مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال بیست و یکم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۵، صفحات ۴۲-۲۹

ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس کازئی* با آلژینات سدیم، کربوکسی متیل سلولز و موسیلاژ بامیه و تاثیر آن بر زنده‌مانی باکتری در پنیر طی نگهداری

ملیحه زاهدی‌راد[۱]، نگین نوری[۲]، حسن گندمی[۱]، امیر محمد مرتضویان[۳]، نسیم خورشیدیان[۴]، اصغر عزیزیان[۱]

۱- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران. پست الکترونیکی: nnoori@ut.ac.ir

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- گروه تحقیقات صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱۰/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۱/۲۴

چکیده

سابقه و هدف: ریزپوشانی یکی از روش‌های مؤثر برای افزایش پایداری و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماتریس‌های غذایی به‌ویژه محصولات لبنی است. هدف از این پژوهش، ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس کازئی* و بررسی تأثیر آن بر زنده‌مانی باکتری در پنیر فتا طی دوره نگهداری بوده است.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه پنیر و ریزپوشانی باکتری، تیمارها در ۳ گروه تهیه و برای انجام آزمون های میکروبی، میکروسکوپی و حسی طی ۶۳ روز نگهداری مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میانگین قطر ذرات ۳۳۵ نانومتر با توزیع اندازه (۳۶۰–۳۱۰ نانومتر) و میانگین نسبت ابعاد ۱۶/۱ به‌دست آمد و بازده ریزپوشانی برابر با ۹۸/۹۴ درصد محاسبه شد. زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد و ریزپوشانی‌شده در پنیر فتا در ابتدای دوره نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین شمار باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی‌شده مشاهده نشد ($P>0/05$)، به‌طوری‌که در دمای ۴ درجه سلسیوس به‌ترتیب ۹/۸۹±۰/۰۸ logCFU/g و ۹/۹۳±۰/۰۷ logCFU/g بود. با این حال، از روز هفتم به بعد اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها مشاهده شد ($P<0/05$). در پایان دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس، شمار باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی‌شده به‌ترتیب به ۲/۱۳±۰/۱۳ logCFU/g و ۴/۰۳±۰/۱۷ logCFU/g کاهش یافت که بیانگر کاهش ۷۸ درصدی در نمونه آزاد و ۵۹ درصدی در نمونه ریزپوشانی‌شده بود. در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، کاهش جمعیت باکتری شدیدتر بود، به‌طوری‌که میزان کاهش در نمونه آزاد ۸۹ درصد و در نمونه ریزپوشانی‌شده ۷۶ درصد ثبت شد. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که استفاده از باکتری ریزپوشانی‌شده تأثیر نامطلوبی بر مزه نداشته و پذیرش کلی پنیر نسبت به نمونه حاوی باکتری آزاد به‌طور معنی‌داری بهبود یافت ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: به‌طور کلی، ریزپوشانی با استفاده از ترکیبات زیست‌پایه به‌ویژه موسیلاژ بامیه روشی کارآمد برای افزایش بقاء پروبیوتیک‌ها و بهبود کیفیت پنیر پروبیوتیک محسوب می‌شود.

واژگان کلیدی: موسیلاژ، لاکتوباسیلوس، ریزپوشانی ، پروبیوتیک، پنیر

پیام‌های اصلی

- **کارایی بالای ریزپوشانی:** استفاده از ترکیب آلژینات سدیم–کربوکسی‌متیل سلولز–موسیلاژ بامیه منجر به دستیابی به بازده ریزپوشانی بالا (۹۴/۹۸ درصد) و تولید ذرات یکنواخت شد.
- **بهبود معنی‌دار زنده‌مانی پروبیوتیک:** ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس کازئی* موجب افزایش معنی‌دار بقاء باکتری در پنیر فتا طی دوره نگهداری نسبت به سلول‌های آزاد گردید.
- **افزایش پایداری در شرایط نگهداری:** نمونه‌های ریزپوشانی‌شده کاهش جمعیت میکروبی به‌مراتب کمتری در هر دو دمای نگهداری نشان دادند که بیانگر نقش حفاظتی مؤثر عمل ریزپوشانی است.
- **حفظ کیفیت حسی محصول:** ریزپوشانی تأثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی نداشته و به‌طور معنی‌داری پذیرش کلی محصول را بهبود بخشید.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

• مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که در صورت رسیدن به روده در مقادیر کافی می‌توانند اثرات سلامت‌بخشی بر میزبان داشته باشند (۲، ۱). این مقدار به‌عنوان حداقل دوز مؤثر توسط سازمان‌های بین‌المللی بهداشتی تعیین شده است (۵-۱). در میان پروبیوتیک‌ها، گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم به‌عنوان متداول‌ترین میکروارگانیسم‌های مصرفی شناخته می‌شوند که به دلیل سابقه مصرف طولانی، در گروه ایمن قرار دارند (۲).

تعادل میکروبی روده انسان تحت تأثیر عوامل متعددی قرار می‌گیرد. مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، پرتودرمانی و شیمی‌درمانی، جراحی، استرس‌های شدید، آسیب‌های فیزیکی، عوامل ژنتیکی و حساسیت‌های غذایی و همچنین مواجهه با سموم محیطی می‌توانند موجب کاهش جمعیت میکروارگانیسم‌های مفید شوند. برهم خوردن این تعادل و غلبه باکتری‌های مضر، بروز بیماری‌هایی نظیر اسهال، پوکی استخوان، افزایش کلسترول و قند خون و کاهش توان پاسخ ایمنی بدن را به دنبال دارد (۶). از این رو، حفظ و تقویت جمعیت پروبیوتیک‌های روده نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌ها و ارتقای سلامت عمومی دارد.

مصرف غذاهای پروبیوتیک می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلفی به سلامت انسان کمک کند. این محصولات با مهار رشد و فعالیت باکتری‌های مضر، بهبود عملکرد دستگاه گوارش و تنظیم حرکات دودی روده، نقش مؤثری در سلامت روده ایفا می‌کنند. همچنین، کاهش کلسترول و قند خون، تقویت سیستم ایمنی، پیشگیری از بیماری‌های التهابی و متابولیکی و کاهش خطر ابتلا به دیابت، فشار خون بالا و پوکی استخوان از دیگر مزایای آن‌هاست (۷). پروبیوتیک‌ها با تولید ویتامین‌هایی مانند B و K، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب ضروری، اسید لاکتیک، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضدسرطان، نقش مهمی در بهبود متابولیسم بدن دارند. علاوه بر این، استفاده از پروبیوتیک‌ها در غنی‌سازی محصولات غذایی می‌تواند موجب افزایش ماندگاری و کیفیت این محصولات شود (۸).

غذاهای مختلفی به‌عنوان حامل پروبیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته‌اند که از جمله آن‌ها می‌توان به غلات، میوه‌ها، سبزی‌ها و محصولات لبنی اشاره کرد (۸). در میان این گروه‌ها، فرآورده‌های لبنی تخمیری مناسب‌ترین بستر برای انتقال پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شوند. پنیر به‌طور ویژه یکی از بهترین حامل‌های پروبیوتیک است، زیرا در مقایسه با سایر محصولات لبنی دارای فعالیت آبی کمتر، دمای نگهداری پایین‌تر، pH نسبتاً بالاتر، اسیدیته قابل تیتر کمتر و ظرفیت بافری بالاتری است (۲). ویژگی‌های بافتی پنیر مانند میزان چربی بالاتر، شبکه جامدتر، اکسیژن کمتر و دسترسی مناسب به مواد مغذی، شرایط مطلوبی را برای افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری و عبور از دستگاه گوارش فراهم می‌کند. در ایران، پنیر فتا به دلیل سرانه مصرف بالا و تولید صنعتی گسترده، گزینه‌ای مناسب برای تولید محصولات پروبیوتیک به شمار می‌رود (۹).

