مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بررسی زنده مانی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* جی جی و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درونپوشانی شده به صورت امولسیون چند لایه و امولسیون ساده

حامد محمودی پور[۱]، محمد حسین مرحمتی زاده[۲]

۱- دکترای حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران.

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

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۹۹ /۰۵/۲۹

تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۹/۲۵

کلمات کلیدی:

زنده مانی،

لاکتوباسیلوس رامنسوس،

لاکتوباسیلوس پلانتاروم،

درونپوشانی،

امولسیون چند لایه.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.11

* مسئول مکاتبات:

hamed.mahmoodi1398@gmail.com

چکیده

هدف از این پژوهش بررسی اثر نوع باکتری (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) و سیستم درون پوشانی (امولسیون چند لایه و ساده) بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، پایداری و زنده مانی باکتری‌ها بود. اندازه ذره نمونه‌های امولسیون‌های LR-ME (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۱۰/۶۳، ۳/۵۳، ۱۰/۴۷ و ٤/۱۹ میکرومتر اندازه‌گیری شد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های امولسیون چند لایه اندازه ذره بزرگتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. اما نوع باکتری تاثیری بر اندازه ذرات نمونه‌ها نداشت. بررسی نتایج اسپن نمونه‌ها نشان داد که نمونه‌ها امولسیون ساده دارای پراکندگی بیشتری نسبت به امولسیون‌های چند لایه بودند. پتانسل زتا نمونه‌های امولسیون LR-ME، LR-E، LP-ME و LP-E به ترتیب ۵۱/۲۶-، ۳۹/۳۵-، ۵۶/۶۵- و ۳۰/۲۵- میلی ولت اندازه گیری شد. نمونه‌های امولسیون چند لایه پتانسل زتا منفی تری نسبت به امولسیون ساده داشتند اما نوع باکتری تاثیری بر پتانسل زتا نمونه‌ها نداشت. نمونه‌های امولسیون چند لایه پایداری بالاتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. اما نوع باکتری تاثیری بر پایداری نمونه‌ها نداشت. تعداد باکتری شمارش شده در نمونه‌های LR (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی نشده)، LR-ME، LR-E، LP (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی نشده)، LP-ME و LP-E به ترتیب ۸/۴۹، ۸/۴۸، ۸/۵۱، ۸/۴۱، ۸/۳۷ و ۸/۳۹ اندازه گیری شد. نتایج نشان داد درون پوشانی با امولسیون چند لایه بهترین روش برای نگهداری باکتری‌های پروبیوتیک است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

۱- مقدمه

دنیای مدرن امروزی به دنبال راه کارهایی است تا بتواند با تغذیه ای مناسب علاوه بر تامین نیازمندی‌های اولیه بدن، سلامت و افزایش طول عمر مصرف کننده را نیز تضمین نماید. بنابراین در حال حاضر توجه بسیاری از دانشمندان علم مواد غذایی معطوف به غذاهایی است که ضمن تامین سلامتی، اهداف خاصی را نیز دنبال نمایند [۱]. این دسته از مواد غذایی با ترکیبات فعالی از جمله پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک غنی شده و به نام غذاهای سلامتی بخش یا عملگرا شناخته می‌شوند [۲]، که محتوی ترکیبات ارتقا دهنده سلامتی که فراتر از مواد غذایی سنتی عمل می‌کنند، هستند [۳].

گزارش شده است که باکتری‌های پروبیوتیک سیستم ایمنی بدن را تحریک می‌کنند که این عمل از طریق فعال نمودن ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها، افزایش ایمونوگلوبولین A و تولید گاما اینترفرون می‌باشد [٤]. ویژگی ضد میکروبی این میکروارگانیسم‌ها به اثر رقابتی آنها برای مواد غذایی و تولید ترکیبات ممانعت کننده ای مثل اسیدهای طبیعی که سبب کاهش pH محیط شده و هم چنین ترکیباتی مانند هیدروژن پراکسید، اتانول و باکتریوسین‌ها نسبت داده می‌شود [۱]. مشاهده شده است که مصرف دائم پروبیوتیک‌ها در کاهش میزان بروز بیماری‌های مختلف موثر است که این تاثیر در جمعیت‌های دارای خطر بالا (مانند کودکان بستری در بیمارستان، کودکانی که شیر مادر مصرف نمی کنند یا در شرایط محروم به سر می برند) بارزتر است. فراورده‌های پروبیوتیکی در بازار تجاری به اشکال قرص، کپسول، پودر، ماست‌های غنی شده، شیر و پنیر به فروش می رسند. اغلب پروبیوتیک‌هایی که تاکنون مورد مطالعه قرار گرفته اند یا در بازار موجودند، ایمن هستند و در هزاران نفر از افرادی که تاکنون مصرف این فراورده‌ها را گزارش کرده اند، هیچ گونه عارضه جانبی آشکاری از خود نشان نداده اند [۵]. فلور میکروبی لاکتیکی دستگاه گوارش انسان نقش مهمی در افزایش مقاومت به تشکیل کلنی توسط پاتوژن‌ها دارد. بنابراین افزایش تعداد آن در روده موجب افزایش بازدارندگی بر باکتری‌های پاتوژن می‌شود [٦]. بیفیدوباکتر و لاکتوباسیلوس به علت اثر قوی ضدپاتوژنی، بیشترین گروه از باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در مواد غذایی هستند [۷].

