بررسی تولید مارمالاد فراسودمنده هویج حاوی پروبیوتیک انکپسوله شده با حامل های مقاوم به حرارت

بیتا حکیم عطار[۱]، **وحید حکیم زاده[۱]***

[۱] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۸

چکیده

استفاده از پروبیوتیک‌ها در موادخوراکی به زنده‌مانی آن‌ها طی فرآوری حرارتی وابسته است. در این راستا ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با حامل‌های مقاوم به حرارت به عنوان تکنیکی مفید در نظر گرفته شده است. مارمالاد به عنوان یک صبحانه یا میان‌وعده ی جذاب و پرطرفدار، پتانسیل بالایی برای غنی شدن با ریزکپسول‌های پروبیوتیک دارد. در این تحقیق از آلژینات سدیم، کنستانتره آب پنیر و صمغ فارسی به عنوان حامل‌های مقاوم به حرارت برای ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* استفاده شد و بهترین فرمول آن بر اساس بازدهی پروبیوتیک‌های زنده‌مانده، به مارمالاد هویج با بریکس ۷۰ اضافه و به روش ترموفرمینگ بسته بندی شد. پس از بسته بندی مارمالاد، میزان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها طی نگهداری و میزان زنده‌مانی آن در محیط شبیه سازی شده‌ی معده و روده در کنار آزمون بافت و ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفت تا به عنوان یک محصول فراسودمند ارزیابی گردد. نتایج نشان داد که مقدار پروبیوتیک فعال در مارمالاد پس از ۶۰ روز نگهداری به حدود $۱۰^{۶} \times ۰/۹۱$ (۵/۹۵ لگاریتم واحد کلنی) رسید. همچنین با فرمولاسیون انتخابی، تعداد پروبیوتیک‌ها در محیط شبیه سازی شده‌ی معده و روده طی ۱۲۰ ساعت فقط ۲ سیکل لگاریتم کاهش داشت که این مقدار در مورد سلول‌های آزاد حدود ۶ سیکل لگاریتمی بود. بررسی بافت مارمالاد هویج از نظر سفتی و قوام تا روز نهایی نگهداری درنظر گرفته شده نیز حاکی از افزایش این دو فاکتور بود. در ارزیابی حسی اگرچه ارزیابان تفاوتی بین احساس دهانی و رنگ قائل نبودند اما امتیاز بالاتری را برای بو و مزه در نمونه ی شاهد در نظر گرفتند.

واژه‌های کلیدی : آلژینات سدیم، پروبیوتیک، ریزپوشانی، صمغ فارسی، مارمالاد

* v.hakimzadeh@yahoo.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

مقدمه

امروزه با توجه به اهمیت سلامت و کیفیت مواد غذایی و توجه هر چه بیشتر مصرف کنندگان به رفع نیازهای بدن از راه مصرف موادغذایی مناسب و سالم و از طرفی با توجه به کمبود برخی ریزمغذی ها و ترکیبات فراسودمند در جوامع انسانی بخصوص در برخی از دوره های زندگی، استقبال از تولید، واردات و مصرف غذاهای غنی شده و فراسودمند رو به افزایش است(۱). پروبیوتیک‌ها، مکمل‌های غذایی هستند که از مزایای سودمند آنها می-توان به برقراری تعادل در فلور میکروبی روده اشاره کرد. البته پروبیوتیک‌ها دارای فواید زیادی شامل کاهش کلسترول خون، مقابله با برخی از انواع سرطان، کمک به سیستم ایمنی بدن، جلوگیری از اسهال کودکان، بیماری‌های ادراری تناسلی، پوکی استخوان، آلرژی غذایی و کنترل بیماری‌های التهابی روده و محافظت در برابر سرطان کولون و مثانه هستند(۲). زنده مانی پروبیوتیک ها، پارامتر اصلی بکاربردن آن ها در غذاهای پروبیوتیک است و فعالیت مطلوب آن‌ها با موانعی همچون اسیدیته، اکسیژن، رطوبت، استرس‌های حین فرآیند و دمای انبارداری مواجه است(۳). بنابراین تکنیک های مختلفی از جمله ریزپوشانی با هدف افزایش محافظت و پایداری پروبیوتیک ها به کارگرفته شده است که در این رابطه انتخاب یک حامل مناسب برای پروبیوتیک ها قدمی مهم برای تولید موفق غذای فراسودمند است. حامل‌های رایج و موثر در فرآیند ریزپوشانی ترکیبات فراسودمند، مواد بیوپلیمری نظیر کربوهیدرات ها (مالتودکسترین ها و مواد جامد شربت ذرت، نشاستهٔ اصلاح شده، سیکلودکسترین‌های طبیعی و اصلاح شده، ساکارز، کیتین، کیتوزان و سلولز)، صمغ ها (عصارهٔ جلبک دریایی، صمغ های ترشحی و صمغ میکروبی)، چربی ها (موم ها، استو آسیل گلیسرول ها ، لستین ها، لیپوزوم ها) و پروتئین ها می‌باشند(۴) . همچنین فناوری نانو به عنوان یک تکنولوژی جدید می تواند ترکیبات فراسودمند مانند پروبیوتیک‌ها را به شکل نانوکپسول یا نانوامولسیون فرموله کرده تا ضمن کمترین تاثیر بر آن‌ها خصوصیات مفیدشان را حفظ و دسترسی زیستی آن ها را در روده بهبود بخشد (۵) . از آنجاییکه لازمه‌ی اثر گذاری پروبیوتیک ها بر سلامت بدن، زنده_مانی آن ها طی فرآوری مواد غذایی و همچنین مقاومت در برابر تنش اسیدی و قلیایی معده و روده می باشد لذا انتخاب حامل مناسب برای ریزپوشانی این ترکیبات امری ضروری در جهت استفاده آن ها در غذاهای مختلف است. از جمله ترکیباتی که در تحقیقات متعدد برای ریزپوشانی پروبیوتیک ها مدنظر قرار گرفته است می توان به آلژینات، کیتوزان، صمغ ها، نشاسته، پروتئین آب پنیر و ژلاتین اشاره کرد(۶) . در تحقیقی توسط دوهرتی[۲] و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش شد که پروتئین های آب پنیر در محافظت پروبیوتیک ها در برابر محیط شبیه سازی معده به مدت ۳ ساعت موثر واقع شده است (۷). آلژینات نیز از ترکیبات رایج دیگری است که در درون پوشانی پروبیوتیک ها بواسطه‌ی ارزانی، سهولت کاربرد، سمی نبودن، فناوری آسان، ساختار متخلخل و سازگاری با محیط زیست استفاده می شود. معمولاً این ترکیب به همراه نوعی صمغ دیگر برای بهبود استحکام آن استفاده می شود. صمغ فارسی یا همان صمغ زدو، نیز یک هیدروکلوئید غیر نشاسته ای بوده که ساختار آن از پلی ساکاریدهای آنیونی اسیدی و دو فاز محلول (۳۰ درصد) و نامحلول (۷۰ درصد) تشکیل شده و قسمت اعظم آن واحدهای گلوکز و آرابینوز است. این صمغ قابلیت تشکیل و پایداری امولسیون اسیدی روغن در آب را داشته و از لحاظ سهولت دسترسی و قیمت ارزان بسیار مناسب در فرآیند ریزپوشانی می باشد (۸).

