اثر کو-میکروانکپسولاسیون آلژینات با پکتین بر زنده مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* تحت شرایط شبیه سازی شده گوارش و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی میکروکپسول های تولیدی

مریم تاج آبادی ابراهیمی[1*]، فرشته ناظمی هرندی[2]، تارا میرزائی[1] ، زهرا زیاری[3]

[1] گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

[2] گروه بیوتکنولوژی، دانشکده مهندسی شیمی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

[3] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰

چکیده

تکنیک کو-میکروانکپسولاسیون روشی رایج به منظور افزایش کارآیی پروبیوتیک‌ها در حین فرآیند تولید و هم چنین رهایش کنترل شده و هدفمند آن‌ها در دستگاه گوارش است. بنابراین در پژوهش حاضر جهت بهبود قابلیت زنده مانی میکروارگانیسم ها در شرایط نامساعد گوارش، باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در پلیمرهای سدیم آلژینات و ماده کو-میکروانکپسوله کننده پکتین با تکنیک اکستروژن انکپسوله و در ادامه به روش انجمادی خشک شد. سپس نمونه ها در شرایط شبیه سازی شده معده (آنزیم پپسین ، pH= ۱/۸) و روده کوچک (نمک صفراوی (بایل اگزالات) و آنزیم پانکراتین و pH = ۶/۸) مجموعا به مدت ۵ ساعت قرار گرفت. نمونه‌های بهینه (کو-میکروکپسول) و کنترل (سلول آزاد و میکروکپسول) به منظور بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی توسط آنالیزهای مشخصه یابی اعم از FE-SEM، XRD و FTIR سنجش شدند. پیرو نتایج بدست آمده، میزان بقای سلول‌های آزاد پس از عبور از محیط شبیه سازی شده گوارش به ٪ ۶۲/۵۲ کاهش یافت ؛ در صورتی که قابلیت زیستی کو-میکروکپسول ها و میکروکپسول‌ها به ترتیب به ٪ ۸۳/۴۹ و ٪ ۷۴/۸۳ رسید. بنابراین شایان ذکر است به دلیل اثر هم افزایی مواد زیست فعال مورد استفاده، عملکرد پروبیوتیک کو-میکروانکپسوله به مراتب بسیار بالاتر از حد قابل قبول بود. بطور خلاصه این مطالعه نشان داد شبکه کو-میکروانکپسولاسیون می‌تواند به عنوان سامانه ای جدید در حفظ و نگهداری پروبیوتیک‌ها در صنعت غذای فراسودمند مورد استفاد قرار گیرد.

واژگان کلیدی : پروبیوتیک، انکپسولاسیون، کو-میکروکپسول، دستگاه گوارش.

* ebrahimi_mt@yahoo.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مقدمه

تولید محصولات پروبیوتیک از دیرباز در جوامع بشری رونق داشته است و امروز بدلیل کشف خواص موثر آن بر گوارش انسان، بازار آن روز به روز گسترش یافته است. ماهیت پروبیوتیک‌ها به گونه‌ای است که در برابر شرایط نامساعد محیطی نظیر اسیدیته بالا و pH پایین، نمک‌های صفراوی، انجماد شدید یا خشک شدن انجمادی، اکسیژن مولکولی، خشک شدن پاششی، باکتری فاژها و ترکیبات شیمیایی ضدمیکروبی بسیار حساس هستند که کاربرد آن‌ها را با محدودیت روبرو کرده است. بنابراین فناوری انکپسولاسیون به عنوان نوین ترین شیوه‌ها، با هدف محافظت از پروبیوتیک‌ها و کنترل انتشار آن‌ها در دستگاه گوارش اثر قابل ملاحظه‌ای در این ارتباط دارد.

تاکنون روش‌های مختلفی به منظور انکپسولاسیون و تثبیت پروبیوتیک‌ها معرفی شده‌اند که هرکدام دارای نقاط قوت و معایب خاص خود هستند. بنابراین، دستیابی به رویکردی کم هزینه با کارایی بالا برای حفظ جمعیت فعال پروبیوتیک در زمان نگهداری و هم‌چنین در محیط‌های غذایی و گوارشی موضوعی است که امروزه مطرح و مورد حائز اهمیت است [۱-۳].

قبل از انتخاب تکنیک انکپسولاسیون، باید جنبه‌های مختلفی در نظر گرفته شود. انتخاب یک روش مناسب به پارامترهای مختلفی از جمله ماهیت پروبیوتیک‌ها، شرایط عملیاتی روش انکپسولاسیون، خواص مواد زیستی مورد استفاده، اندازه ذرات مورد نیاز برای تحویل‌رسانی پروبیوتیک‌ها بدون داشتن تأثیرات منفی بر ویژگی‌های محصول، مکانیسم رهاسازی و نرخ رهایش پروبیوتیک‌ها، هدف انکپسولاسیون، کاربرد محصول انکپسوله شده، شرایط نگهداری و در نهایت هزینه تولید بستگی دارد. روش‌های انکپسولاسیون شامل تثبیت (اکسترودژن[۲]، امولسیون[۳]، کواسرویشن[۴] و الکتروریسی[۵]) و روش‌های مبتنی بر خشک کردن (خشک کردن انجمادی[۶]، خشک کردن پاششی[۷]، خشک کردن انجمادی پاششی[۸] و خشک کردن بستر سیال[۹]) می باشند. در این میان، روش اکسترودژن (ژل شدن یونی خارجی)[۱۰] یکی از روش‌های راحت و پربازده بوده که در حوزه انکپسولاسیون پروبیوتیک ها مورد توجه فراوان پژوهشگران و صنعتگران قرار دارد. این روش بر اساس به دام اندازی هسته درون دانه‌های هیدروژلی عمل می‌کند. این سامانه انکپسولاسیون، بازده‌های مختلفی را در محافظت از پروبیوتیک‌ها نشان داده است. اصلاحات در این سامانه بصورت پوشش دهی دانه‌ها (کپسول ها) با پلیمرهای دیگر و یا ترکیب پلیمر دیگر درون شبکه پلیمر اصلی می‌باشد.

استفاده از حامل‌های مناسب برای انکسپولاسیون باکتری‌ها حائز اهمیت است. بدین منظور از ترکیبات مختلفی اعم از پروتئین‌های گیاهی و حیوانی، پلی ساکاریدهای گیاهی،

[2] Extrusion
[3] Emulsion
[4] Coacervation
[5] Electrospinning
[6] Freeze drying
[7] Spray drying
[8] Spray-Freeze drying
[9] Fluid bed drying
[10] External ionic gelation

