

# تولید سس مایونز فرآوریژه از تلقیح باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده با آلژینات و نشاسته مقاوم ذرت

نیما محمدی<sup>a\*</sup>، مریم فهیم دانش<sup>b</sup>، حامد اهری<sup>c</sup>، محمد علی خسروی زنجانی<sup>d</sup>

<sup>a</sup> کارشناس ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، تهران، ایران  
<sup>b</sup> استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران  
<sup>c</sup> عضو هیات علمی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران  
<sup>d</sup> دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۶/۴

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۳/۴

## چکیده

**مقدمه:** سس مایونز به عنوان یک چاشنی همواره مورد توجه قشر وسیعی از جامعه بوده است. تولید سس مایونز فرآوریژه با استفاده از پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده دارای اثرات سلامت بخش زیادی برای مصرف کننده می‌باشد. ریزپوشانی، یکی از جدیدترین روش‌ها به منظور افزایش قابلیت زنده ماندن پروبیوتیک‌ها در فرایندهای غذایی است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، از آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم ذرت برای ایجاد کپسول‌ها به روش امولسیون استفاده شد و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به حالت آزاد و ریزپوشانی شده به سس مایونز افزوده شد و زنده ماندن، pH و ویژگی‌های حسی سس مایونز در طی ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ °C مورد ارزیابی قرار گرفت و اندازه و شکل کپسول‌های تشکیل شده با میکروسکوپ نوری و الکترونی مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده نسبت به حالت آزاد زنده ماندن بیشتری در سس مایونز داشتند. تفاوت قابل ملاحظه‌ای از نظر ساختار و شکل کپسول‌ها با نشاسته مقاوم توسط میکروسکوپ نوری و الکترونی مشاهده نشد و ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها ویژگی‌های حسی محصول را بهبود داد.

**نتیجه‌گیری:** ریزپوشانی، زنده ماندن پروبیوتیک‌ها را در سس مایونز افزایش داد و تولید سس مایونز فرآوریژه امکان پذیر شد.

**واژه‌های کلیدی:** پروبیوتیک، پری بیوتیک، ریزپوشانی، میکروسکوپ نوری، نشاسته مقاوم

مورد استفاده قرار گیرند (Aragon-Alegro *et al.*, 2000; Sultana *et al.*, 2007). از این ترکیبات می‌توان به نشاسته مقاوم ذرت، فروکتوالیگوساکاریدها، گالاتوالیگوساکاریدها و اینولین اشاره کرد (Mokarram *et al.*, 2009; Ahmadi *et al.*, 2012; Nazzaro *et al.*, 2009). به محصولی که دارای هر دو عامل پروبیوتیک و پری بیوتیک باشد، اصطلاحاً محصول فرآورده اطلاق می‌شود (Mirzaei *et al.*, 2012). افزودن ترکیبات پری بیوتیکی از قبیل نشاسته و الیگوساکاریدها زنده مانده باکتری‌های پروبیوتیکی را افزایش می‌دهند (Donthidi *et al.*, 2010; Sultana *et al.*, 2000). ریزپوشانی به عنوان یکی از شیوه‌های نوین برای افزایش زنده مانده باکتری‌های پروبیوتیکی در فرآورده‌های غذایی و شرایط نامساعد استفاده می‌شود (Homayouni *et al.*, 2012; Mohammadi, *et al.*, 2008). مطالعات زیادی در رابطه با ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با استفاده از ترکیبات گوناگون نظیر زانتان (Nazzaro *et al.*, 2009)، ژلاتین (Ribeiro *et al.*, 2005)، و کاپا کاراگینان (Tsen *et al.*, 2002) صورت گرفته است، با این حال آلژینات، به میزان گسترده در فرآیند ریزپوشانی استفاده شده است (Homayouni *et al.*, 2008; Mohammadi *et al.*, 2012; Zanjani *et al.*, 2012). این ماده از جلبک‌های دریایی استخراج شده و با کلسیم کلرید ساختار مستحکمی را بوجود می‌آورد. از مزایای آلژینات کلسیم می‌توان به غیر سمی بودن، آسان بودن تشکیل کپسول آن و هزینه پایین آن اشاره کرد (Zanjani *et al.*, 2012). کپسول‌های آلژینات را می‌توان با روش امولسیون و اکستروژن آماده سازی نمود (Zuidam & Shimoni, 2010). اندازه میکروکپسول‌ها بسته به مواد و تکنولوژی سازگار با تولید آنها، می‌تواند از میکرومتر تا چند میلی‌متر متغیر باشد. دیواره میکروکپسول‌ها نیمه‌تراوا می‌باشد، بنابراین به متابولیت‌ها اجازه عبور می‌دهد اما از خروج سلول‌های باکتریایی جلوگیری می‌کند (Mokarram *et al.*, 2012; Altamirano-Fortoul *et al.*, 2009). پروبیوتیک‌ها به انواع مختلفی از محصولات غذایی تلقیح شده‌اند از قبیل ماست (Sultana *et al.*, 2000)، سبزیجات یخ زده (Heenan *et al.*, 2004)، بستنی (Cruz *et al.*,

