

ΕΓΚΛΕΙΣΜΟΣ ΜΕΣΩ ΕΞΩΘΗΣΗΣ ΠΡΟΒΙΟΤΙΚΩΝ ΒΑΚΤΗΡΙΩΝ ΕΝΣΩΜΑΤΩΜΕΝΩΝ ΣΕ W/O/W ΠΟΛΛΑΠΛΟ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑ

Μ. Κατσούλη, Γ. Φρακολάκη, Β. Γιάννου, Κ. Τζιά*

Εργ. Χημείας και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Χημικών Μηχανικών ΕΜΠ, Αθήνα, Ελλάδα
(* tzia@chemeng.ntua.gr)

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η ανάπτυξη λειτουργικών τροφίμων με βάση τα προβιοτικά βακτήρια αποτελεί μία νέα τάση στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς τα προϊόντα αυτά παρέχουν σημαντικά οφέλη στην υγεία. Για τη διατήρηση της βιωσιμότητας των προβιοτικών βακτηρίων, τόσο κατά την παραγωγή και αποθήκευση των προϊόντων όσο και κατά τη διέλευσή τους από το γαστρεντερικό σύστημα, έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι εγκλεισμού. Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε ο εγκλεισμός προβιοτικών βακτηρίων μέσω συνδυασμού πολλαπλού W/O/W γαλακτώματος και εξώθησης προκειμένου να ενισχυθεί η βιωσιμότητά τους.

Η απόδοση εγκλεισμού ήταν ικανοποιητικά υψηλή σε κάθε περίπτωση (>72%), διατηρώντας το αρχικό μικροβιακό επίπεδο στα 6-7 logcfu/g σφαιριδίων. Η προσθήκη πρεβιοτικών ουσιών (ινουλίνη), καθώς και η επικάλυψη με χιτοζάνη οδήγησαν σε υψηλότερα ποσοστά μικροβιακού πληθυσμού τόσο καθ' όλη τη διάρκεια της αποθήκευσης όσο και κατά την παραμονή σε διάφορες τιμές pH ή υπό συνθήκες προσομοίωσης του γαστρεντερικού συστήματος. Συγκεκριμένα, τα δείγματα που περιείχαν ινουλίνη και είχαν επικαλυφθεί με χιτοζάνη εμφάνισαν τα υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης (>86.90% σε διάφορες τιμές pH και 64.25% σε συνθήκες προσομοίωσης γαστρεντερικού συστήματος).

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια εμφανίζεται στη βιομηχανία τροφίμων αυξανόμενο ενδιαφέρον ως προς την ενσωμάτωση προβιοτικών βακτηρίων σε τρόφιμα, με σκοπό την παραγωγή λειτουργικών-προβιοτικών προϊόντων. Ο λόγος είναι τα πολλαπλά οφέλη που προσφέρουν τα συγκεκριμένα είδη βακτηρίων στην υγεία. Τα κυριότερα γένη προβιοτικών βακτηρίων που ενδιαφέρουν στα τρόφιμα είναι τα: *Lactobacillus* και *Bifidobacterium*. Σύμφωνα με τους οργανισμούς τροφίμων, ένα προβιοτικό προϊόν πρέπει να περιέχει $\geq 10^6$ - 10^7 CFU/g ή mL προϊόντος, ώστε να παρέχονται τα αντίστοιχα οφέλη για την υγεία [1]. Συνεπώς, απαιτείται υψηλή βιωσιμότητα των προβιοτικών κυττάρων κατά την παραγωγή, αποθήκευση, μέχρι και την κατανάλωση των εν λόγω προϊόντων. Επιπλέον, τα προβιοτικά βακτήρια πρέπει να είναι ανθεκτικά στις όξινες συνθήκες του στομάχου καθώς και στα παγκρεατικά ένζυμα, και ικανά να αναπτύσσονται υπό την παρουσία των χολικών εκκρίσεων στο έντερο. Για τους παραπάνω λόγους, προτείνεται ο εγκλεισμός των προβιοτικών βακτηρίων πριν την εισαγωγή τους σε κάποιο τρόφιμο, ώστε να διασφαλίζεται η βιωσιμότητά τους. Τα προβιοτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται για παραγωγή ζυμωμένων προϊόντων, κυρίως γαλακτοκομικών (π.χ. γιαούρτι), ή προστίθενται σε διάφορα τρόφιμα ή ποτά. Τα εγκλεισμένα σε φορείς προβιοτικά βακτήρια δίνουν δυνατότητα ανάπτυξης νέων λειτουργικών τροφίμων και παρέχουν ευελιξία στη βιομηχανική παραγωγή τους.

