



## The Effect of Microencapsulation of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG with Xanthan and Chitosan on the Probiotic Viability and Sensory Properties of Mango Juice

Negin Jafari<sup>1</sup>✉, Hassan Gandomi Nasrabadi<sup>2</sup>✉, Ali Misaghi<sup>2</sup>✉, Marjan Ghasemloo<sup>1</sup>✉, Kimia Jalali<sup>1</sup>✉, Mahdie Shabanizade<sup>3</sup>✉

<sup>1</sup> Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>2</sup> Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Graduated from the Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran

Received: 21 October 2024, Accepted: 21 December 2024

doi [10.22059/jvr.2024.371227.3415](https://doi.org/10.22059/jvr.2024.371227.3415)

### Abstract

**BACKGROUND:** Nowadays, consumers increasingly desire to use probiotic food products. Fruit juices are a good substitute for dairy products carrying probiotic bacteria. Microencapsulation is a suitable method to increase the viability of probiotics in food during storage and processing.

**OBJECTIVES:** This study aimed to evaluate the effect of single- and double-layer microencapsulation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG by xanthan, chitosan, and alginate on the viability of the probiotic bacteria and the chemical and sensory properties of mango juice during storage for 4 weeks at 25°C and 4°C.

**METHODS:** Microencapsulation of *L. rhamnosus* was done following the extrusion method using xanthan, chitosan, and alginate. The viability of probiotics in mango juice was checked by the surface plate count method during storage for 4 weeks at 4°C and 25°C. Also, pH changes and sensory characteristics of mango juice were evaluated.

**RESULTS:** At 25°C, the probiotic count of the mango juice containing free bacteria showed a decrease of about 4 logs. The bacterial survival in microencapsulated groups was higher than in the free group. The highest rate of increase in survival was related to the Xn 0.5-Al3 group, so the survival rate of the mentioned microencapsulated bacteria was 71.9% higher than that of the free bacteria in week 4. At 4°C, the bacterial count in the free group showed a decrease of more than 5 logs during storage in 4 weeks. The highest survival rate was observed in the Xn 0.5-Al3 group, which increased the survival rate by 157.2% compared to the free group at week 4. The final pH values in the microencapsulated groups were higher than in the free group. The lowest sensory acceptance in both studied temperatures was observed in the free group, and the sensory rating of the treatments kept at 4°C was higher than at 25°C.

**CONCLUSIONS:** The study results showed that microencapsulation increased the viability of probiotic bacteria and improved the sensory properties of mango juice during storage. Also, the double-layer microencapsulation had a better effect than the single-layer microencapsulation.

**Keywords:** Chitosan, Mango juice, Microencapsulation, Probiotic, Xanthan

Copyright © The Author(s).

Publisher: University of Tehran

Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

**Corresponding author:** Hassan Gandomi Nasrabadi, Tel/Fax: +9821-61117041 / +9821-66933222



### How to cite this article:

Jafari N, Gandomi Nasrabadi H, Misaghi A, Ghasemloo M, Jalali K, Shabanizade M. The effect of microencapsulation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG with xanthan and chitosan on the probiotic viability and sensory properties of mango juice. J Vet Res, 2025; 80(1): 1-13. doi: 10.22059/jvr.2024.371227.3415

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Effects of microencapsulation by xanthan and chitosan on the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in mango juice stored at 25°C for 4 weeks.

**Table 2.** Effects of microencapsulation by xanthan and chitosan on the viability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in mango juice stored at 25°C for 4 weeks.

**Figure 1.** Survival of *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan in Mango Juice Stored at 25°C for 4 Weeks. Different English letters indicate statistically significant differences between treatments ( $P < 0.05$ ).

**Figure 2.** Survival of *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan in Mango Juice Stored at 4°C for 4 Weeks.

**Figure 3.** The pH Level of Mango Juice Containing *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan Stored at 25°C for 4 Weeks.

**Figure 4.** The pH Level of Mango Juice Containing *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan Stored at 4°C for 4 Weeks.

**Figure 5.** Sensory Properties of Mango Juice Containing *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan Stored at 25°C for 4 Weeks.

**Figure 6.** Sensory Properties of Mango Juice Containing *L. rhamnosus* GG Microencapsulated With Xanthan and Chitosan Stored at 4°C for 4 Weeks.



دوره ۸۰، شماره ۱، ۱۴۰۴، ۱۳-۱

## مطالعه اثر ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG با زانتان و کیتوزان بر زنده‌مانی پروبیوتیک و خصوصیات حسی آب انبه

نگین جعفری<sup>۱</sup>، حسن‌گندمی نصرآبادی<sup>۲</sup>، علی میثاقی<sup>۲</sup>، مرجان قاسملو<sup>۱</sup>، کیمیا جلالی<sup>۱</sup>

مهديه شبانی‌زاده<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> دانش آموخته، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۲</sup> گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

<sup>۳</sup> دانش آموخته، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

تاریخ دریافت: ۳۰ مهر ۱۴۰۳، تاریخ پذیرش: ۱ دی ۱۴۰۳

doi: 10.22059/jvr.2024.371227.3415

### چکیده

**زمینه مطالعه:** امروزه مصرف‌کنندگان تمایل روزافزونی به استفاده از محصولات غذایی پروبیوتیک نشان می‌دهند. آمیوه‌ها جایگزین مناسبی برای محصولات لبنی به‌عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک محسوب می‌شوند. ریزپوشانی به‌عنوان روشی مناسب جهت افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی، در طی نگهداری و فراوری مطرح می‌باشد.

**هدف:** ارزیابی اثر ریزپوشانی یک و دولایه باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG به‌وسیله زانتان، کیتوزان و آلژینات بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک و خصوصیات شیمیایی و حسی آب انبه طی نگهداری به‌مدت ۴ هفته در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد.

**روش کار:** ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک به روش اکستروژن و با استفاده از زانتان، کیتوزان و آلژینات صورت گرفت. زنده‌مانی پروبیوتیک در آب انبه در طی نگهداری به‌مدت ۴ هفته در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش کشت سطحی بررسی شد. همچنین تغییرات pH و خصوصیات حسی آب انبه ارزیابی شد. **نتایج:** در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، شمارش پروبیوتیک در گروه حاوی باکتری آزاد کاهشی حدود ۴ لوگ را نشان داد. زنده‌مانی باکتریایی در گروه‌های ریزپوشانی‌شده بالاتر از گروه آزاد بود. بیشترین میزان افزایش زنده‌مانی مربوط به گروه  $Xn0/5-Al3$  بود، به‌طوری‌که زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی‌شده مذکور در هفته چهارم ۷۱/۹ درصد بیشتر از باکتری آزاد بود. در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، شمارش باکتریایی در گروه آزاد در طی نگهداری در ۴ هفته کاهشی بیش از ۵ لوگ را نشان داد. بیشترین زنده‌مانی در گروه  $Xn0/5-Al3$  مشاهده شد که باعث افزایش زنده‌مانی به میزان ۱۵۷/۲ درصد نسبت به گروه آزاد در هفته چهارم شد. مقادیر نهایی pH در گروه‌های ریزپوشانی‌شده بالاتر از گروه آزاد بود. کمترین پذیرش حسی در هر دو دمای مورد مطالعه در تیمار آزاد مشاهده شد و رتبه حسی تیمارهای نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بالاتر از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود.

**نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک و بهبود خواص حسی آب انبه در طی نگهداری شد. همچنین ریزپوشانی دولایه اثر بهتری نسبت به ریزپوشانی یک‌لایه داشت.

**کلمات کلیدی:** آب انبه، پروبیوتیک، ریزپوشانی، زانتان، کیتوزان

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

کپی‌رایت © نویسندگان.