یکی از مواد غذایی که امروزه با گسترش زندگی صنعتی مصرف فراوانی پیدا کرده‌اند، سس‌ها می‌باشند. این فرآورده گذشته از طعم مطلوبی که به عنوان یک چاشنی در مواد غذایی نظیر سالادها و غذاهای آماده ایجاد می‌کند، بدان علت که موادی مانند تخم مرغ و روغن گیاهی ترکیبات اصلی آن را تشکیل می‌دهند، می‌تواند نقش موثری را در تامین مواد مغذی و انرژی زای لازم برای انسان داشته باشد (بی‌نام، ۱۳۸۰). بنابراین تبدیل این محصولات به مواد غذایی فرآورده، می‌تواند نقش بسزایی در بهبود سطح سلامت جامعه داشته باشد. پروبیوتیک‌ها در بیشتر سس‌ها، رشد و تکثیر محسوس ندارند که این امر می‌تواند به علت عدم وجود فرآیند تخمیر در این نوع محصولات و بالا بودن سطح اسید موجود در آن‌ها باشد، بدین منظور تکنیک‌های مختلف میکروانکپسولاسیون برای افزایش زنده مانده پروبیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. در این فرآورده‌ها، کنترل عاملی نظیر فعالیت باکتری کشی اسید استیک اهمیت فراوان دارد (Khalil & Mansour, 1998). لذا میکروانکپسولاسیون پروبیوتیک‌ها تأثیرات ثمر بخشی بر زنده مانده آن‌ها در شرایط نامساعد اسیدی می‌تواند داشته باشد و این تکنیک می‌تواند مقاومت پروبیوتیک‌ها را در برابر شرایط نامناسب محیطی مواد غذایی با فعالیت باکتری کشی اسید استیک، افزایش دهد (Fahimdanesh *et al.*, 2012). پروبیوتیک‌ها به عنوان یک کشت خالص یا مخلوطی از میکروارگانیسم‌های زنده‌ایی تعریف شده‌اند که پس از مصرف، با بهبود ویژگی‌های فلور روده‌ای، اثرات مفیدی را در میزبان به‌جای می‌گذارند (خسروی زنجانی و همکاران، ۱۳۹۲). الی مچینکوف، نخستین کسی بود که اثرات سلامت بخش باکتری‌های لاکتیکی را تأیید کرد (Dobrogosz *et al.*, 2010). باکتری‌های پروبیوتیکی از قبیل لاکتوباسیلوس‌ها نقش مهمی در کاهش سطح کلسترول سرم، فعالیت غیر سرطانی، کاهش عدم تحمل لاکتوز، ارتقا سیستم ایمنی دارند (Altamirano-Fortoul *et al.*, 2012). پری بیوتیک‌ها نیز ترکیباتی غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک‌اند که رشد و یا فعالیت پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کنند و به طور اختصاصی می‌توانند توسط پروبیوتیک‌ها