با توجه به حساس بودن باکتری‌های پروبیوتیک به شرایط نگهداری، حفاظت از این باکتری‌ها در برابر این شرایط ضروری به نظر می‌رسد. سیستم‌های انکپسوله کننده با ایجاد یک لایه ی محافظتی از کاهش پروبیوتیک‌ها جلوگیری می‌کنند. هدف از این پژوهش بررسی اثر نوع باکتری (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) و سیستم درون پوشانی (امولسیون چند لایه و ساده) بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، پایداری و زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

پروتئین آب پنیر (Hilmar، آمریکا)، MRS (مرک، آلمان)، توین ۸۰ (مرک، آلمان)، صمغ فارسی (ریحان گام پارسیان، ایران) و روغن زیتون (اویلا، ایران) با بالاترین کیفیت تهیه 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 انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد، دور ۵۰ rpm به مدت ٢٤ ساعت، سپس این محیط حاوی باکتری را سانترفیوژ کرده (۲ دقیقه، ۵۰۰۰ rpm) 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 شده و آن 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].

۲-۲-۲- تهیه تیمارها

در این تحقیق شش تیمار *لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی نشده، *لاکتوباسیلوس رامنسوس* درونپوشانی شده در امولسیون

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

چند لایه، *لاکتوباسیلوس رامنسوس* درونپوشانی شده در امولسیون ساده، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی نشده، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درونپوشانی شده در امولسیون چند لایه، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درونپوشانی شده در امولسیون ساده تهیه شدند.

۲-۲-۳- تهیه امولسیون‌ها

۲-۲-۳-۱-تهیه امولسون چندلایه

به منظور تهیه امولسیون چندلایه ابتدا ۲ گرم ایزوله پروتئین آب پنیر را در ۱۰۰ گرم آب مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه هم زده شد. سپس رسوب باکتری را در فاز روغنی روغن زیتون (۱۰ گرم) پخش شده و نهایتا فاز روغنی قطره قطره به فاز آبی افزوده شد و در دور ۱۵۰۰۰ دور به مدت ٤ دقیقه هموژن شد سپس محلول ۱ درصد صمغ فارسی به آن اضافه شده و هموژن شد.

۲-۲-۳-۲- تهیه امولسیون ساده

به منظور تهیه امولسیون‌ها ابتدا ۲/۵ گرم توییین ۸۰ را در ۹۰ گرم آب مخلوط کرده و به مدت ۱۵ دقیقه هم زده شد. سپس رسوب باکتری را در فاز روغنی روغن زیتون (۱۰ گرم) پخش شده و نهایتا فاز روغنی قطره قطره به فاز آبی افزوده شد و در دور ۱۵۰۰۰ دور به مدت ٤ دقیقه هموژن شد.

۲-۳-٤- ارزیابی ویژگی‌های امولسیون

۲-۳-٤-۱- اندازه گیری اندازه ذرات

برای اندازه گیری توزیع اندازه ذره، حدود ۰/۵ گرم امولسیون در ۵ میلی لیتر آب دیونیزه دیسپرس شده و این محلول در سل دستگاه قرار گرفته و اندازه ذرات براساس حجم[1] محاسبه شد [۹].

۲-۳-٤-۲- اندازه گیری پتانسل زتا

برای اندازه گیری پتانسیل زتا، حدود ۰/۱ گرم امولسیون در ۹/۹ میلی لیتر آب دیونیزه دیسپرس شده و این محلول در سل دستگاه قرار گرفت. پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Worcestershire, UK) اندازه گیری شد.