نویسنده مسئول: حسن‌گندمی نصرآبادی، گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

### مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای می‌باشند که مصرف آن‌ها در مقادیر کافی برای سلامتی میزبان مفید است (۱). پروبیوتیک‌ها با حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده اثرات مفید و سلامت‌بخشی بر میزبان خود دارند (۲، ۳). اثرات سلامت‌بخش این میکروارگانیسم‌ها مانند خاصیت ضدجش‌زایی و ضدسرطانی، مهار باکتری‌های مضر، کاهش فعالیت آنزیم‌های مدفوعی، کاهش کلسترول

و بهبود عدم تحمل لاکتوز است (۴، ۵). معروفترین باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها می‌باشند (۶). سوش‌های دیگری مانند *اشریشیاکلی*، *باسیلوس سرئوس* و برخی مخمرها مخصوصاً *ساکارومایسس سرویزیه* نیز جزء پروبیوتیک‌ها محسوب می‌شوند (۷). لاکتوباسیلوس‌ها توان تحمل اسیدیته بالا را دارند، همچنین به نمک‌های صفراوی مقاومت بالاتری دارند (۸). لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* یکی از باکتری‌های پروبیوتیک کم‌توقع و دارای رشد سریع است. این سویه شرایط نامناسب محیط را تحمل می‌کند که قابلیت زنده‌مانی آن را افزایش می‌دهد. همچنین مقاومت ویژه‌ای به شرایط محیطی همچون کاهش مواد مغذی محیط، پتانسیل اکسیداسیون احیا و اکسیژن محلول دارد (۹).

به‌طور معمول، محصولات لبنی به‌عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشند، اما مصرف آن‌ها به دلایل عدم تحمل لاکتوز، واکنش‌های آلرژیک، میزان کلسترول محصول لبنی و همچنین رژیم گیاه‌خواری، توسط بخشی از مردم محدود شده است. آبمیوه‌ها به دلایلی همچون خواص حسی قابل‌قبول، مواد مغذی، عطر و بوی مناسب، تحریک رشد پروبیوتیک‌ها، وجود نمک‌های پتاسیم، بیوفلاوون‌ها، ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان و مواد قلیایی و فیبر بالا به‌عنوان حامل پروبیوتیک‌ها مورد توجه قرار گرفته‌اند (۵). در این میان، انبه به دلیل داشتن بو، رنگ منحصربه‌فرد، مواد مغذی بسیار، ویتامین‌هایی مثل A، C و E، فیبر رژیمی، منیزیم و پتاسیم، مواد فوتوشیمیایی (مانند فنولیک اسید، کاروتنوئید و گالاتونین) و خواص آنتی‌اکسیدانی مورد توجه است (۱۰).

باکتری‌های پروبیوتیک برای اثربخش بودن باید در طول فراوری و نگهداری و همچنین عبور از دستگاه گوارش زنده بمانند و تعداد زیادی از آن‌ها ( $10^6$  CFU در گرم) به روده بزرگ انسان برسد. برای محافظت از سلول‌های پروبیوتیک از ریزپوشانی با حامل‌های فیزیکی استفاده می‌شود (۱۱، ۱۲). ریزپوشانی روشی برای قرار دادن ترکیبات مختلفی چون جامد، مایع و گاز در کپسول‌هایی با ابعاد کوچک می‌باشد. با این تکنیک می‌توان محتویات را با سرعت کنترل‌شده رها کرد (۱۳). از مزایای ریزپوشانی کردن می‌توان به حفاظت از مواد حساس در شرایط نامناسب و ناپایدار، افزایش مدت‌زمان نگهداری مواد حساس و کنترل زمان رهایش مواد اشاره کرد (۱۴). حامل‌های مورد استفاده در ریزپوشانی بسیار متنوع می‌باشند. در این میان پلی ساکاریدهایی چون زانتان و کیتوزان استفاده می‌شود (۱۵). زانتان تترای پلی ساکاریدی متشکل از دو واحد گلوکز، دو واحد مانوز و یک واحد گلوکورونیک اسید است که توسط باکتری زانتوموناس تولید می‌شود (۱۶). زانتان به‌تنهایی نمی‌تواند تشکیل کپسول دهد، اما در ترکیب با صمغ دیگری، مانند ژلان کپسول خوبی ایجاد می‌کند. زانتان در برابر حرارت، اسید و نمک‌ها مقاوم می‌باشد. حلالیت خوبی دارد، دارای خواص ضد میکروبی و غیرقابل هضم است و در حضور آنزیم روده بزرگ تجزیه می‌شود؛ بنابراین ماده بسیار مناسبی برای ریزپوشانی می‌باشد (۱۷). کیتوزان کربوهیدراتی است که از دستیل شده کیتین به دست می‌آید. کیتوزان خاصیت پلی کاتیونی دارد، در اسید حل می‌شود و با پلیمرهایی که دارای بار منفی می‌باشند، مانند زانتان واکنش می‌دهد (۱۸). این ماده توانایی بسیاری در تشکیل فیلم دارد، به این دلیل بیشتر به‌عنوان لایه بیرونی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۹). این عملکرد کیتوزان باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در حین نگهداری می‌شود و باعث می‌شود سلول‌ها به درستی و سالم به روده انسان برسند (۱۵). آلژینات از واحدهای سازنده D-مانورونیک اسید و L-گلوکورونیک اسید ساخته شده‌اند که پیوند بین آن‌ها پیوندهای گلیکوزیدی است (۲۰). آلژینات به دلیل داشتن مزایایی چون غیرسمی و بی‌ضرر بودن، قیمت مناسب و آسانی کار با آن به‌طور گسترده قابل استفاده است (۱۹، ۲۱). آلژینات به محیط اسیدی حساس بوده و نامناسب جهت استفاده در محیط اسیدی معده می‌باشد. نواقص آلژینات با ترکیب با سایر مواد برطرف می‌شود (۱۱).

هدف از مطالعه حاضر ارزیابی اثر ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* GG به‌وسیله زانتان - کیتوزان و آلژینات و به‌صورت تک‌لایه و دولایه بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک طی ۴ هفته نگهداری در مدل نوشیدنی آب انبه در دماهای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. همچنین در مطالعه حاضر، خصوصیات شیمیایی (شامل pH) و حسی آبمیوه نیز ارزیابی شد.

## مواد و روش کار

**تهیه و آماده‌سازی باکتری مورد مطالعه:** در مطالعه حاضر از باکتری پروبیوتیک لیوفلیزه لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* LGG® شرکت کریس هانسن (Horsholm, Denmark) استفاده گردید. باکتری لیوفلیزه در محیط MRS-broth در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. باکتری ۲ مرتبه و به‌طور متوالی تجدید کشت شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ (۵ دقیقه در ۱۵۰۰ دور) و دو بار شست‌وشو با بفر فسفات استریل رسوب باکتریایی جدا گردید. جهت تعیین تعداد باکتری از دستگاه اسپکتروفوتومتر

استفاده شد. بدین صورت که سوسپانسیونی از باکتری موردنظر، با غلظتی معادل جذب نوری ۱ در طول موج ۶۰۰ نانومتر تهیه گردید. پس از رقت‌سازی و با استفاده از محیط کشت MRS agar کشت سطحی داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری صورت گرفت و در نهایت شمارش باکتریایی مشخص شد. جهت انجام مطالعه، از کشت اولیه، سوسپانسیونی با غلظت ۱۰ برابر جذب نوری ۱ (معادل  $10^9$  CFU در گرم) تهیه گردید.

**ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک:** در مطالعه حاضر از روش به کار گرفته شده توسط Krasaekoopt و همکاران در سال ۲۰۰۳ استفاده شد (۱۱). محلول زانتان ۰/۱، ۰/۳ و ۰/۵ درصد (Sigma-Aldrich, Germany)، آلژینات ۲ درصد (ویسکوزیته بالاتر از cps ۲۰۰۰، Sigma-Aldrich, Germany)، محلول کیتوزان ۰/۵ درصد (با وزن مولکولی پایین و بیش از ۷۵ درصد دی استیله شده، Sigma-Aldrich, Germany) و محلول کلرید کلسیم ۰/۵ درصد (Sigma-Aldrich, Germany) ساخته و در اتوکلاو ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. در ابتدا ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری تهیه شده معادل  $10^9$  CFU در میلی‌لیتر به محلول زانتان با غلظت‌های ۰/۳ (Xn۰/۳) و ۰/۵ (Xn۰/۵) درصد اضافه گردید. سپس سوسپانسیون باکتریایی و زانتان با استفاده از شیکر، کاملاً مخلوط و یکنواخت شد و توسط سرنگ انسولین دارای قطر داخلی سوزن ۰/۱۱ میلی‌متر به محلول کیتوزان ۰/۵ درصد حاوی کلرید کلسیم ۰/۵ مولار به آرامی و قطره‌قطره تزریق گردید. برای جلوگیری از اتصال دانک‌ها به یکدیگر، محلول کیتوزان در حین انجام کار به آرامی هم زده شد. بعد از ۵ دقیقه غوطه‌ور بودن دانک‌ها در محلول کیتوزان و ته‌نشین شدن دانک‌ها، محلول رویی خالی شد و دانک‌های تولیدشده با پپتون واتر ۰/۱ درصد شست‌وشو داده شد و در نهایت با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ دانک‌ها جدا گردیدند. برای ایجاد پوشش خارجی دوم برای دانک‌هایی که در مرحله پیش با رانتان ۰/۵ درصد و کیتوزان پوشش‌دار شده بودند، ۲۰ گرم از دانک‌های ایجادشده به ۱۰۰ میلی‌لیتر زانتان ۰/۱ درصد (Xn۰/۵-Xn۰/۱) یا آلژینات ۳ درصد (Xn۰/۵-Al۳) اضافه گردید و به مدت ۱۵ دقیقه با استفاده از همزن مغناطیسی کاملاً مخلوط شد و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد. دانک‌های تولیدشده با پپتون واتر ۰/۱ درصد شست‌وشو داده شدند و در نهایت با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴ دانک‌ها جدا گردیدند. برای اندازه‌گیری تعداد باکتری پروبیوتیک در دانک‌ها، میزان ۰/۵ گرم از دانک‌های حاوی باکتری در ۵۰ میلی‌لیتر محلول سدیم سیترات استریل ریخته و ۱۰ دقیقه داخل دستگاه بگ میکسر (Interscience, London, UK) قرار داده شد تا باکتری‌های داخل کپسول‌ها آزاد شوند. سپس با پپتون واتر ۰/۱ درصد رقت‌های مختلف تهیه گردید و روی محیط کشت MRS agar کشت سطحی داده شد و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و تعداد کلنی‌ها شمارش شد.

**بررسی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده در مدل نوشیدنی:** در مطالعه حاضر از آب انبه تجاری استفاده گردید. در بطری‌های شیشه‌ای استریل رنگی به میزان ۵۰ میلی‌لیتر از این آبمیوه ریخته شد و در هر بطری به میزان ۰/۵ گرم دانک افزوده شد. در خصوص گروه کنترل ۰/۵ میلی‌لیتر کشت باکتریایی اضافه گردید. بطری‌ها در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد که بیانگر دمای یخچال و محیط است، طی ۴ هفته نگهداری شدند. در هر هفته برای بررسی میزان زنده‌مانی پروبیوتیک، محتویات هر بطری به داخل کیسه‌های استریل انتقال داده شد و ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول سیترات سدیم ۱ مولار استریل به آن‌ها اضافه گردید و ۱۰ دقیقه داخل دستگاه بگ میکسر (Interscience, London, UK) قرار داده شد تا باکتری‌های داخل کپسول‌ها آزاد شوند. سپس با پپتون واتر رقت‌های مختلف تهیه و روی محیط کشت MRS agar کشت سطحی داده شد و ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده و تعداد کلنی‌ها شمارش شد. سپس رقت‌های بعدی با سرم فیزیولوژی تهیه گردید و به صورت سطحی روی محیط کشت MRS Agar کشت داده شد. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه در شرایط هوایی، تعداد کلنی‌ها شمارش شد. تمام کشت‌ها با دو بار تکرار صورت گرفت. برای مقایسه میزان بقای باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده در مدل نوشیدنی، نسبتی به نام فاکتور حفاظتی تعریف گردید که بیانگر درصد افزایش زنده‌مانی گروه ریزپوشانی شده نسبت به گروه آزاد بود و با فرمول شماره ۱ به دست آمد:

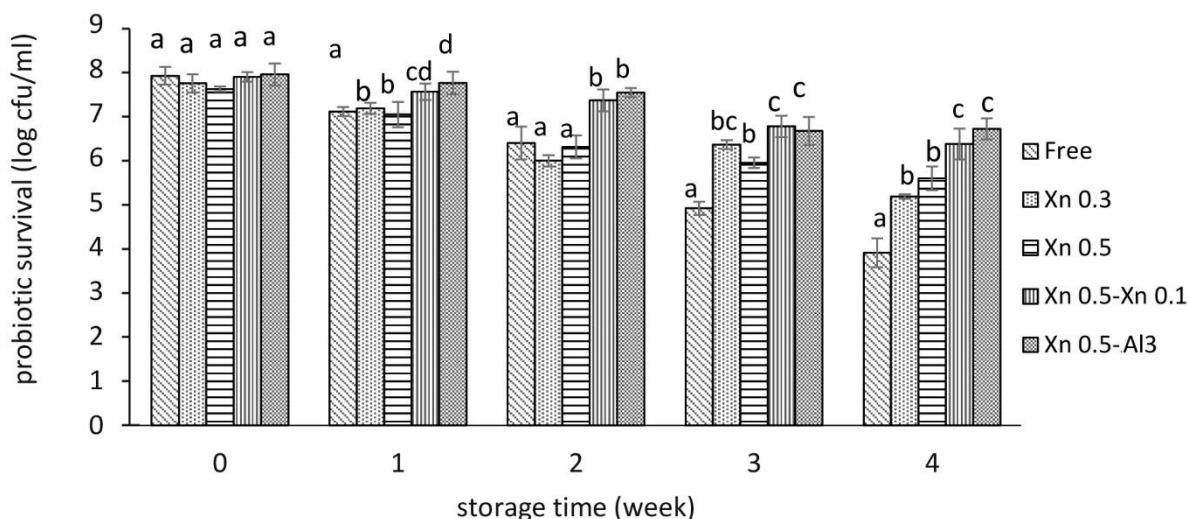
$$\text{فاکتور ۱۰۰} \times \frac{\text{شمارش باکتری آزاد} - \text{شمارش باکتری ریزپوشانی شده}}{\text{شمارش باکتری آزاد}} = \text{حفاظتی فاکتور ۱۰}$$

جدول ۱. فاکتور حفاظتی ریزپوشانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

تیماها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
Xn۰/۳	۱	-۶/۲	۲۹/۴	۳۲/۶
Xn۰/۵	-۰/۹	-۱/۳	۲۱	۴۳/۱
Xn۰/۵-Xn۰/۱	۶/۳	۱۵/۱	۳۷/۷	۶۳/۱
Xn۰/۵-Al۳	۹/۲	۱۷/۹	۳۵/۶	۷۱/۹

جدول ۲. فاکتور حفاظتی ریزپوشانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

تیماها	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم
Xn۰/۳	۰/۳	۳۴/۴	۴۸/۹	۶۵/۲
Xn۰/۵	۱/۹	۳۱/۵	۶۱/۷	۸۷/۰
Xn۰/۵-Xn۰/۱	۰/۸	۵۱/۰	۹۲/۲	۱۲۴/۱
Xn۰/۵-Al۳	۵/۸	۵۲/۷	۹۶/۳	۱۵۷/۲



