نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۸، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۱، ص. ۱۹۹-۱۹۰

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 8, No. 2, Summer 2012, p. 190-199

تاثیر شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده لاکتوباسیلوس کازئی (*Lactobacillus casei*) در بستنی ماستی سین‌بیوتیک

النار میلانی[۱*] - هاجر نعیمی[۲]- سید علی مرتضوی[۳] - آرش کوچکی[۴]

تاریخ دریافت: ۸۹/۱۰/۲۰
تاریخ پذیرش: ۹۰/۵/۱۲

چکیده

در این تحقیق، بستنی ماستی سین بیوتیک حاوی سطوح مختلف اینولین (صفر، ۲/۵ و ۵ درصد) و باکتری *Lactobacillus casei* به عنوان باکتری پروبیوتیک، در دو شکل آزاد و ریزپوشانی شده با آلژینات-پروتئین آب پنیر تولید شد و بقای این باکتری‌ها در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده، طی ۳۰ روز انبارمانی در ^{o}C ۱۸- ، بررسی شد. بعد از یک ساعت قرارگیری در شرایط شبیه‌سازی شده معده (pH= ۲، آنزیم پپسین)، تعداد باکتری آزاد از ۹/۸۱۲log cfu/ml-۹/۷۸ به ۷/۲۶log cfu/ml-۶/۹۷ کاهش یافت درحالی‌که در نمونه‌های حاوی باکتری کپسوله از ۸/۶۶log cfu/ml-۸/۱۵ به ۷/۰۹ log cfu/ml-۶/۸۰ در پایان ۳۰ روز انبارمانی در ^{o}C ۱۸-، کاهش یافت. بعد از قرارگیری نمونه ها تحت شرایط شبیه‌سازی شده معده به مدت یک ساعت، به مدت ۲/۵ ساعت تحت شرایط شبیه‌سازی شده روده (pH= ۷/۴ ،آنزیم پانکراتین) قرار گرفتند که تعداد باکتری‌های آزاد بعد از این مدت از ۹/۳۵log cfu/ml-۸/۸۰ به ۵/۹log cfu/ml-۵/۱۵۹ در پایان ۳۰ روز انبارمانی در ^{o}C ۱۸- کاهش یافت، درحالی‌که تعداد باکتری‌های ریز پوشانی شده تحت شرایط شبیه‌سازی شده روده به مدت ۲/۵ ساعت بعد از قرارگیری تحت شرایط شبیه‌سازی شده معده، از ۸/۲۰log cfu/ml-۷/۳۸ به ۶/۷۷log cfu/ml-۶/۱۵ کاهش یافت. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در هر دو محیط بین نمونه‌های حاوی باکتری آزاد و ریزپوشانی شده وجود داشت ($p<۰/۰۵$). و همچنین باکتریهای ریزپوشانی شده حفاظت بهتری نشان دادند، تعداد باکتری‌های زیست پذیر ، در این حالت در دامنه پیشنهادی توسط کمیته بین المللی لبنیات ($۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$ cfu/g) بود.

واژه‌های کلیدی: بستنی ماستی، ریزپوشانی، آلژینات سدیم- پروتئین آب پنیر تغلیظ شده، سین بیوتیک، اینولین، *Lactobacillus casei* ، محیط شبیه‌سازی شده معده-روده، میکروسکوپ الکترونی *SEM*

مقدمه

طبق تعاریف مختلف "پروبیوتیک" را می‌توان به عنوان میکروارگانیسم زنده تعریف کرد که می‌تواند برای سلامت بدن انسان/حیوان به‌دلیل حفظ و بهبود تعادل میکروبی محیط روده مفید باشد. گزارش شده که پروبیوتیک‌ها با تعدیل ایمنی، کاهش کلسترول، بهبود تحمل نسبت به لاکتوز و جلوگیری از برخی سرطان‌ها نقش درمانی ایفا می‌کنند (Kailasa pathy, 2002).

زیست‌پذیری باکتری‌های پروبیوتیک در یک محصول هنگام مصرف، موضوعی مهم برای کارآیی آن‌هاست چون آن‌ها باید طی فرآوری و مصرف محصول غذایی زنده بمانند واز شرایط اسیدی بالای معده و آنزیم‌ها و نمک‌های صفرا در روده‌ی کوچک عبور کنند. مصرف پروبیوتیک‌ها در سطح $۱۰^{۹}$-$۱۰^{۸}$ cfu/g در هر روز مقدار معمول برای مصرف کافی پروبیوتیک است که برابر است با ۱۰۰گرم محصول غذایی با $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$ cfu/g (Kailasa pathy, 2002).

Lactobacillus casei یک باکتری پروبیوتیک، گرم مثبت، میله‌ای، غیر اسپورساز، هتروفرمنتاتیو و غیر متحرک است. اسید لاکتیک تولیدی این گونه از نوع L(+) است. *Lactobacillus casei* از مقاومت مطلوب به ونکومایسین برخوردار می باشند (همایونی، ۱۳۸۷).

بستنی ماستی یک دسر لبنی منجمد تخمیری پیچیده است که ویژگی‌های فیزیکی بستنی را با ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای فرآورده‌های شیر تخمیری ترکیب می‌کند. بستنی ماستی می‌تواند یک جایگزین سالم بستنی برای افرادی که از چاقی، بیماری های قلبی-

۱- مربی پژوهشی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email e_milani81@yahoo.com)
۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد سبزوار
۳ و ۴- استاد و استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

عروقی و عدم تحمل لاکتوز رنج می‌برند، تلقی می‌گردد(Soukoulis *et al.*, 2008).

اینولین و الیگوفروکتوز، جز مشهورترین پری بیوتیک‌ها بوده و نسبت به هیدرولیز در معده و روده‌ی کوچک مقاوم می‌باشند از این رو؛ به عنوان فیبر رژیمی و جایگزین چربی بر بافت و طعم فراورده اثر می‌گذارند (Akalin *et al.*, 2008).