(2009)، شیر (Hansen *et al.*, 2002). همچنین گزارش شده است که سس مایونز به علت فعالیت آبی بالا، یک بستر مناسب برای پروبیوتیک‌ها می‌باشد (Fahimdanesh *et al.*, 2012). فاکتور محدود کننده در زنده ماندن بکتری‌های پروبیوتیکی pH پایین در سس مایونز است که به علت غلظت بالای اسید استیک موجود در آن می‌باشد (Khalil & Mansour, 1998). تایید شده است که پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده زنده ماندن بهتری در شرایط اسیدی دارند (Kailasapathy *et al.*, 2003). با این حال زنده ماندن پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده با آلزینات کلسیم و استفاده از نشاسته مقاوم ذرت به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک در سس مایونز، تا به حال گزارش نشده است. هدف از این مطالعه، تلقیح پروبیوتیک‌ها به صورت آزاد و ریزپوشانی شده به سس مایونز و ارزیابی تاثیر ریزپوشانی بر روی زنده ماندن و خصوصیات حسی سس مایونز در طول نگهداری در دمای 4 °C می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### - آماده سازی پروبیوتیک‌ها

لاکتوباسیلوس کازئی ATCC 39392، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ATCC 43121 و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ATCC 29521 به صورت خالص و لیوفیلیزه تهیه شد و در 20 میلی لیتر محیط کشت MRS (de Man, Rogosa, Sharpe) مایع (Germany) در دمای 37 °C به مدت 24 ساعت فعال گردید. سپس نمونه حاصل در 95 میلی لیتر محیط کشت MRS مایع تلقیح شد و تحت شرایط فوق تکثیر گردید. بومس حاصله بوسیله سانتریفیوژ 4000 rpm برای مدت 10 دقیقه در دمای 4 °C جداسازی شد و در دو مرحله با محلول استریل 0/1 درصد آب پیتونه شستشو داده شد. تعداد سلول‌های پروبیوتیکی سوسپانسیون اولیه تقریباً 10<sup>11</sup> cfu/ml اندازه گیری شد.

### - ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها

ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها با استفاده از روش امولسیون انجام پذیرفت (Sultana *et al.*, 2000). تمامی ظروف شیشه‌ای و محلول‌ها در دمای 121 °C به مدت 15 دقیقه استریل شدند. ابتدا 2 گرم آلزینات سدیم

(Sigma- Aldrich 71238) و 2 گرم نشاسته مقاوم ذرت (Hi- maize 260 National starch UK) به آرامی به 100 میلی لیتر آب مقطر اضافه گشت تا کاملاً مخلوط یکنواختی حاصل شد، سپس محلول آماده شده با سوسپانسیون میکروبی (0/1%) به مدت 5 دقیقه کاملاً مخلوط شد. برای تشکیل امولسیون، به مخلوط حاصله 200 میلی لیتر روغن ذرت حاوی 0/2 درصد امولسیفایر توئین 80 (Merck Germany) ریخته شد و با استفاده از همزن مغناطیسی (Heydolph Stirrer, Germany) با سرعت (350 rpm) به مدت 20 دقیقه پراکنده گردید تا امولسیون یکنواختی تشکیل شد، به منظور تشکیل کپسول‌ها به محلول مورد نظر کلرید کلسیم 0/1 مولار اضافه گشت، فاز روغنی از امولسیون جدا شد، پس از 30 دقیقه کپسول‌ها در انتهای ظرف ته نشین شدند که به منظور جداسازی کپسول‌ها از سانتریفیوژ 350 rcf به مدت 15 دقیقه استفاده شد، در نهایت کپسول‌های جدا شده با محلول آب پیتونه 0/1 درصد شسته شده و در دمای 4 °C نگهداری شدند.

### - شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در کپسول‌ها

در این مطالعه کپسول‌های حاوی باکتری پروبیوتیکی به منظور شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در داخل کپسول، توسط بافر فسفات (0/1M، pH:7) آزاد سازی شدند، این روش با شیوه‌ی محققان دیگر نیز مطابقت دارد (Mohammadi *et al.*, 2012; Zanjani *et al.*, 2012). 1 گرم از کپسول‌های تهیه شده را به 9 میلی لیتر محلول استریل بافر فسفات اضافه گردید و به مدت 15 دقیقه هم‌زده شد (IKA-MS2, Minishaker, USA) تا کپسول‌ها به طور کامل حل و باکتری‌ها آزاد شوند. سپس با استفاده از محیط جامد MRS آگار، باکتری‌ها کشت داده شدند. باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در انکوباتور CO<sub>2</sub> و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در شرایط بی‌هوازی در دمای 37 °C گرمخانه‌گذاری شدند. شمارش باکتری‌ها در 3 تکرار صورت پذیرفت.