1. Doherty

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

مارمالاد فرآورده ای از انواع میوه ها است که تأمین کننده مواد مغذی و ترکیبات آنتی اکسیدانی به حساب می آید. به علت فصلی بودن و محتوای رطوبتی بالای بسیای از میوه جات، تولید مربا یا مارمالاد یکی از روشهای مهم در نگهداری میوه ها محسوب می شود؛ به طوریکه عامل اصلی نگهداری در این روش غلظت بالای موادقندی (شکر)، پایین بودن فعالیت آبی(aw) ، حرارت دادن ضمن فرآیند و پایین بودن pH می باشد (۹،۱۰). برای پایداری مربا یا مارمالاد از لحاظ میکروبی باید مقدار ماده خشک قابل حل آن حداقل ۷۰ درصد باشد. در فرآورده هایی که این مقدار کمتر است برای نگهداری آن باید از فرآیند پاستوریزاسیون استفاده کرد. اگر دمای پرکنی نیز از ۱۸۵ درجه فارنهایت (۸۵ درجه سانتیگراد) کمتر باشد عمل پاستوریزاسیون ضروری است. برای پاستوریزاسیون مربا در خط تولید مربا از دمای ۱۹۵ درجه فارنهایت (۹۰ درجه‌ی سانتیگراد) استفاده میشود به طوری که دمای مرکز بسته باید به ۱۸۵ درجه فارنهایت برسد. همچنین داغ پر کردن برای ایجاد خلاء و مسدود شدن کامل درب شیشه ی مربا یا مارمالاد ضروری است.

بنابراین در این تحقیق برای جلوگیری از آسیب حرارتی پروبیوتیک ها و زنده مانی حداکثری آنها از روش تهیه مارمالادهای پر شده در بسته های پروپیلن به شکل ترموفرمینگ (Form-Fill-Seal) استفاده گردید و زنده مانی پروبیوتیک ها، بازدهی ریزپوشانی و رهایش آن ها در حالت ریزپوشانی و بدون ریزپوشانی در فرآورده‌ی نهایی و قبل از آن مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

مواد

در این تحقیق سویه های پروبیوتیک مدنظر از مرکز کلکسیون قارچ ها و باکتری های صنعتی ایران (PTCC) تهیه شد. کنستانتره پروتئین آب پنیر تجاری از شرکت آرلا دانمارک و پودر خالص صمغ فارسی نیز از شرکت ریحان گام پارسیان و آلژینات سدیم و محیط کشت ام آر اس براث نیز از شرکت سیگما خریداری شد.

آماده سازی و فعال سازی سویهٔ میکروبی پروبیوتیک

ابتدا باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با شماره سریال (PTCC 1896) برای تشکیل حدود 10^8 واحد تشکیل کلنی در محیط کشت ام آر اس براث[3] در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده شد. درمرحله‌ی بعد سلول های تازهٔ میکروبی، طی سانتریفیوژ با ۶۰۰۰ دور در دقیقه (سیگما، ۲-۷، ساخت آلمان)، در دمای ۴ درجهٔسانتی گراد و به مدت ۱۵ دقیقه از محیط کشت پایه جدا گردید و در نهایت با شستشو توسط محلول استریل ۰/۱ درصد آب پپتونه جهت ریزپوشانی در شرایط کاملاً بهداشتی نگهداری شدند (۴، ۱۱ و ۱۲).

تهیه پودر ریزپوشینه شده پروبیوتیک‌ها با سوسپانسیون

بدین منظور ابتدا سوسپانسیونی از سه ترکیب آلژینات، صمغ فارسی و پروتئین آب پنیر با غلظت های مشخص شده در جدول ۱ منتهی به سه فرمول در ۱۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه تهیه شد. این غلظت ها بر اساس ایجاد ویسکوزیته مناسب برای ورود به خشک کن پاششی و همچنین عدم تاثیر بر خصوصیات ارگانولپتیکی مارمالاد در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که تشکیل ژل آلژینات در هر سه تیمار در حضور ۰/۱ درصد کلرید کلسیم صورت گرفت تا Ca^{++} بتواند در ایجاد شبکه نقش داشته باشد.

جدول ۱ نسبت ترکیبات ریزپوشانی جهت ایجاد سوسپانسیونی با ویسکوزیته و بریکس مناسب

ترکیبات حامل	فرمول ۱ (گرم)	فرمول ۲(گرم)	فرمول ۳(گرم)
WPC	۱۰	۱۲	۱۴
آلژینات سدیم	۶	۴	۲
صمغ فارسی	۰/۱	۰/۱	۰/۱

سپس کشت فعال لاکتاباسیلوس پلانتاروم به هر سوسپانسیون اضافه شد و به آرامی و مدت یکساعت در

2. MRS Broth

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

دمای ۳۷ درجه مخلوط و همگن شد. هر سوسپانسیون از طریق یک پمپ پریستالیک با مقدار ورودی ۶ میلی لیتر بر دقیقه به محفظه خشک کن پاششی پایلوت (Buchi-B191، سوییس) انتقال داده شد و در مجاورت هوای ورودی با دمای ۱۲۰ درجه و هوای خروجی ۴۵ درجه سانتیگراد خشک گردید (۱۳). نمونه های خشک شده در ویال جمع آوری و در محیط خنک و خشک نگهداری شدند

