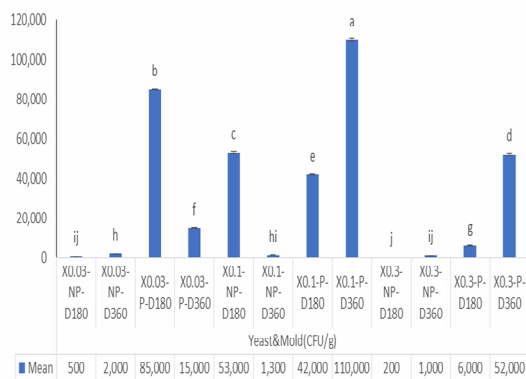


Fig 21 Treatment-probiotic-time interaction on mold and yeast counts. (X: Xanthan gum; P: Probiotic; NP: Non probiotic; D: day)

در تیمارهای حاوی ۰/۳، ۱/۰ و ۳/۰ زانتان، مقادیر عدد اسیدی کل در زمان ۱۸۰ روز در مقایسه با زمان صفر و ۳۶۰ روز بصورت معنی داری افزایش میابد. همچنین مقادیر این شاخص در زمان ۳۶۰ روز در تیمارهای فوق، بصورت معنی داری درمقایسه با زمان ۱۸۰ روز، کاهش میابد. به طور کلی، روغن هایی که دارای اسیدهای چرب غیراشباع یا چند غیراشباع هستند، مستعد اکسیداسیون هستند. میکروذرات تهیه شده از صمغ عربی و مخلوطهای سه تایی آن با مالتودگسترین و ایزوله پروتئین آب پنیر، محافظت بالایی از روغن بذرکتان در برابر اکسیداسیون نشان می دهند [۱۸]. برای جلوگیری از اکسیداسیون لیپدها و بهبود پارامترهای رهایش روغن بذرکتان، روغن در دیواره ایزوله پروتئین عدس یا نخود و پلیمرهای مالتودگسترین کپسوله شد [۱۹]. در مقایسه با روغن کپسوله نشده، روغن دانه کتان کپسوله شده در طی ۲۵ روز ذخیره سازی در دمای اتاق تحت اکسیداسیون قرار نگرفت. مقادیر پراکسید در تیمار شاهد با افزایش زمان نگهداری بصورت معنی داری افزایش میابد. در تیمار ۰/۳ زانتان، با افزایش زمان نگهداری در زمان ۱۸۰ و ۳۶۰ روز و در تیمارهای ۱/۰ و ۳/۰ زانتان، در زمان ۳۶۰ روز در مقایسه با زمان صفر و ۱۸۰ روز، مقادیر شاخص فوق بصورت معنی داری کاهش میابد. دورانت و همکاران [۲۰]، گزارش نمودند، پس از کپسولاسیون روغن سبوس گندم در دانه های آلزینات سدیم، ویژگی های مربوط به پایداری آن در زمان ذخیره سازی، بهبود یافت. پایداری دانه ها با ارزیابی تولید هیدروپراکسید اسید چرب، توکوفرول، توکوترینول و تخریب کاروتنوئید مورد آزمایش قرار گرفت. دانه ها با داشتن سطوح بالای ایزوپرنوئیدها و محتوای کم اسیدهای چرب هیدروکسیل پراکسید به مدت ۳۰ روز، پایداری روغن را در دمای ۴ درجه سانتی گراد افزایش داده اند.

با توجه به نتایج، مقادیر هر سه شاخص فوق در نمونه شاهد و مقادیر آنیزیدین، توتوکس و تیوباربتوریک اسید در تیمار ۰/۳ زانتان، با افزایش زمان نگهداری بصورت معنی داری افزایش میابد. همچنین در تیمار ۱/۰ و ۳/۰ زانتان، مقادیر آنیزیدین و تیوباربتوریک اسید در زمان ۳۶۰ روز در مقایسه با زمان صفر و ۱۸۰ روز بصورت معنی داری افزایش میابد. مقادیر عدد توتوکس با افزایش زمان نگهداری در زمان ۳۶۰ روز در مقایسه با روز صفر بصورت معنی داری کاهش میابد.