### - بررسی شکل و اندازه کپسول‌ها

شکل ذرات بوسیله میکروسکوپ نوری (Master sizer Malvern 2000 UK) با بزرگ‌نمایی 40x مورد بررسی قرار گرفته است. قطر کپسول‌ها بوسیله نرم افزار

تولید سس مایونز فرآوریه از تلقیح باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده

بافت و رنگ (۱ بدترین حالت و نمره ۵ برای بهترین حالت) و نمره از ۱ تا ۱۰ برای طعم (۱ برای بدترین حالت و ۱۰ برای بهترین حالت) در نظر گرفته شده است این روش نمره دهی با شیوه ی سایر محققان هم خوانی دارد (Mohammadi *et al.*, 2012).

#### - تجزیه و تحلیل آماری

تمامی تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ۲۰ (SPSS Inc., Chicago, IL) انجام شده است. مقایسه بین میانگین‌ها ( $P < 0/05$ ) بوسیله آزمون‌های آماری چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفته شده است.

#### یافته ها

##### - تعیین اندازه و شکل ظاهری کپسول ها

در این مطالعه، نتایج حاصل از میکروسکوپ نوری نشان می‌دهد که کپسول ها از نظر شکل کروی، و ذرات نشاسته بر روی سطح کپسول‌ها مشاهده می‌شود. قطر میانگین ۱۰۰ نمونه‌ی کپسول حدود ۱۶۰ میکرون محاسبه شد.

##### - تغییرات pH سس مایونز در طی نگهداری

تغییرات pH در طول نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. pH سس مایونز تلقیح شده با پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده و آزاد با نمونه ی شاهد هیچ تفاوت معنی داری نداشت.

##### - زنده مانی پروبیوتیک های آزاد و ریزپوشانی شده در سس مایونز

با مقایسه زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیکی در دو حالت آزاد و ریزپوشانی شده با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$ ، نقش و تاثیر فرایند ریزپوشانی در طی نگهداری قابل ارزیابی است.

##### - ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی سس مایونز نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در طعم حاصل نشد ( $P > 0/05$ )، اما رنگ و بافت سس مایونز تحت تاثیر معنی داری ( $P < 0/05$ ) قرار گرفت.

آنالیز تصویری میکروسکوپ نوری (Leica Qwin 550) برای ۱۰۰ نمونه تصادفی ریزپوشانی شده محاسبه شده است. همچنین برای شناسایی دقیق سطح کپسول‌ها از میکروسکوپ الکترونی (LEO 440 I, England) استفاده شد. بدین منظور ابتدا آماده‌سازی کپسول‌ها از طریق تهیه سوسپانسیون در آب مقطر در فالكون های آزمایشگاهی انجام شد و مقدار ۳ سی‌سی از محلول حاصله، بوسیله چسب دو طرفه بر روی لام دستگاه تثبیت شد تا حلال تبخیر گردد و سپس در دستگاه اسپاترکوتر حاوی گاز آرگون، روکش آب طلا به روی نمونه های موجود بر پایه، جهت تثبیت انتقال داده تا بعد از ۱۰ دقیقه نمونه‌های آماده شده دارای روکش طلا به محفظه دستگاه میکروسکوپ الکترونی انتقال یابند و در نهایت مشاهده کپسول‌ها بوسیله میکروسکوپ الکترونی با تابش الکترونی ۱۰ کیلو وات انجام گرفت (Mokarram *et al.*, 2009).

##### - تهیه سس مایونز

فرمولاسیون سس مایونز در جدول ۱ مشخص گردیده است. نمونه‌های سس مایونز تلقیح شده با پروبیوتیک های ریزپوشانی شده و آزاد در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ روز برای آزمایش نگهداری شدند.

##### - تغییرات pH سس مایونز در طی نگهداری

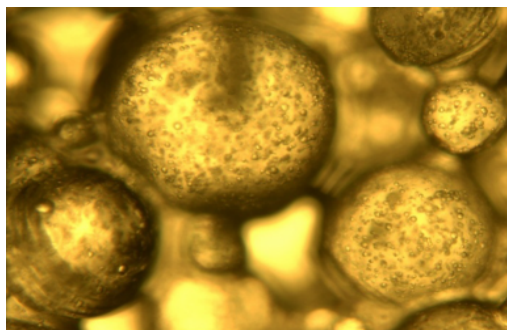
اندازه گیری pH نمونه های سس مایونز توسط pH متر دیجیتالی (744, Metrohm, Switzerland) سنجیده شد. سنجش pH مطابق با روش استاندارد سس مایونز به شماره ی ۲۴۵۴ مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ارزیابی شد. در این مطالعه، pH متر با استفاده از محلول بافرهای استاندارد pH ۴ و pH ۷ کالیبره شد.