۲-۳-٤-۳- ساختار میکروسکوپی امولسیون‌ها

ساختار میکروسکوپی امولسیون‌ها به کمک میکروسکوپ نوری (Olympus CX40, Olympus Optical Co., Tokyo, Japan) تعیین شد. یک قطره از امولسیون در بزرگنمایی ۱۰۰ مشاهده و بررسی شد.

۲-۳-٤-٤- اندازه گیری کدورت

میزان کدورت نمونه‌ها به کمک جذب در ٦۰۰ نانومتر به کمک UV–vis spectrophotometer (spec 1650PC, Shimadzu, Japan) اندازه گیری شد. آب مقطر به عنوان نمونه شاهد انتخاب گردید و نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۵۰۰ رقیق سازی شد.

۲-۳-٤-۵- پایداری امولسیون

پایداری امولسیون به کمک روش اصلاح شده‌ی Min و همکاران ۲۰۰۳ اندازه گیری خواهد شد. ۵ میلی لیتر از نمونه امولسیون در یک فالکون ۱۵ میلی لیتری سانتریفیوژ شده و در ۲۰- به مدت ۲ روز نگهداری شد. سپس نمونه ٤ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. سپس در ۱۵۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ سانتریفیوژ شده و آب جدا شده اندازگیری شد. میزان آب بر حسب درصد گزارش شد.

۲-۳-٤-٦- اندازه گیری زنده مانی

از هر نمونه به مقدار ۱ 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 روی پلیت شمارش شد [۱۰].

۲-۳-۵- 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 افزار اکسل انجام شد. میانگین و انحراف معیار هر عدد محاسبه شد [۱۱]. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های کمی با نرم افزار SAS V 9.1 انجام شد.

1. Volume

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه ذره

اندازه ذرات یک ویژگی فیزیکی مهم است که به صورت مستقیم روی کاربرد سیستم‌ها در فرمولاسیون موادغذایی اثر می‌گذارد [۱۲]. توزیع اندازه ذره یکی از مهمترین ویژگی‌های یک امولسیون به حساب می‌آید، چرا که بر رئولوژی، پایداری، رنگ و مزه تاثیرگذار خواهد بود [۱۳]. این ویژگی عموما با روش‌های پراکنش نور و میکروسکوپی، اندازه گیری می‌شود. در این پژوهش از دستگاه آنالیز اندازه ذره استفاده شد. شکل ۱ اندازه ذره نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می‌دهد. اندازه ذره نمونه‌های امولسیون LR-ME (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۱۰/۶۳، ۳/۵۳، ۱۰/۴۷ و ۴/۱۹ میکرومتر اندازه گیری شد. همان کونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های امولسیون چند لایه اندازه ذره بزرگتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. که دلیل آن به تشکیل چند لایه اطراف قطرات فاز پراکنده بر می‌گردد. اما نوع باکتری تاثیری بر اندازه ذرات نمونه‌ها نداشت. بررسی نتایج اسپن نمونه‌ها نشان داد اسپن امولسیون‌های LR-ME (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) به ترتیب ۱/۹۴، ۳/۱۶، ۱/۶۳ و ۳/۶۶ بود و نمونه‌ها امولسیون ساده دارای پراکندگی بیشتری نسبت به امولسیون‌های چند لایه بودند. Rodríguez-Huezo و همکاران [۱۴] به درون‌پوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در امولسیون دوگانه پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که اندازه ذرات امولسیون‌ها در محدوده ۱۰/۴۲ تا ۱۱/۷۵ میکرومتر بوده و پس از گذشت ۱۴ روز به ۱۲/۱۶ تا ۱۲/۳۹ میکرومتر رسیده است. Flores-Andrade و همکاران [۱۵] به درون‌پوشانی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در امولسیون دوگانه پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که اندازه ذرات امولسیون‌های حاوی باکتری ۵/۲۹ میکرومتر بوده است. Pimentel-González و همکاران [۱۶] به درون-پوشانی *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در امولسیون دوگانه پرداختند. نتایج این تحقیق نشان داد که اندازه ذرات امولسیون‌ها بین ۸ تا ۲۶ میکرومتر بوده است

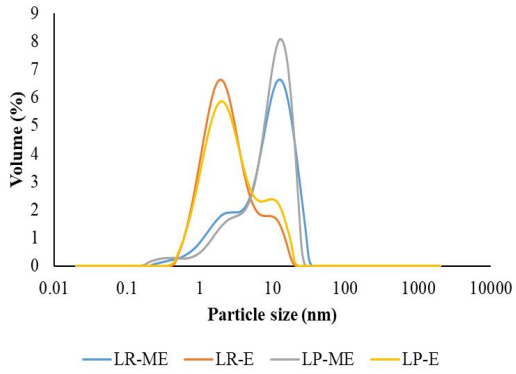

Fig 1 Particle size of samples (LR-ME: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in multilayer emulsion LR-E: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simple emulsion %, LP-ME: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in multilayer emulsion, LP-E: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in simple emulsion)