یکی از چالش‌های اصلی در تولید محصولات پروبیوتیک، حفظ زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها در طول نگهداری محصول و هنگام عبور از محیط اسیدی معده است (۱۰). در این راستا، فناوری ریزپوشانی به‌عنوان روشی مؤثر و اقتصادی با ایجاد یک لایه محافظ، نقش مهمی در افزایش مقاومت پروبیوتیک‌ها در برابر تنش‌های فرآیندی و شرایط نامطلوب محیطی ایفا می‌کند (۱۱). انتخاب ماده دیواره‌ای مناسب از عوامل تعیین‌کننده در موفقیت ریزپوشانی است و این مواد باید خوراکی، ایمن، زیست‌تجزیه‌پذیر و دارای توانایی ایجاد سد فیزیکی مؤثر و رهایش کنترل‌شده باشند (۱۲). آلژینات به‌عنوان یک پلی‌ساکارید طبیعی با قابلیت ژل‌شوندگی در حضور یون‌های دوظرفیتی، به‌طور گسترده در ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا ضمن ایجاد ساختاری پایدار، از سلول‌های پروبیوتیک در برابر شرایط اسیدی و نمک‌های صفراوی محافظت می‌کند. با این حال، کپسول‌های آلژیناتی به‌تنهایی ممکن است از نظر استحکام مکانیکی و پایداری ساختاری محدودیت‌هایی داشته باشند؛ ازاین‌رو، استفاده از کربوکسی‌متیل‌سلولز به‌عنوان یک پلیمر محلول در آب و زیست‌سازگار می‌تواند با بهبود خواص مکانیکی، کاهش تخلخل و افزایش یکپارچگی ساختار کپسول‌ها، کارایی ریزپوشانی را ارتقا دهد (۱۳). از سوی دیگر، موسیلاژ بامیه به‌عنوان ماده‌ای طبیعی، ارزان و تجدیدپذیر با ویسکوزیته و الاستیسیته بالا، به دلیل توانایی ایجاد ماتریس ژلی مناسب و خواص عملکردی زیستی از جمله اثرات سلامت‌بخش و ضد دیابتی، گزینه‌ای جذاب برای استفاده در سامانه‌های ریزپوشانی محسوب می‌شود (۱۴). ترکیب این ماده با آلژینات و کربوکسی‌متیل‌سلولز می‌تواند منجر به بهبود ویژگی‌های حفاظتی کپسول‌ها و افزایش پایداری و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها شود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

مطالعات محدودی به مقایسه همزمان این مواد دیواره‌ای از نظر بازده ریزپوشانی، زنده‌مانی پروبیوتیک و ویژگی‌های حسی محصول نهایی طی دوره نگهداری پرداخته‌اند، بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی امکان تولید پنیر پروبیوتیک فتا انجام شده است. در این پژوهش، از آلژینات سدیم، کربوکسی‌متیل‌سلولز و موسیلاژ بامیه برای ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس کازئی* استفاده شد و تأثیر این ریزپوشانی بر شکل کپسول‌ها، بازده ریزپوشانی، حفظ زنده‌مانی پروبیوتیک و ویژگی‌های حسی محصول نهایی مورد بررسی قرار گرفت. نوآوری این تحقیق در استفاده همزمان از پلی‌ساکاریدهای رایج (آلژینات و کربوکسی‌متیل‌سلولز) در کنار یک هیدروکلوئید طبیعی بومی (موسیلاژ بامیه) به‌عنوان ماده روکش برای ریزپوشانی پروبیوتیک و ارزیابی عملکرد آن‌ها در ماتریکس پنیر فتا طی دوره نگهداری است. انتخاب این ترکیبات به دلیل زیست‌سازگاری، خاصیت تشکیل ژل، توانایی محافظت در برابر شرایط نامطلوب محیطی و پتانسیل بهبود زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک صورت گرفت.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی باکتری‌ها

در این پژوهش از باکتری لیوفیلیزه شده *لاکتوباسیلوس کازئی* استفاده شد. باکتری لیوفیلیزه شده در محیط کشت ام آر اس براث (De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Broth) (شرکت مرک، آلمان) تلقیح شده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس گرمخانه گذاری شد. پس از پایان زمان انکوباسیون، به‌منظور فعال‌سازی کامل و یکنواخت‌سازی جمعیت باکتریایی، کشت اولیه حداقل دو مرتبه متوالی با همان شرایط (دمای ۳۷ درجه سلسیوس و زمان ۴۸ ساعت) تجدید کشت شد. سپس، محیط کشت باکتریایی در لوله های فالکون استریل ریخته شده و در دستگاه سانتریفوژ یخچال دار به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفوژ شد، بعد از آن مایع رویی تخلیه شده رسوب باکتریایی دو مرتبه با بافر فسفات استریل (pH برابر ۷) شستشو داده شده و با سانتریفیوژ مجدد جداسازی شد (۱۵).

برای تعیین تعداد باکتری به روش اسپکتروفوتومتری عمل شد. ابتدا سوسپانسیون باکتریایی با غلظت معادل جذب نوری ۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه شد. سپس از کشت اولیه سوسپانسیونی با غلظت ۱۰ برابر جذب نوری ۱ آماده شد. سوسپانسیون تهیه شده رقت سازی شده و به روش سطحی در محیط ام آر اس آگار ((De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar) کشت داده شد و تعداد باکتری در آن غلظت، بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به دست آمد. سوسپانسیون باکتریایی در این مرحله دو قسمت شد: مقداری وارد مراحل میکروکپسوله شده و باقیمانده آن به صورت سلول‌های آزاد باکتریایی برای گروه کنترل مورد استفاده قرار گرفت (۱۵).

آماده سازی موسیلاژ

پس از شستشو و آبکشی بامیه ها با آب، دانه های بامیه از آن جدا شد، برش داده شده و به مدت دو هفته در دمای محیط خشک شد، بعد از خشک شدن با آسیاب برقی پودر شد. پودر بامیه به نسبت ۱ به ۱۵ با آب به مدت ۴ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس در pH برابر ۶ مخلوط (تنظیم‌شده با HCl و NaOH) شد. پس از گذشت این زمان به منظور حذف ناخالصی های موجود در محلول از پارچه کتانی دو لایه جهت فیلتراسیون نمونه ها استفاده شد و برای تغلیظ محلول بدست آمده دستگاه روتاری اواپراتور مورد استفاده قرار گرفت، برای فیلتراسیون نهایی از سانتریفوژ در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. در مرحله بعد از صاف شدن، اتانول ۹۶ درصد به نسبت ۱:۱ (حجمی-حجمی) به نمونه ها اضافه شده و در نهایت در داخل آون مجهز به جریان هوا در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت خشک و توسط آسیاب برقی پودر شد (۱۴).

ریزپوشانی باکتری‌ها

۵ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده (۱۰ برابر OD=۱) معادل 10^{10} CFU/ml از سوسپانسیون باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* را به محلول ۳ درصد موسیلاژ بامیه به همراه کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد و آلژینات سدیم ۳ درصد (وزنی/وزنی) اضافه شد و کامل هموژن سازی شد. سپس توسط سرنگ با سرسوزن ۰/۱۱ میلی لیتر به صورت قطره قطره به محلول کلرید کلسیم ۰/۱ مولار اضافه شد. سپس دانک‌ها با کاغذ فیلتر جدا شده و به ظروف مخصوص نگهداری تا زمان استفاده منتقل شد (۱۵).

تهیه پنیر

برای تولید پنیر فتا، از شیر تازه و کامل گاو که در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد، استفاده گردید. قبل از شروع به انجام مراحل مختلف پنیر سازی دمای شیر را به ۳۵ درجه سلسیوس رسانده و به ظروف استریل مخصوص تهیه پنیر مقدار ۵ لیتر شیر ریخته شد. پس از آن، استارتر به مقدار ۲ درصد (حجمی/حجمی) و پس از نیم ساعت ۰/۰۲ درصد (وزنی / حجمی) کلرید کلسیم به نمونه های شیر اضافه شد. نهایتا رنت به مقدار ۰/۰۰۱ گرم (وزن به حجم) به همراه باکتری‌های ریزپوشانی شده به شیر افزوده شد و ۳ تا ۵ دقیقه به آرامی هم

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

زده شد . به منظور کارایی بهتر رنت، ۱ سانتی متر مکعبی برش داده شد و دمای شیر در مدت زمان تشکیل لخته در حدود ۳۵ درجه سلسیوس نگهداری شد و پس از گذشت یک ساعت، لخته تشکیل و سپس جهت آبگیری به مدت شش ساعت تحت فشار ۱۰ کیلوگرمی قرار گرفت. سپس لخته را بصورت قطعات ۵۰ گرمی با ابعاد یکسان برش داده و در داخل ظروف در دار استریل قرار گرفت و درب بندی شدند و نمونه ها به مدت ۹ هفته د هفته در ۴ درجه سلسیوس (یخچال) و ۲۵ درجه سلسیوس (دمای محیط) جهت انجام ارزیابی های مختلف نگهداری شدند (۳).

بررسی خصوصیات ظاهری دانک‌ها

۲۰ دانک به صورت تصادفی اتخاب خواهد شد و قطر دانک‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری دیجیتال (دینولیت، تایوان) مجهز به نرم افزار تحلیل گر آگزیو ویژن اندازه گیری شد و نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد. میزان کروی بودن دانک‌ها با بدست آوردن نسبت بیشترین قطر به کمترین قطر دانک بدست آمد که به اصطلاح به آن نسبت ابعاد می‌گویند.

کمترین قطر /بیشترین قطر = نسبت ابعاد

شکل۱. تصویر میکروسکوپ الکترونی

اندازه گیری بازده ریزپوشانی

برای اندازه گیری میزان بازدهی میکروکپسوله کردن ابتدا ساختار دانک‌ها باز شد تا بتوان باکتری‌های محبوس شده داخل آنها آزاد و شمارش شد. بدین منظور از محلول سدیم سیترات ۰/۱ مولار استریل استفاده شد. ۰/۵ گرم از دانک‌های حاوی باکتری را در ۵۰ میلی لیتر محلول سدیم سیترات استریل ریخته شد و با استفاده از دستگاه استوماکر به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق مخلوط شد تا باکتری‌های محبوس آزاد شوند. سپس رقت های بعدی را با سرم فیزیولوژی تهیه شد و به صورت سطحی روی محیط کشت ام آر اس آگار کشت شد. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس تعداد کلنی ها را شمارش شد. بازده میکروکپسوله شدن با تقسیم تعداد باکتری شمارش شده بعد از میکروکپسوله کردن (N) بر تعداد باکتری اولیه قبل از فرایند میکروکپسوله کردن و درصد گرفتن از آن محاسبه شد. همچنین دانک‌های میکروکپسوله شده را در زیر میکروسکوپ الکترونی مشاهده شد (۱۴).

بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده در پنیر فتا

در پایان هر هفته مقدار ۱۰ گرم پنیر پروبیوتیک ریزپوشانی شده و آزاد برداشته شد و باکتری‌های محبوس شده با سیترات سدیم آزاد شد. رقت سازی انجام شده و کشت سطحی داده شد. تعداد پروبیوتیک‌های زنده بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در شرایط هوازی در ۳۷ درجه سلسیوس روی محیط اختصاصی ام آر اس آگار شمارش شد (۱۵).

ارزیابی حسی

اثرات حسی تیمارها در پنیر فتا با استفاده از آزمایش قابلیت پذیرش حسی مورد ارزیابی قرار گرفت. نمونه های پنیر فتا بطور مساوی به هفت قسمت با وزن ۱۰۰ گرم تقسیم و در ظروف شیشه ای بطور تصادفی کدگذاری شدند. ویژگی های حسی (رنگ و ظاهر، عطر و بو، طعم و مزه) تیمارهای تهیه شده، توسط گروه ۹ نفره انتخاب شده از افراد آموزش دیده به عنوان تست پنل ارزیابی شد. نمونه ها به طور یکسان و با کدگذاری بصورت انفرادی به آنها داده شد تا با استفاده از سیستم ۵ امتیازی ارزیابی شود (۱۶).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمون‌های آماری با استفاده از برنامه نرم افزاری Spss نسخه‌ی ۲۱ انجام شد، آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه (ANOVA) انجام گردید و تفاوت میان جفت میانگین‌ها بر اساس فواصل اطمینان با استفاده از آزمون Tukey-b انجام گرفت و سطح اطمینان معناداری $P<۰/۰۵$ لحاظ شد. به منظور آنالیز نتایج حسی از تست کروسکال والیس استفاده شد.

• یافته‌ها

خصوصیات ظاهری دانک‌ها و بازدهی ریزپوشانی

بعد از بررسی میکروسکوپی ۲۰ دانکی که به صورت تصادفی انتخاب شده بودند، میانگین اندازه قطر۲۰ دانک ۳۳۵ نانومتر و محدوده توزیع اندازه قطرها باریک (۳۱۰- ۳۶۰ نانومتر) بود. میانگین نسبت ابعاد ۱/۱۶ شد. همچنین در این مطالعه بازده ریزپوشانی ۹۴/۹۸ درصد به دست آمد

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

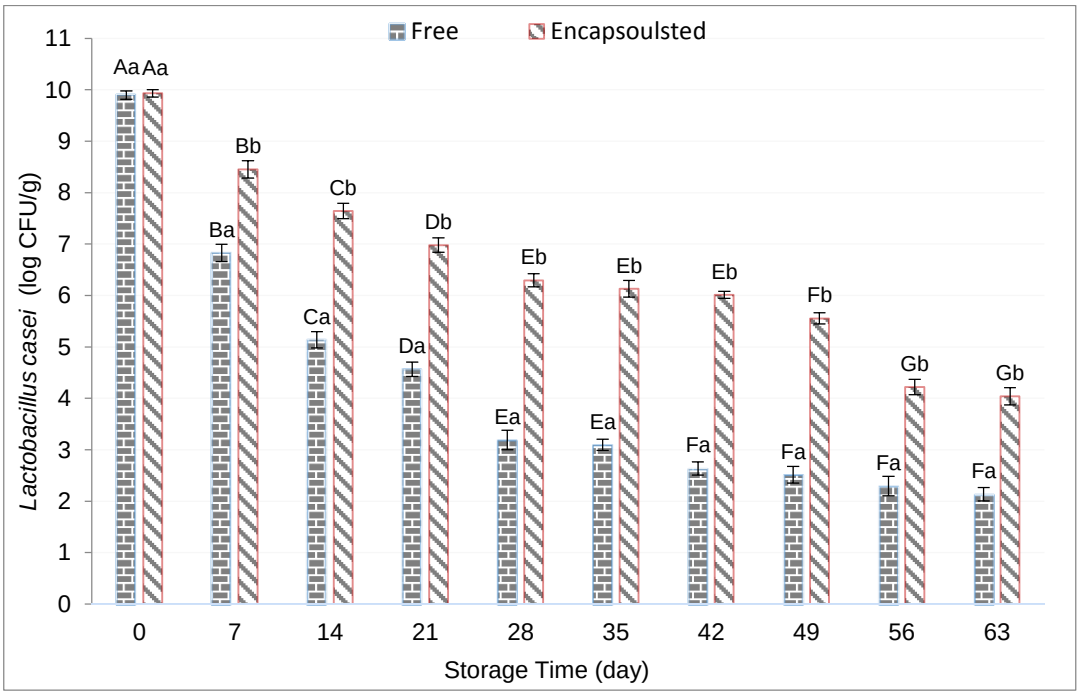
زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده در پنیر فتا در طی نگهداری در ۴ درجه سلسیوس

زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در پنیرهای نگهداری شده در ۴ درجه سلسیوس در هفته های یک تا ۹ مطالعه، بعد از انجام کشت سطحی و ۴۸ ساعت گرمخانه گذاری در شرایط هوازی در ۳۷ درجه سلسیوس روی محیط ام آر اس آگار در نمودار ۱ و ۳ نشان داده شده است.

همانطور که در دیده می‌شود در آغاز مطالعه تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* های آزاد و ریزپوشانی شده به ترتیب ۰/۰۸ ± ۹/۸۹ logCFU/g و ۰/۰۷ ± ۹/۹۳ logCFU/g بوده است که تفاوت معنی داری نداشته اند (P>۰/۰۵) ولی بعد از ۷ روز تفاوت در تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* های ریزپوشانی شده و آزاد معنی دار شد (P<۰/۰۵). و در نهایت در روز ۶۳ تعداد باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده به ترتیب به logCFU/g ۰/۱۳ ± ۲/۱۳ و ۰/۱۷ ± ۴/۰۳ logCFU/g رسیده بود. میزان کاهش *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد ۷/۷۶ logCFU/g (۷۸ درصد کاهش) و ریزپوشانی شده ۵/۹ logCFU/g (۵۹ درصد کاهش) بود.

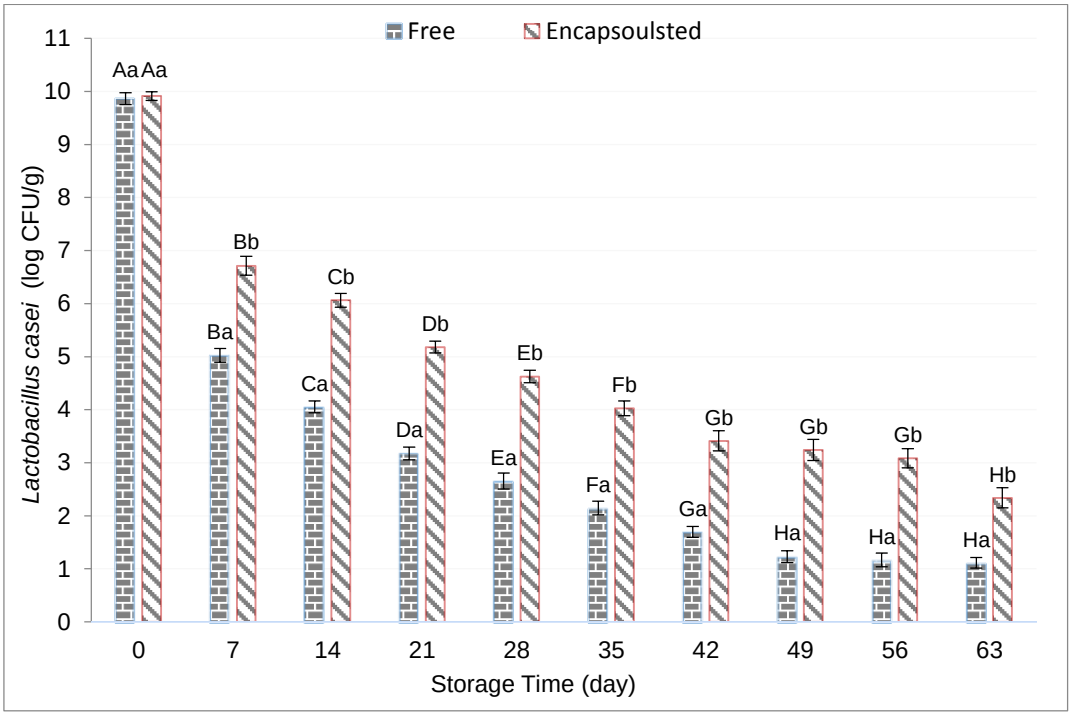
زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده در پنیر فتا در طی نگهداری در ۲۵ درجه سلسیوس

همانطور که در نمودار ۲ و ۳ دیده می‌شود در آغاز مطالعه تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* های آزاد و ریزپوشانی شده به ترتیب ۰/۱۱ ± ۹/۸۶ logCFU/g و ۰/۰۸ ± ۹/۹۱ logCFU/g بوده است که تفاوت معنی داری نداشته اند (P >۰/۰۵) ولی بعد از ۷ روز ماندن تفاوت در تعداد *لاکتوباسیلوس کازئی* های ریزپوشانی شده و آزاد معنی دار شد (P <۰/۰۵). و در نهایت در روز ۶۳ تعداد باکتری‌های آزاد به ۰/۱ ± ۱/۱۱ logCFU/g و *لاکتوباسیلوس کازئی* های ریزپوشانی شده به ۰/۱۹ ± ۲/۳۳ logCFU/g رسیده بود. در ۲۵ درجه سلسیوس، میزان کاهش *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد ۸/۷۵ logCFU/g (۸۹ درصد کاهش) و *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده ۷/۵۸ logCFU/g (۷۶ درصد کاهش) دیده شد.