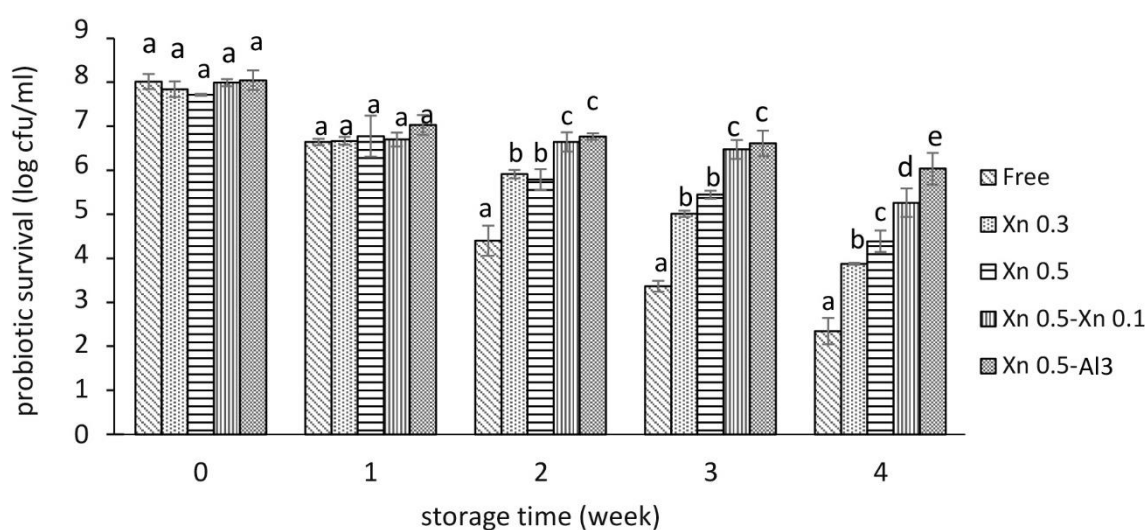
تصویر ۱. زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته. حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

### بررسی تغییرات pH: با استفاده از دستگاه pH متر (Denver Instruments, USA)، pH نمونه‌هایی که در دمای ۴ و ۲۵ درجه

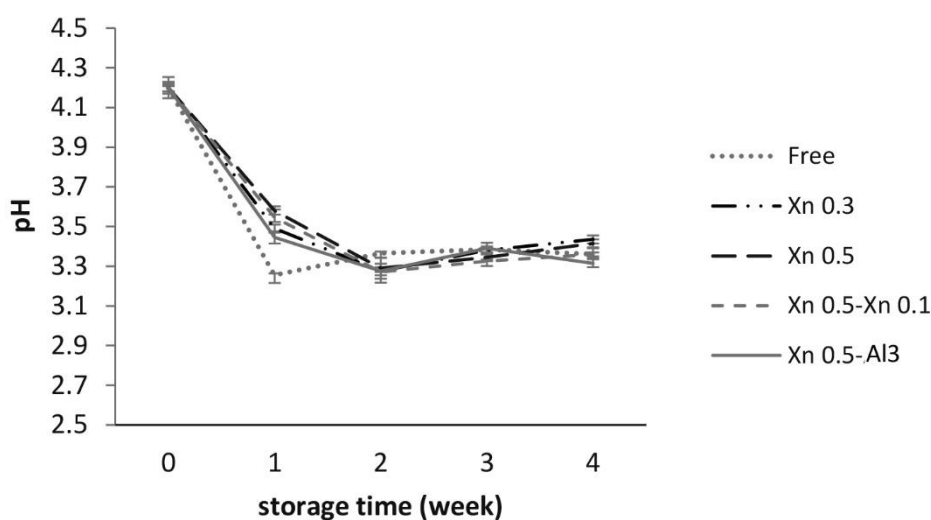
سانتی‌گراد قرار گرفته بودند در طی ۴ هفته اندازه‌گیری گردیدند.

**ارزیابی حسی:** برای ارزیابی حسی آبمیوه‌ها پرسش‌نامه‌ای آماده شد. مدل نوشیدنی در روز آخر در شرایط مشابه نور و حرارت با استفاده از پرسش‌نامه‌های با مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای توسط یک گروه ۱۰ نفره ارزیابی شد. در این ارزیابی رنگ، بو، طعم، بافت و شفافیت آبمیوه‌ها بررسی گردید. تمام نمونه‌ها ۱۲ ساعت قبل در یخچال قرار گرفت و در شرایط و دمای یکسان ارزیابی گردید. حد پذیرش برای هر معیار حسی ۳/۵ در نظر گرفته شد.

**تجزیه و تحلیل آماری:** داده‌های مطالعه حاضر با میانگین  $\pm$  انحراف معیار مشخص گردیدند. از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ برای تحلیل آماری و از تست آماری Kolmogorov-Smirnov برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها و برای مقایسه گروه‌ها از آزمون آماری one-way ANOVA و از تست تکمیلی Tukey استفاده شد. تحلیل آماری رتبه‌های مربوط به ارزیابی حسی نیز با آزمون غیرپارامتریک Kruskal-Wallis صورت گرفت و مقایسه بین گروه‌ها با تست Mann Whitney انجام شد.



تصویر ۲. زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته. حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ( $P < 0.05$ ).