۳-۲- پتانسیل زتا

پتانسیل زتا از جمله پارامترهایی می‌باشد که نشان دهنده پایداری سیستم‌های امولسیونی در طی زمان می‌باشد. ذرات با توجه به فرآیندهایی از جمله لخته شدن و بهم پیوستن ذرات باعث ناپایداری سیستم می‌شوند و این دو فرآیند با پوشش دادن بارهای روی سطح ذرات سبب تغییر آنها می‌شوند [۱۷]. شکل ۲ پتانسل زتا نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می‌دهد. پتانسل زتا نمونه‌های امولسیون LR-ME (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۵۱/۲۶-، ۳۹/۳۵-، ۵۶/۶۵- و ۳۰/۲۵- میلی ولت اندازه گیری شد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های امولسیون چند لایه پتانسل زتا بزرگتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. که نشان دهنده‌ی پایداری بیشتر این نمونه‌ها نسبت به امولسیون‌های ساده می‌باشد. اما نوع باکتری تاثیری بر پتانسل زتا نمونه‌ها نداشت. Becker Peres و همکاران [۱۸] به بررسی پتانسیل زتای نمونه‌های امولسیون تهیه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

شده به کمک توین ۸۰ و PGPR پرداختند نتایج این تحقیق نشان داد که زتای نمونه‌ها بین ۳۰- تا ۳۶- متغییر است. Aditya و همکاران [۱۹] به بررسی پتانسیل زتای نمونه‌های امولسیون تهیه شده به کمک توین ۸۰ پرداختند نتایج این تحقیق نشان داد که زتای نمونه‌ها بین ۱۷- تا ۲۰- متغییر است.

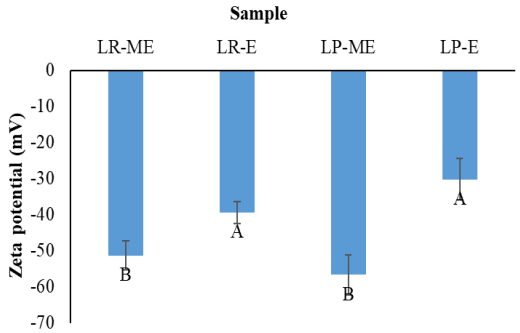

Fig 2 Zeta potential of samples (LR-ME: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in multilayer emulsion LR-E: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simple emulsion %, LP-ME: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in multilayer emulsion, LP-E: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in simple emulsion)

۳-۳- کدورت و پایداری

یکی از روش‌های ساده و مرسوم سنجش ناپایداری سیستم‌های امولسیونی اندازه‌گیری میزان جذب و کدورت نمونه‌ها طی زمان می‌باشد در واقع ذرات طی زمان با چسبیدن به هم سبب تغییر الگوی حرکت پرتوهای نور می‌شوند و از این پارامتر در جهت تعیین میزان ناپایداری می‌توان استفاده کرد. شکل ۳ کدورت نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می‌دهد. کدورت نمونه‌های امولسیون LR-ME (لاکتوباسیلوس *رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (لاکتوباسیلوس *رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۳۲/۸، ۱۵/۶، ۳۳/۹۷ و ۱۴/۹۷ اندازه گیری شد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های امولسیون چند لایه کدورت بالاتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. بزرگتر بودن اندازه ذرات در پراکنش نور تاثیر داشته و جذب بالاتری نشان می دهد. اما نوع باکتری تاثیری بر کدورت نمونه‌ها نداشت.

در مقایسه با امولسیون‌های ساده، مکانیزم‌ها و فرآیندهای ناپایداری متفاوتی برای امولسیون‌های دولایه وجود دارد. شکل ۳ پایداری نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می دهد. پایداری نمونه‌های امولسیون LR-ME (لاکتوباسیلوس *رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (لاکتوباسیلوس *رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP-ME (لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (لاکتوباسیلوس *پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۸۶/۲۶، ۸۱/۹، ۸۷/۹ و ۸۲/۱۳ درصد اندازه گیری شد. همان گونه که از نتایج بر می‌آید نمونه‌های امولسیون چند لایه پایداری بالاتری نسبت به امولسیون ساده داشتند. نتایج این آزمون با نتایج آزمون اندازه ذرات و پتانسیل زتا همخوانی دارد. اما نوع باکتری تاثیری بر پایداری نمونه‌ها نداشت.