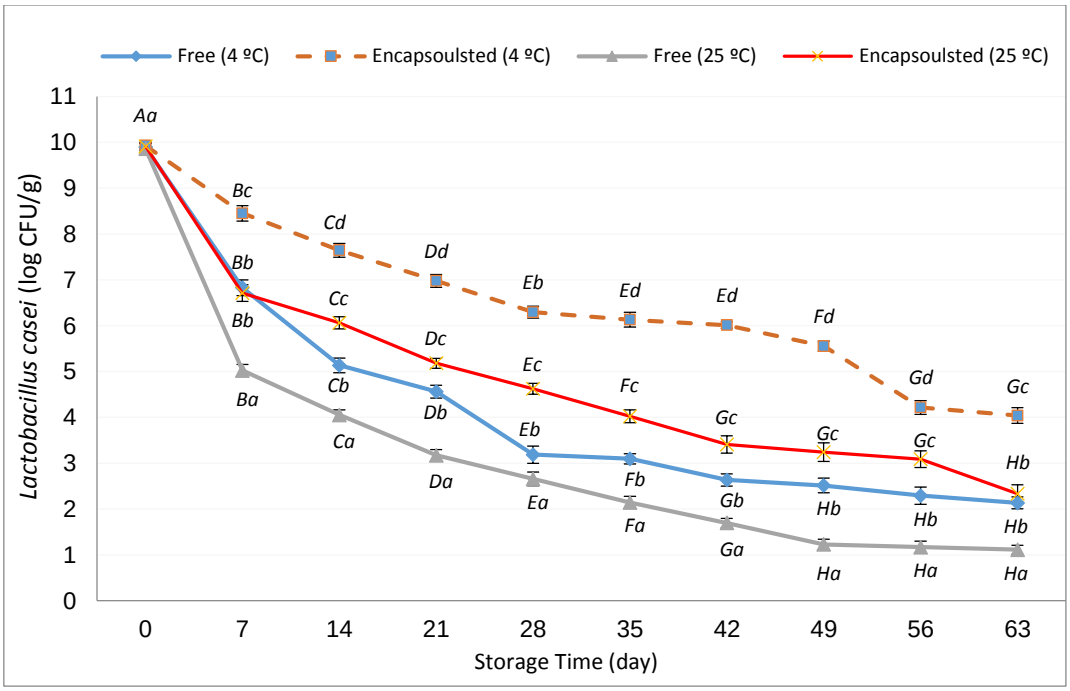


نمودار ۱. تعداد پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده در طی زمان نگهداری (۹ هفته ای) در ۴ درجه سلسیوس

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]



نمودار ۲. تعداد پروبیوتیک‌های آزاد و ریزپوشانی شده در طی زمان نگهداری (۹ هفته ای) در ۲۵ درجه سلسیوس

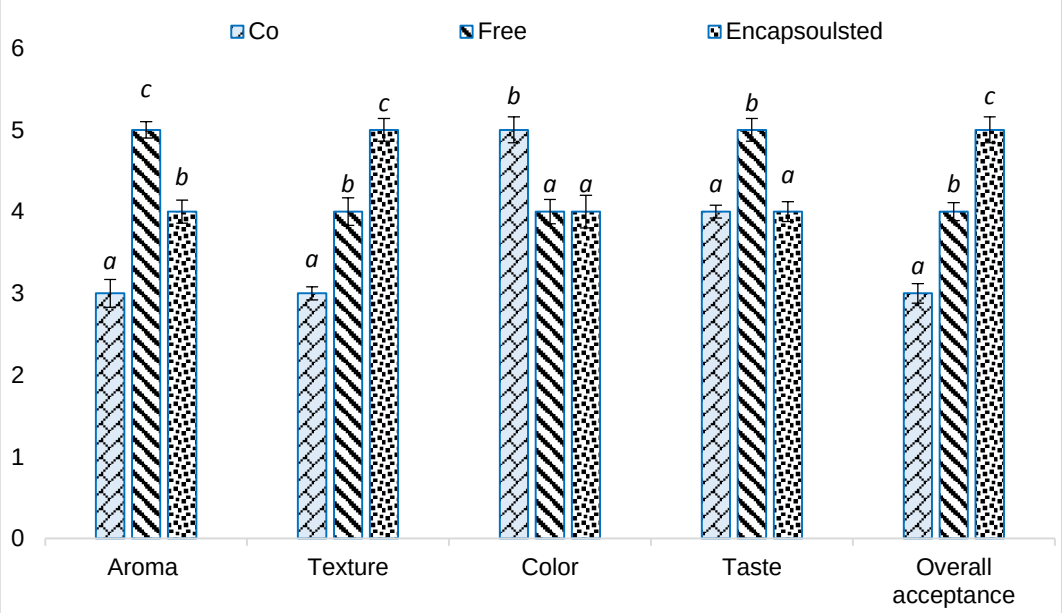


نمودار ۳. نمودار خطی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد و ریزپوشانی شده در ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس

ارزیابی حسی

نتایج ارزیابی حسی در نمودار ۴ آورده شده است. با بررسی مشخصات آروماتیک، بافتی، رنگ، مزه و پذیرش کلی نمونه های پنیر پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* آزاد و ریزپوشانی شده و پنیر بدون پروبیوتیک (کنترل) نشان داده شد که از نظر آروماتیک، بافت و پذیرش کلی بین ۳ نوع پنیرتفاوت معنی دار وجود دارد ($P <$ ۰/۰۵). رنگ پنیر غیر پروبیوتیک با رنگ پنیر پروبیوتیک دارای باکتری آزاد و ریزپوشانی شده تفاوت معنی‌دار داشت ($P <$ ۰/۰۵). در حالیکه تفاوت رنگ بین پنیرهای پروبیوتیک حاوی باکتری آزاد و ریزپوشانی شده معنا دار نبود. مزه در پنیرهای غیرپروبیوتیک و پروبیوتیک دارای باکتری ریزپوشانی شده تفاوت معنی دار نداشت ($P >$ ۰/۰۵) ولی تفاوت بین مزه این دو نوع پنیر با مزه پنیر حاوی پروبیوتیک آزاد تفاوت معنادار بود ($P <$ ۰/۰۵).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]



نمودار ۴. نتایج ارزیابی حسی نمونه های مختلف پنیر فتا. حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در یک ویژگی است (P <۰/۰۵).

• بحث

خصوصیات ظاهری دانک‌ها

اندازه و شکل ذرات بر محافظت مکانیکی از پروبیوتیک‌ها تاثیر دارند و بر اساس روش مورد استفاده برای ریزپوشانی متغیر هستند. دانک‌های حاصل از روش اکستروژن اندازه ای کمتر یا مساوی ۰/۵ تا ۳ میلی‌متر دارند (۱۷). قطر دانک‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، اسیدوفیلوس و رامنوس با آلژینات، کیتوزان، پلی ساکاریدهای طبیعی به روش اکستروژن ۱/۵ تا ۱ میلی‌متر هم بوده است (۱۸). روش اکستروژن باعث تولید ذرات خیلی کوچک می‌شود که وجود آنها در محصول بر کیفیت و مشخصات حسی محصول تاثیری ندارد. اندازه ذرات تولید شده بر حسب نوع ماده مصرفی و متغیرهای عملیاتی متغیر خواهد بود (۱۹).

ریزپوشانی به عنوان سدفیزیکی از پروبیوتیک محافظت می‌کند. مهمترین مزیت روش اکستروژن نیمه عمر طولانی تر محصولات ریزپوشانی شده است چون سد غیرقابل نفوذی در مقابل اکسیژن ایجاد می‌کند. اکستروژن روش راحتی برای امکان پذیر کردن ریزپوشانی طعم دهنده ها در ماتریکس های کربوهیدراتی است (۱۳).