Η μέθοδος εγκλεισμού που εφαρμόστηκε στην παρούσα έρευνα είναι η εξώθηση (extrusion). Η βασική αρχή της μεθόδου είναι η εξώθηση διαλύματος υδροκolloειδούς που περιέχει τους

μικροοργανισμούς και η στάγδην προσθήκη του σε διάλυμα που περιέχει ένα πολυσθενές ιόν, (Ca_2^+), υπό μορφή CaCl_2 . Τα σταγονίδια, μόλις βρεθούν στο διάλυμα, σχηματίζουν ακαριαία σφαιρίδια σε μορφή πηκτής, παγιδευόντας έτσι τα κύτταρα των προβιοτικών βακτηρίων εντός ενός εγκάρσιου, τρισδιάστατου, ιοντικού πλέγματος. Η συγκεκριμένη τεχνική εμφανίζει μικρό κόστος, είναι σχετικά απλή εξασφαλίζοντας υψηλή βιωσιμότητα των κυττάρων [2].

Αντίστοιχα, τα γαλακτώματα εκτός από το ρόλο τους ως βασικές δομές τροφίμων, βρίσκουν όλο και μεγαλύτερη εφαρμογή ως πρόσθετα τροφίμων. Αυτό αποδίδεται στο αυξημένο ενδιαφέρον για την αξιοποίηση των κολλοειδών συστημάτων, ως συστήματα ενσωμάτωσης λειτουργικών συστατικών στα τρόφιμα. Αυτά μπορεί να είναι, αντιοξειδωτικά ή αντιμικροβιακά συστατικά, βακτήρια, ένζυμα, αρωματικές ουσίες και γενικώς βιοδραστικές ουσίες. Τα διπλά γαλακτώματα είναι σύνθετα πολυφασικά συστήματα αποτελούμενα από ένα γαλάκτωμα διεσπαρμένο σε μία συνεχή φάση. Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα και το μέγεθος των σταγονιδίων τους κυμαίνεται από 0,1 έως 100 μm . Τα (W/O/W) πολλαπλά γαλακτώματα θεωρούνται πολλά υποσχόμενα συστήματα ενσωμάτωσης καθώς λόγω της πολυστρωματικής δομής τους μπορούν να ενσωματώσουν, να προστατεύσουν και να αποδεσμεύσουν (ελεγχόμενα) διάφορα λιποδιαλυτά και υδατοδιαλυτά συστατικά ταυτόχρονα [3].

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΣΤΟΧΟΙ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο εγκλεισμός του προβιοτικού στελέχους *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 μέσω συνδυασμού πολλαπλού W/O/W γαλακτώματος και εξώθησης, η επικάλυψη των προκύπτοντων σφαιριδίων με χιτοζάνη και η βιωσιμότητα των προβιοτικών κυττάρων κατά την αποθήκευση, συναρτήσεως της θερμοκρασίας, και κατά την πέψη μέσω προσομοίωσης του γαστρεντερικού συστήματος. Μελετήθηκαν διάφορα εγκλειστικά μέσα (αραβικό κόμμα, αλγινικό νάτριο, πηκτίνη, ινουλίνη, ζελατίνη, κόμμα γελάνης, καζεΐνη), έτσι ώστε να επιλεγεί το καταλληλότερο για το σχηματισμό διπλού γαλακτώματος.