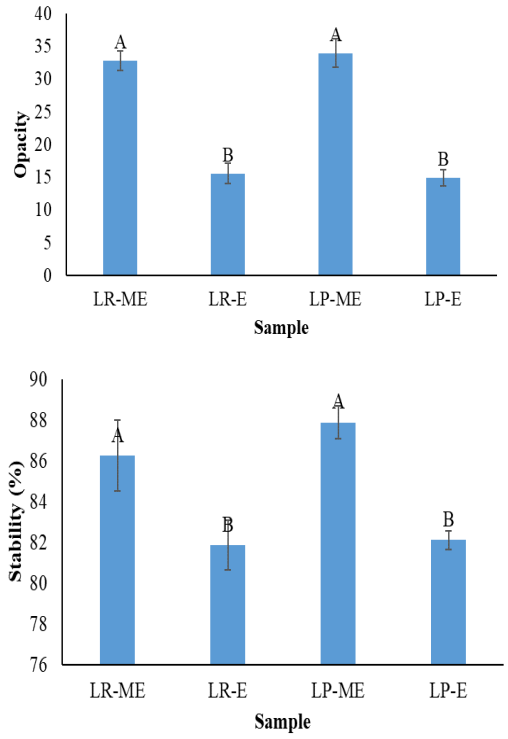

Fig 3 Opacity and stability of samples (LR-ME: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in multilayer emulsion LR-E: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simple emulsion %, LP-ME: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in multilayer emulsion, LP-E: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in simple emulsion)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

۳-٤- شمارش باکتری

همه تعاریف انجام شده از پروبیوتیک‌ها، بر زنده‌مانی این باکتری-ها تاکید می‌کنند. باکتری‌های پروبیوتیک نه تنها بایستی در طول مدت زمان نگهداری غذا زنده بمانند، بلکه می‌بایست در طول عبور از فرایندهای تولید نیز زنده مانده و به محل فعالیت خود (روده) برسند. شکل ٤ زنده مانی نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می‌دهد. تعداد باکتری شمارش شده در نمونه‌های LR (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی نشده)، LR-ME (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه)، LR-E (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* درون پوشانی شده در امولسیون ساده)، LP (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی نشده)، LP-ME (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون چند لایه) و LP-E (*لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درون پوشانی شده در امولسیون ساده) به ترتیب ۸/٤۹، ۸/٤۸، ۸/۵۱، ۸/٤۱، ۸/۳۷ و ۸/۳۹ اندازه گیری شد. نتایج این تحقیق نشان داد امولسیون‌ها توانایی درون پوشانی و زنده مانی بالایی دارند و نوع امولسیون تاثیری بر زنده‌مانی باکتری‌های نداشته است.

کاهش زنده‌مانی در طول دوره نگهداری عموما به دلیل تغییر پروفایل اسیدهای چرب غشا، اکسیداسیون چربی‌های غشای باکتری و تولید رادیکال‌های آزاد می‌باشد [۲۰]. El Kadri و همکاران [۲۱] به درون‌پوشانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در امولسیون دوگانه و بررسی زنده‌مانی آن پراختند. نتایج این تحقیق نشان داد که نمونه‌های درون‌پوشانی شده زنده‌مانی بالاتری نسبت به درون‌پوشانی نشده داشتند. López-Rubio و همکاران [۲۲] به انکپسولاسیون و افزایش ماندگاری بیفیدوباکتریاها پرداختند. در این پژوهش از ایزوله پروتئین آب پنیر و پولولان برای تولید ذرات انکپسوله در حد میکرو، ساب میکرو و نانو استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که انکپسوله کردن باکتری *باسیلوس انیمالیس* به کمک شیر بدون چربی باعث افزایش زنده‌مانی آن نسبت به بافر فسفات شد. در مقایسه نتایج ایزوله پروتئین آب پنیر و پولولان نتایج نشان داد که ایزوله پروتئین آب پنیر توانایی بالاتری در محافظت از باکتری دارد. Coghetto و همکاران [۲۳] به بررسی تاثیر فرآیند انکپسولاسیون بر روی زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در دمای یخچال، شرایط معده و روده پرداختند. انکپسولاسیون به کمک دو ترکیب سدیم آلژینات و مخلوط سدیم آلژینات و پکتین انجام گرفت. نتایج نشان داد که باکتری کنترل در شرایط معده و روده به ترتیب ٦ و ٤/۲ log کاهش داشت اما باکتری انکپسوله شده تنها ۲/۹ و ۲/۷ log کاهش را نشان داد. همچنین پس از ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال تعداد باکتری در نمونه انکپسوله شده دارای تعداد ۹ log و در نمونه کنترل ۱ log بود.