راندمان ریزپوشانی

بدین منظور یک گرم از کپسول ریزپوشانی تهیه شده به ۹ میلی لیتر محلول استریل بافر فسفات یک دهم نرمال با pH برابر با ۷ اضافه شد و ورتکس گردید. سپس طی مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از دستگاه همزن مغناطیسی یکنواخت شد، تعداد باکتری های کل آزاد شده در بافر فسفات با استفاده از محیط کشت MRS آگار به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد کشت پورپلیت داده شدند و پایش جمعیت میکروبی کاهش یافته نسبت به بعد فرآیند خشک کن پاششی از طریق رابطه ۱ محاسبه شد (۴ و ۱۴).

$$EY = (N/N_0) \times 100 \qquad (۱)$$

در رابطهٔ (۱)، N تعداد سلول های باکتری بعد از فرایند خشک کن پاششی (لگاریتم واحد تشکیل کلنی در هرگرم) و N_0 تعداد سلول های باکتری قبل از فرایند خشک کن پاششی (لگاریتم واحد تشکیل کلنی در گرم) می باشد.

تولید مارمالاد هویج

هویج به مقدار کافی از بازار مشهد تهیه شد و به خوبی پوست گیری و شستشو گردید. سپس با مقدار برابری از آب مخلوط گردید و با یک میکسر به آرامی مخلوط و یکنواخت شد. پس از این مرحله شکر ممتاز در آب به نسبت ۸:۱۰ مخلوط گردید و جوشانده شد. در انتها نیز مخلوط خمیری و یکنواخت هویج به شربت به همراه مقدار مناسبی از پکتین و اسید سیتریک اضافه و تا رسیدن به بریکس ۷۰ جوشانده شد.

افزودن ریزپوشینه به مارمالاد

افزودن پودر ریزپوشینه پروبیوتیک به مارمالاد به دلیل عدم نیاز به دمای بالا برای دربندی در روش پرکردن با شیشه به روش ترموفرمینگ صورت گرفت. پس از تهیه مارمالاد هویج با درصد ماده ی خشک ۷۰ و فرآیند حرارتی بلافاصله مارمالاد در محیط استریل نگهداری شد و تا دمای ۴۵ درجه به آرامی خنک گردید. در این مرحله پودر ریزپوشینه شده ی حاوی پروبیوتیک به مقداری که هر ویال ۱۰ گرمی را به مقدار $۱۰^۶$ واحد کلنی در هرگرم برساند، به مارمالاد اضافه و سپس در یک پرکن دستی مربای تک نفره به صورت ترموفرمینگ پر گردید.

تعیین زنده مانی پروبیوتیک ها در مارمالاد

میزان زنده مانی پروبیوتیک ها بعد از افزودن به مارمالاد در زمان صفر، دو ماه و چهار ماه پس از تولید در دمای ۲۵ درجه ی سانتی گراد مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ۱ گرم از مارمالاد پروبیوتیک با ۹ برابر حجم خود از بافرفسفات سدیم در pH برابر ۷ در استوماکر رقیق و سپس در سانتریفوژ با دور ۲۰۰ دور بر دقیقه قرار گرفت و یک میلی لیتر از مایه رویی آن پس از رقت سازی تا ۸-۱۰ به داخل پلیت استریل اضافه شد و محیط کشت ام آر اس آگار[۴] به آن اضافه گردید و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری شد و تعداد کلونی ها در هر میلی لیتر نمونه پس از ضرب در عکس رقت شمارش شدند (۱۴،۱۵).

ارزیابی زنده مانی پروبیوتیک ها در شرایط شبیه سازی معده و روده

ابتدا محلول سدیم کلراید ۰/۲ درصد به همراه تریپسین در pH برابر با ۲/۲ برای محیط شبیه سازی شده ی معده و محلول پانکراتین ۱ گرم بر لیتر و نمک صفراوی ۴/۵ گرم بر لیتر در بافر فسفات ۰/۵ مول بر لیتر با pH تنظیم شده در ۸ برای محیط شبیه سازی شده روده تهیه گردید. سپس یک گرم از مارمالاد حاوی ریزپوشینه به ۲۰ میلی لیتر از محیط های مذکور اضافه کرده و به منظور ارزیابی میزان بقای سلول های ریزپوشانی شده در زمان های ۱۰

3. MRS Agar

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در محیط های شبیه سازی شده با سرم فیزیولوژی ۰/۸ درصد و در محیط اِم آراس آگار به صورت کشت سطحی و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی گراد گرم خانه گذاری شد (۴، ۱۶، ۱۷ و ۱۸).

ارزیابی بافت

خصوصیات بافتی نمونه از روش اکستروژن معکوس بوسیله دستگاه بافت سنج TPA (پرتن TVT6700، سوئد) صورت گرفت. نمونه ی داخل محفظه ای به قطر ۵۰ میلی متر و ارتفاع ۷۰ میلی متر، بوسیله ی یک پیستون دیسک با قطر ۴۵ میلی متر متصل به دستگاه با سرعت ۶۰ میلی متر بر دقیقه فشرده شد و محصول به سمت بالا و از اطراف دیسک خارج گردید. بدین ترتیب پارامترهای بافتی مانند نرمی (بیشترین نیروی گراف) بر اساس N و میزان قوام (سطح مثبت نمودار) بر اساس N.S مورد بررسی قرار گرفت (۱۹).

ارزیابی حسی

به منظور مطالعه خصوصیات حسی مانند رنگ، طعم، عطر و پذیرش کلی آن در مقایسه ی با نمونه ی تجاری بدون ریزپوشینه ی پروبیوتیک به عنوان نمونه ی شاهد از روش امتیازبندی هدونیک ۵ نقطه ای توسط ۱۲ ارزیاب صورت گرفت. در این بررسی شماره ی ۵ برای بالاترین و بهترین امتیاز و شماره ۱ برای ضعیف ترین امتیاز مربای نگهداری شده در انتهای ۳ ماه در نظر گرفته شد (۲۰).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج بدست آمده تحت طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و با استفاده از نرم افزارهای SAS نسخهٔ ۹ Microsoft Office Excel نسخهٔ ۲۰۱۹ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسهٔ میانگین داده ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی داری LSD و آزمون دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد

نتایج و بحث

راندمان ریزپوشانی

بر اساس نتایج بدست آمده و طبق جدول ۲ مشخص شد که میزان راندمان ریزپوشانی پروبیوتیک مد نظر در ساختار ریزپوشینه ی مربوط به فرمولاسیون اول بالاترین مقدار خود را داشت.