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

حیوانی، میکروبی و دریایی و هم‌چنین پلیمرهای مصنوعی استفاده می‌شود [۳]. در بین پلیمرهای کربوهیدراتی مورد استفاده، سدیم آلژینات به دلیل ماهیت غیر سمی، سهولت در تولید میکروکپسول‌های منسجم، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و هم چنین دسترسی آسان، به عنوان رایج ترین ماده زیستی برشمرده می‌شود. آلژینات، یک پلی ساکارید طبیعی مشتق شده از اسید آلژینیک با بار منفی بوده که در دیواره سلولی جلبک‌های قهوه ای حضور داشته و تقریباً ۳۰ تا ۶۰ درصد با اسید آلژینیک همراه می‌باشد. سدیم آلژینات به دلیل داشتن خاصیت ژل کنندگی و غلیظ کنندگی به غیر از صنایع غذایی در صنایع داروسازی نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴]. مونومرهای آلژینات دارای گروه عاملی کربوکسیل بوده و هر گروه کربوکسیل آن با کاتیون های موجود در محلول همراه می‌شود. این همراهی باعث ایجاد شبکه اتصال عرضی با کاتیون‌های دارای دو بار مثبت می‌شود که ژل شدن یونی را سبب می‌شود. از لحاظ شیمی، آلژینات کوپلیمری متشکل از β-D-مانورونیک اسید (M) و -L-αگلوکورونیک اسید (G) می‌باشد. نسبت G و M مهم‌ترین پارامتر بین آلژینات‌های مختلف بوده و بطور زیادی بر روی خواص این پلیمر تاثیر گذار است. پکتین یک بیوپلیمر طبیعی، آب دوست و غیر سمی است. این ماده از ساختارهای ژلاتینی موجود در میوه و سبزیجات بدست می‌آید. پلیمر مورد نظر یک هتروپلی ساکارید آنیونی است که از نظر ساختاری، از تعدادی بلوک D-گالاکتورونیک اسید که توسط پیوندهای گلیکوزیدی آلفا ۱ و ۴ به یکدیگر متصل شده‌اند تشکیل شده است. به دلیل فراوانی، قیمت ارزان، در دسترس بودن، داشتن بار منفی، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و هم چنین فرم متوکسیله شده ی کم آن، پلیمر مورد توجهی به منظور انکپسولاسیون و رهایش هدفمند داروها می‌باشد. بعضی از بلوک‌های گالاکتورونیک اسید موجود در پکتین استری شده‌اند که بر حسب درجه‌ی استری شدن (درجه دمتیلاسیون[11] (DM)) به دو نوع متوکسیل بالا[12] (HM) و متوکسیل پایین[13] (LM) تقسیم می‌شوند. ساختار گالاکتورونیک اسید پکتین مشابه با گلوکورونیک اسید و مانورونیک اسید در آلژینات می‌باشد که قابلیت ژل شدن نوع HM آن وابسته به pH و نوع LM آن به راحتی توانایی تشکیل شبکه اتصال عرضی با یون کلسیم را همانند آلژینات دارا می‌باشد [۵]. این مکانیسم شباهت زیادی به پوسته تخم مرغ دارد [۶]. شایان ذکر است پکتین به آنزیم‌های معده و روده مقاوم است اما می‌تواند به سرعت توسط میکروبیوتای روده تخمیر شود، بنابراین آزادسازی کنترل شده پروبیوتیک‌ها در روده را تسهیل می‌کند. هم چنین پکتین، یک پری بیوتیک موثر است که می‌تواند رشد و تحمل اسید را افزایش دهد و بقای پروبیوتیک‌های کپسوله شده را بهبود بخشد [۶, ۷].

شایان ذکر است کومیکروانکسپولاسیون یک نوع روش انکپسولاسیون است که به دلیل اثر هم افزایی[14] دو یا چند ماده زیست فعال مورد استفاده، عملکرد مواد محصور شده را افزایش می‌دهد [۵]. از این رو در سال‌های اخیر، توجه زیادی به انکپسولاسیون همزمان پروبیوتیک ها همراه با آلژینات و مواد دیگر تحت عنوان کو-انکپسولیتور شده است.

با توجه به موارد فوق، این مطالعه با هدف ارزیابی اثر کو-میکروانکپسولاسیون *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* با سدیم آلژینات و پکتین بر زنده‌مانی و پایداری پروبیوتیک‌ها در شرایط شبیه سازی شده گوارش و هم چنین بررسی خصوصیات میکروکپسول های سنتز شده انجام شد.

[11] Degree methylation
[12] High methoxyl
[13] Low methoxyl
[14] Synergistic

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

مواد و روش‌ها

مواد شیمیایی و بیوشیمیایی

لاکتوباسیلوس رامنسوس[15] به عنوان سویه پروبیوتیکی (IBRC-M 11322)از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران تهیه شد. سدیم آلژینات (ویسکوزیته متوسط) و پکتین (کم متوکسیل) به ترتیب از شرکت‌های سیگما و بی دی اچ تامین شد. هم‌چنین از مواد دیگری در این پژوهش اعم از محیط‌کشت MRS براث (مرک)، آنزیم پپسین (مرک)، آنزیم پانکراتین (سیگما آلدریچ)، نمک بایل اگزالات (بی دی اچ)، کلسیم کلرید (قطران)، سدیم کلرید (مرک) و تری سدیم سیترات (مرک) استفاده شد.

آماده سازی باکتری پروبیوتیک

باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* به مدت ۲۴ ساعت در محیط‌کشت استریل MRS براث در دمای ۳۷ °C در انکوباتور تحت شرایط هوازی پیش کشت داده شد تا فعال شود. در مرحله بعد، باکتری تازه کشت یافته در ۴۰۰۰ rpm و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی دور ریخته شد و پس از شستشوی سلول‌ها با سدیم کلرید ٪ ۰/۹[16]، مجددا باکتری‌ها سانتریفوژ شد. سپس سوسپانسیون باکتریایی بدست آمده به روش کلنی کانت در محیط‌کشت MRS آگار پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C و تحت شرایط هوازی مورد شمارش قرار گرفت. در ادامه، سلول‌های باکتریایی تازه متعاقباً در آزمایشات کو-میکروانکپسولاسیون و میکروانکپسولاسیون استفاده شد یا به عنوان سلول‌های آزاد مورد استفاده قرار گرفت.

فرآیند کو-میکروانکپسولاسیون باکتری پروبیوتیک به روش اکستروژن

روش اکستروژن[17] مطابق بهینه سازی ترکیب درصد میکروکپسول های حاوی باکتری، سدیم آلژینات و ماده کو-میکروانکپسوله کننده پکتین بکار برده شد (جدول ۱).

جدول ۱- بهینه سازی ترکیب درصد میکروکپسول های پروبیوتیکی.