ریز پوشانی فرایندی است که در آن سلول‌ها در یک بافت یا غشای کپسول‌دار نگه‌داری می‌شوند. یک میکروکپسول شامل یک غشای نیمه تراوا یا ناتراوا، کروی، نازک و محکم است که یک هسته‌ی جامد/مایع را دربرگرفته و قطر آن از چند میکرون تا یک میلی‌متر متغیر است (Doherty *et al.*, 2010). ظاهراً پروتئین‌های آب پنیر[1] کاندیدای بالقوه هستند چون کلاً از نظر زیستی قابل تجزیه‌اند و به طور گسترده در غذاهای مختلف کاربرد دارند. یکی از ویژگی‌های قابل توجه کنسانتره پروتیین آب پنیر، توانایی آن در نگهداری آب پس از دناتوره‌شدن می‌باشد. خاصیت تشکیل ژل کنسانتره پروتیین آب پنیر در بهبود قوام مواد غذایی بسیار موثر است که در نتیجه تشکیل ژل حین فرایند حرارتی غذا می‌باشد. تشکیل ژل توسط کنسانتره پروتیین بستگی به ترکیب آن، درجه حرارت، pH و فرایند تولید دارد. هر چه درصد پروتیین کنسانتره بیشتر باشد، تشکیل ژل بهتر صورت می‌گیرد. وجود مقادیر بالای لاکتوز و چربی مانعی در برابر ژله‌ای شدن به شمار می‌آید. pH اسیدی باعث تشکیل ژل ضعیف می‌شود. علت این امر تجمع و رسوب پروتئین‌ها می‌باشد.در نهایت باید به این نکته توجه داشت که انتخاب یک کنسانتره پروتیین در فرمولاسیون غذایی بستگی به ویژگی‌های مورد نظر در محصول نهایی دارد. در یک فراورده غذایی ممکن است به کنسانتره پروتیین با ویژگی تشکیل ژل قوی و در فراورده‌ای دیگر به کنسانتره پروتیین با ویژگی تشکیل ژل ضعیف‌تر نیاز باشد تا ویژگی‌های بافتی مورد پسند مصرف کننده نهایی حاصل گردد (Chandramouli *et al.*, 2004). هدف از این تحقیق تولید بستنی ماستی سین بیوتیک و ارزیابی بقای باکتری پروبیوتیک در دو فرم آزاد و ریز پوشانی شده، تحت شرایط شبیه‌سازی دستگاه گوارش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

باکتری پروبیوتیکی *Lactobacillus casei* دارای شماره بچ[2] ۲۴۶۸۳۳ به صورت لیوفلیزه از شرکت DSM، کشت‌های آغازگر ماست از لاکتینا، سیترات سدیم، سود ۱ نرمال، محیط کشتMRS، آنتی بیوتیک ونکومایسین[3]، آنزیم پپسین، آلژینات سدیم با ویسکوزیته متوسط و آنزیم پانکراتین از شرکت مرک آلمان، نمک املاح صفراوی از شرکت سیگما، کنسانتره پروتئین آب پنیر۸۰ درصد ،روغن کلزا، توین ۸۰، کلرور کلسیم، پپتون واتر، پودر شیر خشک پس‌چرخ (شرکت مولتی خراسان)، پانیسول، امولسیفایر، ترکیب پری‌بیوتیکی اینولین با نام تجاریorafti®HP، خامه ۳۰ درصد پگاه، وانیل، شکر، نمک طعام، اسید کلریدریک، میکروفیلتر ۰/۴۵.

آماده‌سازی کشت پروبیوتیکی

جهت آماده‌سازی باکتری *Lactobacillus casei* مقدار یک گرم از کشت به ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS Broth تلقیح و در دمای ۳۷ °C به مدت ۱۰ تا ۱۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. مقدار یک میلی‌لیتر از محیط فوق به ۹۹ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS Broth منتقل و در دمای ۳۷ °C به مدت ۱۰ تا ۱۲ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. کشت مذکور در طول هفته بر حسب تعداد سلول مورد نیاز به محیط کشت تازه انتقال داده و بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت گرمخانه‌گذاری در یخچال و در دمای ۴ °C نگه‌داری شد. هدف از انجام این کار دسترسی دائم به فاز لگاریتمی بود. سلول‌های پروبیوتیکی حاصل بعد از سانتریفوژHerolab در ۴۵۰۰×g به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای ۴ °C جداسازی وسپس عمل شستشوی سلول‌های جدا شده، دوبار با استفاده از محلول ۰/۱ درصد پپتون‌واتر تحت شرایط مذکور صورت گرفت و از آن جهت تلقیح مستقیم استفاده شد (Mokarram *et al.*, 2009).

ریزپوشانی باکتری پروبیوتیکی

روش آماده‌سازی مواد تشکیل دهنده دیواره طبق روشی که چن و سابیراد (۲۰۰۶) استفاده کردند، انجام شد، بدین صورت که ابتدا مقدار ۲ گرم از آلژینات سدیم با ویسکوزیته متوسط در۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از همزن مغناطیسی حل شد. سپس به مدت یک شب در یخچال ، در دمای ۴°C نگهداری شد تا آلژینات به خوبی آب جذب کند. سپس به بیرون از یخچال منتقل و مدتی در دمای آزمایشگاه قرار گرفت تا با محیط هم‌دما شود . مقدار ۸ گرم از پودر پروتئین آب پنیر۸۰ درصد را در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه برای مدت یک ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار داده، سپس سوسپانسیون فوق را به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق قرار داده، بعد با استفاده از سود ۱ نرمال، pH آن را به ۸ رسانیده، به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده، به دمای محیط رسانده و ۲ ساعت در دمای محیط نگهداری شد، سپس به نسبت ۲ :۱ با محلول آلژیناتی که قبلا تهیه شد ،مخلوط گردید، به مدت نیم ساعت در دمای محیط توسط همزن همزده و به مدت یک شب در یخچال ۱۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. عمل ریزپوشانی باکتری پروبیوتیکی

1 -WPC(whey protein concentration)
2-Batch number
3-Vancomycine

Lactobacillus casei با استفاده از روش ژلاتیناسیون خارجی که توسط تراستراپ (۲۰۰۲) و الان (۲۰۰۸) و رضائی‌مکرم و همکاران (۲۰۰۸) گزارش گردید، انجام شد. دانک‌های تشکیل شده، سپس با استفاده از سانتریفوژ در g × ۵۰۰ و در دمای ۴ °C به مدت ۵ دقیقه جداسازی و شستشو گردید. دانک‌های آلژینات سدیم-وی پروتئین حاصل، همانند بیومس، از آن جهت تلقیح مستقیم استفاده به عمل آمد (Homayouni *et al.*, 2004).

شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در دانک‌ها

جهت تعیین کارایی فرایند ریزپوشانی باکتری پروبیوتیکی، از روش رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۸) استفاده شد. این شمارش در سه تکرار صورت پذیرفت.