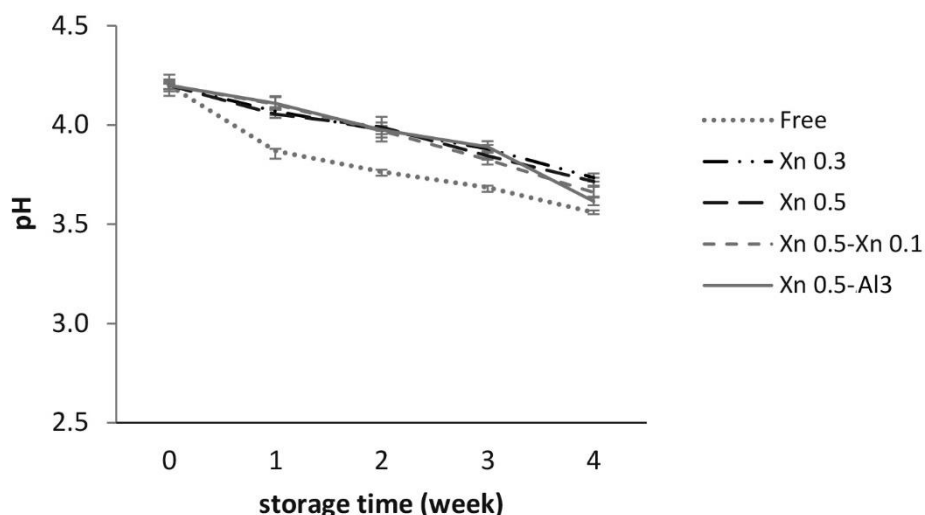


تصویر ۳. میزان pH آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

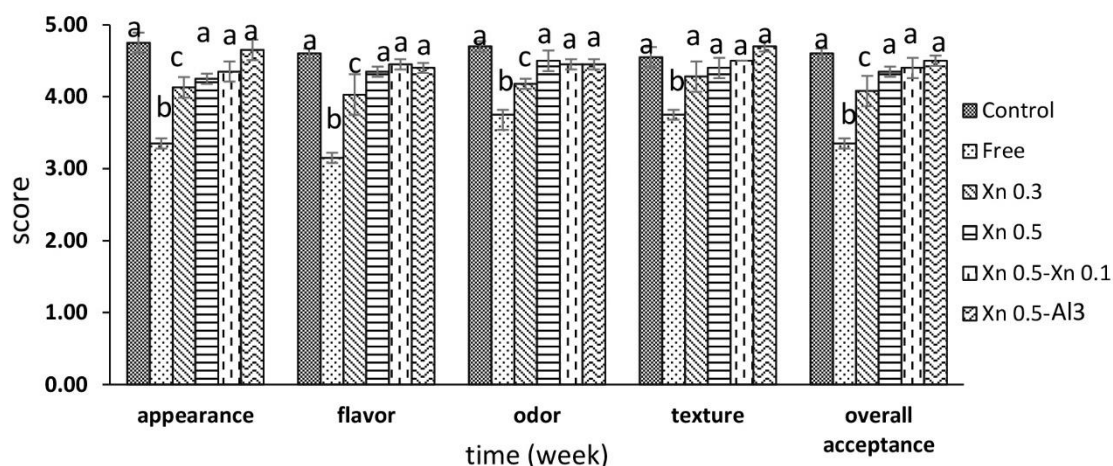
## نتایج

**زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG:** نتایج زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در تصویر ۱ آمده است. در گروه حاوی باکتری آزاد، کاهش تعداد باکتری پروبیوتیک مشاهده شد. به طوری که لگاریتم شمارش باکتریایی از ۷/۸۵ در روز اول به ۳/۸۸ در هفته چهارم رسید که کاهشی حدود ۴ لوگ را نشان داد. اگرچه شمارش باکتریایی در دو گروه ریزپوشانی شده با زانتان ۰/۳ درصد ( $Xn 0.3$ ) و ۰/۵ درصد ( $Xn 0.5$ ) در طول نگهداری کاهش یافت، اما این کاهش به طور معنی‌داری از گروه آزاد کمتر بود ( $P < 0.05$ ) و اختلاف معنی‌داری بین شمارش باکتریایی در این دو گروه مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). بالاترین زنده‌مانی مربوط به دو گروه  $Xn 0.5-Xn 0.1$  و  $Xn 0.5-Al3$  بود که اختلاف معنی‌داری بین شمارش باکتریایی در این دو گروه مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). نتایج فاکتور حفاظتی ریزپوشانی در زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG در آب انبه نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در جدول ۱ آمده است. بیشترین میزان افزایش زنده‌مانی مربوط به گروه  $Xn 0.5-Al3$  بود که در هفته چهارم زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده مذکور ۷۱/۹ درصد بیش از باکتری آزاد

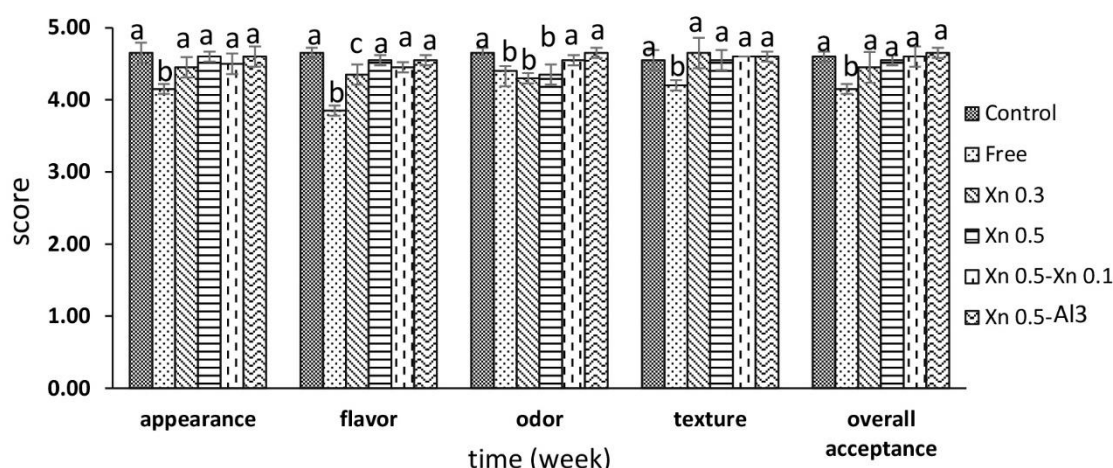
بود. کمترین فاکتور حفاظتی در گروه Xn0/3 دیده شد که در هفته چهارم زنده‌مانی باکتری را به میزان ۳۲/۶ درصد نسبت به گروه آزاد افزایش داد. نتایج زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در تصویر ۲ قابل مشاهده است. لگاریتم شمارش باکتریایی در گروه آزاد در طی نگهداری در ۴ هفته، کاهشی بیش از ۵ لوگ را نشان داد. هرچند در طول هفته اول کاهش تعداد پروبیوتیک در گروه‌هایی که ریزپوشانی شده بودند مشاهده نشد، اما در طی نگهداری در ۴ هفته، کاهش تعداد باکتری‌ها دیده شد. در دو گروه ریزپوشانی شده Xn0/3 و Xn0/5 کاهش باکتریایی بیش از گروه‌های ریزپوشانی شده دیگر بود. در گروه ریزپوشانی شده Xn0/5-Xn0/1 و Xn0/5-Al3 در هفته اول کاهش باکتریایی نداشتیم، اما طی دو هفته متوالی شمارش باکتریایی ثابت بود و در طول هفته ۴ کاهش تعداد باکتری‌ها مشاهده شد. بیشترین زنده‌مانی در گروه Xn0/5-Al3 مشاهده گردید که تنها کاهش ۱/۹۶ لوگی را در طی ۴ هفته نشان داد. نتایج فاکتور حفاظتی ریزپوشانی در زنده‌مانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG در آب انبه نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در جدول ۲ آمده است. به‌طور کلی ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک از ۰/۳ درصد تا ۱۵۷/۲ درصد نسبت به گروه آزاد شد. بیشترین میزان حفاظت در گروه ریزپوشانی شده Xn0/5-Al3 بود که باعث افزایش زنده‌مانی به میزان ۱۵۷/۲ درصد نسبت به گروه آزاد در هفته چهارم گردید و کمترین میزان حفاظت متعلق به گروه Xn0/3 بوده که افزایش زنده‌مانی برابر با ۶۵/۲ درصد نسبت به گروه آزاد را در هفته چهارم در پی داشت.



تصویر ۴. میزان pH آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.



تصویر ۵. خصوصیات حسی آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی شده با زانتان و کیتوزان نگهداری شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.



تصویر ۶. خصوصیات حسی آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

**ارزیابی میزان pH:** میزان مقادیر pH آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در تصویر ۳ ارائه شده است. در گروه حاوی باکتری آزاد در طول هفته اول کاهش شدید pH مشاهده شد و بعد از آن تغییر محسوسی در میزان pH دیده نشد. در گروه‌های ریزپوشانی‌شده در هفته اول کاهش pH مشاهده گردید، اما شدت کاهش کمتر از گروه آزاد بود و pH حداقل، در هفته دوم مشاهده شد و در طی ۳ هفته بعد کاهش معنی‌داری دیده نشد. مقادیر pH آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در تصویر ۴ نشان داده شده است. در تمام گروه‌های مورد مطالعه کاهش pH در طی ۴ هفته نگهداری مشاهده شد، اما شدت کاهش در گروه حاوی باکتری آزاد بیشتر از گروه‌های ریزپوشانی‌شده بود. همچنین تفاوت معنی‌داری در pH آب انبه بین گروه‌های مختلف ریزپوشانی‌شده دیده نشد ( $P > 0.05$ ).