جدول ۲ بازده ریزپوشانی پروبیوتیک ها بر اساس فرمولاسیون حامل ریزپوشینه

تیمار	تعداد باکتری اولیه (لگاریتم واحد کلنی)	تعداد باکتری ثانویه (لگاریتم واحد کلنی)	بازدهی
تیمار۱	(۱/۱۲ × ۱۰^۸) ۸/۰۴۹	(۴/۲۱ × ۱۰^۶) ۶ /۶۲۵±۱/۰۳a	۸۱/۵
تیمار۲	(۱/۱۲ × ۱۰^۸) ۸/۰۴۹	(۱/۳ × ۱۰^۶) ۶/۱۱۱±۰/۹۳b	۷۵/۲۱
تیمار۳	(۱/۱۲ × ۱۰^۸) ۸/۰۴۹	(۱/۱۴۵× ۱۰^۶) ۶/۰۵۲±۰/۸۵b	۷٤/٤۸

به نظر میرسد در تیمار اول که بیشترین مقدار آلژینات و کمترین کنستانتره آب پنیر وجود داشت بهترین شبکه برای به دام اندازی پر.بیوتیک ها صورت گرفت. در تیمار دیگر، حضور یون های کلسیم بیشتر در مقادیر بالاتر پودرآب پنیر سبب شد که ارتباط آن با واحدهای گلورونیک اسید افزایش یابد و علی رغم ایجاد شبکه ژلی بهتر و مستحکم تر ویسکوزیته ی سوسپانسیون نیز بیشتر شود که خود مانع ریزپوشانی با راندمان بالا می گردد (۲۱،۲۲). از طرفی می توان گفت که ماهیت هیدروکلوئیدی ترکیبات به کار رفته در ساختار ریزپوشینه مانند آلژینات و پودرآب پنیر باعث می شود که رطوبت بالاتری را در خود داشته و در زمان خشک کردن پاششی، دمای تبخیر را پایین تر نگه دارد و آسیب کمتری به پروبیوتیک ها وارد شود (۲۳).

ارزیابی زنده مانی پروبیوتیک ها در مارمالاد

با افزودن ریزپوشینه ی حاوی پروبیوتیک با بیشترین درصد بازدهی به مارمالاد، میزان زنده مانی آن طی روز های یک، تا ۶۰ روز بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزودن ریزپوشینه به مارمالاد حدود ۵۰ درجه ی سانتی گراد و سپس بسته بندی آن به روش ترموفرمینگ میزان زنده مانی پروبیوتیک ها در روز اول کمی بیشتر از میزان اضافه شده ی اولیه بود اما طی گذشت زمان روند کاهشی

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

بسیار کمی داشت. به طوریکه در زمان ۵۶ روز پس از بسته بندی میزان آن به تعداد $۱۰^{۶}$ × ۰/۹۱ برابر با ۵/۹۵ لگاریتم واحد کلنی رسید (شکل ۱). احتمالاً گرمای مارمالاد در ابتدای اضافه کردن ریزپوشینه ی پروبیوتیک منجر به بهبود رشد پروبیوتیک ها گردید اما در ادامه به دلایلی همچون رشد باکتری و تولید اسید لاکتیک به همراه اسیدی بودن ذاتی خود مارمالاد، کاهش دما به سمت دمای محیط و با توجه به واتراکتیویته کم مارمالاد که محیط ساکن و بدون فعل و انفعالی برای رشد پروبیوتیک ها ایجاد می کند زنده مانی پروبیوتیک ها کاهش یافت (۲۴ و ۱۴).

شکل ۱ – نمودار روند زنده مانی پروبیوتیک ها در مارمالاد بسته بندی شده به روش ترموفرمینگ طی نگهداری

ارزیابی زنده مانی پروبیوتیک ها در حالت آزاد و ریزپوشانی در محیط شبیه سازی شده ی معده و روده

براساس نتایج بدست آمده (جدول ۳)، مشخص گردید که زنده مانی پروبیوتیک ها در محیط اسیدی معده در حالت آزاد طی ۱۲۰ دقیقه بسیار شدیدتر از حالت ریزپوشانی شده ی آن است. به طوری که سلول های آزاد طی ۱۲۰ ساعت در محیط شبیه سازی شده ی معده، کاهش معادل ۶ سیکل لگاریتمی را در برابر کاهش ۲ سیکل لگاریتمی در حالت کپسوله شده نشان دادند. برینکوئیس و همکاران در سال ۲۰۱۱ درون پوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با آلژینات و کیتوزان را عامل مهمی در بهبود زنده مانی آن در محیط شبیه سازی معده و روده دانستند (۲۵). روکا و همکاران (۲۰۱۰) نیز اندازه بزرگ تر ریزپوشینه ها هنگام تهیه با حامل آلژینات را عامل مقاومت مهمی در برابر انواع تنش ها دانستند که با فرمولاسیون این تحقیق برای تهیه ریزپوشینه همخوانی دارد (۲۶). چهره آرا و همکاران (۲۰۲۲) نیز برهمکنش-های یونی قوی بین آلژینات (گروه آنیونی) و کیتوزان (گروه کاتونی) را در حفاظت موثر و بهبود ثبات میکروکپسولها به خوبی توضیح دادند به طوریکه این غشاء متراکم مانع از ورود نمکهای صفراوی به میکروکپسول ها شده و نقش بسیار مهمی در حفاظت ازسلولها در برابر شرایط نامساعد محیطی بازی می کند (۱۵).