شماره فرمولاسیون	نوع فرآیند انکپسولاسیون	غلظت پلیمرها (%w/v)	
		آلژینات	پکتین (ماده کومیکروانکپسوله کننده)
۱	کو-میکروانکپسولاسیون	۲	۰/۵
۲	کو-میکروانکپسولاسیون	۲	۱
۳	کو-میکروانکپسولاسیون	۲	۱/۵
۴	میکروانکپسولاسیون	۲	-

پلیمرهای تشکیل دهنده میکروکپسول‌ها، هرکدام به صورت جداگانه در آب دیونیزه حل شده و پس از استریل شدن با هم مخلوط شدند. باکتری پروبیوتیک پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ °C در محیط کشت MRS براث، با سرعت ۴۰۰۰ rpm طی ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و با استفاده از محلول سالین شستشو داده شد. پس از جداسازی کامل فاز بالایی، سلول‌های باکتری با حجم برابر از محلول‌های پلیمری در شرایط استریل در مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۱۲۰۰ rpm در دمای محیط مخلوط شدند. در انجام فرایندهای میکروانکپسولاسیون و کو-میکروانکپسولاسیون، مخلوط حاصله به درون سرنگ استریل منتقل و سپس به محلول کلسیم کلرید ۵٪ w/v اضافه شد. گرانول‌های کروی و منسجم (میکروکپسول‌ها)، بلافاصله پس از تماس با یون کلسیم تشکیل شدند. مخلوط مورد نظر به مدت حداقل ۳۰

[15] *Lactobacillus rhamnosus*
[16] Saline
[17] Extrusion

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

دقیقه در دمای محیط به منظور سفت شدن شبکه نگه داری شد. سپس میکروکپسول های سنتز شده پس از سانتریفیوژ، در حضور پروتکتانت‌های سرمایشی مختلف اعم از اسکیم میلک و گلوکز به روش انجمادی خشک شدند. در روش اکستروژن (ژله ای شدن یونی)، یون‌های مثبت کلسیم (Ca^{2+}) حاصل از محلول کلسیم کلرید با گروه های منفی کربوکسیلات(COO^-)گالاکتورونیک اسید موجود در سدیم آلژینات، پیوند الکتروستاتیکی یونی-یونی ایجاد کرده و شبکه‌ی بسپاری تشکیل می‌دهد. شایان ذکر است غلظت پلیمر های مورد بررسی در پژوهش حاضر، برگرفته از مطالعات علمی و پری تست‌های انجام شده می باشد [۸]. پس از انجام آزمایشات بهینه سازی، در نهایت نمونه بهینه (میکروکپسول ها) به منظور ادامه آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی زنده مانی میکروکپسول های پروبیوتیکی در طی فرایند

هدف از این مرحله، بررسی زنده‌مانی میکروکپسول‌های پروبیوتیکی و در ادامه انتخاب فرمولاسیون بهینه ترکیب درصد دیواره باکتری (مواد انکپسوله کننده) می‌باشد. بدین منظور، با توجه به گیر افتادن و محبوس شدن هسته (باکتری) در ساختار کروی میکروکپسول‌ها، ابتدا رهایش هسته انجام شد. لذا gr ۱ میکروکپسول حاوی سلول باکتری پروبیوتیک در cc ۹ محلول سدیم سیترات ۳٪ v/w به مدت ۱۵ دقیقه بر روی شیکر انکوباتور با دور ۱۲۰۰ مخلوط شده تا میکروکپسول‌ها کاملا باز و سلول‌های باکتریایی آن آزاد شوند. سپس محتوی موجود در آب مقطر استریل به رقت‌های مورد نیاز رسانده و شمارش به روش کشت سطحی انجام شد. به عنوان نمونه کنترل از باکتری غیر انکپسوله (سلول آزاد) و میکروکپسول‌های آلژینات (بدون پکتین) استفاده شد [۸]. به منظور تعیین بازده فرآیندهای میکروانکپسولاسیون و کو-میکروانکپسولاسیون از معادله ۱ استفاده شد :

$$\text{٪ زنده مانی} = \frac{N}{N0} \times 100 \qquad (1)$$

در اینجا، N بصورت Log cfu/gr سلول محبوس شده در میکروکپسول و N_0 بصورت Log cfu/gr تعداد سلول اولیه در محیط کشت تعریف می‌شود. Log cfu/gr برابر با تعداد کلونی‌های زنده بازای هر گرم می‌باشد [۸-۱۰].

بررسی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی میکروکپسول‌های پروبیوتیکی

به منظور بررسی خصوصیات کو-میکروکپسول‌های حاوی باکتری – آلژینات - پکتین (نمونه بهینه) و نمونه های کنترل (سلول باکتریایی آزاد و میکروکپسول های حاوی باکتری-آلژینات)، از آنالیزهای مشخصه یابی [۸-۱۰] به شرح زیر استفاده می‌شود :

بررسی مورفولوژی سطح با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی میدان گسیل[18] (FESEM)

به منظور مشاهده و بررسی شکل و ساختار ظاهری نمونه‌ها (بهینه و کنترل)، از تصاویر FESEM با بزرگنمایی‌های مختلف استفاده شد. برای این کار، نمونه‌های خشک شده با استفاده از پوشش نقره آماده شدند. نمونه‌های آماده شده داخل محفظه دستگاه قرار گرفتند تا با استفاده از پرتو الکترونی، تصاویر موردنظر گرفته شود.

بررسی پیوندهای فیزیکی و شیمیایی با ستفاده از طیف سنجی تبدیل فوریه - فروسرخ (FTIR)[19]

برای بررسی پیوندهای موجود در نمونه‌ها (بهینه و کنترل)، از طیف سنج FTIR استفاده شد. برای این کار نمونه‌های خشک

[18] Field Emission Scanning Electron Microscope

[19] Fourier Transform Infrared

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

شده پس از مخلوط شدن با KBr بصورت قرص خمیری در آمده و با دستگاه FTIR سنجش شدند.

بررسی بلورینگی با استفاده از طیف سنجی پراکنش پرتو ایکس[20] (XRD)

برای بررسی ساختارهای بلوری نمونه‌ها (بهینه و کنترل)، از الگوهای XRD استفاده شد. نمونه‌ها با اشعه ی تحت ولتاژ ۴۰ kv و ۴۰ mA توسط دستگاه XRD سنجش شدند.

آماده سازی محیط شبیه سازی شده ی گوارش

برای تهیه Lit ۱ محیط شبیه‌سازی شده‌ی معده، gr ۵ نمک سدیم کلرید به همراه gr ۳ آنزیم پپسین در Lit ۱ لیتر آب مقطر حل و pH محلول حاصل با هیدروکلریدریک اسید M ۱ روی ۱/۸ تنظیم شد. برای تهیه Lit ۱ محیط شبیه‌سازی شده ی روده ی کوچک، gr ۱ آنزیم پانکراتین به همراه gr ۰/۵ نمک صفراوی در محلول فسفات بافر سالین حل و به حجم Lit ۱ رسانده می‌شود. pH این محلول ۷/۴ تنظیم شد [۸-۱۰].

بررسی رهایش میکروکپسول‌های پروبیوتیکی در سامانه شبیه‌سازی شده گوارش

به منظور بررسی تاثیر میکروکپسول‌ها بر زنده مانی باکتری (نمونه‌های بهینه و کنترل)، نمونه‌های حاوی باکتری بلافاصله پس از سنتز در معرض محیط شبیه سازی شده‌ی گوارش قرار می‌گیرد. بدین منظور، gr ۱ نمونه به cc ۹ محلول شبیه‌سازی شده ی معده داخل ارلن اضافه و در انکوباتور °C ۳۷ با دور ۷۰ به مدت ۲ ساعت انکوباته شد. پس از جداسازی کامل محیط معده و ۲ بار شستشوی نمونه ها با سالین استریل بوسیله سانتریفوژ، cc ۹ از محیط شبیه‌سازی شده ی روده به نمونه‌ها اضافه و مجددا به مدت ۳ ساعت در دمای °C ۳۷ با دور ۱۵۰ انکوباته شد. پس از این زمان، عملیات رقیق‌سازی و شمارش باکتری‌ها به روش کشت سطحی انجام گرفت. برای محاسبه ی زنده‌مانی سلول‌ها از معادله ۲ استفاده می‌شود [۸-۱۰].

$$\text{٪ زنده مانی} = \frac{N}{N0} \times 100 \qquad (۲)$$

در اینجا، N بصورت Log cfu/gr سلول محبوس شده در نمونه‌ها پس از قرارگیری در محیط گوارش و N_0 بصورت Log cfu/gr تعداد سلول اولیه پس از میکروانکپسولاسیون و کو-میکروانکپسولاسیون تعریف می‌شود. Log cfu/gr برابر با تعداد کلونی‌های زنده بازای گرم می‌باشد.