**ارزیابی حسی:** نتایج ارزیابی حسی آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در طی نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در تصویر ۵ ارائه شده است. در گروه حاوی پروبیوتیک آزاد بیشترین کاهش شفافیت دیده شد، به طوری که رتبه کسب‌شده در این گروه ۴/۱۵ بود. بعد از این گروه، کمترین رتبه در ارتباط با ظاهر محصول مربوط به باکتری ریزپوشانی‌شده Xn0/3 بود و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ریزپوشانی‌شده دیگر وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). همچنین از نظر خصوصیت طعم نیز کاهش پذیرش در گروه حاوی باکتری آزاد مشاهده شد و رتبه کسب‌شده در این گروه ۳/۱۵ بود و بعد از آن گروه ریزپوشانی‌شده Xn0/3 با رتبه ۴/۰۳ قرار داشت. تفاوت معنی‌داری بین طعم آب سیب در سایر گروه‌ها مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ). همچنین گروه باکتری آزاد و گروه ریزپوشانی‌شده Xn0/3، کاهش پذیرش از نظر خصوصیات بو را نشان دادند، در حالی که سایر گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). از نظر خصوصیات بافتی نیز گروه حاوی باکتری آزاد رتبه کمتری نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کرد. به طور کلی گروه حاوی باکتری آزاد از نظر خصوصیات حسی پذیرش کلی کمتری را نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کرد. به طوری که رتبه پذیرش کلی در این گروه ۳/۳۵ بود و بعد از آن گروه Xn0/3 قرار داشت، در حالی که تفاوت معنی‌داری بین پذیرش کلی در سایر گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد ( $P > 0.05$ ). نتایج ارزیابی حسی آب انبه حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته در تصویر ۶ گزارش شده است. از نظر ظاهری گروه حاوی باکتری آزاد پذیرش کمتری کسب کرد. چنانکه رتبه پذیرش در این گروه ۴/۱۵ بوده که نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود و اضافه کردن باکتری آزاد باعث کدر شدن آب انبه در طول نگهداری شد؛ اما تفاوت معنی‌داری بین پذیرش ظاهری سایر گروه‌ها دیده نشد ( $P > 0.05$ ). همچنین از نظر خصوصیت طعم نیز کاهش پذیرش در گروه حاوی باکتری آزاد مشاهده گردید و رتبه کسب‌شده در این گروه ۳/۸۵ بود و بعد از آن گروه ریزپوشانی‌شده Xn0/3 با رتبه ۴/۳۵ قرار داشت. تفاوت معنی‌داری بین طعم آب انبه در سایر گروه‌ها مشاهده



نشد ( $P > 0.05$ ). همچنین گروه باکتری آزاد و گروه ریزپوشانی  $Xn0/3$  کاهش پذیرش از نظر خصوصیات بو را نشان دادند، در حالی که سایر گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ( $P > 0.05$ ). کمترین پذیرش بافت مرتبط با گروه حاوی باکتری آزاد با رتبه ۴/۲۰ بود و پس از آن گروه ریزپوشانی شده  $Xn0/3$  با رتبه ۴/۵۵ قرار داشت؛ در حالی که تفاوت معنی‌داری بین پذیرش بافت در سایر گروه‌های مورد مطالعه دیده نشد ( $P > 0.05$ ). بررسی پذیرش کلی گروه‌ها نشان داد کمترین پذیرش مرتبط با گروه حاوی باکتری آزاد با رتبه ۴/۱۵ بود و پس از آن کمترین پذیرش مربوط به گروه ریزپوشانی شده  $Xn0/3$  با رتبه ۴/۴۵ بود؛ اما تفاوت معنی‌داری بین پذیرش ظاهری سایر گروه‌ها دیده نشد ( $P > 0.05$ ).

## بحث

یکی از شیوه‌های نوین در جهت افزایش ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های غذایی و همچنین زنده‌مانی این باکتری‌ها در حین عبور از دستگاه گوارش به منظور انتقال ایمن آن‌ها به روده بزرگ، ریزپوشانی سلول‌های پروبیوتیکی است (۲۲). در مطالعه حاضر اثر ریزپوشانی یک یا دو لایه با زانتان، کیتوزان و آلژینات بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *ramnosus* GG در آب انبه در طی نگهداری به مدت ۴ هفته در درجه حرارت ۴ و ۲۵ درجه بررسی گردید. نتایج نشان داد ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتریایی تا ۷۱/۹ درصد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۵۷/۲ درصد در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نسبت به گروه آزاد شد. اثر محافظتی ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک توسط پوشش‌های مختلف در مطالعات متعددی اثبات شده است (۲۳، ۲۴). نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه Shu و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد ریزپوشانی لاکتوباسیلوس *acidophilus* توسط زانتان - کیتوزان و زانتان - کیتوزان - کیتوزان ماندگاری پروبیوتیک در ماست را در هر دو دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و ۲۵ درجه سانتی‌گراد افزایش داد (۲۵). در مطالعه Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز ریزپوشانی با آلژینات پوشش داده‌شده با کیتوزان به‌عنوان روش مناسبی برای افزایش زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس *ramnosus* GG در آب سیب طی ۹۰ روز نگهداری در هر دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد اثبات شد (۲۶). Koushki و همکاران در سال ۲۰۲۱ نیز در مطالعه‌ای روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس *acidophilus* و لاکتوباسیلوس *cazei* ریزپوشانی‌شده در دانک آلژینات و پوشش داده‌شده با کیتوزان در آبمیوه‌های پرتقال، انار و سیب در طی نگهداری به مدت ۳۰ روز، افزایش زنده‌مانی باکتریایی را گزارش کردند (۲۷).

همچنین در مطالعات دیگر نیز افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آبمیوه‌های مختلف در نتیجه ریزپوشانی گزارش شده است، از جمله باکتری لاکتوباسیلوس *ramnosus* ریزپوشانی‌شده با آلژینات و آلژینات - زانتان در آب پرتقال در طی نگهداری به مدت ۳ هفته (۲۸)، باکتری *Bacillus* *subtilis* ریزپوشانی‌شده با ژلان و کاراگینان در آب نارگیل در طی نگهداری به مدت ۳ هفته (۲۹)، باکتری لاکتوباسیلوس *plantarum* ریزپوشانی‌شده با سدیم آلژینات - ایزوله آب پنیر در آب انبه طی نگهداری به مدت ۴ هفته (۳۰)، باکتری لاکتوباسیلوس *plantarum* و لاکتوباسیلوس *acidophilus* ریزپوشانی‌شده با کیتوزان و صمغ تراگاکانت در آب آناناس (۳۱)، باکتری لاکتوباسیلوس *acidophilus* و بیفیدوباکتریوم *bifidum* در آب انگور (۳۲)، باکتری لاکتوباسیلوس *cazei* در آب انبه (۳۳)، باکتری *Enterococcus* *faecium* در آب آلبالو (۳۴)، باکتری *Bacillus* *subtilis* ریزپوشانی‌شده با پکتین - نانوکیتین - نانوالیگوسولوز در آب هلوئ سینیوتیک (۳۵) و باکتری لاکتوباسیلوس *plantarum* و بیفیدوباکتریوم *bifidum* ریزپوشانی‌شده با زانتان - کیتوزان در آب سیب (۳۶).

در مطالعه حاضر مشاهده شد که ریزپوشانی دو لایه، اثر محافظتی بیشتری نسبت به ریزپوشانی تک‌لایه داشت. این نتایج با یافته‌های Shu و همکاران در سال ۲۰۱۷ مطابقت دارد. مطالعه آن‌ها نشان داد زنده‌مانی لاکتوباسیلوس *acidophilus* در دانک‌های زانتان - کیتوزان پوشش داده‌شده با زانتان در طی نگهداری در نوشیدنی لبنی به مدت ۳ هفته، بیشتر از دانک‌های تک‌لایه زانتان - کیتوزان است (۲۵). با مقایسه فاکتور حفاظتی ریزپوشانی در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود که به‌طور کلی فاکتور حفاظتی در دمای یخچالی بسیار بالاتر از فاکتور حفاظتی در دمای محیطی است، به طوری که حداکثر فاکتور حفاظتی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ۷۱/۹ درصد و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ۱۵۷/۲ درصد می‌باشد. با این مقایسه می‌توان نتیجه گرفت که میزان کارایی و اثر ریزپوشانی در شرایط نامناسب‌تر برای باکتری، بالاتر است. افزایش اثر ریزپوشانی در دماهای یخچالی با نتایج Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۲۴) و Shu و همکاران در سال ۲۰۱۷ (۲۵) مطابقت دارد. کاهش pH آبمیوه پروبیوتیکی در طول نگهداری ناشی از تخمیر قندها توسط

باکتری‌های پروبیوتیک و تولید اسید است. این کاهش می‌تواند از یک طرف زنده‌مانی باکتری‌ها را کاهش دهد و از طرف دیگر روی طعم آبمیوه اثر نامطلوبی داشته باشد.