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

جدول ۳ میزان بقای سلولهای آزاد و ریزپوشانی شده بعد از گرمخانه گذاری در محیط اسیدی معده

زمان (دقیقه)	سلولهای آزاد	سلول های ریزپوشانی شده
۱۰	۱/۱۲ ×۱۰^۸	۴/۱ ×۱۰^۶
۳۰	۳/۹ ×۱۰^۶	۲/۹ ×۱۰^۵
٦۰	۷/۴ ×۱۰^۴	۱/۸ ×۱۰^۵
۹۰	۵/۲×۱۰^۳	۶/۵×۱۰^۴
۱۲۰	۱/۸×۱۰^۲	۱/۴×۱۰^۴

در ادامه سلول های ریزپوشانی شده در بهترین فرمولاسیون، در محیط شبیه سازی روده تحت تنش قلیایی در مقایسه با سلول های آزاد قرار گرفتند. در این قسمت از تحقیق همانطور که در جدول ۴ نیز مشاهده می شود روند کاهشی تعداد سلول های آزاد درمقایسه با سلول های ریزپوشانی شده بیشتر بود به صورتی که پس از ۱۲۰ دقیقه قرارگرفتن در محیط شبیه سازی شده ی روده تعداد سلول های آزاد حدود ۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت در حالیکه سلول های ریزپوشانی شده تحت بهترین فرمولاسیون دچار کاهش ۲ سیکل لگاریتمی شدند. البته باید در نظر داشت که برخلاف شرایط آزمایشگاهی، مقادیر اسیدهای صفراوی در روده ثابت نیست و تا زمان مصرف مواد غذایی پرچرب، مقدار این ترکیبات در روده بسیار کم است، که این خود سبب سازگارشدن باکتری ها و همچنین افزایش مقاومت آنها در برابر صفرا می شود (۲۷). از اینرو می‌توان امید داشت که در شرایط طبیعی روده تعداد کاهش سلول ها کمتر باشد. همچنین عملکرد واقعی نمک های صفراوی در روده تحت تأثیر ترکیب با فسفولیپید است. ازاین رو، حضور آنزیم پانکراتین و اثر آن به طور مستقیم روی تجزیهٔ دیوارهٔ سلولی باکتری های پروبیوتیک در حالت آزاد سبب کاهش شدیدتر در سیکل جمعیت آن در مقایسه با سلول های ریزپوشانی شده می شود که به دلیل فعالیت پروتئولیتیکی آنزیم روی دیوارهٔ ماتریکس کنسانترهٔ پروتئین آب پنیر و حفظ خود سلول ریزپوشینه شده بوده است (۴). مطابق با نتایج بدست آمده، مطالعات زنجانی و همکاران نیز اختلاف ۵ سیکل لگاریتمی بین سلول های آزاد و ریزپوشانی شده *لاکتوباسیلوس کازئی* به وسیله آلژینات، اینولین و نشاسته مقاوم ذرت در برابر شرایط شبیه سازی شده معده و روده در مدت زمان دو ساعت را نشان می دهد (۲۸).

جدول ٤ میزان بقای سلولهای آزاد و ریزپوشانی شده بعد از گرمخانه گذاری در محیط قلیایی روده

زمان (دقیقه)	سلولهای آزاد	سلول های ریزپوشانی شده
۱۰	۱/۲۵ ×۱۰^۸	۵/۶ ×۱۰^۶
۳۰	۴/۴ ×۱۰^۷	۴/۸ ×۱۰^۵
٦۰	۳/۲ ×۱۰^۵	۰/۵ ×۱۰^۵
۹۰	۹/۵×۱۰^۳	۳/۶×۱۰^۴
۱۲۰	۰/۸×۱۰^۳	۱/۱×۱۰^۴

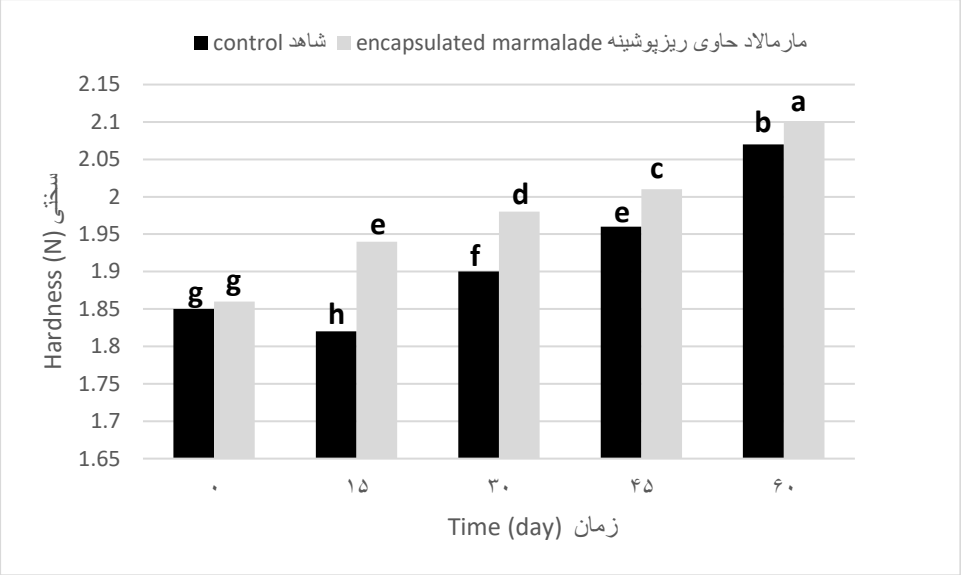
ارزیابی بافت مارمالاد حاوی ریزپوشینه

طی ارزیابی بافت مارمالاد حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده و مقایسه یآن با نمونه ی شاهد (مارمالاد فاقد پروبیوتیک) از نظر نرمی و قوام، نتایج نشان داد که مارمالادهای حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده دارای نرمی کمتری نسبت به نمونه ی شاهد بود. میزان نرمی نمونه ها با گذشت زمان طی ۶۰ روز نیز کاهش یافت. از سوی دیگر میزان قوام نمونه های حاوی پروبیتیک ریزپوشینه از نمونه‌ی شاهد بیشتر بود و طی گذشت زمان نیز قوام نمونه ها افزایش یافت اگرچه اختلاف آن ها معنی دار نبود.