Το προβιοτικό στέλεχος BB-12 ενσωματώθηκε σε πολλαπλό $W_1/O/W_2$ γαλάκτωμα με βάση το πυρηνέλαιο, όπου στην εσωτερική υδατική φάση (W_1) περιέχεται το προβιοτικό στέλεχος σε συνδυασμό με την πρεβιοτική ουσία ινουλίνη, ενώ στην εξωτερική υδατική φάση (W_2) περιέχεται αλγινικό νάτριο, το οποίο χρησιμοποιείται ως εγκλειστικό μέσο, είτε μόνο του είτε σε συνδυασμό με ινουλίνη. Το $W_1/O/W_2$ γαλάκτωμα παρασκευάστηκε με τη διαδικασία ομογενοποίησης δυο σταδίων. Στο 1^ο στάδιο παρασκευάστηκε το W_1/O γαλάκτωμα με την χρήση ομογενοποιητή ταχύτητας (Unidrive 1000, CAT Scientific, CA, USA) στις 9.500 στροφές για 10 min. Στο 2^ο στάδιο έγινε η ομογενοποίηση του αρχικού W_1/O γαλακτώματος με την εξωτερική υδατική φάση (W_2). Τα προκύπτοντα πολλαπλά γαλακτώματα υποβλήθηκαν στη διαδικασία της εξώθησης σε διάλυμα CaCl_2 0.5M, με αποτέλεσμα το σχηματισμό σφαιριδίων (beads). Τα εγκλεισμένα βακτήρια αποθηκεύτηκαν σε 2 διαφορετικές θερμοκρασίες (-18, 4°C) για 2 μήνες.

ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ

Προσδιορισμός ζ-δυναμικού των εγκλειστικών μιγμάτων

Μετρήθηκε το ζ-δυναμικό των εξεταζόμενων εγκλειστικών μιγμάτων (αραβικό κόμμα, αλγινικό νάτριο, πηκτίνη, ινουλίνη, ζελατίνη, κόμμα γελάνης, καζεΐνη) με χρήση συσκευής Δυναμικής Σκέδασης Φωτός (Dynamic light scattering) (Zetasizer Nano ZS 2000, Malvern Instruments, UK).

Προσδιορισμός μεγέθους σταγονιδίων και ζ-δυναμικού διπλών γαλακτωμάτων

Το μέγεθος των σταγονιδίων, ο δείκτης πολυδιασποράς και το ζ-δυναμικό προσδιορίστηκαν επίσης μέσω Δυναμικής Σκέδασης Φωτός στους 25°C.

Οπτική απεικόνιση της δομής των απλών W/O και των διπλών W/O/W γαλακτωμάτων

Η μικροδομή όλων των συστημάτων εξετάστηκε χρησιμοποιώντας ηλεκτρονικό μικροσκόπιο Leica συνδεδεμένο σε κάμερα DFC 250 (Leica Microscopy Systems Ltd., Germany).

Μελέτη βιωσιμότητας προβιοτικών βακτηρίων στις συνθήκες αποθήκευσης

Πραγματοποιήθηκαν μικροβιολογικές αναλύσεις ανά 7 ημέρες για τις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες (-18, 4°C) αποθήκευσης. Η καταμέτρηση του προβιοτικού στελέχους BB-12 έγινε με χρήση τροποποιημένου υποστρώματος MRSAgar με διάλυμα L-cysteine-HCl και NNLP (Neomycine sulphate, Nalidixic acid, Lithium chloride και Paromomycine sulphate), υπό αναερόβιες συνθήκες στους 37°C για 72 h.

Μέθοδος in-vitro πέψης για προσδιορισμό επιβίωσης εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων

Η μέθοδος περιλαμβάνει προσομοίωση της γαστρεντερικής πέψης και αξιολόγηση της βιωσιμότητας των εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων με χρήση του τροποποιημένου υποστρώματος MRSAgar. Ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα: 0.2 g εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων διαλύονται σε 10 mL διαλύματος πεψίνης (16 g πεψίνης σε 100 mL HCl 0.1N). Το pH του διαλύματος ρυθμίζεται στο 2.0 και τα δείγματα επωάζονται στους 37°C για 120 min. Στο δείγμα προστίθεται επαρκής ποσότητα NaHCO₃, ώστε το pH να ρυθμιστεί στο 5, και κατόπιν 7 mL διαλύματος παγκρεατίνης και χολικών συστατικών (4 g παγκρεατίνης και 25 g χολικών συστατικών). Το διάλυμα επωάζεται στους 37°C για άλλα 120 min. Η βιωσιμότητα των εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων εκφράζεται ως log CFU/g.

Μελέτη βιωσιμότητας εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων συναρτήσει του pH.