نتایج ارزیابی pH آب انبه طی ۴ هفته نگهداری، نمایانگر کاهش pH در تمام گروه‌های ریزپوشانی شده و آزاد بود. با این حال، مقادیر نهایی pH در گروه‌های ریزپوشانی شده بالاتر از گروه آزاد بود. علت این امر را می‌توان چنین بیان کرد که ریزپوشانی باکتری‌ها در دانک‌ها می‌تواند از طریق کاهش انتقال مواد مغذی به داخل دانک‌ها و در نتیجه کاهش فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک فرایند اسیدی شدن ثانویه را کاهش دهد. Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان دادند که pH نهایی آب سیب حاوی باکتری‌های پروبیوتیکی ریزپوشانی شده در پایان ۱۲ هفته نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد به‌طور معنی‌داری بیشتر از آب سیب‌هایی بود که باکتری‌های پروبیوتیکی آزاد داشتند (۲۶). نتایج Krasaekoopt و همکاران در سال ۲۰۰۸ نشان داد با وجود کاهش قابل توجهی که در pH آبمیوه‌های حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی شده و نشده طی ۴ هفته نگهداری در دمای یخچالی مشاهده شد، تفاوت قابل توجهی در pH بین گروه ریزپوشانی شده و آزاد مشاهده نشد (۳۷). همچنین نتایج Ying و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد تغییر اندکی در pH آب سیب با لاکتوباسیلوس رامنوسوس ریزپوشانی شده در زمان نگهداری در ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ هفته نگهداری مشاهده گردید (۳۸).

در مطالعه حاضر، میزان کاهش pH در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای یخچالی بیشتر بود. دلیل این امر می‌تواند فعالیت متابولیتی بیشتر باکتری‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد باشد. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج Ying و همکاران در سال ۲۰۱۷ مطابقت دارد (۳۸). استقبال بیشتر مردم از آبمیوه‌ها به دلیل خواص ظاهری و حسی آن‌ها می‌باشد، بنابراین در تولید محصولات پروبیوتیک علاوه بر بقای بالای پروبیوتیک‌ها به حفظ خواص حسی نوشیدنی نیز باید توجه نمود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد آبمیوه حاوی باکتری پروبیوتیک آزاد پذیرش حسی کمتری نسبت به گروه ریزپوشانی شده داشت. اضافه کردن باکتری آزاد باعث کدر شدن آب انبه و کاهش طعم و بو در طول نگهداری شد. Krasaekoopt و همکاران در سال ۲۰۰۸ دریافتند آبمیوه تخمیری حاوی مقادیر بالاتر از  $10^6$  CFU در میلی‌لیتر، خواص نامطلوبی را برای مصرف‌کننده ایجاد می‌کند (۳۷).

همچنین در مطالعه حاضر میزان پذیرش حسی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌طور کلی بالاتر بود. دلیل این امر می‌تواند کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در دمای یخچالی و در نتیجه کاهش تولید متابولیت‌های تأثیرگذار بر خصوصیات حسی آبمیوه باشد. نتایج به‌دست‌آمده با مطالعه Soheil و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطابقت داشت، این مطالعه آب پرتقال نگهداری شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد خواص حسی بهتری را نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان داد (۳۹). مشابه نتایج مطالعه حاضر، نتایج Gandomi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نشان داد ریزپوشانی با آلژینات پوشش داده‌شده با کیتوزان باعث تأثیر مثبت در تمام خصوصیات حسی در آبمیوه شد (۲۶).

**نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک و بهبود خواص حسی آب انبه در طی نگهداری در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد شد. همچنین ریزپوشانی دولایه اثر بهتری نسبت به ریزپوشانی یک‌لایه داشت. به‌علاوه نتایج نشان داد نگهداری آب انبه در دمای یخچالی باعث بهبود خصوصیات حسی نسبت به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گردید. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، استفاده از روش ریزپوشانی مورد استفاده به‌عنوان روشی مناسب برای افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آبمیوه‌ها جهت ارائه محصول فراسودمند با خصوصیات سلامت‌بخش ویژه توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت حمایت مالی ابراز می‌دارند.

## تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

## References

1. Gupta V, Garg R. Probiotics. *Indian J Med Microbiol.* 2009;27(3):202-9. [doi: 10.4103/0255-0857.53201](https://doi.org/10.4103/0255-0857.53201) [PMID: 19584499](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19584499/)
2. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The international scientific association for probiotics and prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(8):506-14. [doi: 10.1038/nrgastro.2014.66](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2014.66) [PMID: 24912386](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24912386/)
3. Anal AK, Singh H. Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends Food Sci Technol.* 2007;18(5):240-51. [doi: 10.1016/j.tifs.2007.01.004](https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.004)
4. Mal-Ganji S, Eivani M, Sohrabvandi S, Mortazavian A. Health related aspects of probiotics. *Iranian J Nutr Sci Food Technol.* 2013;7(5):579-590. (In Persian)
5. Nematollahi A1, Sohrabvandi S, Mortazavin Farsani AM, Berarnejad Bariki I. Application of fruit and vegetable for the production of non-dairy-based probiotic drink. *Iran J Nutr Sci Food Technol.* 2013;7(4):Pe73-Pe80. (In Persian)
6. Ziaefar E, Goodarzi A, Saki N. The role of microbiota, probiotics and prebiotics in dermatology. *JDC.* 2019;10(1):44-51. (In Persian)
7. Solanki HK, Pawar DD, Shah DA, Prajapati VD, Jani GK, Mulla AM, et al. Development of microencapsulation delivery system for long-term preservation of probiotics as biotherapeutics agent. *Biomed Res Int.* 2013;2013:620719. [doi: 10.1155/2013/620719](https://doi.org/10.1155/2013/620719) [PMID: 24027760](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24027760/)
8. Soccol CR, de Souza Vandenberghe LP, Spier MR, Medeiros AP, Yamaguishi CT, De Dea Lindner J, et al. The potential of probiotics: a review. *Food Technol Biotechnol.* 2010;48(4):413-34.
9. Segers ME, Lebeer S. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG-host interactions. *Microb Cell Fact.* 2014;13(1):1-6. [doi: 10.1186/1475-2859-13-S1-S7](https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S7) [PMID: 25186587](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25186587/)
10. Burton-Freeman BM, Sandhu AK, Edirisinghe I. Mangos and their bioactive components: Adding variety to the fruit plate for health. *Food Funct.* 2017;8(9):3010-32. [doi: 10.1039/C7FO00190h](https://doi.org/10.1039/C7FO00190h) [PMID: 28612853](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28612853/)
11. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int Dairy J.* 2003;13(1):3-13. [doi: 10.1016/S0958-6946\(02\)00155-3](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00155-3)
12. And CI, Kailasapathy K. Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. *J Food Sci.* 2005;70(1):M18-23. [doi: 10.1111/j.1365-2621.2005.tb09041.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb09041.x)
13. Desai KG, Jin Park H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. *Dry Technol.* 2005;23(7):1361-94. [doi: 10.1081/DRT-200063478](https://doi.org/10.1081/DRT-200063478)
14. Polk A, Amsden B, De Yao K, Peng T, Goosen MF. Controlled release of albumin from chitosan-alginate microcapsules. *J Pharm Sci.* 1994;83(2):178-85. [doi: 10.1002/jps.2600830213](https://doi.org/10.1002/jps.2600830213) [PMID: 8169785](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8169785/)
15. Chávarri M, Marañón I, Ares R, Ibáñez FC, Marzo F, del Carmen Villarán M. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *Int J Food Microbiol.* 2010;142(1-2):185-9. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.06.022) [PMID: 20659775](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20659775/)
16. Sopade PA, Halley PJ, Cichero JA, Ward LC, Liu J, Varlivi S. Rheological characterization of food thickeners marketed in Australia in various media for the management of dysphagia. III. Fruit juice as a dispersing medium. *J Food Eng.* 2008;86(4):604-15. [doi: 10.1016/j.jfoodeng.2007.11.013](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2007.11.013)
17. Chen L, Yang T, Song Y, Shu G, Chen H. Effect of xanthan-chitosan-xanthan double layer encapsulation on survival of *Bifidobacterium* BB01 in simulated gastrointestinal conditions, bile salt solution and yogurt. *LWT-Food Sci Technol.* 2017;81:274-280. [doi: 10.1016/j.lwt.2017.04.005](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.04.005)
18. Xing K, Chen XG, Li YY, Liu CS, Liu CG, Cha DS, Park HJ. Antibacterial activity of oleoyl-chitosan nanoparticles: A novel antibacterial dispersion system. *Carbohydr Polym.* 2008;74(1):114-20. [doi: 10.1016/j.carbpol.2008.01.024](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.01.024)