ارزش توتوکس اغلب در صنایع غذایی استفاده می شود و نتایج حاصل از شرایط گذشته و حال روغن های خاص را ادغام می کند [۲۱]. روغن با کیفیت خوب باید ارزش توتوکس کمتر از ۴ داشته باشد [۲۲] و نمونه های روغن با مقدار توتوکس بالای ۱۰ غیرقابل قبول تلقی می شوند [۲۱]. تغییرات در مقدار توتوکس، اطلاعاتی را در مورد پیشرفت تشکیل محصولات اکسیداسیون اولیه و ثانویه ارائه می دهد. بنابراین، تعیین مقدار توتوکس به طور گسترده ای برای تخمین زوال اکسیداتیو لیپدها استفاده شده است [۲۳]. سان و گوناسکاران گزارش کردند که افزایش غلظت ایزوله پروتئین آب پنیر از ۲/۰ به ۲ درصد وزنی به طور قابل توجهی باعث کاهش تشکیل هیدروپراکسید در طول ۸ روز ذخیره سازی شد [۲۴].

#### ۴-۳- تاثیر استفاده از باکتری باسیلوس بادبوس

##### به عنوان پروبیوتیک در جوانه گندم

اثر مستقل باکتری باسیلوس بادبوس به عنوان پروبیوتیک در جوانه گندم به ترتیب سبب کاهش و افزایش شاخص های عدد اسیدی کل، ارزش پراکسید، عدد آنیزیدین، عدد توتوکس، خاکستر و دانسیته پودری و شمارش کپک مخمر در نمونه های حاوی پروبیوتیک در مقایسه با نمونه های بدون پروبیوتیک می گردد. گزارش شده است که متابولیت های ثانویه مختلفی که توسط باکتری های ساکن در موجودات دریایی بیوسنتز می شوند دارای ویژگی زیست فعالی خوبی می باشند. در این میان، بخش متابولیت ثانویه باسیلوس بادبوس به طور موثر آب اکسیژنه (تقریباً ۷۳ درصد) را مهار کرد. نتایج ما نشان می دهد که متابولیت های ثانویه باسیلوس بادبوس ممکن است نه تنها به عنوان یک آنتی اکسیدان بلکه به عنوان یک عامل ضد التهابی نیز مفید باشند. گونه های اکسیژن فعال در التهاب نقش دارند و در نتیجه آنتی اکسیدان ها نقش مهمی در بیماری های التهابی ایفا می کنند [۲۵]. نمایش فعالیت ضد اکسیداتیو و ضد التهابی در باسیلوس بادبوس ممکن است این رابطه را تایید کند. در نتیجه وجود ترکیبات آنتی اکسیدان قوی در متابولیت های ثانویه باسیلوس بادبوس تایید می شود.

#### ۵- نتیجه گیری

استفاده از صمغ زانتان و مالتودگسترین بعنوان مواد دیواره سبب بهبود ویژگی های آنتی اکسیدانی در جوانه گندم کپسوله شده می گردد. همچنین خواص ضد اکسایشی قابل توجهی در