تولید بستنی ماستی

تولید بستنی ماستی مطابق روش میلانی و همکاران (۲۰۱۰) صورت گرفت. مقدار۹۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر با ۹/۱ گرم پودر شیر پس‌چرخ مخلوط، هموژنیزه و در دمای ۸۵°C، به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد. برای تولید ماست، ۷۰ درصد از کل شیر محاسبه شده برای تهیه بستنی ماستی، در دمای ۴۲°C با آغازگر آماده‌سازی شده تلقیح شد وبرای تهیه ماست گرمخانه‌گذاری گردید. پایان گرمخانه-گذاری، رسیدن به pH حدود ۴/۸ بوده است(Milani *et al.*, 2010). برای تولید فاز غیرماستی، ۳۰ درصد از شیر باقی‌مانده، ابتدا تا دمای ۴۵°C در حمام آب حرارت داده شد، سپس ترکیبات دیگر (مواد جامد) به آرامی به شیر اضافه شد و عمل هموژنیزاسیون مخلوط تا آنجایی که هیچ ذره یا کلوخه‌ای باقی نماند، صورت گرفت. سپس، خامه با ۳۰ درصد چربی به مخلوط اضافه شد. این مخلوط به مدت۲۰ ثانیه در حرارت ۸۰°C پاستوریزه و بعد دمای مخلوط به سرعت به زیر ۱۰°C رسانیده شد. ماست تهیه شده با فاز غیرماستی مخلوط و به مدت ۱۲الی۱۴ ساعت در دمای ۴°C نگه‌داری شد تا عمل رسانیدن مخلوط، کامل گردد. پس از اتمام این مرحله، دانک‌های آلژینات سدیم- پروتئین آب پنیر حاوی بیومس پروبیوتیکی به مخلوط بستنی ماستی تلقیح شد، عمل شمارش تعداد سلول پروبیوتیکی قبل و بعد از انجماد با استفاده از روش رقت‌سازی ۹ لوله‌ای و کشت مخلوط، انجام شد. بدین ترتیب که مقدار۱۰گرم از نمونه بستنی ماستی در۱۰۰ میلی‌لیتر از بافر سیترات سدیم ۱٪ w/v پراکنده شده و بعد به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق با استفاده از همزن مغناطیسی همزده شد. سپس یک میلی‌لیتر از محلول فوق داخل پلیت ریخته شده و با استفاده از محیط کشتMRS- Agar به همراه ونکومایسین مخلوط شد (۱۴و۱۷). این محیط کشت به عنوان محیط کشت انتخابی برای *Lactobacillus casei* که امکان شمارش این باکتری‌ها را در نمونه‌هایی که حاوی دیگر باکتری‌ها هستند، از جمله باکتری‌های موجود در ماست و پنیر، فراهم می‌آورد، بدین صورت که این آنتی‌بیوتیک از رشد باکتری‌های ماست و پنیر جلوگیری کرده و فقط *Lactobacillus casei* رشد می‌نماید. بعد از انجماد مخلوط در دستگاه بستنی ساز نیز طبق روشی که بیان شد، کشت صورت گرفت و همه نمونه‌ها به مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت و در دمای ۳۷°C تحت شرایط هوازی گرمخانه‌گذاری گردید. میانگین همه نتایج به‌دست آمده به عنوان واحدهای شکل‌گیری کلنی[1] در هر گرم از نمونه (cfu/g) بیان گردید. نمونه‌های بستنی ماستی حاوی باکتری‌های آزاد نیز در روش مشابهی (جایگزینی پپتون‌واتر ۰/۱ درصد با سیترات سدیم ۱٪ w/v) به منظور حفظ شرایط یکسان، کشت مخلوط داده شد.

شرایط شبیه‌سازی شده معده

مطابق روش آنان[2] و همکاران (۲۰۰۸)، پپسین به نمک طعام (0.2%w/v) اضافه گردید، تا غلظت‌نهایی آن در نمک به ۰/۳g/l برسد، pH را توسط HCl غلیظ به۲رسانده وبا میکروفیلتر ۰/۴۵ استریل شد. سپس براساس روش رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۸)، مقدار یک گرم از نمونه بستنی‌ماستی را داخل تیوب حاوی ۲۰ میلی‌لیتر از این محیط ریخته، مدت یک ساعت در انکوباتور۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده، سپس خارج نموده، با محلول سود خنثی نموده، نمونه‌های حاوی پروبیوتیک به صورت آزاد را با استفاده از روش رقیق‌سازی توسط پپتون واتر و کشت مخلوط ، کشت می‌دهیم، درحالی‌که نمونه‌های حاوی دانک را ابتدا در محلول سیترات سدیم ۱ درصد، بر روی همزن، همزده تا دیواره حل شده و بتوان توسط روش رقت‌سازی و کشت مخلوط، تعداد پروبیوتیک باقی‌مانده را بعد از ۴۸ تا ۷۲ ساعت که در دمای ۳۷ °C در محیط کشت انتخابی MRSAgar همراه با ونکومایسین، گرمخانه‌گذاری شده، شمارش نمود(Doherty *et al.*, 2010). این کار با ۳ تکرار برای هر نمونه انجام شد.

شرایط شبیه‌سازی شده روده

تهیه این محیط طبق روشی که آنان و همکاران (۲۰۰۸) بیان نمودند، صورت گرفت، بدین صورت که پانکراتین و نمک صفراوی در PB(NaH2PO4 0.05 mol/L ,pH=8) تا به ترتیب به غلظت نهایی ۱ gr/L، ۴/۵ gr/L برسد و بعد، با استفاده از ۰/۱ mol/L NaOH، pH را به ۷/۴ رسانیده و با فیلتر ۰/۴۵. استریل شد. سپس مطابق روش رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۸) انجام داد، بعد از اینکه نمونه بستنی‌ماستی تحت تاثیر محیط شبیه‌سازی شده معدی

1 -Colony forming units
2 -Annan

قرار گرفت، آن را به تیوبی که حاوی ۱۸ میلی‌لیتر محیط شبیه‌سازی شده روده میباشد، انتقال داده و ۲/۵ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده، وبقیه مراحل مانند آنچه در بخش۲-۵ گفته شد، انجام پذیرفت.

بررسی تیمارهای انجام شده

در این تحقیق از اینولین به عنوان یک ترکیب پری‌بیوتیکی در سه سطح (صفر، ۲/۵ و ۵ درصد) استفاده شد. همچنین کشت پروبیوتیکی در دو حالت ریزپوشانی شده و آزاد به محصول تلقیح شد. و در نهایت محصول در سطوح مختلف زمان نگهداری صفر، ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ روز بعد از قرار گیری تحت شرایط شبیه‌سازی شده معده-روده مورد ارزیابی قرار گرفت.

طرح آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در رابطه با بستنی‌ماستی با طرح آماری دو فاکتوره کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. برای انجام آنالیز واریانس از نرم‌افزار Minitab ver 13.1 و مقایسه میانگین‌ها از نرم‌افزار Mstatc استفاده شد. برازش خطوط و ترسیم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Slide Write انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر متقابل افزودن اینولین و مدت زمان رسیدگی بر بقای پروبیوتیک *Lactobacillus casei* در دو فرم آزاد و ریز پوشانی شده تحت شرایط شبیه‌سازی شده معدی

با توجه به داده‌های به‌دست آمده از جدول آنالیز واریانس، تأثیر افزایش اینولین، زمانی‌که یک ساعت نمونه‌های منجمد حاوی باکتری‌های آزاد و ریز پوشانی‌شده پروبیوتیک، تحت تأثیر محیط شبیه‌سازی شده معده (pH=2 و آنزیم پپسین) قرار گرفت، معنی‌دارنبود ($p>0/05$). اما تأثیر زمان و باکتری پروبیوتیک که به شکل ریز پوشانی‌شده و یا آزاد تلقیح شد، بربقای پروبیوتیک در محیط شبیه‌سازی شده معدی، معنی‌دار بود. ($p<0/05$) مشاهده گردید، با اضافه کردن باکتری به شکل ریز پوشانی‌شده، بقاء بیشتر سلول‌های زیست‌پذیر، به‌دست آمد. با سپری شدن سی روز دوره انبارمانی، در $-18^{o}C$ ، از تعداد باکتری‌های قابل زیست کاسته شد. تعداد باکتری‌ها در اولین روز تولید و پس از انجام عمل انجماد ، شمارش شد و در طی دوره انبارمانی ، در روزهای مختلف (۱، ۱۰، ۲۰ ، ۳۰) بقاء پروبیوتیک‌ها بعد از یک ساعت قرارگیری نمونه‌های بستنی‌ماستی حاوی لاکتوباسیلوس کازئی به صورت آزاد و ریز پوشانی شده و سطوح مختلف اینولین (صفر، ۲/۵، ۵ درصد) بررسی شد.