میکروسکوپ دیجیتال الکترونی میانگین اندازه دانک‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده با موسیلاژ بامیه، کربوکسی متیل سلولز و آلژینات سدیم را ۳۳۵ نانومتر نشان داد. دانک‌ها با نسبت ابعاد محاسبه شده (۱/۱۶) تقریبا کروی بود. نتایج نشان می‌دهد که ریزپوشانی با روش این مطالعه ساختار همگونی تولید می‌کند که حداقل تغییر شکل را دارد. شکل میکروکپسول ها به ساختار درونی و بیرونی کپسول ها اشاره دارد که به شدت وابسته به شرایط ریزپوشانی و مواد دیواره هستند. ماتریکس دیواره کپسول ها که هسته مرکزی را در بر می گیرد، طوری طراحی شده است که انتقال مستقیم بین محیط و مرکز را امکان پذیر می سازد. تخلخل مواد دیواره نقش مهمی در کنترل نفوذ مواد به کپسول دارد و پایداری اکسیداتیو را با کنترل نفوذ اکسیژن مهار می‌کند (۲۰).

اندازه ذرات کوچک و همگون در این مطالعه (حدود ۳۳۵ نانومتر) و شکل تقریبا کروی آن باعث کاهش از دست رفتن پروبیوتیک‌ها در طی تشکیل دانک‌ها و شستشوی آنها شد که هم راستا با نتایج مطالعه Sicramaz و همکاران است که گزارش کردند ماتریکس های آلژینات-کربوکسی متیل سلولز شبکه هایی با دانسیته بالا تشکیل می دهند که نشت باکتریایی را قبل از اتصالات متقاطع محدود می‌کند (۲۱).

میانگین قطر ذرات (۳۳۵ نانومتر) بر روی هموژن بودن و کفایت ریزپوشانی تاثیر می گذارد (۲۲). اندازه دانک‌ها عامل مهمی است و باید در زمان انتخاب روش ریزپوشانی در نظر گرفته شود، چون بزرگ بودن دانکها استفاده آنها در موادغذایی را محدود می‌کند و بافت و طعم نهایی محصول را تغییر می دهند (۲۳). هموژن بودن و کفایت ریزپوشانی هم بر مواردی مانند هموژن بودن توزیع ذرات، بازده ریزپوشانی و محافظت در مقابل استرس ها، کاهش تاثیر بر تست های ارزیابی حسی اثر دارد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

تغییر تفاوت اندازه ذرات در رنجی محدود (۳۱۰-۳۶۰ نانومتر) نشان دهنده ثبات بالای تولید دانک‌ها است که بر هموژن بودن ذرات تاثیر دارد. ذرات کوچکتر مسیرهای انتشار کوتاهتری برای مواد مغذی و مولکول های سیگنال دهنده دارند و به پروبیوتیک‌ها اجازه می دهند که در حالیکه از نظر متابولیکی فعال هستند، باز هم محافظت شده باقی بمانند (۲۳).

ذرات کروی یا تقریبا کروی، در ماتریکس غذایی به صورت همگون تری پراکنده می شوند و کروی بودن ذرات از کلوخه ای شدن آنها جلوگیری می‌کند و رهاسازی یکنواخت پروبیوتیک‌ها را تضمین می‌کند. دانک‌های متقارن ضخامت پوشش همگنی دارند که باعث افزایش زنده‌مانی در برابر استرس های محیطی (اسید، نمک، نمک صفراوی، حرارت) وبهبود ارزیابی حسی می‌شود (۲۳).

در مطالعه Lee و همکاران از سدیم آلژینات با غلظت‌های ۲ تا ۴ درصد استفاده شد. مطالعه نشان داد که هرچه غلظت آلژینات در دانک‌ها بالاتر باشد، میزان مرگ و میر پروبیوتیک‌ها کمتر است. علت کاهش میزان انتشار گلوکز و اتانول در ژل های غلیظ تر آلژینات بخاطر تعداد و طول کمتر منافذ است. غلظت‌های ژلی کمتر از ۲ درصد دانک‌های کروی تولید نمی کردند که مطابق با یافته های مطالعات دیگر هم بوده است (۲۴). قطراتی با ویسکوزیته کمتر نمی توانند شکل کروی خود را در مقابل کشیدگی محلول ها حفظ کنند. غلظت بالای آلژینات (۵ درصد یا بیشتر) بخاطر خمیری شکل بودن، نمی‌تواند قطرات کوچک ایجاد کند. در این مطالعه از غلظت آلژینات سدیم ۳ درصد استفاده شده است که می‌تواند در ایجاد شکل کروی دانک‌ها دخالت داشته باشد. به دام افتادن پروبیوتیک‌ها هم برحسب محدوده غلظت ژلی که دانک‌های کروی را تشکیل می‌دهد، محدود است. اگر تعداد اولیه باکتری‌ها زیاد باشد، بارگیری باکتری بیشتر باعث سست شدن ژل تشکیل شده می‌شود (۲۴).

این مطالعه هم راستا با گزارش مطالعات Liu و همکاران نشان داده که استفاده از موسیلاژ استخراج شده از گیاهان در پایداری دانک‌های آلژینات نقش دارد، چون پلی ساکاریدهایی با بار منفی تداخلات الکترواستاتیک و ویسکوزیته را افزایش می دهند و تشکیل شبکه های ژلی فشرده را بیشتر می کنند (۲۵). موسیلاژ بامیه بخاطر خواص رئولوژیک خود باعث افزایش قوام محصول می‌شود. امولسیون کننده خوبی است و بعنوان تغلیظ کننده عمل می‌کند (۲۶).

استفاده از این اگزوپلی ساکاریدها باعث افزایش پایداری پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده در مقایسه با ریزپوشانی با آلژینات به تنهایی می‌شود. زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در دانک‌های ریزپوشانی شده ترکیبی دارای موسیلاژ بامیه یا سایر گیاهان بالاتر از آلژینات تنها بود. این پره بیوتیک ها در پایداری پروبیوتیک ریزپوشانی در شرایط عبور از سیستم گوارش هم نقش دارند (۲۵).

تولید ذرات نرم کروی به هنگام استفاده از پلی ساکاریدهایی با منشا گیاهی به علت ایجاد ماتریکس ژله ای و شبکه سه بعدی با دانسیته بالا اتفاق می افتد. در این مطالعه با ترکیب ویسکوزیته موسیلاژ بامیه و CMC، تولید ذرات کروی نرم را افزایش داده بود (۲۵).

اندازه ذرات کوچکتر می‌تواند بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس و خواص حسی ماتریکس پنیر تاثیر مثبت داشته باشد چون هرچه ذرات کوچکتر باشند، احساس دانه ای بودن و ظاهر دانه دانه محصول کمتر می‌شود. این مورد می‌تواند علت عدم تفاوت خواص حسی بین پنیر دارای پروبیوتیک ریزپوشانی شده و پنیر دارای پروبیوتیک آزاد باشد. کوچک بودن اندازه ذرات باعث خوشمزه تر شدن محصول می‌شود (۲۶).

بازدهی میکروکپسوله کردن

بازده ریزپوشانی نشان دهنده مقدار مواد مرکزی دانک است که توسط مواد دیواره ای احاطه شده است. بازده ریزپوشانی با مقدار مواد مرکزی ارتباط دارد. اندازه گیری بازده ریزپوشانی به عنوان مهمترین فاکتور موفقیت ریزپوشانی مطرح است چون نشان می‌دهد که چه مقدار پروبیوتیک ریزپوشانی شده با حفظ زنده‌مانی داریم (۲۰).

در مطالعه Pupa و همکاران بازده ریزپوشانی با روش های اکستروژن و امولسیون (حدود ۹۳ درصد) و بالاتر از اسپری خشک بود (۲۷). در مطالعه Foroutan و همکاران بازده ریزپوشانی با روش اکستروژن ۸۵/۱ درصد بود (۱۸).

محققیان گزارش کرده اند که بازدهی ریزپوشانی بر تعیین تعداد باکتری زنده مانده تاثیر دارد و خودش تحت تاثیر روش کار و تجهیزات مورد استفاده قرار دارد. با افزایش شدت و مدت همزدن میزان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها کاهش می یابد (۲۳). در مطالعه Chavarri و همکاران ریزپوشانی لاکتوباسیلوس گاسری و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با آلژینات کلسیم و کیتوزان و روش اکستروژن به تنهایی یا همراه با پره بیوتیک کوئرسیتین نشان داد که بازده ریزپوشانی برای دانک‌های بدون کوئرسیتین در مقایسه با دانک‌های با کوئرسیتین بالاتر بود. مطالعه نشان داد که ریزپوشانی با آلژینات کلسیم می‌تواند تحت تاثیر عوامل متعددی مانند اندازه دانک‌ها، غلظت آلژینات، بار سلولی باکتری پروبیوتیک، زمان سفت شدن در کلرید کلسیم باشد. در این مطالعه ریزپوشانی پروبیوتیک به همراه پره بیوتیک کوئرسیتین اندازه دانک بزرگتری لازم داشت. بر خلاف مطالعات دیگر که

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

ریزپوشانی پروبیوتیک همراه با پره بیوتیک را عاملی برای افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها دانسته بودند، در مطالعه Chavarri و همکاران زنده‌مانی پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده همراه با کوئرسیتین در طی ۴ روز کاهش یافته بود. محققان تغلیظ پره بیوتیک در طی انجماد و متعاقب آن افزایش فشار اسمزی و در نتیجه آسیب و کشته شدن سلولهای پروبیوتیک را مطرح کرده اند. آنها به این نتیجه رسیدند که کوئرسیتین نمی‌تواند از پروبیوتیک‌ها در مقابل آسیب ها محافظت کند و می‌تواند باعث کاهش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها شود (۲۸).