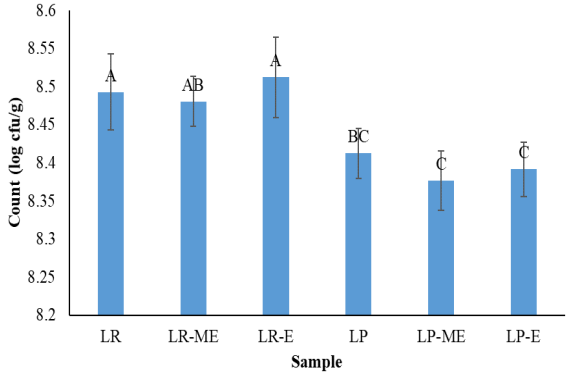

Fig 4 Viability of bacteria (LR: *Lactobacillus rhamnosus* GG, LR-ME: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in multilayer emulsion LR-E: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simple emulsion, LP: *Lactobacillus plantarum*, LP-ME: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in multilayer emulsion, LP-E: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in simple emulsion)

۳-۵- عکس میکروسکوپی

عکس برداری یکی از تکنیک‌های ساده اندازه گیری اندازه ذرات امولسیون های با اندازه میکرومتر است. این تکنیک معمولا برای مقایسه اندازه ذرات در تکنیک‌های مختلف استفاده می‌شود. شکل ۵ تصاویر میکروسکوپی نمونه‌های امولسیون چند لایه و ساده را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که نمونه‌های امولسیون دولایه اندازه ذرات بزرگتری نسبت به امولسیون‌های ساده دارند. نتایج تصاویر میکروسکوپی تایید کننده نتایج اندازه ذره دستگاه اندازه گیری اندازه ذرات می‌باشند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