- [6] Sosnik, A., and Seremeta, K.P. (2015). Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. *Advances in Colloid and Interface Science*, 223: 40-54.
- [7] Farias-Cervantes, V.S., Chavez-Rodriguez, A., Garcia-Salcedo, P.A., Garcia-Lopez, P.M., Casas-Solis, J., and Andrade-Gonzalez, I. (2018). Antimicrobial effect and in vitro release of anthocyanins from berries and roselle obtained via microencapsulation by spray drying. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42: e13713.
- [8] Rajkowski, K.T. and Bennett, R.W. (2003). *Bacillus cereus*, In: Miliotis, M.D. and Bier, J.W. (Editors), *International handbook of foodborne pathogens*, Marcel Dekker Inc, pp: 27-39.
- [9] Mohammed, Y., Lee, B., Kang, Z., and Du, G. (2014). Development of a two-step cultivation strategy for the production of vitamin B12 by *Bacillus megaterium*. *Microb Cell Fact* 13, 102.
- [10] Tanaka, K., Takanaka, S., and Yoshida, K. (2014). A second-generation *Bacillus* cell factory for rare inositol production. *Bioengineered*, 5(5):331-334.
- [11] Elshaghabee, F.M.F., Rokana, N., Gulhane, R.D., Sharma, C., and Panwar, H. (2017). *Bacillus* as potential probiotics: status, concerns, and future perspectives. *Front Microbiol*, 8:1490.
- [12] Agregan, R., Munekata, P.E., Domínguez, R., Carballo, J., Franco, D., and Lorenzo, J.M. (2017). Proximate composition, phenolic content and in vitro antioxidant activity of aqueous extracts of the sea weeds *Ascophyllum nodosum*, *Bifurcaria bifurcata* and *Fucus vesiculosus*. Effect of addition of the extracts on the oxidative stability of canola oil under accelerated storage conditions. *Food Research International*, 99 (3): 986-994.
- [13] Iranian National Standardization Organization, Standard No. 4093. (2007). Measurement of anisidine number. First revision.
- [14] Iranian National Standardization Organization, Standard No. 4178. (1998). Measurement of acidity in edible oils and fats. First Edition.
- [15] Iranian National Standardization Organization, Standard No. 10494. (2016). Vegetable oils and fats - measurement of 2-

طی ۳۶۰ روز زمان نگهداری ایجاد کرد. با توجه به نقش باکتری *باسیلوس بادئوس* به عنوان پروبیوتیک در کاهش معنی دار شاخص‌های اکسایش در جوانه گندم می‌توان از این باکتری بعنوان آنتی‌اکسیدانی قوی و تاثیرگذار بر افزایش زمان نگهداری جوانه گندم کپسول شده نامبرد.

## ۶- سپاسگزاری

نویسندگان مقاله، از همکاران در مرکز تحقیقات لیزر و بیوفوتونیک در فناوریهای زیستی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان) به دلیل همکاریهای علمی و پژوهشی در راستای محقق شدن این تحقیق کمال تشکر را دارد.

## ۷- تعارض منافع

نویسندگان هیچگونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

## ۸- منابع

- [1] Gomez, M., Gonzalez, J., and Oliete, B. (2011). Effect of extruded wheat germ on dough rheology and bread quality. *Food and Bioprocess Technology*, 5: 2409-2418.
- [2] Meriles, S.P., Steffolani, M.E., Penci, M.C., Curet, S., Boillereaux, L., and Ribotta, P.D. (2022). Effects of low-temperature microwave treatment of wheat germ. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 102(6): 2538-2544.
- [3] Zhou, K., Laux, J.J., and Yu, L. (2004). Comparison of swiss red wheat grain and fraction for their antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5): 1118-1123.
- [4] Rizzello, C.G., Nionelli, L., Coda, R., De Angelis, M., and Gobbetti, M. (2010). Effect of sourdough fermentation on stabilization, and chemical and nutritional characteristics of wheat germ. *Food Chemistry*, 119: 1079-1089.
- [5] Mobus, K., Siepmann, J., and Bodmeier, R. (2012). Zinc-alginate microparticles for controlled pulmonary delivery of proteins prepared by spray-drying. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81: 121-130.