##### - ارزیابی حسی سس مایونز

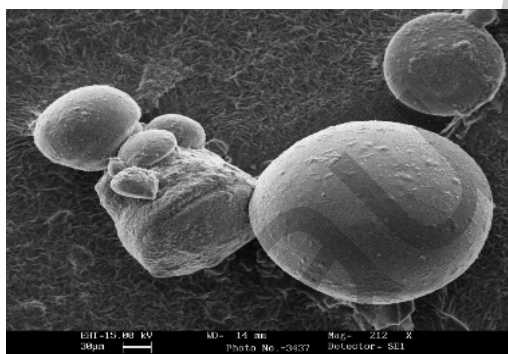
ارزیابی حسی بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  انجام شده است. یک پانل که شامل ۲۰ نفر از افراد آموزش دیده بودند، نمونه‌های سس مایونز را به صورت مجزا در دمای اتاق ارزیابی کردند. فرایند با استفاده از یک سری خصوصیات مهم سس مایونز از قبیل طعم، رنگ، بافت و پذیرش کلی سنجیده شده است. نمره ها از ۱ تا ۵ برای

جدول ۱- فرمولاسیون سس مایونز

ماده اولیه	تخم مرغ	خردل	روغن	شکر	نمک	آب	اسید استیک	اسید سیتریک	پتاسیم سوربات	بنزوات سدیم	صمغ
مقدار (%)	۹	۰/۳	۶۵	۵	۱/۶	۱۲	۶	۰/۰۳۱۴۲	۰/۰۳۴۲۹	۰/۰۳۴۲۹	۱



شکل ۱- تصویر میکروسکوپ نوری از کپسول های آلژینات کلسیم با نشاسته مقاوم با بزرگنمایی  $\times 40$



شکل ۲- تصویر میکروسکوپ الکترونی از کپسول های آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم

## بحث

به منظور بهره مندی از ویژگی‌های سلامت زایی، پروبیوتیک‌ها باید به تعداد  $10^6$  تا  $10^7$  سلول زنده در هر گرم از فراورده‌های غذایی وجود داشته باشند (Krasaekoopt *et al.*, 2003). از این رو فرآیند ریزپوشانی، تاثیر قابل ملاحظه‌ای در زنده ماندن پروبیوتیک‌ها در فراورده‌های غذایی دارد و سس مایونز می‌تواند به عنوان یک بستر مناسب برای باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده عمل کند و مصرف آن در جهت بروز اثرات مفید سلامت بخش، مناسب باشد.

### شکل و اندازه کپسول‌ها

مشاهدات با میکروسکوپ نوری و میکروسکوپ الکترونی نشان دادند که ذرات آلژینات کلسیم با نشاسته مقاوم کروی هستند و همچنین حضور نشاسته بر روی سطح کپسول‌ها نمایان بود (شکل‌های ۱ و ۲). محققان گزارش کرده اند که شکل و ساختار همهی کپسول‌هایی که

با روش امولسیون حاصل می‌شوند کروی است و نشاسته در سطح کپسول‌ها کاملاً نمایان می‌باشد (Ahmadi *et al.*, 2012)، که با نتایج حاصل از این مطالعه هم‌خوانی دارد. قطر میانگین کپسول‌ها  $160$  میکرون بود که این اندازه برای سس مایونز مطلوب و برای احساس دهانی مناسب می‌باشد. مطالعات زیادی نشان می‌دهد که کپسول‌هایی با سایز بزرگتر از  $1$  میلی متر، بافت محصول نهایی را شنی می‌کنند (Zanjani *et al.*, 2012). پژوهشگران زیادی شکل‌های مشابهی از کپسول‌ها ارائه کرده‌اند (Mokarram *et al.*, 2009; Mohammadi *et al.*, 2012; Zanjani *et al.*, 2012)، که با نتایج بدست آمده مطابقت دارند.