پارامترهای بافتی کاملاً به ترکیبات نمونه بستگی دارد. در نمونه های حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده به دلیل وجود ترکیباتی همچون آلژینات، صمغ فارسی و پودر آب پنیر بعنوان حامل پروبیوتیک ها که همگی خصوصیات آبدوستی دارند محتوای آب نمونه های حاوی ریزپوشینه نسبت به نمونه های فاقد آن (شاهد) جذب گردید و منجر به تضعیف شبکه ژلی شد. با گذشت زمان نیز احتمالا به دلیل خروج آب از زنجیره ها پکتینی و جذب آن به ترکیبات آب دوست دیواره ی

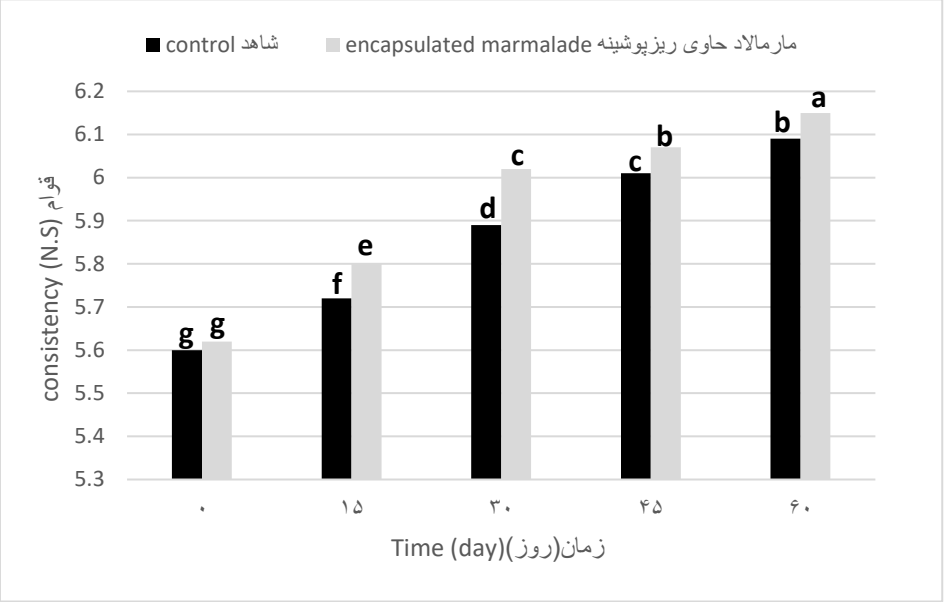
[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

ریزپوشینه، از نرمی نمونه ها کاسته شد. چسبندگی مارمالاد تابعی از ویسکوزیته محصول و نیز قوام آن است. لذا عواملی که منجر به افزایش قوام و ویسکوزیته مارمالاد گردد، سبب افزایش میزان چسبندگی محصول نیز می شود. لذا، افزودن پروبیوتیک ریزپوشینه به دلیل داشتن ترکیبات جاذب آب در دیواره ی خود منجر به افزایش ویسکوزیته و در نتیجه افزایش قوام مارمالاد گردید (۲۹). با افزایش میزان غلظت H^+ به واسطه ی فعالیت پروبیوتیک ها غلظت H^+ بین گروه های متیل پکتین افزایش یافته و دافعه بین زنجیره ها کمتر می شود و ساختار ژلی مستحکم تر ایجاد می شود (۱۹) . خالصی و همکاران (۱۳۹۶) طی بررسی اثر صمغ فارسی بر ویژگی های ژل سرد کنستانتره پروتئینی آب پنیر اعلام داشتند که در شرایط اسیدی (مشابه با مارمالاد هویج) با ایجاد بارهای مخالف در اطراف پروتیئن سبب تجمع رشته های پروتئینی می شود و به سختی بافت می افزاید (۳۰).



شکل ۲-مقایسه میزان سختی بافت مارمالاد حاوی پروبیوتیک ریزپوشینه شده با مارمالاد فاقد آن طی نگهداری

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

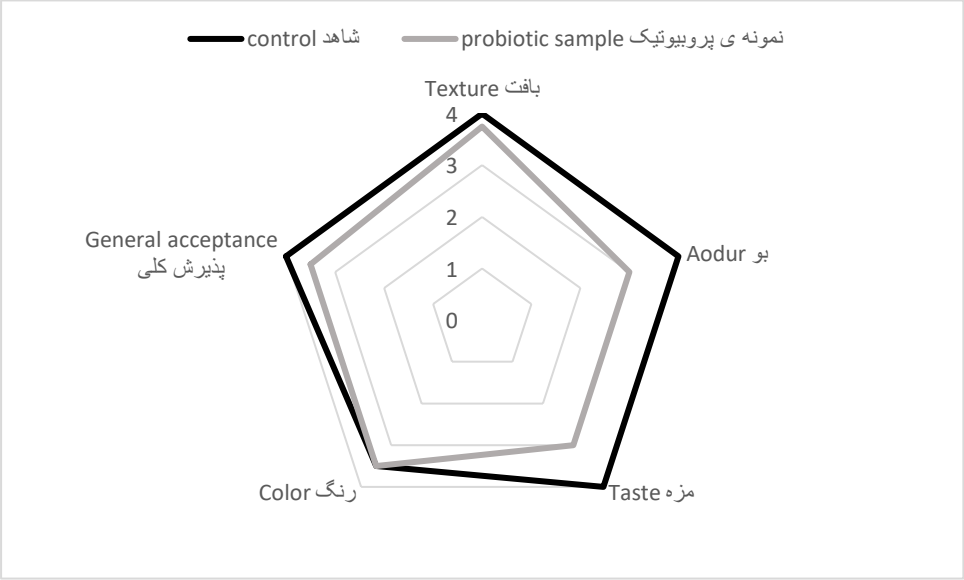


شکل ۳-مقایسه میزان قوام بافت مارمالاد حاوی پروبیوتیک ریزپوشینه شده با مارمالاد فاقد آن طی نگهداری