تحلیل آماری

تمام آزمایش‌های انجام شده در این طرح، سه بار تکرار شدند. بررسی نتایج حاصل از طراحی آزمایش‌ها و تعیین مدل‌های مناسب ریاضی با استفاده از تحلیل واریانس[21] انجام و با سطح اطمینان[22] ٪۹۵ گزارش شد.

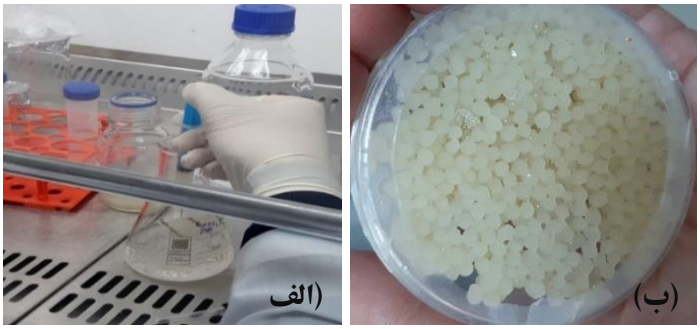
نتایج

بازده فرآیند میکروانکپسولاسیون و کو-میکروانکپسولاسیون

فرآیند انکپسولاسیون طی ۴ فرمولاسیون مختلف به شرح جدول ۱ و شکل ۱ انجام شد.

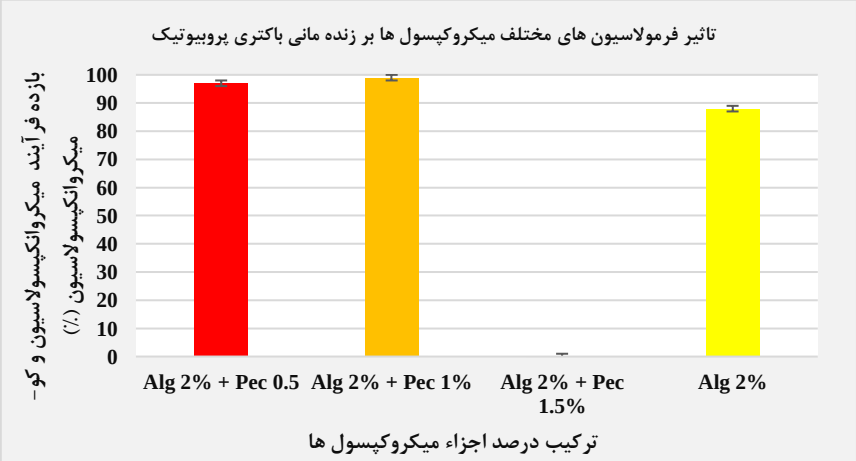
[20] X-ray Diffraction
[21] Analysis of Variance (ANOVA)
[22] Confidence Level

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل ۱- تصویر آزمایشگاهی مراحل انجام فرایند انکپسولاسیون (الف) و مورفولوژی کپسول های مرطوب (ب).

مطابق داده‌های شکل ۲ این نتیجه حاصل شد که استفاده از پکتین به عنوان ماده کو-میکروانکپسوله کننده با غلظت w/v ٪ ۱/۵ ، موجب ایجاد ویسکوزیته بیش از اندازه در محلول پلیمری حاوی سدیم آلژینات (فرمولاسیون‌های ۳ : آلژینات ٪۲ + پکتین ٪۱/۵) شده و در ادامه باعث عدم تزریق محلول پلیمری فوق در ماده کراس لینک کننده کلسیم کلرید می شود. بنابراین پیرو شواهد، فرایند کو-میکروانکپسولاسیون در فرمولاسیون مذکور با عدم موفقیت همراه شد. از این رو، از ادامه آزمایشات حذف شد. از طرفی دیگر، شایان ذکر است فرمولاسیون ۲ (آلژینات ٪۲ + پکتین ٪۱) نسبت به فرمولاسیون ۱ (آلژینات ٪۲ + پکتین ٪۰/۵) به علت داشتن دیواره سلولی با غلظت بالاتر، زنده مانی بیشتری از خود نشان داد و این بیانگر این امر می‌باشد که با افزایش غلظت مواد انکپسوله کننده، بازدهی فرآیند کو-میکروانکپسولاسیون بهتر حفظ می‌شود. لذا در مقایسه با نمونه کنترل، فرمولاسیون ۲ به عنوان نمونه بهینه انتخاب و برای آزمایشات اصلی مورد استفاده قرار گرفت. هم چنین شکل (۱-ب) شمایی از کو-میکروکپسول‌های تازه سنتز شده را نشان می‌دهد ($P_{value} < 0.05$). نمونه‌های موردنظر در فرم مرطوب دارای اندازه ای در محدوده ۱۲۰۰ µm الی ۱۷۰۰ و نمونه‌های خشک آن در رنج ۳۰۰ µm الی ۵۰۰ بودند [۸].



شکل ۲- تاثیرفرمولاسیون های مختلف میکروکپسول ها بر زنده مانی پروبیوتیک طی فرآیندهای انکپسولاسیون ($P_{value} < 0.05$).

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی میکروکپسول-های پروبیوتیکی

بررسی مورفولوژی نمونه‌ها

شکل ۳ نمایی از تصاویر میکروسکوپی نمونه بهینه (کو-میکروکپسول های حاوی باکتری - سدیم آلژینات – پکتین : فرمولاسیون ۲) و نمونه های کنترل (سلول باکتریایی آزاد و هم چنین میکروکپسول‌های حاوی باکتری - آلژینات) را

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

نشان می دهد. پیرو تصاویر، اثری از باکتری‌های پروبیوتیک بر سطح کو-میکروکپسول‌ها دیده نشد که نشان از موفقیت آمیز بودن فرآیند کو-میکروانکپسولاسیون می‌باشد. از دیگر نکات حائز اهمیت می‌توان به کاهش نفوذپذیری جداره‌های کو-میکروکپسول های سنتز شده اشاره کرد زیرا باتوجه به منابع علمی، هرچه این سطوح کروی‌تر و دارای شکاف کمتر باشند بهتر می‌باشد و بازده میکروانکپسولاسیون بیشتر حفظ می‌شود. شایان ذکر است کو-میکروکپسول‌های پژوهش حاضر در ابتدا بصورت ذرات کروی مسطح بود و بعد از خشک شدن، دارای سطوح چروکیده و متقعر شد. علت این پدیده ناشی از اثرات منفی فرآیند خشک کردن انجمادی می‌باشد که بر مورفولوژی سطح نمونه‌ها تاثیرات جزئی گذاشته است [۸, ۱۱].