### تغییرات pH سس مایونز در طی نگهداری

نتایج نشان می‌دهد که pH نمونه‌های شاهد به  $4/02$  در پایان  $30$  روز نگهداری و pH نمونه‌های پروبیوتیک‌های آزاد با روندی مشابه نمونه‌های شاهد، کاهش یافت. علت

تولید سس مایونز فرآورده از تلقیح باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده

این امر را می‌توان به کاهش زنده مانده پروبیوتیک‌ها در pH کمتر از ۴/۶ دانست (Khalil & Mansour, 2008; Homayouni *et al.*, 1998)، از این رو تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین نمونه‌های آزاد و شاهد مشاهده نشد. pH نمونه‌های باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده به ۴/۰۲ کاهش یافت و تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت ( $P > 0.05$ ). مطالعات زیادی نشان می‌دهد که ریزپوشانی باکتری‌ها، جذب مواد مغذی را کند و سرعت آزاد سازی متابولیت‌ها را از طریق ساختار کپسول آلژینات آهسته می‌کند (Aragon-Alegro *et al.*, 2007; Rivera- (Espinoza & Gallardo-Navarro, 2010).

#### – زنده مانده پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده در سس مایونز

در این مطالعه، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم در سس مایونز ریزپوشانی شد. سس مایونز در طی ۳۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به منظور ارزیابی زنده مانده، مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که تعداد سلول‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی آزاد به ترتیب ۵ و ۶ سیکل لگاریتمی کاهش داشته‌اند و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم آزاد بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  تمامی آن‌ها مردند. با این حال لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ریزپوشانی شده به ترتیب ۳ و ۳ و ۵ سیکل لگاریتمی کاهش داشته‌اند. علت کاهش بیشتر تعداد سلول‌های آزاد پروبیوتیک‌ها در مقایسه با حالت ریزپوشانی شده را می‌توان به فعالیت باکتری‌کشی اسید استیک در سس مایونز اشاره کرد (Khalil & Mansour, 1998; Mohammadi *et al.*, 2012). نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بین زنده‌مانده پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده در سس مایونز در پایان ۳۰ روز نگهداری وجود دارد همچنین بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در مقایسه با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس زنده مانده کمتری را در سس مایونز در سطح معنی‌داری نشان داد ( $P < 0.05$ ) زیرا بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نسبت به کاهش pH حساس‌تر از لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس است (Fahimdanesh *et al.*, 2012). از

آنجایی که بیفیدوباکتریوم بیفیدوم یک باکتری بی‌هوازی مطلق است، شرایط نگهداری و حضور اکسیژن در بافت محصول منجر به کاهش بیشتر آن در طول مدت نگهداری می‌شود (Homayouni *et al.*, 2008). بنابراین، سس مایونز به علت فعالیت باکتری‌کشی اسید استیک، نمی‌تواند بستر مناسبی برای باکتری‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم آزاد در مقایسه با لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس آزاد باشد. نتایج محققان نشان می‌دهد که پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده در محیط اسیدی همانند ماست، منجر به ارتقا سطح زنده مانده در محصول نهایی می‌شود (Sultana *et al.*, 2000). همچنین پژوهشگران گزارش کردند که بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نسبت به تغییرات pH، حضور اکسیژن و کاهش فعالیت آبی، حساس‌تر از لاکتوباسیلوس کازئی است (Krasaekoopt *et al.*, 2004). نتایج بدست آمده از این مطالعه بیانگر تاثیر مثبت کپسول‌های آلژینات با نشاسته مقاوم در طی نگهداری بر روی زنده مانده پروبیوتیک‌ها است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که افزایش تعداد سلول‌های زنده در پروبیوتیک‌ها مربوط به افزودن نشاسته مقاوم است که به عنوان یک ماده پری بیوتیک عمل می‌کند، این یافته با نتایج سایر محققان هم‌خوانی دارد (Kebary & Hussein, 1999; Mirzaei *et al.*, 2012). نشاسته مقاوم ذرت حتی در شرایط اسیدی سس مایونز، زنده مانده پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد، از این رو خصوصیات مطلوب پروبیوتیک‌ها را برای مصرف کننده فراهم می‌کند (Fahimdanesh *et al.*, 2012).