در مورد نمونه‌های حاوی پروبیوتیک *Lactobacillus casei*، در شکل ریز پوشانی‌شده، با افزایش اینولین تا سطح ۵ درصد، بقاء بالاتر باکتری‌ها مشاهده گردید که با توجه به شیب ملایم تر این نمونه‌ها، می‌توان به این موضوع پی‌برد.

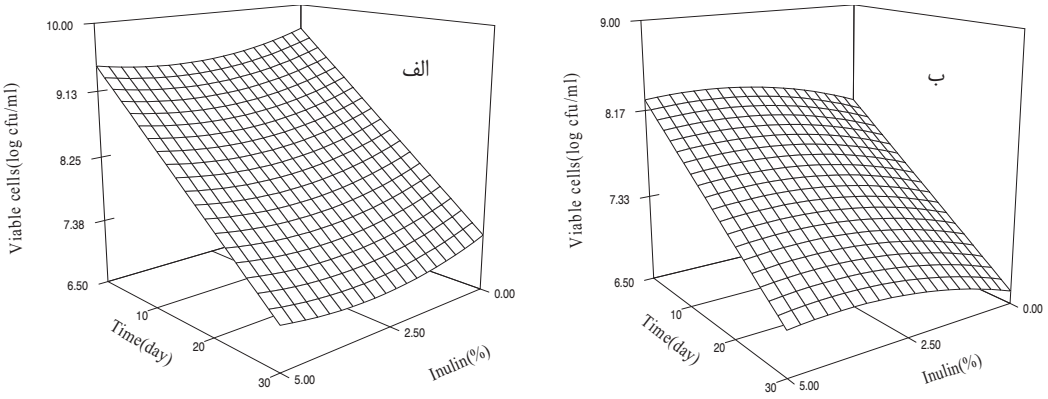
اما در مورد نمونه‌های حاوی *Lactobacillus casei* آزاد، در حضور سطوح مختلف اینولین، کاهش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک، روند کاهشی ثابتی را در طی سی روز انبارمانی و بعد از قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معده به مدت یک ساعت نشان داد. با مقایسه میانگین داده‌ها ، زمانی‌که سطوح اینولین ۲/۵ و ۵ درصد بود، در مورد نمونه‌های حاوی باکتری آزاد و ریز پوشانی‌شده ، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشده ($p>0/05$). کاهش بقاء باکتری‌ها هنگامی که نمونه فاقد اینولین بود، بعد از یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معدی، بین روزهای یکم و دهم، اختلاف معنی داری با هم نداشت ($p>0/05$). ولی بین روزهای دهم با روزهای بیستم و سی‌ام ، اختلاف معنی‌دار بود ($p<0/05$). که این مورد، درباره نمونه‌های حاوی ۲/۵ و ۵ درصد اینولین هم مشاهده شد. و بین روزهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p<0/05$). در مورد نمونه‌های حاوی باکتری آزاد، در طول دوره ۳۰ روز انبارمانی، اختلاف معنی‌داری در بقای باکتری‌ها مشاهده شد ($p<0/05$).

جدول ۱- بقاء *Lactobacillus casei* در بستنی‌ماستی فاقد اینولین در طی ۳۰ روز انبارمانی در $-18^{o}c$ و یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معده

زمان	تعداد باکتری پروبیوتیک log cfu/ml ± خطای استاندارد	
	حالت آزاد	حالت ریزپوشانی
۰(بعد انجماد و قبل از قرارگیری در محیط شبیه‌سازی شده)	۹/۸۰۱ ± ۰/۱۴۴	۸/۶۶۱ ± ۰/۲۶
۱	۹/۲۲۷± ۰/۰۲۱	۷/۳۸۹ ± ۰/۱۲۴
۱۰	۸/۹۹۸ ± ۰/۰۰۹	۷/۳۸۹ ± ۰/۰۱۲
۲۰	۸/۳۳۱ ± ۰/۱۴۲	۷/۰۹۴ ± ۰/۰۷۴
۳۰	۶/۹۷۲ ± ۰/۰۹۷	۶/۸۰۱ ± ۰/۱۴۴
R^2(ضریب تعیین)	۰/۹۲۷۸	۰/۶۴۱۸

جدول ۲- بقاء *lactobacillus casei* در بستنی‌ماستی حاوی ۵ درصد اینولین در طی سی روز انبارمانی در $-18^{\circ}C$ و بعد از یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معده

زمان	تعداد باکتری پروبیوتیک logcfu/ml ± خطای استاندارد	
	حالت آزاد	حالت ریزپوشانی
۰(بعد از انجماد و قبل قرارگیری در محیط شبیه‌سازی شده)	۹/۷۸ ±۰/۰۶	۸/۴۲۷±۰/۰۹
۱	۹/۳۵۵±۰/۱	۸/۰۲۱± ۰/۰۳
۱۰	۸/۲۵۶ ± ۰/۲	۷/۷۷۲± ۰/۱
۲۰	۷/۷۵۹ ± ۰/۴	۷/۵۴ ±۰/۰۸
۳۰	۷/۲۶۷ ± ۰/۰۱	۶/۸۰۱ ± ۰/۱۴
R^2(ضریب تعیین)	۰/۹۶۱۲	۰/۹۲۳۹



شکل ۱- اثر متقابل افزودن اینولین و زمان رسیدگی بر میزان بقاء *lactobacillus casei* آزاد (الف) و ریزپوشانی شده در نمونه‌های بستنی‌ماستی تحت محیط شبیه‌سازی شده معده

شمار باکتری‌های زیست‌پذیر بعد از انجماد در مورد نمونه‌های حاوی باکتری آزاد و سطوح مختلف اینولین بین log cfu/ml ۹/۸۱-۹/۷۸ بود که در پایان ۳۰ روز انبارمانی در $-18^{\circ}C$ و یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معدی، به log cfu/ml ۷/۲۶-۶/۹۷ رسید که حدود ۳- ۲/۵ سیکل لگاریتمی کاهش را نشان داد (جداول ۱و۲).