بررسی گروه‌های عاملی نمونه‌ها

به منظور بررسی تراکنش بین پلیمرها و هسته (باکتری پروبیوتیک)، طیف سنجی FTIR مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۴). آنالیز مورد نظر مربوط به نمونه بهینه (کو-میکروکپسول‌های حاوی باکتری - سدیم آلژینات - پکتین) و نمونه‌های کنترل (سلول آزاد) و (میکروکپسول های حاوی باکتری – آلژینات) می‌باشد. پیرو مقایسه‌ی نمونه بهینه با نمونه‌های کنترل این نتیجه حاصل شد ساختارهای پلی ساکاریدی (آلژینات به عنوان پلی ساکارید طبیعی و پکتین به عنوان یک هتروپلی ساکارید آنیونی) به دلیل مشابه بودن در پیوندها، معمولا در نواحی خاصی دارای طیف های FTIR یکسان هستند. پیک مشاهده شده در طول موج cm^{-1} ۳۵۴۹/۲۵ در طیف‌سنجی نمونه بهینه مربوط به کشش پیوندی O–H می‌باشد. ارتعاشات کششی مربوط به پیوند متقارن و نامتقارن آلیفاتیکیC–H در عدد موج cm^{-1} ۲۹۲۹/۴۸ دیده می‌شود. عدد موج cm^{-1} ۱۶۳۷/۸۱ پیک ارتعاشی کششی نامتقارن پیوند COO– و طول موج cm^{-1} ۱۴۶۱/۵۶ مربوط به پیک ارتعاشی کششی متقارن گروه کربوکسیل COO– است. عدد موج cm^{-1} ۱۱۰۲/۵۸ نیز به مربوط به کشش پیوند C–O می‌باشد. لازم بذکر است، در میکروکپسول‌های مورد نظر پیوند کششی C–O در گروه کربوکسیل مربوط به پکتین می‌باشد. پیک‌های مربوط به گروه مونوساکارید موجود در پلی ساکاریدها در ناحیه cm^{-1} ۸۰۰-۱۲۰۰ ظاهر می‌شود. مطالعات انجام شده روی دیواره سلولی باکتری‌ها نشان داد که حضور باکتری در میکروکپسول‌های سنتز شده منجر به ظهور دو پیک مهم در محدوده عدد موج cm^{1} ۱۵۰۰-۱۶۰۰ و ۱۰۰۰-۱۱۰۰ شده است که به ترتیب نشان‌دهنده‌ی گروه‌های آمیدی و فسفات در دیواره سلولی باکتری می‌باشد. بطور کلی شایان ذکر است، تغییر شدت برخی از پیک‌ها و باریک تر شدن پیوندهای گروه عاملی نشان می‌دهد که باکتری درون شبکه ی آلژینات و پکتین احاطه شده و اتصال عرضی آلژینات با یون کلسیم باعث جابجایی عدد موج‌های مورد نظر شده است [۸, ۱۲, ۱۳].

بررسی بلورینگی نمونه ها

با استفاده از اطلاعات بدست آمده از الگوهای XRD می‌توان به بلوری یا آمورف (غیر بلوری) بودن ساختار ترکیب اجزاء کو-میکروکپسول های حاوی باکتری، سدیم آلژینات و پکتین پی برد (شکل ۵). مطابق با مطالعات علمی، الگوی XRD مربوط به پلیمر سدیم آلژینات، بیانگر ساختار بلوری می‌باشد. پکتین، دارای یک الگوی کاملا خمیده و فاقد ساختار بلورین (قله تیز) است که اثبات می کند پلیمر مربوطه دارای ساختار آمورف (بی شکل) است. با مقایسه ی الگوهای پراش نمونه بهینه و کنترل نسبت به پلیمرهای خالص و باکتری آزاد، این نتیجه حاصل شد که ساختار کریستالی آلژینات به دلیل داشتن مقدار قابل توجه از کل غلظت میکروکپسول‌ها (۲٪) بر روی ساختار نمونه تاثیر غالبی داشته و ساختار بلوری

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

این پلیمر تا حدودی حفظ شده است. در مجموع پس از کو-میکروانکپسولاسیون باکتری با پلیمرهای مربوطه، تعداد و شدت برخی از پیک ها تغییر کرده است که نشان هنده پیوند بین پلیمرها با باکتری و اتصالات عرضی آلژینات و پکتین با یون کلسیم بوده که باعث ایجاد استحکام بیشتر شبکه انکپسولاسیون می شود [۸, ۱۴].

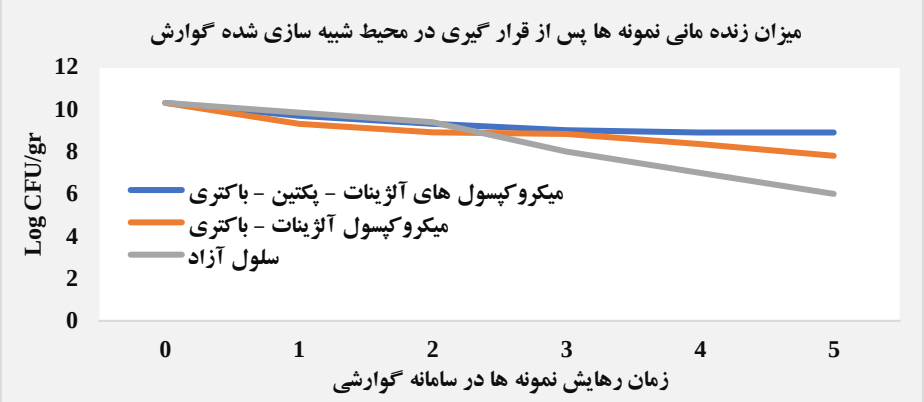
بررسی زنده مانی میکروکپسول های پروبیوتیکی در محیط شبیه سازی شده گوارش

هدف از انجام آزمایشات این بخش، بررسی اثر شبکه انکپسولاسیون بر قابلیت تحمل باکتری پروبیوتیک در شرایط شبیه سازی شده معده (در حضور آنزیم پپسین با pH ۱/۸) و روده کوچک (در حضور آنزیم پانکراتین با pH ۶/۸ و نمک های صفراوی (بایل اگزالات)) می باشد. همانطور که مشهود است فرآیند کو-میکروانکپسولاسیون باعث شد درصد زنده مانی باکتری های فعال کو-میکروانکپسوله شده پس از طی کردن محیط تنش زای اسیدی-بازی گوارش به ٪ ۸۳/۴۹ برسد در حالی که در نمونه های کنترل (میکروکپسول ها و باکتری های آزاد) این مقدار به ترتیب به ٪ ۷۴/۸۳ و ٪ ۶۲/۵۲ رسید ($P_{value}<0.05$). به عبارتی دیگر کومیکروکپسول ها اختلاف ۳/۵ سیکل لگاریتمی با سلول های آزاد و ۱ سیکل لگاریتمی با میکروکپسول ها را نشان می دهد. بنابراین تعداد سلول های زنده باکتری کو-میکروانکپسوله شده پس از عبور از محیط معده، پروتئاز ها و املاح صفراوی روده به مراتب بالاتر از حد قابل قبول و استانداردهای پروبیوتیک بود و نسبت به نمونه های کنترل از اختلاف معنادار برخوردار است ؛ از این رو می تواند مزایای سلامت بخشی را برای میزبان به آسانی فراهم کند (شکل۶ و جدول ۲).