#### – ارزیابی حسی سس مایونز

نتایج نشان می‌دهد که طعم نمونه‌های سس مایونز پس از ۳۰ روز نگهداری تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشت با این حال، انتظار می‌رفت که افزودن نشاسته مقاوم ذرت در ساختار کپسول‌های آلژینات کمی طعم سس مایونز را تحت تاثیر قرار دهد. اما پانل‌ها تفاوت طعم را بین نمونه‌های شاهد، آزاد و ریزپوشانی شده پروبیوتیک‌ها در سس مایونز تشخیص ندادند. نمره‌های تعیین شده برای رنگ و بافت نشان داد که افزودن پروبیوتیک‌ها آزاد و ریزپوشانی شده تاثیر معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بر روی خصوصیات حسی محصول نداشت. محققان گزارش کردند که کاهش رنگ نمونه‌های سس مایونز حاوی سلول‌های آزاد پروبیوتیک‌ها

Ahmadi, A., Milani, E., Madadlou, A., Mortazavi, S., Mokarram, R. & Salarbashi, D. (2012). Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated lactobacillus acidophilus (la-5) and fructooligosaccharide. *Journal of Food Science and Technology*, 1-7.

Altamirano-Fortoul, R., Moreno-Terrazas, R., Quezada-Gallo, A. & Rosell, C. M. (2012). Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 166-174.

Aragon-Alegro, L. C., Alarcon Alegro, J. H., Roberta Cardarelli, H., Chih Chiu, M. & Isay Saad, S. M. (2007). Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. *LWT - Food Science and Technology*, 40(4), 669-675.

Brown, I., Warhurst, M., Arcot, J., Playne, M., Illman, R. J. & Topping, D. L. (1997). Fecal numbers of bifidobacteria are higher in pigs fed *Bifidobacterium longum* with a high amylose cornstarch than with a low amylose cornstarch. *J Nutr*, 127(9), 1822-1827.

Collins, M. A. (1985). Effects of pH and acidulate type on the survival of some food poisoning bacteria in mayonnaise. *Microbiologie - Aliments - Nutrition*, 3, 215-221.

Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria, J. A. F. & Saad, S. M. I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, 42(9), 1233-1239.

Dobrogosz, W. J., Peacock, T.J. & Hassan, H. M. (2010). Evolution of the probiotic concept from conception to validation and acceptance in medical science. *Adv. Appl. Microbiol.* 72, 1-41.

Donthidi, A. R., Tester, R. F. & Aidoo, K. E. (2010). Effect of lecithin and starch on alginate-encapsulated probiotic bacteria. *J Microencapsul*, 27(1), 67-77.

Fahimdanesh, M., Mohammadi, N., Ahari, H., Zanjani, M. A. K., Hargalani, F. Z. & Behrouznasab, K. (2012). Effect of microencapsulation plus resistant starch on survival of *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium bifidum* in mayonnaise sauce. *African Journal of Microbiology Research*, 6(40), 6853-6858.

Hansen, L. T., Allan-Wojtas, P. M., Jin, Y. L. & Paulson, A. T. (2002). Survival of Calcium alginate microencapsulated *Bifidobacterium*

و یا شاهد، احتمالاً به علت اکسیداسیون روغن در طی نگهداری است (Mohammadi *et al.*, 2012). افزون بر این، تولید آگزو پلی ساکاریدها توسط لاکتوباسیل‌ها ممکن است بافت نمونه‌های سس مایونز را بهبود دهد. این یافته با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Fahimdanesh *et al.*, 2012; Li Hsieh & Regenstein, 1991; Lock & Board, 1995; Brown *et al.*, 1997).

## نتیجه گیری

در مجموع، این مطالعه نشان داد که ریزپوشانی با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم در طی نگهداری، زنده ماندن پروبیوتیک‌ها را در سس مایونز افزایش می‌دهد و یک محافظ خوب برای سلول‌های باکتری در مقابل فعالیت باکتری‌کشی اسید استیک موجود در سس مایونز است. همچنین تفاوت قابل ملاحظه‌ای در ساختار کپسول‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و نوری مشاهده نشد و تمامی نشاسته‌ها بر روی سطح کپسول‌ها مشاهده شدند از طرف دیگر ریزپوشانی با نشاسته مقاوم پذیرش حسی محصول را بهبود داد. همچنین پیشنهاد می‌شود تا سایر روش‌های ریزپوشانی مانند خشک کردن افشان و اکستروژن گریز از مرکز، جهت ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیکی مورد مطالعه قرار بگیرند.