Μελετήθηκε η βιωσιμότητα των εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων σε διάλυμα HCl 0.1 M και διάλυμα NaOH 0.1 M σε τιμές pH 4, 5, 6, 7 και 8. Τα διαλύματα επώαστηκαν στους 37°C για 120 min και η βιωσιμότητα των βακτηρίων εκφράζεται ως log CFU/g.

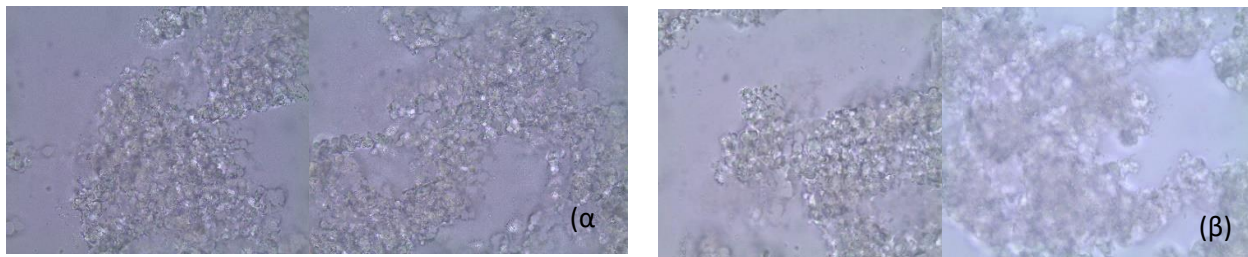
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ**Μετρήσεις ζ-δυναμικού εγκλειστικών μιγμάτων**

Το ζ-δυναμικό καθορίζει την κίνηση των κολλοειδών συστημάτων και τις αλληλεπιδράσεις των συστατικών μεταξύ τους. Όσο μικρότερη είναι η τιμή του, τόσο πιο ταχεία και εύκολη είναι η δημιουργία κροκιδωμάτων και τόσο πιο σταθερά είναι αυτά. Άρα είναι ένας πολύ σημαντικός παράγοντας για την κατάλληλη επιλογή ενός μέσου εγκλεισμού το οποίο θα χρησιμοποιηθεί στην εξώθηση για την επίτευξη του εγκλεισμού των προβιοτικών βακτηρίων. Στον Πίνακα 1 παρουσιάζονται οι μετρήσεις ζ-δυναμικού για τα εξεταζόμενα εγκλειστικά.

Μετρήσεις φυσικοχημικών ιδιοτήτων W/O και W/O/W γαλακτωμάτων

Με βάση τα αποτελέσματα του ζ-δυναμικού των εξεταζόμενων εγκλειστικών, έγινε η επιλογή του καταλληλότερου για την εξωτερική υδατική φάση των W/O/W γαλακτωμάτων. Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του αρχικού W/O γαλακτώματος εμφανίζονται στον Πίνακα 2. Το ιξώδες και ο δείκτης διάθλασης μετρήθηκαν με σκοπό να γίνει η διόρθωση των δεδομένων του μεγέθους των σταγονιδίων και του ζ-δυναμικού των W/O/W γαλακτωμάτων. Η απεικόνιση των διπλών W/O/W γαλακτωμάτων με χρήση οπτικού μικροσκοπίου έδειξε ότι σχηματίστηκαν κροκιδώματα και όχι ένα ομογενές γαλάκτωμα με σφαιρικά σταγονίδια.

Επιπρόσθετα, και οι αυξημένες τιμές του δείκτη πολυδιασποράς των διπλών W/O/W γαλακτωμάτων (0.594, 0.658) δίνουν μία ένδειξη ότι η γαλακτωματοποίηση των δειγμάτων οδήγησε σε ένα ομογενές γαλάκτωμα. Η προσθήκη ινουλίνης στην εξωτερική υδατική φάση δεν βελτίωσε τη δομή του διπλού W/O/W γαλακτώματος καθώς αύξησε την τιμή της μέσης διαμέτρου των σταγονιδίων ($9.39 \pm 0.93 \mu\text{m}$).