19. Pawar SN, Edgar KJ. Alginate derivatization: A review of chemistry, properties and applications. *Biomater.* 2012;33(11):3279-305. doi: [10.1016/j.biomaterials.2012.01.007](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.007) PMID: [22281421](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22281421/)
20. Homayouni A, Ehsani MR, Azizi A, Yarmand MS, Razavi H. Effect of lecithin and calcium chloride solution on the microencapsulation process yield of calcium alginate beads. *Iran Polym J.* 2007;16(9):597-606.
21. Krasaekoopt W, Bhandari B, Deeth H. The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *Int Dairy J.* 2004;14(8):737-43. doi: [10.1016/j.idairyj.2004.01.004](https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.01.004)
22. Choudhary R, Mahadevan R. Toward a systematic design of smart probiotics. *Curr Opin Biotechnol.* 2020;64:199-209. doi: [10.1016/j.copbio.2020.05.003](https://doi.org/10.1016/j.copbio.2020.05.003) PMID: [32603961](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32603961/)
23. Pourjafar H, Noori N, Gandomi Nasrabadi H, Akhondzadeh Basti A. Study of protective role of double coated beads of calcium alginate-chitosan-eudragit s100 nanoparticles achieved from microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* as a predominant flora of human and animals gut. *J Vet Res.* 20016;71(3):311-320. (In Persian)
24. Pourjafar H, Homayouni Rad A. The effect of microencapsulation with calcium alginate and resistant starch on the *Lactobacillus acidophilus* (Ia5) survival rate in simulated gastrointestinal juice conditions. *J Vet Res.* 2011;66(4):337-342. (In Persian)
25. Shu G, He Y, Chen L, Song Y, Meng J, Chen H. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* by xanthan-chitosan and its stability in yoghurt. *Polym.* 2017;9(12):733.733. doi: [10.3390/polym9120733](https://doi.org/10.3390/polym9120733) PMID: [30966036](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30966036/)
26. Gandomi H, Abbaszadeh S, Misaghi A, Bokaie S, Noori N. Effect of chitosan-alginate encapsulation with inulin on survival of *Lactobacillus rhamnosus* GG during apple juice storage and under simulated gastrointestinal conditions. *LWT-Food Sci Technol.* 2016;69:365-71. doi: [10.1016/j.lwt.2016.01.064](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.064)
27. Koushki V, Babaei A, Sangatash MM, Safari O. The efficacy of co-encapsulation with herbal extracts on viability of probiotic bacteria during storage in fruit juices. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2021;13(2):2. (In Persian)
28. Ali U, Saeed M, Ahmad Z, Shah FU, Rehman MA, Mehmood T, et al. Stability and survivability of alginate gum-coated *Lactobacillus rhamnosus* GG in simulated gastrointestinal conditions and probiotic juice development. *J Food Qual.* 2023;1:1-13. doi: [10.1155/2023/3660968](https://doi.org/10.1155/2023/3660968)
29. Choudhury AR. Encapsulated probiotic spores as a fortification strategy for development of novel functional beverages. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 2022;80:103104. doi: [10.1016/j.ifset.2022.103104](https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103104)
30. Praepanitchai OA, Noomhorm A, Anal AK. Survival and behavior of encapsulated probiotics (*Lactobacillus plantarum*) in calcium-alginate-soy protein isolate-based hydrogel beads in different processing conditions (pH and temperature) and in pasteurized mango juice. *Biomed Res Int.* 2019;2019:9768152. doi: [10.1155/2019/9768152](https://doi.org/10.1155/2019/9768152) PMID: [30895197](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30895197/)
31. Langaroudi SS, Nouri L, Azizi MH. Influence of encapsulation with chitosan and tragacanth gum on physicochemical and overall impression of probiotic pineapple juice. *Food Meas.* 2023;17:1382–1392. doi: [10.1007/s11694-022-01712-8](https://doi.org/10.1007/s11694-022-01712-8)
32. Mokhtari S, Jafari SM, Khomeiri M. Survival of encapsulated probiotics in pasteurized grape juice and evaluation of their properties during storage. *Food Sci Technol Int.* 2019;25(2):120-129. doi: [10.1177/1082013218801113](https://doi.org/10.1177/1082013218801113)
33. Gheisari HR, Davar M, Shekarforoush SS. Stability of microencapsulated *Lactobacillus casei* in mango fruit juice and its survival at simulated human gastro-intestinal condition. *Int J Pharm Res All Sci.* 2018;7(1):64-71.
34. Azarkhavarani PR, Ziaee E, Hosseini SM. Effect of encapsulation on the stability and survivability of *Enterococcus faecium* in a non-dairy probiotic beverage. *Food Sci Technol Int.* 2019;25(3):233-242.
35. Chackoshian KA, Shojaosadati SA. Improvement of probiotic survival in fruit juice and under gastrointestinal conditions using pectin-nanochitin-nanolignocellulose as a novel prebiotic gastrointestinal-resistant matrix. *Appl Food Biotechnol.* 2017;4(3):179–191. doi: [10.22037/afb.v4i3.17337](https://doi.org/10.22037/afb.v4i3.17337)
36. Yousefi M, Khanniri E, Khorshidian N, Sohravandi S, Mortazavian AM. Development of probiotic apple juice using encapsulated probiotics in xanthan-chitosan based hydrogels. *Appl Food Biotechnol.* 2023;10(3):205-13. doi: [10.22037/afb.v10i3.42048](https://doi.org/10.22037/afb.v10i3.42048)

37. Krasaekoopt W, Pianjareonlap R, Kittisuriyanont K. Survival of probiotics in fruit juices during refrigerates storage. Thai J Biotechnol. 2008;8:129-33.
38. Ying D, Schwander S, Weerakkody R, Sanguansri L, Gantenbein-Demarchi C, Augustin MA. Microencapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG in whey protein and resistant starch matrices: Probiotic survival in fruit juice. J Funct Foods. 2013;5(1):98-105. [doi: 10.1016/j.jff.2012.08.009](https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.08.009)
39. Sohail A, Turner MS, Prabawati EK, Coombes AG, Bhandari B. Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* NCFM encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. Int J Food Microbiol. 2012;157:162–166. [doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.025](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.04.025) [PMID: 22633536](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22633536/)