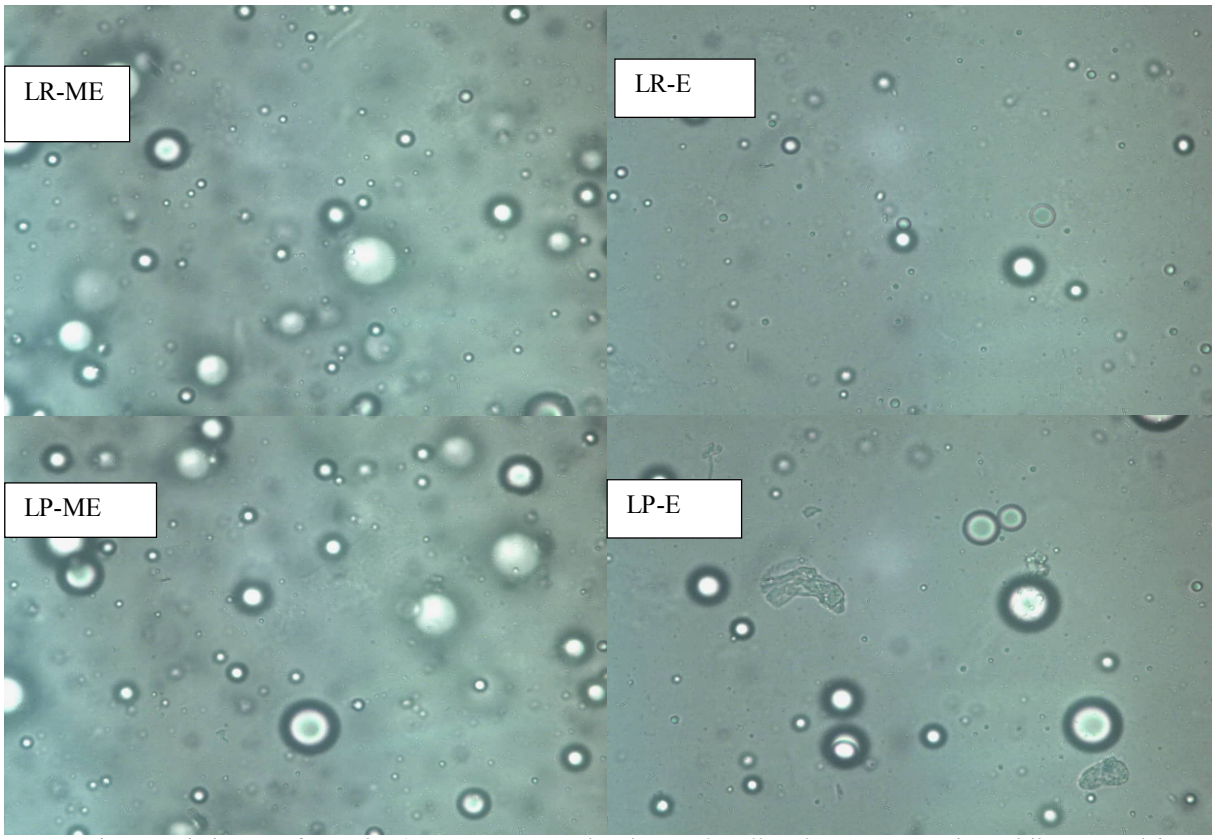

Fig 5 Microscopic image of samples (LR-ME: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in multilayer emulsion LR-E: encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simple emulsion %, LP-ME: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in multilayer emulsion, LP-E: encapsulated *Lactobacillus plantarum* in simple emulsion)

٤- نتیجه گیری کلی

هدف از این پژوهش بررسی اثر نوع باکتری (*لاکتوباسیلوس رامنسوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) و سیستم درون پوشانی (امولسیون چند لایه و ساده) بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، پایداری و زنده مانی باکتری‌ها بود. بررسی نتایج اندازه ذره، اسپن، پتانسل زتا، پایداری و زنده مانی باکتری های پروبیوتیک نشان داد که امولسیون های چند لایه تولیدی پایداری بالاتری نسبت به امولسیون های ساده داشتند و نوع باکتری تاثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های امولسیون‌ها نداشت. نتایج نشان داد درون پوشانی با امولسیون چند لایه بهترین روش برای نگهداری باکتری‌های پروبیوتیک بود. این تکنیک درون پوشانی یکی از روش‌های مناسب برای افزودن باکتری‌های پروبویتیک به غذاهای مایع یا غذاهای با فاز پیوسته آب مانند لبنیات (دوغ و ماست) و نوشیدنی‌ها است.

٥- منابع

[1] Wan, M. L., Ling, K., El-Nezami, H., & Wang, M. 2019. Influence of functional food components on gut health. Critical reviews in food science and nutrition, *59*(12), 1927-1936.

[2] Mousavi, Z.E., S.M., Mousavi, S.H., Razavi, Z., Emam_Djomeh, H., Kiani. 2011. Fermontation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World Microbiological and Biotechnological. 27:123-128.

[3] Zhao, H., Li, J., Zhang, Y., Lei, S., Zhao, X., Shao, D., Jiang, C., Shi, J., & Sun, H. 2018. Potential of iturins as functional agents: safe, probiotic, and cytotoxic to cancer cells. Food & function, *9*(11), 5580-5587.

[4] Min, M., Bunt, C. R., Mason, S. L., & Hussain, M. A. 2019. Non-dairy probiotic food products: An emerging group of functional foods. Critical reviews in food science and nutrition, *59*(16), 2626-2641.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

[5] Amalaradjou, M., Bhunia, A., 2012. Modern Approaches in Probiotics Research to Control Foodborne Pathogens. Advance in Food Nutrition and Research. 67, 185-224.

[6] Vernazza, C. L., Rabiu, B. A., & Gibson, G. R. 2006. Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics. P. 1-28. In G. R. Gibson., & R. A. Rastall. (ed.). Prebiotics: Development and Application. John Wiley & Sons, Ltd.

[7] Kavitake, D., Kandasamy, S., Devi, P. B., & Shetty, P. H. 2018. Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods–A review. Food Bioscience*, 21*, 34-44.

[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. 13, 23-34.

[9] 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.

[10] 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. Int Dairy J. 19: 209–214.

[11] Hosseini, S. M. H., Gahruie, H. H., Razmjooie, M., Sepeidnameh, M., Rastehmanfard, M., Tatar, M., Naghibalhossaini, F., & Van der Meeren, P. 2019. Effects of novel and conventional thermal treatments on the physicochemical properties of iron-loaded double emulsions. Food chemistry*, 270*, 70-77.

[12] Rajam, R., & Anandharamakrishnan, C. 2015. Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. LWT. 60(2), 773-780.