درصد بازدهی ریزپوشانی (EY) بدست آمده در این مطالعه ۹۴/۹۸ درصد بود. بالا بودن بازده ریزپوشانی در مقایسه با سایر مطالعات که بازده ریزپوشانی بین ۹۲-۸۰ درصد داشته اند، نشان می‌دهد تقریبا همه *لاکتوباسیلوس کازئی* های استفاده شده در طی ریزپوشانی به صورت موفقیت آمیزی ریزپوشانی شده و به نانوکپسول تبدیل شده اند. بالا بودن بازدهی ریزپوشانی انعکاس مستقیمی از فرمولاسیون مطلوب، پارامترهای فرایندی مناسب، تداخلات سینرژیک بین عوامل ریزپوشانی (سدیم آلژینات، کربوکسی متیل سلولز و موسیلاژ بامیه) است. بازدهی ریزپوشانی تحت تاثیر عوامل کلیدی متعددی مانند اندازه ذرات، شکل سطحی، غلظت پلیمر، شرایط ژلاتینی شدن و دانسیته سلول‌های پروبیوتیک است. کوچک بودن اندازه ذرات نشان دهنده استفاده از مقدار پلیمر کمتر به ازای هر سلول است. همگن بودن مواد دیواره ای باعث ایجاد پوشش موثرتری می‌شود. شکل نزدیک به کروی که با نسبت ابعاد ۱/۱۶ نشان داده می‌شود نشانه همگن بودن ضخامت مواد ریزپوشانی روی سطح ذره است که در شرایط استرسی میزان زنده‌مانی را افزایش می‌دهد. اندازه ذرات کمتر از میکرون (۵۰۰> نانومتر) محافظت بهتری در شرایط معدی روده ای شبیه سازی شده ایجاد می‌کند، چون کپسول های کوچکتر نقصان‌های ساختاری کمتری دارند و دانسیته اتصالات متقاطع در آنها بالاتر است.

بازده ریزپوشانی ۹۴/۹۸ درصد به دست آمده در این مطالعه بیشتر از گزارشات منابع موجود است. مطالعه Krasaekoop و همکاران بازده ریزپوشانی ۸۸-۸۲ درصد گونه های *لاکتوباسیلوس کازئی* با آلژینات را گزارش کرده اند (۲۹). از سوی دیگر Anal و Singh گزارش کرده اند که سیستم های پلیمری دوبل که شامل آلژینات با یک پلی ساکارید دیگر باشد، به علت افزایش استقامت ژل و کاهش منافذ آن باعث بهبود بازدهی می شوند (۳۹). در مطالعه Liu و مطالعه Rodrigues ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* با موسیلاژ بامیه، موسیلاژ کتان، بوتریوسفارن (botryosphaeran) و آلژینات با روش اکستروژن بازده ریزپوشانی را بالاتر برده بود و در *لاکتوباسیلوس کازئی* LC01 به بالای ۹۳ درصد و در *لاکتوباسیلوس کازئی* BGP-93 به بالای ۸۶ درصد رسانده بود (۲۵) که نشان می داد *لاکتوباسیلوس کازئی* LC01 با روش ریزپوشانی سازگاری بهتری دارد. مطالعه نشان داد که موسیلاژ بامیه در حفظ تعداد بیشتر باکتری زنده در طی دوران نگهداری موثر است (۴۰).

ریزپوشانی *بیفیدوباکتریوم ادولسنتیس* با روش الکترواسپری بوسیله آرابینوکسیلان سبوس ذرت با انسولین در مقایسه با آلژینات (۵۰-۴۳ درصد) بازده ریزپوشانی را ۷۹-۶۵ درصد کرده بود (۲۵). در مطالعه Afzaal و همکاران *لاکتوباسیلوس کازئی* با دو ماده هیدروژلی آلژینات کلسیم و کنسانتره پروتئین وی ریزپوشانی شد و گزارشات نشان داد که بازده ریزپوشانی با آلژینات کلسیم (۹۶ درصد) بالاتر از کنسانتره پروتئین وی (۹۴ درصد) است. مطالعه نشان داد که بازده ریزپوشانی تحت تاثیر طبیعت مواد هیدروژلی است و آلژینات کلسیم اتصالات مقطعی موثری تشکیل می‌دهد که باعث حمایت فیزیکی از پروبیوتیک می شوند. بالاترین بازده به آلژینات کلسیم مربوط می‌شد که نشان می داد مواد دیواره خوب سازگاری بهتری هم ایجاد می کنند (۴۱).

بازده ریزپوشانی تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله روش مورد استفاده، حلالیت ماتریکس در حلال ارگانیک، حلالیت حلال ارگانیک در آب قرار می گیرد. از سوی دیگر بازده ریزپوشانی عامل مهم تاثیر گذار بر پروبیوتیک‌های باقیمانده بر سطح ذرات ریزپوشانی شده است (۲۲).

در مطالعه Zadeike و همکارنش بازده ریزپوشانی با آلژینات (۹۷/۹۷ درصد) و آلژینات-کیتوزان (۹۶/۷۱ درصد) تفاوت چندانی نداشت. بر خلاف سایر مطالعات که تاثیر روش ریزپوشانی را بر بازده ریزپوشانی و زنده‌مانی باکتری گزارش کرده بودند، این مطالعه نشان داد که روش ریزپوشانی (اکستروژن) تاثیری بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* ندارد (۳۶). درمطالعه Zhang و همکاران میزان بازده ریزپوشانی در دانک‌های خشک ۸۴/۳۴-۸۳/۲۵ درصد بود (۲۲).

در مطالعه Sicramaz و همکاران بازده ریزپوشانی در فرمولاسیون های مختلف متفاوت بود، پایین ترین بازده ریزپوشانی به فرمولاسیون کنترل که آلژینات-آلژینات (۶۸/۹-۶۶/۱ درصد) بود و بالاترین به آلژینات-کاراگینان (۷۴ درصد) و آلژینات کربوکسی متیل سلولز (۷۸ درصد) مربوط بود. نتایج این مطالعه نشان داد که افزودن هیدروکلوئیدها به خصوص کربوکسی متیل سلولز و کاراگینان می‌تواند بازده ریزپوشانی را افزایش دهد. علت بالاتر بودن بازده ریزپوشانی می‌تواند به

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

خصوصیات منحصر به فرد فیزیکی شیمیایی آنها مربوط باشد. ظرفیت بالاتر اتصال آب که احتمالا می‌تواند ماتریکس ژلی محافظی تشکیل دهد، باعث افزایش بازده ریزپوشانی است (۲۱). در این مطالعه CMC و موسیلاژ بامیه به عنوان مواد تشکیل دهنده ژل عمل می کردند و همین بازده ریزپوشانی را افزایش داده است.

زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده در پنیر فتا در طی نگهداری

زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده و آزاد در مدت ۹ هفته بررسی تحت تاثیر ترکیب ریزپوشانی و دمای نگهداری بود.شمارش باکتری‌های ریزپوشانی شده در دمای ۴ (نگهداری در یخچال) و ۲۵ (نگهداری در محیط) درجه سلسیوس بالاتر از باکتری‌های آزاد بود. تاثیر محافظتی ماتریکس ریزپوشانی هم راستا با مطالعات متعددی است که افزایش بقای باکتری بعد از ریزپوشانی در دانک‌های هیدروژلی را در طی نگهداری نشان داده بودند (۲۹).

در ۴ درجه سلسیوس کاهش زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده اندک بود و تعداد باکتری‌ها در هفته آخر اندازه گیری $۴/۰۳ \pm ۰/۱۷$ logCFU/g بود که پایین تر از $۱۰^۶$ CFU/g است، در هفته ۶ ام مطالعه تعداد باکتری ریزپوشانی شده به $۶/۰۱ \pm ۰/۰۷$ logCFU/g رسیده است که نشان می‌دهد این ریزپوشانی تا هفته ۶ نگهداری محصول قادر به حفظ زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* است. این نتیجه به کاهش فعالیت متابولیکی سلول‌ها در شرایط سرد و نقش محافظتی ماتریکس ریزپوشانی (آلژینات سدیم-کربوکسی متیل سلولز-موسیلاژ بامیه) که باعث کاهش از دست دادن رطوبت و محدود کردن نفوذ اکسیژن می‌شود، مربوط است. باکتری‌های آزاد در هفته دوم توان درمانی خود را از دست داده بودند (۳۰). زنده‌مانی باکتری‌های آزاد به تدریج به علت مواجهه با اکسیژن آزاد و استرس های اکسیداتیو و اسمزی ایجاد شده بوسیله ماتریکس پنیر و آب پنیر در طی نگهداری محصول کاهش می یابد. این نتایج هم راستا با مطالعه Sultana و همکاران است که کاهش ۲ تا ۳ logCFU/g در طی نگهداری ماست در یخچال را نشان دادند، در همین مطالعه کاهش باکتری‌های ریزپوشانی شده کمتر از ۱ logCFU/g بود (۳۱).