Εικόνα 1: Οπτική απεικόνιση των $W_1/O/W_2$ γαλακτωμάτων (α). αλγινικό νάτριο στην εξωτερική υδατική φάση (β). αλγινικό νάτριο και ινουλίνη στην εξωτερική υδατική φάση)

Πίνακας 1: Μετρήσεις ζ-δυναμικού (mV) εγκλειστικών μέσων

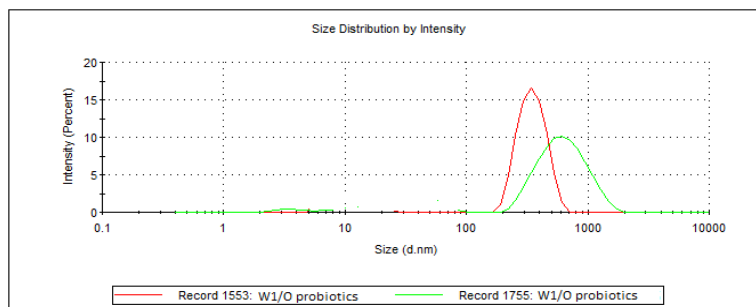
ΕΓΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΜΕΣΑ	ζ-δυναμικό (mV)	ΕΓΚΛΕΙΣΤΙΚΑ ΜΕΣΑ	ζ-δυναμικό (mV)
Αλγινικό νάτριο	-65.1 ± 0.354	Αλγινικό νάτριο-Ινουλίνη	-69.9 ± 2.48
Αλγινικό νάτριο-Πηκτίνη	-31.7 ± 1.06	Αλγινικό νάτριο-Πηκτίνη-Ινουλίνη	-32.2 ± 0.794
Αλγινικό νάτριο-Ζελατίνη	-40.2 ± 1.76	Αλγινικό νάτριο-Ζελατίνη-Ινουλίνη	-39.4 ± 0.70
Αλγινικό νάτριο-Καζεΐνη	-62.1 ± 2.33	Αλγινικό νάτριο-Καζεΐνη-Ινουλίνη	-58.3 ± 2.19
Αλγινικό νάτριο-Αραβικό κόμμι	-60.8 ± 6.15	Αλγινικό νάτριο-Αραβικό κόμμι-Ινουλίνη	-23.2 ± 1.70

Πίνακας 2: Φυσικοχημικές Ιδιότητες W/O και W/O/W γαλακτωμάτων.

W/O γαλάκτωμα		
Διάμετρος σταγονιδίων	$510.1 \pm 5.52 \text{ nm}$	
Δείκτης Πολυδιασποράς	0.498	
Ιξώδες 25°C	$117 \pm 9.63 \text{ cP}$	
Δείκτης διάθλασης	1.4681 ± 0.0005	
W ₁ /O/W ₂ γαλάκτωμα		
	W ₂ Αλγινικό	W ₂ Αλγινικό-Ινουλίνη
Διάμετρος σταγονιδίων	$2.97 \pm 0.47 \mu\text{m}$	$3.39 \pm 0.93 \mu\text{m}$
Δείκτης Πολυδιασποράς	0.594	0.658
ζ-δυναμικό (mV)	-3.475 ± 0.345	-1.845 ± 0.135

Πίνακας 3: Απόδοση εγκλεισμού προβιοτικής καλλιέργειας στα τελικά σφαιρίδια.

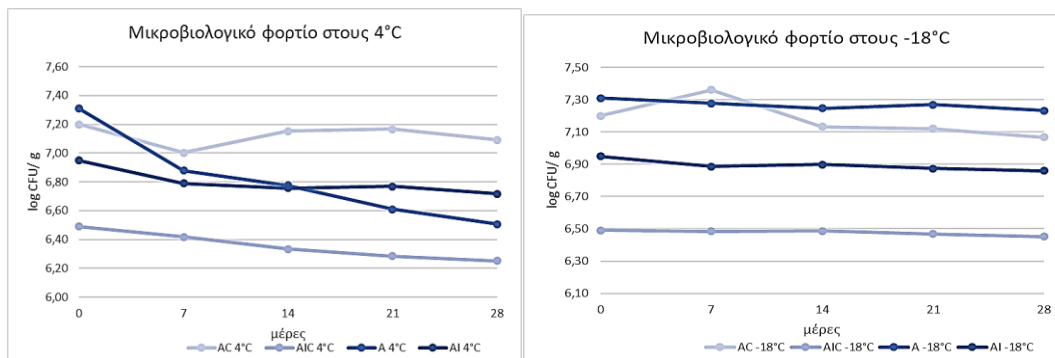
Χωρίς χιτοζάνη		
Εγκλειστικό μέσο	Αλγινικό	Αλγινικό-Ινουλίνη
Απόδοση εγκλεισμού	81,64%	77,62%
Με χιτοζάνη		
Εγκλειστικό μέσο	Αλγινικό	Αλγινικό-Ινουλίνη
Απόδοση εγκλεισμού	80,41%	72,48%



Διάγραμμα 1: Κατανομή μεγέθους σωματιδίων του O/W γαλακτώματος με βάση το ποσοστό έντασης.