[13] Danner, T., & Schubert, H. 2001. Food colloids: Fundamentals of formulation. In D. Eric., M. Reinhard (Eds.), *Coalescence processes in emulsions* (pp. 116-124). Royal Society of Chemistry: Cambridge.

[15] Flores-Andrade, E., Pascual-Pineda, L. A., Alarcón-Elvira, F. G., Rascón-Díaz, M. P., Pimentel-González, D. J., & Beristain, C. I. 2017. Effect of vacuum on the impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* microcapsules in apple slices using double emulsion. Journal of Food Engineering. *202*, 18-24.

[14] Rodríguez-Huezo, M., Estrada-Fernández, A., García-Almendárez, B., Ludena-Urquizo, F., Campos-Montiel, R., & Pimentel-González, D. 2014. Viability of *Lactobacillus plantarum* entrapped in double emulsion during Oaxaca cheese manufacture, melting and simulated intestinal conditions. LWT, 59(2), 768-773.

[16] Pimentel-González, D. J., Campos-Montiel, R. G., Lobato-Calleros, C., Pedroza-Islas, R., & Vernon-Carter, E. J. 2009. Encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. Food Research International. 42(2), 292-297.

[17] Esteban, P. P., Jenkins, A. T. A., & Arnot, T. C. 2016. Elucidation of the mechanisms of action of Bacteriophage K/nano-emulsion formulations against *S. aureus* via measurement of particle size and zeta potential. Colloid and Surfaces B. *139*, 87-94.

[18] Becker Peres, L., Becker Peres, L., de Araújo, P. H. H., & Sayer, C. 2016. Solid lipid nanoparticles for encapsulation of hydrophilic drugs by an organic solvent free double emulsion technique. Colloid Surfaces B. *140*, 317-323.

[19] Aditya, N. P., Aditya, S., Yang, H., Kim, H. W., Park, S. O., & Ko, S. 2015. Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion. Food chemistry. 173, 7-13.

[20] 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.

[21] El Kadri, H., Lalou, S., Mantzouridou, F., & Gkatzionis, K. 2018. Utilisation of water-in-oil-water (W1/O/W2) double emulsion in a set-

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

type yogurt model for the delivery of probiotic *Lactobacillus paracasei*. Food Research International*, 107*, 325-336.

[22] 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.

[23] 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.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of viability of encapsulated Lactobacillus rhamnosus GG and Lactobacillus plantarum in multilayer emulsion and simple emulsion

Mahmoodi Poor, H. [1] , Marhamati Zade, M. H. [2]

1. Professional Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran.
2. Department of food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Kazeroon Branch, Islamic Azad University, Kazeroon, Iran

ARTICIE INFO

Article History:

Received 19 August 2020
Accepted 15 December 2020

Keywords:

Survival,
Lactobacillus rhamnosus,
Lactobacillus plantarum,
encapsulation,
Multilayer emulsion.

DOI: 10.52547/fsct.18.03.11

*Corresponding Author E-Mail:
hamed.mahmoodi1398@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of bacteria strain (*Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus plantarum*) and encapsulation system (multilayer and simple emulsion) on physicochemical, stability and viability characteristics of bacteria. Particle size of LR-ME (*Lactobacillus rhamnosus* embedded in multilayer emulsion), LR-E (*Lactobacillus rhamnosus* embedded in simple emulsion), LP-ME (*Lactobacillus plantarum* embedded in multilayer emulsion) and LP-E (*Lactobacillus plantarum* embedded in simple emulsion) was measured as 10.63, 3.53, 10.47 and 4.19 µm, respectively. Results showed that the multilayer emulsion samples had larger particle size than simple emulsion. But the bacteria strain had no effects on the particle size of the samples. Span showed that the simple emulsion samples had more dispersion than the multilayer emulsions. Zeta potential of LR-ME, LR-E, LP-ME and LP-E emulsion samples was measured -51.26, -39.35, -56.65 and -30.25 mV, respectively. Multilayer emulsion samples had lower negative zeta potential than simple emulsion, but the bacterial strain had no effect on the zeta potential of the samples. Multilayer emulsion samples had higher stability than simple emulsion, But bacterial strain had no effect on the stability of samples. The bacterial counts in LR (free *Lactobacillus rhamnosus*), LR-ME, LR-E, LP (free *Lactobacillus plantarum*), LP-ME and LP-E were measured 8.49, 8.48, 8.51, 8.41, 8.37 and 8.39 log cfu/g, respectively. The results showed that coating with multilayer emulsion is the best method for increasing the viability of probiotics.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-15]

[DOI: 10.52547/fsct.18.112.127]