شمار باکتری‌های زیست‌پذیر بعد از انجماد در مورد نمونه‌های حاوی باکتری ریزپوشانی‌شده و سطوح مختلف اینولین بین log cfu/ml ۸/۶۶-۸/۱۵ بود که در پایان ۳۰ روز انبارمانی در $-18^{\circ}C$ و یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معدی، به log cfu/ml ۷/۰۹ - ۶/۸۰ رسید که که حدود ۱/۱۸ - ۱ سیکل لگاریتمی کاهش را نشان می‌داد (شکل۱-ب). از نتایج حاصل می‌توان دریافت که فرآیند ریزپوشانی به حفظ بقای پروبیوتیک تحت شرایط اسیدی بالا کمک کرده و افزایش اینولین نیز به عنوان ترکیب پریبیوتیکی، این اثر را تقویت می‌کند. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق در تائید نتایج رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۸) بود که بیان کردند که لاکتو باسیلوس اسید فیلوس در حالت فاقد کپسول در pH= ۲ پس از گذشت دو ساعت جمعیت اولیه آن‌ها پنج سیکل لگاریتمی کاهش یافت، که کپسولاسیون باآلژینات، به شکل معنی‌داری قابلیت زنده‌مانی این باکتری‌ها را افزایش داد. این نتایج با یافته‌های برخی از محققین تفاوت دارد. براساس نظر این گروه، در شرایط اسیدی، کپسولاسیون تأثیری بر زنده‌مانی باکتری های پروبیوتیک ندارد(Kim *et al.,* 2008).

کپسولاسیون *Lactobacillus rhamenosus* در آلژینات، بقاء آن را در pH=۲ تا ۴۸ساعت بهبود بخشیده درحالی‌که سلول‌های آزاد ، به طور کامل تخریب شدند (گودرسکا و همکاران ۲۰۰۳).

در تحقیقی که مندال و همکاران (۲۰۰۶) انجام دادند غلظت سلول‌های آزاد 10×10^{11} cfu/ml بود که در پایان ۱ و۳ ساعت در pH = ۱/۵، شدیداً تا log cfu/ml ۴/۲۵ - ۳/۳۸ کاهش یافت. به علاوه، بعد از سه ساعت در معرض شرایط شبیه‌سازی معدی قرار گرفت، بالاترین بقاء سلول‌ها در دانک‌های ۴ درصد آلژینات و بعد از آن ۳ و ۲ درصد، مشاهده شد. وی پروتئین ایزوله [1]دناتوره شده، حفاظت پروبیوتیکی به دنبال ۳ ساعت انکوباسیون در شرایط معدی در

1 - WPI(whey protein isolate)

۳۷ درجه سانتی‌گراد را بهبود بخشید (۸/۹ ±۰/۲ log cfu/ml). مقاومت بهبود یافته *Lactobacillus rhamenosus* GG در طول سیستم‌های هیدورلیز شده و تیمار شده حرارتی، به طوراحتمالی به خاطر ظرفیت بافری محیط پیرامون میکروبی می‌باشد و می‌تواند فاکتور کلیدی مسئول برای محافظت سلول توسط پروتئین‌های لبنی باشد. از این رو ساکن‌سازی در WPI تیمار شده حرارتی ، ممکن است یک مکانیسم موثر محافظتی برای *Lactobacillus rhamenosus* در محیط‌های اسیدی شدید، نظیر معده باشد که سرانجام اجازه دریافت روده‌ای موفق پروبیوتیک‌های زیست‌پذیر را می‌دهد (Doherty *et al.,* 2008). تخریب در محیط معده با توجه به آنچه انتظار می‌رفت، ادامه پیدا نکرد، بنابراین ممکن است گفته شود که قطعات هیدروفوبیک در معرض حرارت بالا در نواحی مرکزی تجمع یافته تشکیل شده ، پوشانده می‌شود که به طور بالقوه از رهاسازی سلول‌ها از شبکه پروتئینی جلوگیری می‌کند. (بیولیو[1] و همکاران ، ۲۰۰۲). حدود ۳log کاهش در زیست‌پذیری سلول‌های *Lactobacillus acidophillus* cscc2400 ریز پوشانی شده، بعد از ۳ ساعت انکوباسیون در pH =2 در مقایسه با ۵ log کاهش در سلول‌های آزاد وجود داشت درحالی‌که نژاد ریز پوشانی شده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس cscc2409 ریزپوشانی شده ، ۲log کاهش را در مقایسه با ۴ log کاهش در تعداد سلول‌های آزاد، تحت شرایط مشابه، نشان داد (Chandramouli *et al.,* 2004).

چاند را مولی و همکاران (۲۰۰۴) افزایش قابل توجه در لاکتو باسیلوس اسیدوفیلوس زیست‌پذیر در pH= ۲ را زمانی که در آلژینات ریزپوشانی شده بود، گزارش کردند.

تأثیر متقابل افزودن اینولین و مدت زمان رسیدگی بر بقاء پروبیوتیک *Lactobacillus casei* در دو فرم آزاد و ریز پوشانی شده تحت شرایط شبیه‌سازی شده روده:

در روز اول پس از تولید (بعد از انجام فرایند انجماد) تعداد باکتری‌های با قابلیت زیستی، بعد از یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی معدی، زمانی‌که نمونه‌های بستنی‌ماستی حاوی پروبیوتیک در شکل آزاد و سطوح مختلف اینولین بود، بین log ۹/ ۳۵cfu/ml– ۸/۸۰ به‌دست آمد که بعد از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در معرض محیط شبیه‌سازی شده روده (آنزیم پانکراتین و pH= ۷/۴)، بعد از طی ۳۰ روز انبارمانی مقدارآن به log cfu/ml ۵/۹–۵/۱۵ رسید. (جداول۳و۴) که نسبت به ابتدای فرآیند تولید و قبل از قرار گرفتن تحت شرایط شبیه‌سازی شده معدی– روده‌ای حدود ۴ – ۳ سیکل لگاریتمی کاهش در را نشان داد، در صورتی که تعداد باکتری‌های با قابلیت زیستی، در نمونه‌های حاوی باکتری ریزپوشانی شده، در روز اول پس از تولید و بعد از یک ساعت قرارگیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده معدی، بین log cfu/ml ۸/۲۰ – ۷/۳۸ بود که بعد از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در معرض محیط شبیه‌سازی شده روده، log cfu/ml ۶/۷۷ –۶/۱۵ در انتهای ۳۰ روز انبارمانی در ۱۸̊C– رسید که حدود ۲/۵– ۲ سیکل لگاریتمی کاهش در بقای باکتری‌ها رانشان داد (جداول ۳و۴).

بقاء باکتری‌ها در بستنی ماستی حاوی باکتری‌های آزاد و دارای سطوح مختلف اینولین، روند کاهش، در طول ۳۰ روز انبار مانی بعد از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در معرض محیط شبیه‌سازی شده روده را به‌صورت یکنواخت برای سه سطح اینولین (۰، ۲/۵ و ۵ درصد) نشان داد (شکل۲–الف). بقاء باکتری‌ها در بستنی‌ماستی حاوی باکتری‌های ریزپوشانی شده دارای سطوح مختلف اینولین، روند کاهشی در طول ۳۰ روز انبارمانی بعد از ۲/۵ ساعت قرار گرفتن در معرض محیط شبیه‌سازی روده، برای نمونه‌های فاقد اینولین، بیشتر و با شیب تندتر بود که با افزایش اینولین، شیب نمودار ملایم‌تر شده و کاهش کمتری را نشان داد، به طوری‌که نمونه‌های حاوی ۵ درصد اینولین و باکتری ریزپوشانی شده، بقاء بیشتر باکتری‌های پروبیوتیکی را نشان داد (شکل۲–ب).