Μικροβιολογικές αναλύσεις - Απόδοση εγκλεισμού

Βάσει της προστιθέμενης ποσότητας προβιοτικής καλλιέργειας κατά την παρασκευή του W₁/O/W₂ γαλακτώματος και τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων στα δείγματα που προέκυψαν από τον εγκλεισμό, υπολογίστηκε η απόδοση εγκλεισμού (Πίνακας 3). Ο υπολογισμός έγινε με βάση τη σχέση $EY = (\log N / \log N_0) \times 100$, όπου N₀: Ο αριθμός (CFU) των ζώντων κυττάρων που προστέθηκαν κατά την παρασκευή του W₁/O/W₂ γαλακτώματος ανά g αυτού και N: Ο αριθμός (CFU) των ζώντων κυττάρων μετά τον εγκλεισμό ανά g σφαιριδίων [4]. Σε όλες τις περιπτώσεις επιτυγχάνονται ικανοποιητικά υψηλά ποσοστά εγκλεισμού. Η απόδοση εγκλεισμού επηρεάζεται τόσο από την προσθήκη ινουλίνης, όσο και από την προσθήκη χιτοζάνης, εμφανίζοντας σχετικά μικρότερες τιμές. Στην περίπτωση της χιτοζάνης, η μείωση αυτή είναι πιθανό να οφείλεται στην αντιμικροβιακή της δράση, η οποία δρα αρνητικά στην επιβίωση των προβιοτικών κυττάρων.



Διάγραμμα 2: Μεταβολή μικροβιολογικού φορτίου δειγμάτων στους (α) 4°C και (β) -18°C.

Μικροβιολογικές αναλύσεις - Βιωσιμότητα

Τα αποτελέσματα των μικροβιολογικών αναλύσεων που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των δειγμάτων παρουσιάζονται στο διάγραμμα 2. Το μικροβιακό φορτίο διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα κατά την αποθήκευση (> 6.25 logcfu/g), παρουσιάζοντας μικρή πτωτική τάση. Η προσθήκη της ινουλίνης ενίσχυσε τη βιωσιμότητα των προβιοτικών βακτηρίων, καθώς περιόρισε το ρυθμό μείωσης του μικροβιακού τους φορτίου. Η επικάλυψη των σφαιριδίων με χιτοζάνη μπορεί να επηρέασε αρνητικά το μικροβιακό φορτίο κατά το στάδιο της παραγωγής των προϊόντων εγκλεισμού, εντούτοις διατήρησε τη βιωσιμότητά τους κατά την αποθήκευση. Η χιτοζάνη πάντως παρέχει αυξημένη προστασία και οδηγεί σε διατήρηση του μικροβιακού φορτίου των επικαλυμμένων σφαιριδίων σε υψηλότερα επίπεδα. Τέλος, η αποθήκευση στους -18°C διατήρησε σχετικά σταθερό τον πληθυσμό των προβιοτικών βακτηρίων στη διάρκεια των 4 εβδομάδων.

Ποσοστά επιβίωσης προβιοτικών βακτηρίων σε διάφορα pH

Τα εγκλεισμένα βακτήρια παρουσιάζουν μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης, όταν βρίσκονται σε περιβάλλον με ουδέτερο pH. Ο εγκλεισμός τους όμως, οδήγησε σε ικανοποιητική προστασία ακόμη και υπό όξινες συνθήκες (ποσοστά επιβίωσης > 80%). Η προσθήκη ινουλίνης είχε σημαντική συνεισφορά στη διατήρηση της βιωσιμότητας των εγκλεισμένων βακτηρίων, ενώ η επιπρόσθετη επικάλυψη των σφαιριδίων με χιτοζάνη φαίνεται να τα προστατεύει από το όξινο περιβάλλον, οδηγώντας σε ποσοστά επιβίωσης έως 98%.