در ۲۵ درجه سلسیوس سرعت کاهش باکتری‌های آزاد و ریزپوشانی شده بخاطر افزایش میزان متابولیسم و تشدید پیری سلولی سریعتر بود. تفاوت بین سلول‌های آزاد و ریزپوشانی شده مشخص بود، شمارش باکتری‌های ریزپوشانی شده در پایان ۹ هفته $۲/۳۴ \pm ۰/۱۹$ CFU/g بود در حالیکه تعداد باکتری‌های آزاد در این زمان به $۱/۱۱ \pm ۰/۱$ CFU/g رسیده بود. افزایش مقاومت باکتری‌های ریزپوشانی شده در مقابل دمای محیط می‌تواند به شبکه پلی ساکاریدی مربوط باشد که مثل سدی در مقابل رطوبت عمل می‌کند و محیط منطقه ای کوچکی ایجاد می‌کند که در برابر تغییرات pH و استرس های نمکی در طی ذخیره سازی محافظت کننده است (۳۲).

افزودن موسیلاژ بامیه به ماتریکس ریزپوشانی می‌تواند با افزایش ویسکوزیته ژل و ظرفیت نگهداری آب به زنده‌مانی طولانی مدت تر باکتری‌ها کمک کند. پلیمرهای با ویسکوزیته بالا می توانند انتشار ترکیبات تعیین کننده زنده‌مانی مانند رادیکال های اکسیژن و نمک را افزایش دهند و هیدراتاسیون کپسول ها که نقش مهمی در زنده‌مانی طولانی مدت تر باکتری‌ها دارد را در محصولات لبنی حفظ کنند (۳۳).

در مطالعه Chavarri و همکاران نشان داده شد که همپوشانی پروبیوتیک و پره بیوتیک کوئرسیتین زنده‌مانی پروبیوتیک را در طی ۴ روز نگهداری کاهش می‌دهد. این یافته غیرمتعارف می‌تواند به علت تغلیظ پره بیوتیک خارج سلول‌ها در طی انجماد باشد که باعث افزایش فشار اسمزی و آسیب و مرگ سلول‌های پربیوتیک می‌شود. کوئرسیتین قادر به محافظت سلول‌ها در مقابل آسیب های نمی‌شد و در کاهش زنده‌مانی آنها دخالت داشت (۲۸).

در مطالعه Mortazavian و همکاران بر روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در ماست در دماهای یخچال مشخص شد که بعد از ۵ روز ذخیره در ۲ درجه سلسیوس زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بالاتر از ۵ و ۸ درجه سلسیوس بود. محققان علت را تاثیر آنتاگونیستی یک طرفه *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در مقابل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بخصوص در دماهای بالاتر دانسته اند. در دماهای بالاتر *لاکتوباسیلوس دلبروکی* سریعتر رشد می‌کند و در نتیجه مقدار اسید لاکتیک و پراکسید هیدروژن تولید شده افزایش می یابد. پراکسید هیدروژن تولید شده مهم ترین عامل کاهش زنده‌مانی در طی ذخیره است. افزایش دمای ذخیره سازی باعث افزایش فعالیت متابولیکی سلول‌های باکتری می‌شود و میزان مرگ را افزایش می‌دهد. در این مطالعه ذخیره سازی در ۸ درجه سلسیوس برای ۱۰ روز بالاترین میزان اتلاف پروبیوتیک‌ها را داشت. با ذخیره کردن در دمای ۲ درجه همه اتفاقات ذکر شده با سرعت کمتری اتفاق افتادند و در نتیجه زمان حداکثر اتلاف پروبیوتیک‌ها طولانی تر می‌شود (۳۴).

در مطالعه Salman و همکاران نشان داده شد که ریزپوشانی نانو می‌تواند زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک را در ۴ درجه سلسیوس بیشتر از حالت آزاد حفظ کند (۳۵). در مطالعه

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

Zadeike و همکاران کاهش نفوذپذیری و کنترل رطوبت با ریزپوشانی علت افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در طی ذخیره بیان شده است (۳۶).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی در پذیرش محصولات پروبیوتیکی برای مصرف کنندگان ضروری است. در طی مطالعه تغییر مشخصی در رنگ یا بافت پنیر دارای پروبیوتیک ریزپوشانی شده و آزاد در مقایسه با پنیر کنترل دیده نشد. اندازه ذرات که در حد نانوذرات بودند، این اطمینان را ایجاد می کردند که مواد ریزپوشانی از نظر بصری قابل دیده شدن نیستند و مشکل ذره در بافت پنیر ایجاد نمی کنند. در مطالعه Pupa و همکاران هم به عدم تاثیر پروبیوتیک‌ها بر ظاهر محصول اشاره شده است (۲۷).

پنیر پر.بیوتیک دارای *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده بافت نرم و چسبنده خاص پنیر فتا را حفظ کرده بود و بر اساس اظهارات اعضای پنل ارزیابی حسی تفاوت در مقایسه با پنیر کنترل نداشت. پنیر فتای دارای باکتری‌های آزاد *لاکتوباسیلوس کازئی* افزایش ملایمی در نرمی و کمی سینرژی جزئی در طی ذخیره در ۲۵ درجه سلسیوس نشان داد که احتمالا به علت متابولیسم میکروبی و تولید اسید و آنزیم های پروتئولیتیک است (۳۷).

ریزپوشانی تداخل میکروبی مستقیم با ماتریکس پنیر را آهسته می‌کند و در نتیجه تغییرات بافتی ایجاد شده در اثر پروتئولیز را کاهش می‌دهد. این نتیجه موافق با یافته‌های Mortazavian است که بافت بهتر محصولات لبنی پروبیوتیک ریزپوشانی شده را نشان داده بودند (۳۴).

امتیازهای طعم برای پنیر پروبیوتیک دارای *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده بالاترین امتیاز بود و در طی نگهداری اعضای پنل از عبارت‌های "مطلوب"، "خوشمزه"، "کمی تند و تازه" برای این پنیر استفاده کرده بودند. در پنیر دارای پروبیوتیک آزاد در دمای ۲۵ درجه سلسیوس طعم اسیدی و نامطلوب ایجاد می‌شد که با عناوین "تند" و "تخمیر بیش از حد" مطرح می‌شدند که علت آن می‌تواند فعالیت متابولیکی باکتریایی و تولید اسیدلاکتیک باشد. ریزپوشانی باعث تعدیل رها شدن اسید در محیط پنیر می‌شود و پروفایل طعم متعادلی را حفظ می‌کند. این حالت مشابه مطالعه Kailasapathy و همکاران است که در آن باکتری‌های ریزپوشانی شده ترشی کمتری در مقایسه با باکتری‌های آزاد در طی زمان ایجاد کرده بودند (۳۸).

پذیرش بالای پنیر فتای دارای *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی شده از طرف مصرف کنندگان این مطالعه برای پذیرش محصولات در بازار غذاهای عملگرا اهمیت دارد. همانگونه که Mortazavian و همکاران در مطالعه خود گفته اند، ارزیابی حسی مورد پسند مصرف کننده به اندازه فواید سلامتی بخش محصول پروبیوتیک اهمیت دارد، چون ما را از تکرار خرید و وفادار بودن مصرف کننده به محصول مطمئن می سازد (۳۴).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس کازئی* با استفاده از آلژینات سدیم، کربوکسی‌متیل سلولز و موسیلاژ بامیه می‌تواند به‌طور مؤثری زنده‌مانی این پروبیوتیک را در پنیر فتا طی دوره نگهداری حفظ کند. ویژگی‌های فیزیکی مطلوب دانک‌ها شامل اندازه نانومتری یکنواخت، توزیع باریک ذرات و بازده بالای ریزپوشانی، بیانگر کارایی مناسب روش به‌کاررفته بود. نتایج زنده‌مانی نشان داد که نمونه‌های ریزپوشانی‌شده در هر دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس کاهش جمعیت کمتری نسبت به باکتری‌های آزاد داشتند، به‌طوری‌که این اختلاف از هفته اول نگهداری معنی‌دار شد. علاوه بر این، ریزپوشانی تأثیر منفی بر ویژگی‌های حسی پنیر نداشته و حتی موجب بهبود پذیرش کلی نسبت به نمونه‌های حاوی باکتری آزاد شد. در مجموع، استفاده از موسیلاژ بامیه به‌عنوان یک پوشش طبیعی در کنار پلیمرهای رایج می‌تواند رویکردی کارآمد و قابل‌کاربرد در تولید صنعتی پنیرهای پروبیوتیک با پایداری و کیفیت حسی مطلوب باشد.