- supercritical CO<sub>2</sub>. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(42): 10689-10695.
- [21] Osborn, H.T., and Akoh, C.C. 2004. Effect of emulsifier type, droplet size, and oil concentration on lipid oxidation in structured lipid-based oil-in-water emulsions. *Food Chemistry*, 84: 451-456.
- [22] Choo, W.S., Birch, J., and Dufour, JP. (2007). Physicochemical and quality characteristics of cold-pressed flaxseed oils. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 202-211.
- [23] Wanasundara, U.N., Shahidi, F., and Jablonskib, C.R. (1995). Comparison of standard and NMR methodologies for assessment of oxidative stability of canola and soybean oils. *Food Chemistry*, 52: 249-253.
- [24] Sun, C., and Gunasekaran, S. (2009). Effects of protein concentration and oil-phase volume fraction on the stability and rheology of menhaden oil-in-water emulsions stabilized by whey protein isolate with xanthan gum. *Food Hydrocolloids*, 23(1): 165-174.
- [25] Sakai, K., Nisijima, H., Ikenaga, Y., Wakayama, M., and Moriguchi, M. (2000). Purification and characterization of nitrite-oxidizing enzyme from heterotrophic *Bacillus badius* I-73, with special concern to catalase. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 64(12): 2727-2730.
- thiobarbituric acid by direct method. First edition.
- [16] Iranian National Standardization Organization, Standard No. 3-10899. (2013). Microbiology of food and animal feeding stuffs - enumeration of Yeast and mould-Colony count techni in products with water activity Less than or equal to 0/60. First edition.
- [17] Karadeniz, M., Sahin, S., and Sumnu, G. (2018). Enhancement of storage stability of wheat germ oil by encapsulation. *Industrial Crops and Products*, 114: 14-18.
- [18] Rubilar, M., Morales, E., Contreras, K., Ceballos, C., Acevedo, F., Villarroel, M., and Shene, C. (2012). Development of a soup powder enriched with microencapsulated linseed oil as a source of omega-3 fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 114(4): 423-433.
- [19] Can Karaca, A., Low, N., and Nickerson, M. (2013). Encapsulation of flaxseed oil using a benchtop spray dryer for legume protein-maltodextrin microcapsule preparation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 61(21): 5148-5155.
- [20] Durante, M., Lenucci, M.S., Laddomada, B., Mita, G., and Caretto, S. (2012). Effects of sodium alginate bead encapsulation on the storage stability of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) bran oil extracted by





## Prolonging the Shelf-life of Probiotic Wheat Germ Containing *Bacillus badius* with Xanthan Gum by Freeze-Dried Encapsulation Method

Kadkhodaei, A. <sup>1</sup>, Goli, M. <sup>1,2\*</sup>, Ramezani, M. <sup>3</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
2. Laser and Biophotonic in Biotechnologies Research Center, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
3. Microorganisms Bank, Iranian Biological Resource Centre (IBRC), ACECR, Tehran, Iran.

### ARTICLE INFO

#### Article History:

Received 2022/ 09/ 17  
Accepted 2022/ 12/ 07

#### Keywords:

Antioxidant properties,  
Freeze dryer,  
*Bacillus badius*,  
Probiotic wheat germ,  
Increased shelf life

DOI: 10.22034/FSCT.20.134.119  
DOR: 20.1001.1.20088787.1402.20.134.10.4

\*Corresponding Author E-Mail:  
[mgolifood@yahoo.com](mailto:mgolifood@yahoo.com)

### ABSTRACT

Wheat germ is a high-nutrient byproduct of wheat milling, however it has a short shelf life and extremely restricted ideal intake due to the intensive activities of lipase and lipoxygenase. In order to increase the storage life of probiotic wheat germ containing *Bacillus badius*, the freeze drying method was used in this study, and the effect of using xanthan gum: maltodextrin in different ratios of 0.3:1, 0.1:1, and 0.03:1 as the capsule wall on antioxidant properties and physicochemical characteristics of probiotic wheat germ during 360 days of storage was investigated. Three control treatments were also produced without probiotic bacteria and had the same quantities of gums as the treatments. A pure wheat germ sample was also analyzed on the first day, 180 and 360, along with the encapsulated samples, for better comparisons and the influence of applied treatments. The experiments used a completely random design, and the treatments were analyzed using SPSS software and comparing the averages using Duncan's multi-range test at the 99% confidence level. The use of xanthan gum and maltodextrin as wall materials increased the antioxidant qualities in encapsulated wheat germ, according to the findings of this study. The introduction of *Bacillus badius* bacteria as a probiotic resulted in a substantial decrease in oxidation indices in wheat germ ( $P < 0.01$ ). In general, it can be stated that *Bacillus badius* bacteria, as a powerful probiotic, can extend the storage time of encapsulated wheat germ. Furthermore, xanthan gum is proposed as a good material for wheat germ encapsulation to enhance shelf life.