ارزیابی حسی

نتایج بدست آمده از امتیازدهی ارزیابان حسی در انتهای روز بررسی یعنی ۶۰ روز در رابطه با مارمالاد حاوی ریزپوشینه در مقایسه یا نمونه ی شاهد نشان داد که در بین خصوصیات ارزیابی، طعم (مزه و بو) دارای بیشترین اختلاف با نمونه شاهد بود. در این رابطه می توان گفت که مزه ی ترش و آرومای نامناسب در محصولات تخمیری ناشی از فعالیت اسیدلاکتیک باکتری ها می باشد (۳۱). رنگ مارمالاد پروبیوتیک حاوی ریزپوشینه پروبیوتیک با مارمالاد بدون آن اختلاف معنی داری نداشت. احساس دهانی مربا نیز اختلاف معنی دار نداشت هرچند نمونه ی شاهد برای ارزیابان ارجحیت داشت (شکل ۴). در مجموع پذیرش کلی نمونه ی شاهد نسبت به نمونه ی پروبیوتیک امتیاز بالاتری کسب کرد. با این حال به گفته ارزیابان اطلاع از مزایای بالای این محصول شاید بتواند نظر بهتری را برای مصرف کنندگان ایجاد کند.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]



شکل ٤- مقایسه ی امتیاز ارزیابان حسی برای نمونه مارمالاد پروبیوتیک و نمونه شاهد

نتیجه گیری

همواره تولید محصولات پروبیوتیکی که تحت فرآیندهای حرارتی قرار میگیرند بواسطه ی زنده مانی پروبیوتیک ها با چالش زیادی مواجه بوده است. در این تحقیق با فرمول بندی مناسبی از حامل های پروبیوتیک مقاوم به حرارت بر اساس بالاترین درصد بازدهی در به دام انداختن پروبیوتیک ها طی خشک کردن پاششی اقدام به تولید مارمالاد هویج پروبیوتیک شد. بنابراین فرمولاسیونی با ۱۰ گرم پروتئین آب پنیر، ۶ گرم آلژینات سدیم و ۰/۱ گرم صمغ فارسی توانست طی خشک کن پاششی بالاترین مقدار پروبیوتیک یعنی حدود ۸۱/۵ درصد را در خود حفظ کند. طی افزودن پروبیوتیک های انکپسوله شده با فرمولاسیون مذکور، مقدار پروبیوتیک فعال در مارمالاد پس از ۶۰ روز نگهداری به حدود ۱۰۶ × ۰/۹۱ (۵/۹۵ لگاریتم واحد کلنی) بدست آمد که میزان مناسبی برای تعریف یک محصول پروبیوتیک می تواند تلقی شود. همچنین با فرمولاسیون انتخابی، زنده مانی پروبیوتیک ها در محیط شبیه سازی شده معده و روده طی ۱۲۰ ساعت فقط ۲ سیکل لگاریتم کاهش داشتند که این مقدار در حالت سلول های آزاد حدود ۶ سیکل لگاریتمی بود. بررسی بافت مارمالاد هویج از نظر سفتی و قوام تا روز نهایی نگهداری درنظر گرفته شده نیز حاکی از افزایش این دو فاکتور داشت. همچنین مقدار سختی و قوام مارمالاد نمونه ی حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده نسبت به نمونه ی فاقد آن (شاهد) نیز بالاتر بود. در ارزیابی حسی اگرچه ارزیابان تفاوتی بین احساس دهانی و رنگ قائل نبودند اما امتیاز بالاتری را برای بو و مزه در نمونه ی شاهد در نظر گرفتند. در کل نمونه ی شاهد پذیرش کلی بهتری را از ارزیابان دریافت کرد

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

منابع

1. Muthayya S, Eilander A, Transler C, Thomas T, van der Knaap HC, Srinivasan K, van Klinken BJ, Osendarp SJ, Kurpad AV. Effect of fortification with multiple micronutrients and n–3 fatty acids on growth and cognitive performance in Indian schoolchildren: the CHAMPION (Children's Health and Mental Performance Influenced by Optimal Nutrition) Study. The American journal of clinical nutrition. 2009 Jun 1;89(6):1766-75.
2. Aida A, Ali MS, Behrooz MV. Chemical composition and antimicrobial effect of the essential oil of Zataria multiflora Boiss endemic in Khorasan-Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2015 Mar 1;5(3):181-5.
3. Ranadheera RD, Baines SK, Adams MC. Importance of food in probiotic efficacy. Food research international. 2010 Jan 1;43(1):1-7.
4. Yekta M, Hakimzadeh V. Evaluation of Survival of Lactobacillus plantarum Capsulated in Synbiotic Suspension under Simulated Gastrointestinal Conditions. Research and Innovation in Food Science and Technology. 2020 Sep 22;9(3):323-38.
5. Shariat S, Hakimzadeh V, Pardakhty A. The physicochemical and organoleptic evaluation of the nano/micro encapsulation of Omega-3 fatty acids in lipid vesicular systems. Nanomed J. 2020 Jan 1;7(1):80-6.
6. Huq T, Khan A, Khan RA, Riedl B, Lacroix M. Encapsulation of probiotic bacteria in biopolymeric system. Critical reviews in food science and nutrition. 2013 Jan 1;53(9):909-16.
7. Doherty SB, Gee VL, Ross RP, Stanton C, Fitzgerald GF, Brodkorb A. Development and characterization of whey protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. Food hydrocolloids. 2011 Aug 1;25(6):1604-17.
8. Hafiz M, Sheikholeslami Z. Optimization of loaf bread formulation including Farsi and Basil Gum. Iranian Food Science and Technology Research Journal. 2020 Sep 22;16(4):395-408.
9. Yazdi AG, Hojjatoleslamy M, Keramat J, Shariati MA. Replacing sucrose by Stevoioside and adding Arabic gum: investigation of rheological properties of apple jam. Journal of Applied Science and Agriculture. 2014 Feb 9(2), 508-513.
10. Şirin P. Rheological, textural, physico-chemical and sensory properties of low sugar apple marmalade (Master's thesis, Izmir Institute of Technology (Turkey)). 2019.
11. Ali MS, Elnaz M, Ladan N. Prebiotic effect of Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus) fructans on the growth performance of Bifidobacterium bifidum and Escherichia coli. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 2016 May 1;6(5):385-9.
12. Azizkhani M, Ravari RK. Improving the survival of lactic acid bacteria in Tarhana soup as a non-dairy matrix: Improving the survival of probiotics. Iranian Food Science & Technology Research Journal/Majallah-i Pizhūhishhā-yi ʿUlūm va Sanāyi-i Ghaẕāyī-i Īrān. 2022 Sep 1;18(3).
13. Burgain J, Gaiani C, Linder M, Scher J. Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. Journal of food engineering. 2011 Jun 1;104(4):467-83.
14. Sabbaghpour Langaroudi S, Nouri L, Azizi MH. Production of probiotic pineapple juice with encapsulation of Lactobacillus plantarum by chitosan and tragacanth gums. Journal of food science and technology (Iran). 2021 Dec 10;18(118):189-200.
15. Chaudhary A, Verma K, Saharan BS. Probiotic Potential of Blueberry Jam Fermented with Lactic Acid Bacteria. Current Research in Nutrition & Food Science. 2020 Apr 1;8(1).
16. Shiran MR, Babanezhad E, Khaleghi F, Nadi Ghara AA, Payab M. Viability of Probiotic Bacteria in Yogurts Produced in Mazandaran Province Exposed to Simulated Gastrointestinal Conditions. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences. 2022 Oct 10;32(213):29-41.
17. Chehreara A, Tabandeh F, Otadi M, Alihosseini A, Partovinia A. Evaluation of viability of multilayer microcapsules of Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus Plantarum under gastric and intestinal simulation conditions. Journal of applied microbiology in food industry. (2022): 58-72.
18. Xia AN, Meng XS, Tang XJ, Zhang YZ, Lei SM, Liu YG. Probiotic and related properties of