## سپاسگزاری

صمیمانه از همکاری بی‌وقفه کارشناسان محترم مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران تشکر می‌کنم که مرا در طی مراحل این پژوهش، یاری کردند.

## منابع

بی‌نام. (۱۳۸۰). مایونز، و سس‌های سالاد- ویژگیها. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. استاندارد ملی ایران، شماره ۲۴۵۴ تجدید نظر اول.

خسروی زنجانی، م. ع.، غیائی طرزی، ب.، شریفان، ا.، باخدا، خ. و محمدی، ن. (۱۳۹۲). بررسی تاثیر ریزپوشانی با آلژینات کلسیم و نشاسته مقاوم ذرت بر روی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی و خصوصیات حسی در کرم مغزی کیک. *مجله علوم و صنایع غذایی ایران*، سال هشتم، شماره ۱،

spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19(1), 35-45.

Heenan, C. N., Adams, M. C., Hosken, R. W. & Fleet, G. H. (2004). Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert. *LWT-Food Science and Technology*, 37(4), 461-466.

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(1), 50-55.

Kailasapathy, K., Sydney, U. O. W. & Sultana, K. (2003). Survival and [beta]-D-galactosidase activity of encapsulated and free *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in ice-cream.

Keব্য, K. M. K. & Hussein, A. S. (1999). Improving Viability of *Bifidobacteria* by Microentrapment and Their Effect on Some Pathogenic Bacteria in Stirred Yoghurt. *AAIim*, 28(2), 110-132.

Khalil, A. H. & Mansour, E. H. (1998). Alginate Encapsulated *Bifidobacteria* Survival in Mayonnaise. *Journal of Food Science*, 63(4), 702-705.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13(1), 3-13.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. & Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 14(8), 737-743.

Li Hsieh, Y.-T. & Regenstein, J. M. (1991). Factors Affecting Quality of Fish Oil Mayonnaise. *Journal of Food Science*, 56(5), 1298-1301.

Lock, J. L. & Board, R. G. (1995). The fate of *Salmonella enteritidis* PT4 in home-made mayonnaise prepared from artificially inoculated eggs. *Food Microbiology*, 12(0), 181-186.

Mirzaei, H., Pourjafar, H. & Homayouni, A. (2012). Effect of calcium alginate and resistant starch microencapsulation on the survival rate of *Lactobacillus acidophilus* La5 and sensory properties in Iranian white brined cheese. *Food Chemistry*, 132(4), 1966-1970.

Mohammadi, N., Ahari, H., Fahimdanesh, M., Zanjani, M. A. K., Anvar, A. & Shokri, E.

(2012). Survival of alginate-prebiotic microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* in mayonnaise sauce. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 6(4), 259-264.

Mokarram, R. R., Mortazavi, S. A., Najafi, M. B. H. & Shahidi, F. (2009). The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International*, 42(8), 1040-1045.

Nazzaro, F., Fratianni, F., Coppola, R., Sada, A. & Orlando, P. (2009). Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated *Lactobacillus acidophilus* and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 1(3), 319-323.

Ribeiro, A. J., Silva, C., Ferreira, D. & Veiga, F. (2005). Chitosan-reinforced alginate microspheres obtained through the emulsification/internal gelation technique. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25(1), 31-40.

Rivera-Espinoza, Y. & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11.

Sultana, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P. & Kailasapathy, K. (2000). Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Journal of Food Microbiology*, 62(1-2), 47-55.

Tsen, J.-H., Chen, H.-H. & King, V. A.-E. (2002). Survival of freeze-dried *Lactobacillus acidophilus* immobilized in kappa-carrageenan gel. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 48(4), 237-241.

Zanjani, M. A. K., Tarzi, B. G., Sharifan, A., Mohammadi, N., Bakhoda, H. & Madanipour, M. M. (2012). 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(26), 5511-5517.

Zuidam, N. & Shimoni, E. (2010). Overview of Microencapsulates for Use in Food Products or Processes and Methods to Make Them. In N. J. Zuidam & V. Nedovic (Eds.), *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing* (pp. 3-29): Springer New York.