جدول ۲- درصد زنده مانی نمونه بهینه (کو-میکروکپسول های حاوی آلژینات - پکتین – باکتری) و نمونه های کنترل (باکتری غیر انکپسوله/سلول آزاد) و (میکروکپسول های آلژینات – باکتری) در برابر محیط شبیه سازی شده ی گوارش در طی فواصل زمانی مختلف.

نمونه کنترل (میکروکپسول های حاوی باکتری – آلژینات)	زنده مانی نمونه کنترل پس از ۵ ساعت قرار گیری در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش : ابتدا محیط معده (۲ ساعت) و سپس روده کوچک (۳ ساعت) براساس CFU/gr					
	ساعت ۰	ساعت ۱	ساعت ۲	ساعت ۳	ساعت ۴	ساعت ۵
	۹۷/۳۵ ± ۰/۰۲	۸۷/۷۳ ± ۰/۱۵	۸۳/۲۵ ± ۰/۱۴	۸۲/۶۹ ± ۰/۰۲	۷۸/۲۰ ± ۰/۲۸	۷۴/۸۳ ± ۰/۳۵
نمونه بهینه (کو-میکروکپسول های حاوی باکتری – آلژینات – پکتین)	زنده مانی نمونه بهینه پس از ۵ ساعت قرار گیری در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش : ابتدا محیط معده (۲ ساعت) و سپس روده کوچک (۳ ساعت) براساس CFU/gr					
	ساعت ۰	ساعت ۱	ساعت ۲	ساعت ۳	ساعت ۴	ساعت ۵
	۹۷/۳۵ ± ۰/۰۲	۹۱/۵ ± ۰/۳۵	۸۷/۷۳ ± ۰/۲۸	۸۴/۹۰ ± ۰/۲۸	۸۴/۰۵ ± ۰/۱۵	۸۳/۴۹ ± ۰/۰۲
نمونه کنترل (باکتری غیر انکپسوله /سلول آزاد)	زنده مانی نمونه کنترل پس از ۵ ساعت قرار گیری در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش: ابتدا محیط معده (۲ ساعت) و سپس روده کوچک (۳ ساعت) بر اساس CFU/gr					
	ساعت ۰	ساعت ۱	ساعت ۲	ساعت ۳	ساعت ۴	ساعت ۵
	۹۷/۳۵ ± ۰/۰۲	۹۰/۶۵ ± ۰/۱۴	۸۰/۰۷ ± ۰/۰۲	۷۴/۸۳ ± ۰/۳۵	۶۸/۲۸ ± ۰/۳۵	۶۲/۵۲ ± ۰/۰۲

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]



شکل ۶- زنده مانی نمونه بهینه (کو-میکروکپسول های حاوی آلژینات - پکتین – باکتری) و نمونه های کنترل (باکتری غیر انکپسوله/سلول آزاد) و (میکروکپسول های آلژینات – باکتری) در برابر محیط شبیه سازی شده ی گوارش در طی فواصل زمانی مختلف.

بحث و نتیجه گیری

در تهیه غذاهای فراسودمند مبتنی بر باکتری پروبیوتیک، ضروری است که پروبیوتیک‌ها نه تنها در زمان فرآوری و نگهداری، بلکه در طول دستگاه گوارش نیز زنده‌مانی خود را حفظ کنند. میکروارگانیسم های مورد نظر باید در برابر شرایط تنش‌زا اعم از اسیدیته معده، آنزیم‌های گوارشی، پروتئازها و نمک صفراوی در روده کوچک مقاوم باشند. فلور روده در انسان رابطه ی نزدیکی با سلامت دارد و اطمینان از رسیدن تعداد کافی پروبیوتیک به روده‌ی کوچک و روده‌ی بزرگ موجب تامین فلور روده و ایجاد اثرات سلامت بخش می شود. لذا در پژوهش حاضر به منظور افزایش زنده-مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنسوس* در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان، این پروبیوتیک به وسیله سدیم آلژینات و پکتین کومیکروانکپسوله شد. مطابق داده‌های بدست آمده زنده مانی وتحمل شرایط تنش‌زا در باکتری‌های کو-میکروانکپسوله شده به مراتب بسیار بالاتر از بقیه بوده و از طرفی در بین میکروکپسول حاوی آلژینات وکومیکروکپسول‌های حاوی آلژینات و پکتین، کو-میکروکپسول‌ها نسبت به شرایط نامساعد مذکور مقاوم‌تر بودند. این نتایج با داده های حاصل از پژوهش دیگران هم سو بود [۱۵]. گاباسی و همکاران در پژوهشی گزارش کردند؛ انکپسولاسیون سویه‌های *لاکتوباسیلوسی* با آلژینات و پروتئین آب پنیر باعث حفظ بهتر پروبیوتیک‌ها در محیط شبیه سازی شده دستگاه گوارش می‌شود که با نتایج ما مطابقت داشت [۱۶]. در پژوهشی دیگر، تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* میکروانکپسوله شده با آلژینات در زمان قرار گیری در محیط اسیدی معده از log ۸/۹ به log ۵/۲ رسید [۱۷]. در مطالعه‌ای که توسط سان و گریفیتس انجام شد، گونه‌های *بیفیدوباکتریوم* با استفاده از ترکیب صمغ زانتان-ژلان به عنوان پوشش انکپسوله شدند؛ نتایج نشان داد گرانول‌ها بسیار مقاوم به اسید بوده و در pH = ۲/۵ کلونی‌های فعال پروبیوتیک‌انکپسوله شده فقط به میزان ۰/۶۷ لگاریتمی در طی ۳۰ دقیقه کاهش می‌یابد در حالی که سلول‌های آزاد از تعداد $۱/۲ \times ۱۰^{۹}$ CFU/ml به یک حد غیر قابل شمارش درهمان فاصله‌ی زمانی رسیده است [۱۸]. براساس گزارش‌های فاوار و همکاران، انکپسوله کردن *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* توسط سلولز استات فتالات باعث حفاظت بهتر این میکروارگانیسم در مقابل محلول‌های نمکی و اسیدی (مشابه با شرایط روده-ای) می‌شود [۱۹].

شایان ذکر است کو-میکروکپسول‌های طرح حاضر که متشکل از باکتری، آلژینات و پکتین است ؛ دارای اندازه ای در محدوده ۱۲۰۰ µm الی ۱۷۰۰ است که نسبت به

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

میکروکپسول‌های حاوی باکتری وآلژینات بزرگتر محسوب می‌شود. بدین منظور در مطالعه ای مشاهده شد میکروکپسول‌های سنتزشده به روش اکستروژن دارای اندازه ای در محدوده ۱/۵ تا ۱/۹ میلی متر است که این اختلاف به دلیل نوع مواد بکار رفته، شرایط فرآیند و دستگاه‌های استفاده شده می‌باشد. هم چنین در پژوهش مورد نظر، سایز کو-میکروکپسول ها نسبت به میکروکپسول های افزایش داشت که در راستای پژوهش حاضر است [۸، ۲۰].