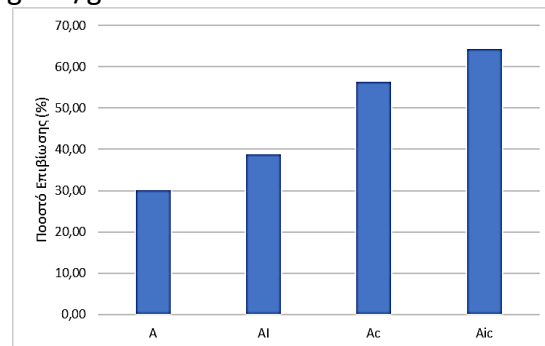
Πίνακας 4: Ποσοστά επιβίωσης εγκλεισμένων προβιοτικών βακτηρίων σε διάφορες τιμές pH.

pH	Αλγινικό	Αλγινικό - Ινουλίνη	Αλγινικό - Χιτοζάνη	Αλγινικό- Ινουλίνη- Χιτοζάνη
4	80,56	82,30	81,67	86,90
5	94,12	96,12	94,44	96,61
6	91,02	92,23	95,28	97,23
7	93,83	95,40	95,69	96,46
8	92,15	93,53	97,50	98,46

Ποσοστά επιβίωσης σε in-vitro σύστημα προσομοίωσης του γαστρεντερικού συστήματος

Ο αριθμός των προβιοτικών βακτηρίων μειώθηκε σημαντικά κατά την παραμονή στο προσομοιωμένο γαστρεντερικό σύστημα. Η προσθήκη ινουλίνης ενίσχυσε την επιβίωση των μικροοργανισμών σε χαμηλές τιμές pH και σε περιβάλλον με παρουσία χολικών αλάτων, οδηγώντας σε υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης. Σε κάθε περίπτωση, ο μικροβιακός πληθυσμός στα δείγματα με ινουλίνη μειώθηκε κατά 2-4 logCFU/g.

Η επικάλυψη με χιτοζάνη προστάτευσε επιπλέον τα εγκλεισμένα προβιοτικά βακτήρια κατά την παραμονή τους στο σύστημα, περιορίζοντας τη μείωση του μικροβιακού πληθυσμού στα 3.15 logCFU/g στην περίπτωση των σφαιριδίων χωρίς ινουλίνη, ενώ ο συνδυασμός ινουλίνης και χιτοζάνης έδωσε τα καλύτερα αποτελέσματα, περιορίζοντας τη θανάτωση των κυττάρων (2.32 logCFU/g).



Διάγραμμα 3: Ποσοστά επιβίωσης βακτηριακού πληθυσμού σε σύστημα προσομοίωσης πέψης.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο συνδυασμός διπλού W₁/O/W₂ γαλακτώματος και εξώθησης για τον εγκλεισμό και την προστασία των προβιοτικών βακτηρίων έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, καθώς οδήγησε σε μεγάλα ποσοστά επιβίωσης, τόσο κατά την αποθήκευση, όσο και κατά την παραμονή τους σε περιβάλλοντα με διάφορες τιμές pH, ενώ παρείχε ικανοποιητική προστασία στις συνθήκες του γαστρεντερικού συστήματος. Η ενσωμάτωση ινουλίνης στα σφαιρίδια ενίσχυσε τη βιωσιμότητα των κυττάρων, ενώ η επικάλυψή τους με χιτοζάνη παρείχε επιπρόσθετη προστασία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] M. P. Silva, F. L. Tulini, M. M. Ribas, M. Penning, C. S. Fávaro-Trindade, D. Poncelet (2016). Food Research International, 89: 582–590.
- [2] M. P. Silva, F. L. Tulini, E. Martins, M. Penning, C. S. Fávaro-Trindade, D. Poncelet (2018). LWT - Food Sci. Technol., 89: 392–399.
- [3] H. El Kadri, S. Lalou, F. T. Mantzouridou, and K. Gkatzionis (2018). Food Res. Int., 107: 325–336.
- [4] Maciel GM, Chaves KS, Grosso CRF, Gigante ML (2014). Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. J Dairy Sci.; 97(4):1991–8.