References

1. Kazemeini, H., Sekhavatizadeh, S., & Rahmani, M. (2023). Emerging probiotic applications in functional foods. Food Bioscience, 52, 102349.
2. Singh, R., Giri, S. S., & Kim, S. W. (2022). Probiotics in human health and disease. Microbial Pathogenesis, 162, 105325.
3. Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology, 84(3), 197–215.
4. Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G. R., Merenstein, D. J., Pot, B., … Sanders, M. E. (2014). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 11(8), 506–514.
5. Sekhavatizadeh, S., Kazemeini, H., & Rahmani, M. (2023). Okra mucilage as a novel wall material for probiotic encapsulation. International Journal of Biological Macromolecules, 234, 123456.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

6. Belizário, J. E., & Napolitano, M. (n.d.). Human microbiomes and their roles in dysbiosis, immunity, and disease. Pathogens and Disease.

7. Varela-Trinidad, G. U., Sánchez, E., & Morales, M. (2022). Probiotics and metabolic health. Nutrients, 14(9), 1783.

8. Sarita, S., Kaur, N., & Singh, D. (2025). Non-dairy probiotic food matrices: Trends and innovations. Food Reviews International, 41(1), 1–25.

9. Karami, M., Ehsani, M. R., & Mousavi, M. (2008). Production and consumption status of feta cheese in Iran. Iranian Journal of Dairy Science, 1(2), 45–52.

10. Abbas, S., Karangwa, E., & Bashari, M. (2022). Microencapsulation of probiotics: Current status and future perspectives. Food Engineering Reviews, 14(2), 165–182.

11. Rashidinejad, A., Birch, E. J., & Everett, D. W. (2022). Encapsulation of probiotics for dairy applications. Food Research International, 157, 111241.

12. Đorđević, V., Balanč, B., & Belščak-Cvitanović, A. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of bioactive compounds. Food Engineering Reviews, 7(4), 452–490.

13. Gouin, S. (2004). Microencapsulation: Industrial appraisal of existing technologies and trends. Trends in Food Science & Technology, 15(7–8), 330–347.

14. Sekhavatizadeh, S., Mohammadi, R., & Mortazavian, A. M. (2023). Optimization of probiotic microencapsulation: Impacts on viability and release. LWT – Food Science and Technology, 171, 114084.

15. Mozaffarzogh M, Misaghi A, Shahbazi Y, Kamkar A. Evaluation of probiotic carboxymethyl cellulose-sodium caseinate films and their application in extending shelf life quality of fresh trout fillets. LWT. 2020 May 1;126:109305.

16. Sipahioglu O, Alvarez VB, Solano-Lopez C. Structure, physico-chemical and sensory properties of feta cheese made with tapioca starch and lecithin as fat mimetics. International dairy journal. 1999 Nov 1;9(11):783-9.

17. Wang, L., Zuo, X., & Sun, X. (2022). Particle size effects on probiotic microcapsules. Food Hydrocolloids, 127, 107498.

18. Foroutan, M., Ghanbarzadeh, B., & Hamishehkar, H. (2017). Microencapsulation of probiotics using extrusion method: Effects on viability and stability. Journal of Food Science and Technology, 54(11), 3475–3482.

19. Bamidele, O., & Emmambux, M. N. (2021). Influence of particle size on probiotic microcapsules: Stability, release, and sensory characteristics. Food Hydrocolloids, 111, 106314.

20. Choudhury, R., Thakur, R., & Chakraborty, R. (2021). Factors influencing the efficiency of probiotic microencapsulation. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 61(3), 411–427.

21. Sıçramaz, Ş., Yildirim, H., & Demirci, M. (2025). Enhancing probiotic encapsulation efficiency using polysaccharide blends. Food Hydrocolloids, 134, 108133.

22. Zhang, L., Chen, H., & Xu, Y. (2021). Influence of microcapsule size on probiotic survival and sensory properties. LWT – Food Science and Technology, 147, 111551.

23. Tatiana Beldarrain-Iznaga, T., Monge, R., & Berrios, J. (2020). Microencapsulation improves probiotic viability in dairy matrices. Food Research International, 129, 108861.

24. Lee, J. S., & Heo, T. R. (2000). Effect of alginate concentration on probiotic microcapsules: Size and survival. Journal of Microencapsulation, 17(5), 609–619.

25. Liu, L., Fishman, M. L., Kost, J., & Hicks, K. B. (2020). Pectin-based systems for colon-specific drug delivery via oral route. Biomaterials, 24(19), 3333–3343.

26. Gemede, H. F., Ratta, N., & Haki, G. D. (2018). Plant-derived mucilage in functional food delivery systems. Food Hydrocolloids, 84, 273–283.

27. Pupa, S., Foroutan, M., & Mortazavian, A. M. (2021). Comparative study of extrusion and emulsion techniques for probiotic encapsulation. Journal of Food Engineering, 295, 110404.

28. Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & del Carmen, M. (2010). Microencapsulation of probiotic bacteria using alginate and quercetin: Effects on viability during storage and simulated gastrointestinal conditions. Journal of Functional Foods, 2(2), 129–136.

29. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques for probiotic bacteria and their survival in yogurt. International Dairy Journal, 13(1), 3–13.

30. Agriopoulou, S., Stamatelopoulou, E., & Varzakas, T. (2023). Microencapsulation of probiotics: A review of methods and applications. Foods, 12(3), 435.

31. 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.)

32. Gbassi, G. K., & Vandamme, T. (2012). Probiotic encapsulation technology: From research to commercial applications. Journal of Food Engineering, 104(4), 467–478.

33. Kailasapathy, K. (2009). Microencapsulation of probiotic bacteria: Technology and potential applications. Current Issues in Intestinal Microbiology, 10(1), 1–17.

34. Mortazavian, A. M., Mohammadi, R., & Ehsani, M. R. (2007). Viability of probiotic bacteria in dairy products. International Journal of Dairy Technology, 60(4), 278–286.

35. Salman, B. (2022). Nanoencapsulation of probiotics to enhance shelf-life and survival. Journal of Functional Foods, 89, 104982.

36. Zadeike, A., Smith, J., & Brown, T. (2024). Effect of extrusion method on probiotic viability and encapsulation efficiency. Journal of Food Engineering, 331, 111059.

37. Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

processing and storage. Food Science and Biotechnology, 23(3), 707–718.

38. Kailasapathy, K., & Chin, J. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotics in the gastrointestinal tract. International Dairy Journal, 10(1–2), 1–17.

39. Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. Trends in Food Science & Technology, 18(5), 240–251.

40. Rodrigues, D. D. P., Pinheiro, A. C., & Teixeira, J. A. (2017). Mucilage-based microcapsules for probiotic delivery: Stability and functional properties. Carbohydrate Polymers, 175, 512–520.

41. Afzaal, M., Shah, M. A., Imran, M., & Butt, M. S. (2020). Microencapsulation of Lactobacillus casei using alginate-calcium and whey protein concentrate: Effects on viability and stability. Journal of Food Science and Technology, 57(7), 2443–2453.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]

Microencapsulation of *Lactobacillus casei* Using Sodium Alginate, Carboxymethyl Cellulose, and Okra Mucilage and Its Effect on Bacterial Viability in Cheese During Storage

Zahedi Rad M[1], Noori N[1], Gandomi H[1], Mortazavian AM[3] , Khorshidian N[4], Azizian A[1]*

1-Department of Food Hygiene and Quality, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

*2-*Corresponding author: Department of Food hygiene and quality control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran Email: nnoori@ut.ac.ir*

3-Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4-Department of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 21 Dec, 2025 **Accepted 14 Apr, 2026**

Background and Objective: Microencapsulation is an effective strategy to enhance their stability and viability of probiotics in food matrices, particularly in dairy products. This study aimed to microencapsulate *Lactobacillus casei* to evaluate its effect on bacterial viability in Feta cheese during storage.

Materials and Methods: After cheese preparation and bacterial microencapsulation, the treatments were prepared in 3 groups and examined for microbial, microscopic, and sensory tests during 63 days of storage.

Results: Revealing an average particle diameter of 335 nm with a size distribution (310–360 nm) and an average aspect ratio of 1.16. The encapsulation efficiency was 98.94%. The viability of free and microencapsulated *L. casei* in Feta cheese at the beginning of storage, no significant difference was observed between free and microencapsulated bacteria ($P>0.05$), with initial counts of 9.89 ± 0.08 and 9.93 ± 0.07 logCFU/g at 4 °C, respectively. However, significant differences emerged from day 7 onward ($P<0.05$).By the end of storage at 4 °C, the counts of free and microencapsulated bacteria decreased to 2.13 ± 0.13 and 3.04 ± 0.17 logCFU/g, corresponding to 78% and 59% reductions, respectively. At 25 °C, bacterial reduction was more pronounced, with 89% and 76% decreases in free and microencapsulated bacteria, respectively. Sensory evaluation indicated that microencapsulation did not adversely affect taste, and overall acceptance of cheese containing microencapsulated bacteria was significantly higher than that of cheese with free bacteria ($P<0.05$).

Conclusion: Overall, microencapsulation using biopolymer-based materials, particularly okra mucilage, is an efficient approach to enhance probiotic survival and improve the quality of probiotic cheese.

Keywords: Mucilage, Lactobacillus, Microencapsulation, Probiotic, Cheese

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-06-30]