در جدول ۳، گزارش‌های علمی اخیر در مورد اثرات مواد انکپسوله کننده برای به دام انداختن سلول‌های پروبیوتیک جهت مقایسه با پژوهش حاضر گردآوری شده است. بطور کلی نتایج تحقیق حاضر، حاکی از آن است که استفاده از سدیم آلژینات و پکتین برای میکروانکپسوله کردن *لاکتوباسیلوس رامنسوس* نقش بسیار مهمی در حفاظت از آن‌ها در برابر شرایط نامساعد محیطی اعم از محیط شبیه سازی معده و روده ایفا می‌کند. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی میکروکپسول‌ها نشان داد گرانول‌ها از پایداری مناسبی برخوردارند. هم چنین پروبیوتیک کو-میکروانکپسوله شده در مقایسه با سلول‌های باکتریایی آزاد و میکروکپسول‌ها در سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش، مقاومت خوبی از خود نشان دادند. بنابراین یافته‌های حاصل گویای این امر می‌باشد که شبکه انکپسولاسیون باعث بهبود راندمان سویه های پروبیوتیکی و رهایش هدفمند آن‌ها در مکان و زمان مناسب (دستگاه گوارش) می‌شود.

جدول ۳- گزارش های علمی اخیر در مورد اثرات مواد انکپسوله کننده برای به دام انداختن سلول های پروبیوتیک

مواد انکپسوله کننده	سویه پروبیوتیکی	متد انکپسولاسیون	نتایج	رفرنس
سدیم آلژینات - شلاک	*لاکتوباسیلوس پاراکازئی*	بسترسیال	* بهبود ساختار متخلخل میکروکپسول‌ها ؛ * محافظت از سویه‌های میکروانکپسوله شده در طی نگهداری محیطی و هم چنین سامانه شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش ؛	[۲۱]
سدیم آلژینات – بذر کتان یا موسیلاژ بامیه سدیم آلژینات - بوتریوسفالوس	*لاکتوباسیلوس کازئی*	اکستروژن	* افزایش راندمان انکپسولاسیون ؛ * بهبود پایداری باکتری‌های انکپسوله شده در طی نگهداری یخچالی ؛	[۲۲]
سدیم آلژینات - سلولز	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	بستر سیال	* افزایش میزان بقای پروبیوتیک‌های انکپسوله شده در برابر شرایط شبیه سازی معده؛	[۲۳]
سدیم آلژینات- آرابینوکسیلان	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	اکستروژن	* افزایش راندمان انکپسولاسیون ؛ * افزایش مقاومت باکتری‌های کو-میکروانکپسوله شده در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش نسبت به میکروکپسول‌های آلژینات ؛	[۲۴]
سدیم آلژینات - شیرگاو - اینولین	*بیفیدوباکتریوم انیمالیس*	اکستروژن	* افزایش مقاومت باکتری‌های میکروانکپسوله شده در برابر اسید معده و نمک صفراوی ؛	[۲۵]
مالتودکسترین - سوکروز - سوربیتول	*ساکارومایسس سروزیه*	اسپری دراینگ	* افزایش مقاومت باکتری‌های میکروانکپسوله شده در برابر اسید معده و نمک صفراوی ؛	[۲۶]
سدیم آلژینات - موسیلاژ بذرکتان	*لاکتوباسیلوس اکازئی*	امولسیون	* افزایش راندمان انکپسولاسیون ؛ * افزایش مقاومت باکتری‌های میکروانکپسوله شده در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش ؛	[۲۷]

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

سدیم آلژینات - کیتوسان	*بیفیدوباکتریوم لانگوم*	امولسیون	* افزایش مقاومت حرارتی میکروکپسول‌ها ؛ * افزایش مقاومت باکتری‌های میکروانکپسوله شده در برابر شرایط شبیه سازی شده گوارش ؛	[۲۸]
سدیم آلژینات - پکتین	*لاکتوباسیلوس رامنسوس*	اکستروژن	* افزایش راندمان انکپسولاسیون ؛ * افزایش میزان بقای پروبیوتیک کو-میکروانکپسوله شده در برابر شرایط شبیه سازی شده معده و روده کوچک ؛ * بهبود کارایی کومیکروکپسول‌ها نسبت به میکروکپسول‌ها ؛	طرح حاضر

سپاس و قدردانی

نویسندگان مقاله حاضر مراتب قدردانی خود را از شرکت دانش بنیان تک ژن زیست اعلام می کنند.

تضاد منافع

هیچگونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

منابع

1. Harandi, F.N., Khorasani, A.C., Shojaosadati, S.A., and Hashemi-Najafabadi, S.: 'Surface modification of electrospun wound dressing material by Fe2O3 nanoparticles incorporating Lactobacillus strains for enhanced antimicrobial and antibiofilm activity', Surfaces and Interfaces, 2022, 28, pp. 101592
2. Harandi, F.N., Khorasani, A.C., Shojaosadati, S.A., and Hashemi-Najafabadi, S.: 'Living Lactobacillus–ZnO nanoparticles hybrids as antimicrobial and antibiofilm coatings for wound dressing application', Materials Science and Engineering: C, 2021, 130, pp. 112457
3. Yoha, K.S., Nida, S., Dutta, S., Moses, J.A., and Anandharamakrishnan, C.: 'Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization', Probiotics Antimicrob Proteins, 2022, 14, (1), pp. 15-48
4. Sarao, L.K., and Arora, M.: 'Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review', Crit Rev Food Sci Nutr, 2017, 57, (2), pp. 344-371
5. Koh, W.Y., Lim, X.X., Tan, T.-C., Kobun, R., and Rasti, B.: 'Encapsulated Probiotics: Potential Techniques and Coating Materials for Non-Dairy Food Applications', Applied Sciences, 2022, 12, (19), pp. 10005
6. Lara-Espinoza, C., Carvajal-Millán, E., Balandrán-Quintana, R., López-Franco, Y., and Rascón-Chu, A.: 'Pectin and Pectin-Based Composite Materials: Beyond Food Texture', Molecules, 2018, 23, (4)
7. Martău, G.A., Mihai, M., and Vodnar, D.C.: 'The Use of Chitosan, Alginate, and Pectin in the Biomedical and Food Sector-Biocompatibility, Bioadhesiveness, and Biodegradability', Polymers (Basel), 2019, 11, (11)
8. Vaziri, A.S., Alemzadeh, I., Vossoughi, M., and Khorasani, A.C.: 'Co-microencapsulation of Lactobacillus plantarum and DHA fatty acid in alginate-pectin-gelatin biocomposites', Carbohydr Polym, 2018, 199, pp. 266-275
9. Khorasani, A.C., and Shojaosadati, S.A.: 'Bacterial nanocellulose-pectin bionanocomposites as prebiotics against drying and gastrointestinal condition', International journal of biological macromolecules, 2016, 83, pp. 9-18
10. Khorasani, A.C., and Shojaosadati, S.A.: 'Pectin-non-starch nanofibers biocomposites as novel gastrointestinal-resistant prebiotics', International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 94, pp. 131-144
11. Yeung, T., Ücok, E.F., Tiani, K., McClements, D., and Sela, D.: 'Microencapsulation in Alginate and Chitosan Microgels to Enhance Viability of Bifidobacterium longum for Oral Delivery', Frontiers in Microbiology, 2016, 7
12. Tu, L., He, Y., Yang, H., Wu, Z., and Yi, L.: 'Preparation and characterization of alginate–gelatin microencapsulated Bacillus subtilis SL-13 by emulsification/internal gelation', Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2015, 26, (12), pp. 735-749
13. Jaya, S., Durance, T., and Wang, R.: 'Effect of alginate-pectin composition on drug release characteristics of microcapsules', Journal of Microencapsulation, 2009, 26, (2), pp. 143-153
14. Eratte, D., McKnight, S., Gengenbach, T.R., Dowling, K., Barrow, C.J., and Adhikari, B.P.: 'Co-encapsulation and characterisation of omega-3 fatty acids and probiotic bacteria in whey protein isolate–gum Arabic complex coacervates', Journal of functional foods, 2015, 19, pp. 882-892
15. Teunou, E., Vasseur, J., and Krawczyk, M.: 'Measurement and interpretation of bulk solids angle of repose for industrial process design', Powder