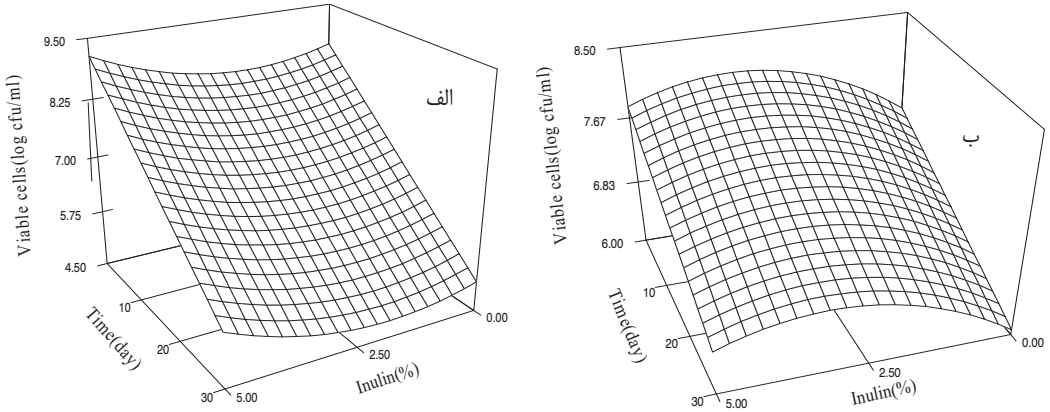
جدول۳- بقاء لاکتوباسیلوس کازائی در بستنی ماستی فاقد اینولین در طی ۳۰ روز انبارمانی در ۱۸̊C- بعد از ۲/۵ ساعت قرار گیری در معرض محیط شبیه‌سازی شده روده.

زمان	تعداد باکتری پروبیوتیک log cfu/ml ±خطای استاندارد	
	حالت آزاد	حالت ریزپوشانی
۰ (بعد از یک ساعت قرارگیری درمحیط شبیه‌سازی شده معده)	۹/۲۲۷ ±۰/۰۲	۷/۳۸ ±۰/۱
۱	۸/۴۳ ±۰/۰۴	۷/۰۶ ± ۰/۰۲
۱۰	۷/۰۹۴ ± ۰/۰۷	۶/۷۴± ۰/۰۴
۲۰	٦/۰۷۸ ± ۰/۰۵	۶/۰۵۴± ۰/۰۸
۳۰	۵/۱۵۹ ± ۰/۰۶	۶/۱۵۱ ± ۰/۲
R^2(ضریب تعیین)	۰/۹۷۹۴	۰/۹۵۸۲

1 - Beaulieu, et. al.

جدول٤- زنده مانی Lactobacillus casei بعد از ۲/۵ ساعت قرار گیری در معرض محیط شبیه سازی شده روده ای در بستنی ماستی حاوی ۵ درصد اینولین در طول ۳۰ روز انبار مانی درC°۱۸-

زمان	تعداد باکتری پروبیوتیک log cfu/ml ±خطای استاندارد	
	حالت آزاد	حالت ریزپوشانی
۰ (بعد از یک ساعت قرارگیری درمحیط شبیه‌سازی شده معده)	۹/۳۵۵ ± ۰/۱	۸/۰۲۱ ± ۰/۰۳
۱	۸/۵۳۷ ± ۰/۳۷	۷/۵ ± ۰/۲۸
۱۰	۷/۸۷ ± ۰/۲	۷/۱۸۲ ± ۰/۲
۲۰	۶/۹۶۲ ±۰/۱۶	۷/۰۴ ± ۰/۰۶
۳۰	۵/۹ ± ۰/۰۷	۶/۷۷۲ ± ۰/۱
R^2(ضریب تعیین)	۰/۸۳۴۴	۰/۹۶۱۲



شکل ۲ – اثر متقابل افزودن اینولین و زمان رسیدگی بر میزان بقاء *Lactobacillus casei* آزاد (الف) وریزپوشانی شده در نمونه‌های بستنی ماستی تحت محیط شبیه‌سازی شده روده

در طول زمان نگهداری۳۰ روزه درC°۱۸- ، بعد از ۲/۵ساعت قرارگیری در محیط شبیه‌سازی شده روده، کاهش معنی‌داری در بقاء پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های بستنی‌ماستی حاوی سه سطح اینولین در روزهای مختلف (صفر، ۱ ، ۱۰ ، ۲۰ و۳۰) وجود دارد($p<۰/۰۵$). تأثیر همه تیمارها (اینولین، زمان، حالت آزاد و ریزپوشانی شده پروبیوتیک‌ها *Lactobacillus casei*) بر میزان بقاء در محیط شبیه‌سازی شده روده ۲/۵ ساعت، معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

به‌طورکلی قابلیت زنده‌مانی *Lactobacillus acidophilus* در شرایط ترکیبی معده و روده، کمتر از حالت معده به تنهایی است که نتایج به‌دست آمده با نتایج تحقیق رضایی مکرم و همکاران (۲۰۰۸) همخوانی دارد، آن‌ها دلیل آن را نامناسب بودن pH روده (۷/۲۵) برای این باکتری اسید دوست دانستند. البته باید توجه داشت که مقاومت باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی در برابر صفرا، گویای رفتار واقعی آن‌ها در دستگاه گوارش نیست، زیرا همانند سایر شوک‌های فیزیولوژیک، شبیه‌سازی واقعی آن‌ها مشکل است. بسیار مشاهده می‌شود که عوامل محیطی باعث تقویت یا تضعیف رفتار میکروارگانیسم در برابر شرایط خاص می‌شود. بعلاوه، برخلاف شرایط آزمایشگاهی، مقدار اسیدهای صفراوی در روده ثابت نیست و تا زمان مصرف غذاهای پرچرب، مقدار این ترکیبات در روده بسیار کم است، این خود عاملی است که می‌تواند در جهت سازگار شدن باکتری‌ها و افزایش مقاومت آن‌ها در برابر صفرا عمل کند. بعلاوه، وجود مواد غذایی در روده می‌تواند سبب ایجاد سپر حفاظتی برای میکروارگانسیم‌ها شود و برخی از پروبیوتیک‌ها بدون اینکه با صفرا تماس یابند، در روده به فعالیت بپردازند .