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

a novel lactic acid bacteria strain isolated from fermented rose jam. Lwt. 2021 Jan 1; 136:110327.
19. Estaji M, Mohammadi-Moghaddam T, Gholizade-Eshan L, Firoozzare A, Hooshmand-Dalir MA. Physicochemical characteristics, sensory attributes, and antioxidant activity of marmalade prepared from black plum peel. International Journal of Food Properties. 2020 Jan 1;23(1):1979-92.
20. Rana MS, Yeasmin F, Khan MJ, Riad MH. Evaluation of quality characteristics and storage stability of mixed fruit jam. Food Research. 2021 Feb;5(1):225-31.
21. Rezaei-Saraji M, Ghorbani M, Mahoonak AS, Tabarestani HS, Ghasemnezhad A. Extraction of phenolic and flavonoid compounds of Grammosciadium platycarpum Boiss. & Hausskn extract and their microencapsulation in alginate hydrogel. Journal of Food processing and Preservation 2023 14(4) 91-110
22. Zam W, Bashour G, Abdelwahed W, Khayata W. Alginate-pomegranate peels' polyphenols beads: effects of formulation parameters on loading efficiency. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2014 Oct; 50:741-8.
23. Yousefi H, Soleimanian-Zad S, Shahedi Bagh Khandan M. Microencapsulation of probiotics by emulsion method for production of probiotic bread. Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology. 2017 Jan 10;11(4):99-106.
24. Ghazavi N, Abedi R. Using Lactobacillus acidophilus in production of probiotic pomegranate juice. Journal of food science and technology (Iran). 2018 Sep 10;15(77):107-99.
25. Brinques GB, Ayub MA. Effect of microencapsulation on survival of Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. Journal of food engineering. 2011 Mar 1;103(2):123-8.
26. Rokka S, Rantamäki P. Protecting probiotic bacteria by microencapsulation: challenges for industrial applications. European Food Research and Technology. 2010 May; 231:1-2.
27. Milani E, Naeemi H, Mortazavi S.A, Koocheki A. Influence of simulated gastrointestinal conditions on survivability of microencapsulated probiotic Lactobacillus casei in symbiotic frozen yogurt. Iranian Food Science & Technology Research Journal. 2012 8(2), 190-199.
28. Zanjani, Mohammad Ali Khosravi, Babak Ghiassi Tarzi, Anousheh Sharifan, Nima Mohammadi, Hossein Bakhoda, and Mohammad Mehdi Madanipour. "Microencapsulation of Lactobacillus casei with calcium alginate-resistant starch and evaluation of survival and sensory properties in cream-filled cake." African Journal of Microbiology Research 6, no. 26 (2012): 5511-5517.
29. Zolfaghari M, AtashSangh MM, Asnaashari M. Evaluation of physicochemical and textural properties of low-calorie eggplant marmalade.
30. Khalesi H, Emadzadeh B, Kadkhodaee R. Effect of Persian Gum on Whey Protein Concentrate Cold Set Gel at Neutral and Acidic Condition. Innovative Food Technologies. 2017 Nov 22;5(1):1-2.
31. Luckow T, Sheehan V, Fitzgerald G, Delahunty C. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. Appetite. 2006 Nov 1;47(3):315-23.

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]

Investigating the production of functional carrot marmalade containing probiotics encapsulated with heat-resistant carriers

Bita Hakimattar [1], **Vahid Hakimzadeh[1*]**

[1] Department of Food Science and Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran

Abstract

The use of probiotics due to their numerous benefits in food depends on their survival during heat processing. Therefore, their capsulation with heat-resistant carriers is considered a useful technique. Marmalade, as an attractive and popular food item for breakfast or snakes, has a high potential for enrichment with probiotic microcapsules. In this research, sodium alginate, whey powder concentrate and Persian gum were used as heat-resistant carriers for lactobacillus plantarum encapsulation, and the best formula based on the efficiency of live probiotics was added to carrot marmalade with Brix 70 and packaged by thermoforming method. After packing the marmalade, the survival rate of probiotics during storage and its survival rate in the simulated environment of the stomach and intestines were investigated along with a textural test and organoleptic test to evaluate it as a functional food. The results showed that the number of active probiotics in marmalade after 60 days of storage reached about 0.91×10^6 (5.95 logarithm of colony units). Also, with the selected formulation, the survival of probiotics in the simulated environment of the stomach and intestines decreased by only 2 logarithmic cycles during 120 hours, which was about 6 logarithmic cycles in free cells. Examining the texture of carrot marmalade in terms of firmness and consistency until the final day of storage also indicated an increase in the mentioned factors. In the sensory evaluation, although the panelists did not see a difference between mouthfeel and color, they considered a higher score for smell and taste in the control sample.

Keywords: Sodium Alginate, capsulation, Probiotics, Persian Gum, Marmalade

* v.hakimzadeh@yahoo.com

[Downloaded from amfi.ir on 2025-07-30]