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

handling and processing, 1995, 7, (3), pp. 219-228
16. Gbassi, G.K., Vandamme, T., Yolou, F.S., and Marchioni, E.: 'In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated Lactobacillus plantarum strains in a gastrointestinal tract model', International Dairy Journal, 2011, 21, (2), pp. 97-102
17. Brinques, G.B., and Ayub, M.A.Z.: 'Effect of microencapsulation on survival of Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt', Journal of food engineering, 2011, 103, (2), pp. 123-128
18. Sun, W., and Griffiths, M.W.: 'Survival of bifidobacteria in yogurt and simulated gastric juice following immobilization in gellan–xanthan beads', International Journal of Food Microbiology, 2000, 61, (1), pp. 17-25
19. Fávaro-Trindade, C.S., and Grosso, C.R.F.: 'Microencapsulation of L. acidophilus (La-05) and B. lactis (Bb-12) and evaluation of their survival at the pH values of the stomach and in bile', Journal of microencapsulation, 2002, 19, (4), pp. 485-494
20. Silva, M.P., Tulini, F.L., Martins, E., Penning, M., Fávaro-Trindade, C.S., and Poncelet, D.: 'Comparison of extrusion and co-extrusion encapsulation techniques to protect Lactobacillus acidophilus LA3 in simulated gastrointestinal fluids', LWT, 2018, 89, pp. 392-399
21. Silva, M.P., Tulini, F.L., Ribas, M.M., Penning, M., Fávaro-Trindade, C.S., and Poncelet, D.: 'Microcapsules loaded with the probiotic Lactobacillus paracasei BGP-1 produced by co-extrusion technology using alginate/shellac as wall material: Characterization and evaluation of drying processes', Food Research International, 2016, 89, pp. 582-590
22. Rodrigues, F.J., Omura, M.H., Cedran, M.F., Dekker, R.F., Barbosa-Dekker, A.M., and Garcia, S.: 'Effect of natural polymers on the survival of Lactobacillus casei encapsulated in alginate microspheres', Journal of microencapsulation, 2017, 34, (5), pp. 431-439
23. Surono, I., Verhoeven, J., Verbruggen, S., and Venema, K.: 'Microencapsulation increases survival of the probiotic Lactobacillus plantarum IS-10506, but not Enterococcus faecium IS-27526 in a dynamic, computer-controlled in vitro model of the upper gastrointestinal tract', Journal of Applied Microbiology, 2018, 124, (6), pp. 1604-1609
24. Wu, Y., and Zhang, G.: 'Synbiotic encapsulation of probiotic Latobacillus plantarum by alginate-arabinoxylan composite microspheres', Lwt, 2018, 93, pp. 135-141
25. Pradeep Prasanna, P., and Charalampopoulos, D.: 'Encapsulation in an alginate–goats' milk–inulin matrix improves survival of probiotic Bifidobacterium in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt', International Journal of Dairy Technology, 2019, 72, (1), pp. 132-141
26. Suryabhan, P., Lohith, K., and Anu-Appaiah, K.: 'Sucrose and sorbitol supplementation on maltodextrin encapsulation enhance the potential probiotic yeast survival by spray drying', Lwt, 2019, 107, pp. 243-248
27. Shafizadeh, A., Golestan, L., Ahmadi, M., Darjani, P., and Ghorbani-HasanSaraei, A.: 'Encapsulation of Lactobacillus casei in alginate microcapsules: improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using flaxseed mucilage', Journal of food measurement and characterization, 2020, 14, pp. 1901-1908
28. Ji, R., Wu, J., and Zhang, J.: 'Extending viability of Bifidobacterium longum in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology', Frontiers in microbiology, 2019, 10, pp. 454608

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]

The Effect of Co-microencapsulation of Alginate with Pectin on the Survivability of Probiotic Bacteria *Lactobacillus rhamnosus* under Simulated Gastrointestinal Tract Conditions and Investigation of Physicochemical Properties of the Produced Microcapsules

Maryam Tajabadi ebrahimi [*1], Fereshte Nazemi Harandi [2], Tara Mirzaei [1], zahra ziari [3]

[1] Department of Microbiology, Faculty of Sciences, Central Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

[2] Department of Biotechnology, Faculty of Chemical Engineering, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

[3] Department of Biology, Faculty of Bio Sciences, Tehran North Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Abstract:

Co-microencapsulation technique is a common method to increase the efficiency of probiotics during the process as well as their controlled and targeted release in the gastrointestinal tract. Thus, in the current research, to improve the viability of microorganisms in harsh gastrointestinal condition, the probiotic bacteria *Lactobacillus rhamnosus* was encapsulated in sodium alginate and pectin (as co-microencapsulating wall materials) using extrusion technique and then freeze-dried. Then the samples were placed in simulated conditions of stomach (pepsin enzyme, pH = 1.8) and small intestine (bile salt (bile oxalate) and pancreatin enzyme, pH = 6.8) for a total of 5 hours. Samples of optimal (co-microcapsule) and control (free cell and microcapsule) were characterized to investigation of physicochemical properties using FE-SEM, XRD and FT-IR assay. According to obtained results, the survival rate of free cells reduced to 62.52% after the passage through the gastrointestinal tract, while the viability of co-microcapsules and microcapsules reached 83.49% and 74.83%, respectively. Therefore, it is worth mentioning that the performance of co-microencapsulated probiotics was much higher than the acceptable level, due to the synergistic effect of the bioactive substances used. In summary, this study demonstrated that the co-microencapsulation network could be employed as a new system in the preservation of probiotics in the functional food industry.

Key words: probiotic, encapsulation, co-microcapsule, gastrointestinal tract.

* ebrahimi_mt@yahoo.com

[Downloaded from mail.amfi.ir on 2026-11-08]