فعالیت نمک‌های صفراوی در شرایط آزمایشگاهی ممکن است بسیار بیشتر از عمل واقعی آن‌ها در روده باشد، زیرا در روده امکان ترکیب این نمک‌ها با فسفولیپیدها نیز وجود دارد. از سوی دیگر، علت را می‌توان وجود آنزیم پانکراتین و اثر آن بر روی تجزیه دیواره سلولی باکتری‌های پروبیوتیک از طریق انجام فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم در مورد سلول‌های باکتریایی در حالت آزاد دانست و نیز در مورد سلول‌های باکتریایی ریز پوشانی شده، علت را می‌توان تجزیه دیواره دانک از طریق فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم بر روی WPC به کار رفته

در پوشش دانک دانست. کـه آن را زودتـر در معـرض محـیط روده و صفرا قرار می‌دهد نسبت به نتایج کار سایر محققان (رضـایی مکـرم و همکاران، ۲۰۰۸) که از آنزیم در محیط شبیه‌سـازی اسـتفاده نکردنـد. نتایج تحقیق مندال[1] و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که سلول‌هـای آزاد *Lactobacillus casei* -NCDC، وقتی به ترتیـب در معـرض ۱ و۲ درصد نمک صفراوی به مدت ۱۲ سـاعت قـرار گرفتنـد، از ۹/۴۵ log cfu/ml بـه ۷/۲۹ و از ۹/۳۴ بـه log cfu/ml ۵/۶۰ کـاهش یافت. زنده‌مانی *Lactobacillus casei* متناسب با مدت زمانی کـه در معرض نمک صفراوی قرار گرفـت، کـاهش یافـت و بقـاء بـالاتر سلول‌ها در کپسولاسیون با آلژینات بـه‌دسـت آمـد(Mandal *et al.,* 2006).

در تحقیق چاندرامولی[2] و همکاران (۲۰۰۴)، نتایج بـه‌دسـت آمـده نشان داد که یک سیکل لگاریتمی و ۰/۸ سیکل لگاریتمی کاهش در تعـداد سـلول‌هـای زیسـت‌پـذیر *Lactobacillus acidophillus* ۲۴۰۰ CSCC و ۲۴۰۱ CSCC به ترتیـب وجـود داشـت. در غلظـت ۱/۵ درصـد نمـک صـفراوی[3] بعـد از ۶ سـاعت انکوباسیون در۳۷ در جه سانتی‌گراد فقط ۰/۵سـیکل لگـاریتمی وlog ۰/۳کاهش در تعداد سلول‌های زیست‌پذیر لاکتو باسیلوس ریز پوشانی شده ۲۴۰۰ CSCC و ۲۴۰۹ CSCC به‌ترتیب تحت شرایط مشابه، وجود داشت(Chandramouli *et al.,* 2004).

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، در تناقض با نتایج گیلـداس و همکاران (۲۰۰۹) می‌باشد که بیان کردنـد ریزپوشـانی بـاکتری‌هـا در مهره های آلژینات، به شکل مؤثر از ارگانیسم‌هـا در برابـر اسـیدیته‌ی بالا محافظت نکرد. چاندرا مولی و دیگـران دریافتنـد کـه کپسـول‌دار کردن *Lactobacillus acidophillus* در آلژینات به میـزان زیـادی زیست‌پذیری در نمک صفراوی یک درصد را افزایش داد(Mandal *et al.,* 2006).

شمارش تعداد باکتری‌های بدام افتاده در دانک‌ها و تعیـین ریخت شناسی دانک‌ها:

نتایج به‌دست آمده نشان داد که تعداد سلول‌های زنـده باکتریـایی قبـل از ریزپوشـانی بـا آلژینـات سـدیم-WPC برابـر log cfu/ml ۱۰/۱۱ الی log cfu/ml۱۰/۳۰ بوده است، که بعـد از فرایند ریزپوشانی، تعداد سلول زنده باکتریایی بـه دام افتـاده، برابـر بـا log cfu/ml ۹/۳۸ الی log cfu/ml ۹/۴۴ بود.

بنابراین با مقایسه تعداد سلول زنده در این دو حالت، یعنی قبـل و بعد از فرآیند ریزپوشـانی، ایـن نتیجـه حاصـل مـی‌گـردد کـه فراینـد ریزپوشانی با روش امولسیونی، توانسته راندمان بالایی در به دام‌اندازی سلول پروبیوتیکی داشته باشد. روشی که در این پژوهش استفاده شـد، روش ژلاتیناسیون خارجی بود کـه قـبلاً توسـط تراسـتراپ (۲۰۰۲) و الان (۲۰۰۸) گزارش شد.

در این روش دانک‌هایی با قطر کم‌تر از ۱۰۰ میکرومتر تولید شد. این امر نشان می‌دهد که با این روش می‌تـوان دانـک‌هـایی بـا قطـر میکرونی تهیه کرد و با استفاده از آن، بافت نرم‌تری را در مواد غـذایی ایجاد کرد. در تحقیقی که رضایی مکرم و همکاران در (۲۰۰۹) انجـام دادند، مشاهده با روش SEM از نظر شکل ظاهری، کپسول‌هـایی بـا ظاهری کاملاً کروی را نتیجه داد. این نتایج با آنچه در این تحقیق به دست آمد، مطابقت داشته و همچنین با گزارش تراستراپ و همکـاران (۲۰۰۲) که اظهار کردند دانک‌های بزرگتر از یـک میلـی‌متـر موجـب خـشن شـدن بافـت افزودنـی‌هـای غـذایی مـی‌شـود، مطابقـت دارد. همان‌گونه که در شکل(۳) مشخص است، با روش امولسیونی می‌توان دانک‌هایی یک شکل، منظم و کروی تولید کرد. نیز مـشاهده گردیـد که آلژینات به خوبی باکتری‌هـا را پوشـش داده و دیـواره‌ای کـروی و یکنواخت را تشکیل داده، که WPC به عنـوان مـاده پوشـش دهنـده دانک عمل کرده و در بعـضی قـسمت‌هـا پوشـش دو لایـه‌ای دانـک مشاهده گردید. شاه و مارشال (۱۹۹۳) گزارش کردند که قطر متوسـط ۳۰ μm بـرای اسـتفاده در دسـرهای لبنـی منجمـد مناسـب اسـت. مهره‌های بزرگ باعـث سـختی بافـت شـیر یخـی شـد، درحـالی‌کـه مهره‌های کوچک، حفاظت کـافی را بـرای بـاکتری‌هـا فـراهم ننمـود (Homayouni *et al.,* 2006).

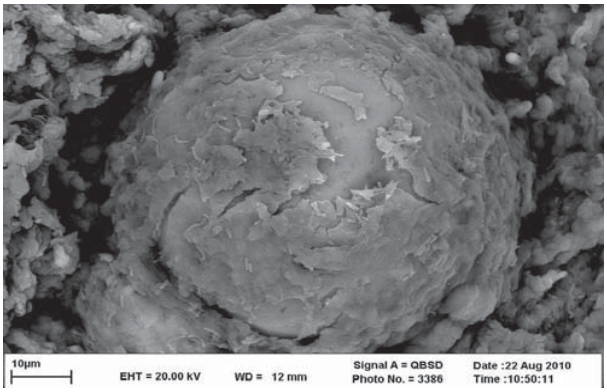
سلطانا و همکاران (۲۰۰۰) بهبود در بـازده کپـسولاسیون لاکتوبـا سیلوس کـازئی را در دانـک‌هـای آلژینـات، همـان‌گونـه کـه غلظـت بیوپلی‌مر با افزایش نشاسته مقاوم *Hi-maize* در درصـدهای وزنـی از صفر تا ۲ افـزایش یافـت، را گـزارش کردنـد. تراسـتراپ و همکـاران (۲۰۰۵)، گزارش کردند که دانک‌های خیلی بـزرگ ۱۰۰۰ μm منجـر به زبرشدن بافت در غذاهای مکمل شده با باکتری‌های زنـده شـده، و دانک‌های کوچک با سایز کم‌تـر از ۱۰۰ μm بـه گونـه‌ای معنـی‌دار، باکتری‌هـای پروبیـوتیکی را در محـیط معـدی شـبیه‌سـازی شـده در مقایسه با سلول‌های آزاد محافظت نمودنـد(Chandramouli *et al.,* 2004).

پروبیوتیک‌ها هنگامی که در آلژینات کلسیم پوشش یافتـه بودنـد، ۳۰ درصد بیشتر از زمانی که پوشش نداشتند، زنـده ماندنـد. مطالعـات نشان داد که کنترل اندازه ریز دانک‌های آلژینات با استفاده از سـرعت هـم زدن (۴۰۰ rpm بـرای ۲۰ دقیقـه) امولـسیون جهـت تولیـد دانـــک‌هـــایی در محـــدوده ۱۰ تـــا ۳۰ میکرومتـــر را ممکـــن ساخت(Homayouni *et al.,* 2006).

1 - Mandal et. al
2 - Chandramouli et. al
3 - Bile salf

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش، نشان داد که عمل ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک و افزودن ترکیب پری‌بیوتیک اینولین به محصول بستنی‌ماستی، نقش اساسی در حفظ و افزایش زنده‌مانی *Lactobacillus casei* در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش انسان داشته و بقاء این باکتری‌ها با مقادیر پیشنهادی از سوی فدراسیون بین المللی لبنیات[1] (10^{6}-10^{7}cfu/g)در این محصول مطابقت دارد، که آن را می‌توان به عنوان یک محصول دارای خواص سلامت بخشی بالا برای تولید صنعتی، معرفی نمود.



شکل۳- تصویر میکروسکوپ الکترونی ازدانک‌های آلژینات-وی پروتئین(wpc) حاوی باکتری بدام افتاده *lactobacillus casei*

منابع

رضایی مکرم، رضا. سیدعلی، مرتضوی. محمدباقر. حبیبی نجفی. فخری، شهیدی. مرتضوی، خمیری.۱۳۸۸. اثر میکروانکسپولاسیون آلژنیات کلسیم بر قابلیت زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ptcc1643 در شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده انسان. هجدهمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی ایران. مشهد.-۹۴-۹۳.

میلانی، الناز. بقایی، هما. مرتضوی، سید علی.۱۳۸۹. اثر جایگزینی عسل خرما و گوار بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی دسر بستنی‌ماستی کم چرب پرتقالی. مجله علمی-پژوهشی (پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران)، دانشگاه فردوسی مشهد. ۷(۲):۱۲۰-۱۱۵

همایونی، عزیز. ۱۳۸۷. خواص سلامت بخش غذاهای فراسودمند، پروبیوتیک، پری بیوتیک و سین بیوتیک. تبریز. انتشارات دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز.

Akalin A.S and Erisir .D. 2008. Effects of Inulin and oligo fructose on the Rheological characteristics and probiotic culture survival in low- fat probiotic Ice cream. *JFS* M: *Food Microbiology and Safty*, 73(4); 184-188

Allan. P- L. Woj tas, truelstrp Hansen, Daulson. A. T. 2008. Micro structural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and a hydrous fixation. *LWT,* 41; 101-108.

Annan.N.T, Borza.A.D, Truelstrup Hansen.L.2008.Encapsulation in alginate coated gelatin microspheres improves survival of the probiotic bifidobacterium adolescentis 15703T during exposure to simulated gastro-intestinal conditions.*Food Research International*, 41: 184-193.

Chandramouli.V, Kailasapathy, .K. P.peireis, Jones .M. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect lactobacillus spp. In simulated gastric conditions. *Journal of Microbilogical Methods*, 56: 27-35.

Doherty. S.B, Gee. V.L., Ross, .R.P. Stanton. C, Fitzgerald .G-F, Brodkorb .A. 2010. Efficacy of whey protein gel networks, as potential viability- enhancing scaffolds for cell immobilization of lactobacillus

1-International Dairy Federation

rhamnosus GG. *Journal of Microbiological Methods*, 80; 231-241.

Gildas komenan Gbassi, Thierry randamme, said Ennahar, Eric Marchioni .2009. Microencapsulation of lactobacillus plantarum spp in an alginate matrix coated with wehy proteins. *International Journal of Food Microbilogy*, 129: 103-105.

Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S. & Razavi, S. H., 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111; 50-55.

Kailas pathy, Kaila. 2002. Microencapsulation of probiotics Bacteria. Technology and potential Applications. *Curr. Issues Intest. Microbial*, 3, 39-48.

kim, S., Cho, S., kim, S., ok- Ja song, II- Shink shin, Dong su cha, Hyun Jin park. (2008). Effect of microencapsulation on viability and other, characteristics in *lactobacillus acidophilus* ATCC 43121. *LWT*, 41; 493-500.

Lingyun Chen, Muriel subirade .2006. Alginate- whey protein granular mic rospheres as oral delivery vehicles for bioactive compounds. *Biomaterials*, 27; 4646-4654.

Mandal,. S, Puniy. A.K, singh. K. 2006. Effects of alginate concentrations on survival of microencapsulated lactobacillus casei NCDC. 298. *International Dairy Journal*.16; 1190- 1195.

Michael, phillip.Kailasapathy, kasipathy.Tran, Lai. 2006. Viability of commercial probiotic culture (*Lacidophilus, Bifidobacterium sp., L.casei, L.paracasei and L.rhamnosus*) in cheddar cheese. *International Journal of Food Microbiology*.108:276-280

Milani, elnaz.Koocheki, arash. 2011. The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low fat frozen yoghurt dessert. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1): 121–129

Mokarram, R., Mortazavi, S.A., Habibi Najafi M.B., F. Shahidi, 2009. The influence of alginate microencapsulation on survivability of microencapsulated probiotic Lactobacillus acidophilus PTCC 1643 in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International* 42:1040-1045

Navidghasemizad,sahar.Hesari,Javad.Saris,Per and Nahaei,mohammad raza. 2009.Isolation of lactic acid bacteria from Lighvan cheese,a semi-hard cheese made from raw sheep milk in Iran.*International Journal of Dairy Technology*,260-264.

O.Sandoval- castilla, C. lobato- calleros, H.S. Garcia- Galindo, J. Alvarez- Ramirez, E. J. Vernon- carter .2009. Textural properties of alginate- pectin beads and survivability of entrapped lb. casei in simulated gastro intestinal conditions and in yogurt. *Food Research International*, 43(1); 111-117

Pimentel-Gonzalez.D.J., Campos-Montiel.R.G, Lobato-Calleros.C, Pedroza-Islas. R .2009. Encapsulation of *lactobacillus rhamnosus* in double emulsions formulated with sweet whey as emulsifier and survival in simulated gastrointestinal conditions. *Food Research International*, 42; 292-297.

Soukoulis. Ch and Zia C .2008. Impact of the acidification process, hydrocolloids and protein fortifiers on the physical and sensory properties of fro Zen yogurt. *International Fournal of Dairy Technology*, 2: 170-177.