University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Original Article

J Vet Res, Volume 80, Number 1, 2025, 1-13

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[1]✉, Hassan Gandomi Nasrabadi[2]✉, Ali Misaghi[2]✉, Marjan Ghasemloo[1]✉, Kimia Jalali[1]✉, Mahdie Shabanizade[3]✉

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[2] *Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran*
[3] *Graduated from the Faculty of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran*

Received: *21 October 2024,* ***Accepted:*** *21 December 2024*

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 © Journal of Veterinary Research: Open Access; Copying, distribution and publication are free for full use with attribution. ©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.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

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[۱]، حسن‌گندمی نصرآبادی[۲]، علی میثاقی[۲]، مرجان قاسملو[۱]، کیمیا جلالی[۱]، مهدیه شبانی‌زاده[۳]

[۱] دانش آموخته، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳] دانش آموخته، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

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

10.22059/jvr.2024.371227.3415

چکیده

زمینه مطالعه: امروزه مصرف‌کنندگان تمایل روزافزونی به استفاده از محصولات غذایی پروبیوتیک نشان می‌دهند. آبمیوه‌ها 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.

روش‌کار: 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 Xn۰/۵-Al۳ 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 Xn۰/۵-Al۳ 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 موردمطالعه 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

کپی‌رایت © مجله تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان.
ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

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 ضدجهش‌زایی 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 به‌دلیل 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 ($۱۰^۶$ CFU در گرم) به روده بزرگ انسان برسند. 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 مورداستفاده در ریزپوشانی بسیار متنوع می‌باشند. در این میان پلی ساکاریدهایی چون زانتان و کیتوزان استفاده می‌شود (۱۵). زانتان ترا 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 ضدمیکروبی و غیرقابل‌هضم است و در حضور آنزیم روده بزرگ تجزیه می‌شود؛ بنابراین ماده بسیار مناسبی برای ریزپوشانی می‌باشد (۱۷). کیتوزان کربوهیدراتی است که از د استیله شدن کیتین به دست می‌آید. کیتوزان خاصیت پلی‌کاتیونی 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 به‌درستی 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 به‌دلیل داشتن مزایایی چون غیرسمی و بی‌ضرر بودن، قیمت مناسب و آسانی کار با آن به‌طور گسترده قابل‌استفاده 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 ـ 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 موردمطالعه: 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 به‌مدت 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 بافر فسفات استریل رسوب باکتریایی جدا گردید. جهت تعیین تعداد باکتری از دستگاه اسپکتروفوتومتر استفاده شد. بدین‌صورت 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 به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری صورت گرفت و درنهایت شمارش باکتریایی مشخص شد. جهت انجام مطالعه، از کشت اولیه، سوسپانسیونی با غلظت ۱۰ برابر جذب نوری ۱ (معادل $CFU\ ۱۰^۹$ در گرم) تهیه گردید.

ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک: در مطالعه حاضر از روش به کار گرفته‌شده 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 به‌مدت ۱۵ دقیقه استریل شد. در ابتدا ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری تهیه‌شده معادل $CFU\ ۱۰^۹$ 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 به‌آرامی و قطره‌قطره تزریق گردید. برای جلوگیری از اتصال دانک‌ها به یکدیگر، محلول کیتوزان در حین انجام کار به‌آرامی 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 درنهایت 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 به‌مدت 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 درنهایت 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 ریزپوشانی‌شده 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. درخصوص 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 به‌صورت سطحی روی محیط کشت MRS Agar کشت داده شد. بعد از ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجه در شرایط هوازی، تعداد کلنی‌ها شمارش شد. تمام کشت‌ها با دو بار تکرار صورت گرفت. برای مقایسه میزان بقای باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی‌شده در مدل نوشیدنی، نسبتی به نام فاکتور حفاظتی تعریف گردید که بیانگر درصد افزایش زنده‌مانی گروه ریزپوشانی‌شده نسبت به گروه آزاد بود و با فرمول شماره ۱ به دست آمد:

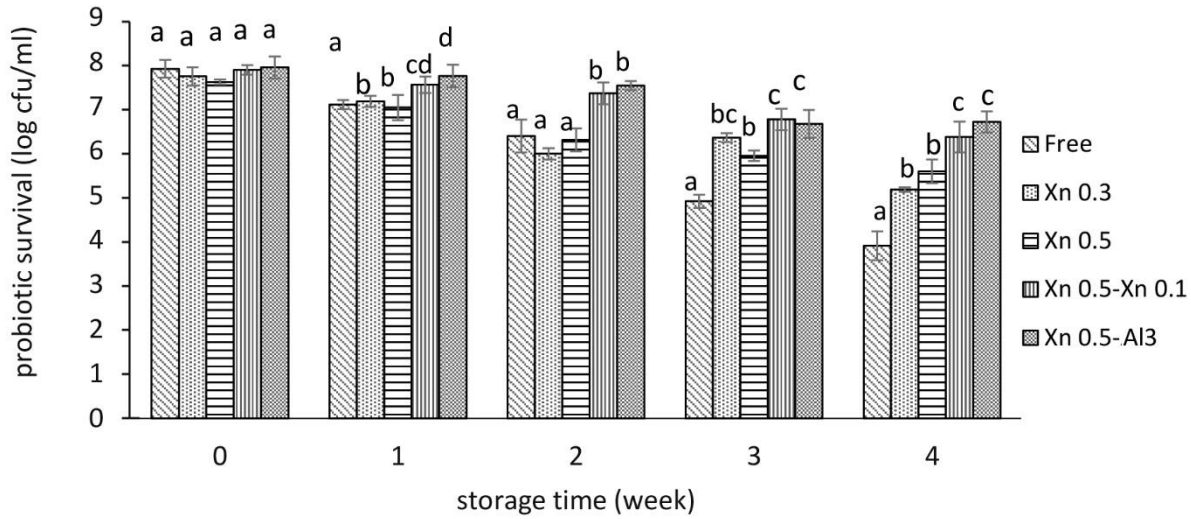
$$\text{فاکتور حفاظتی} = \frac{\text{شمارش باکتری آزاد} - \text{شمارش باکتری ریزپوشانی‌شده}}{\text{شمارش باکتری آزاد}} \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

جدول ۱. فاکتور حفاظتی ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته.

تیمارها	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 نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

تیمارها	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	۵۳/۷	۹۶/۳	۱۵۷/۲

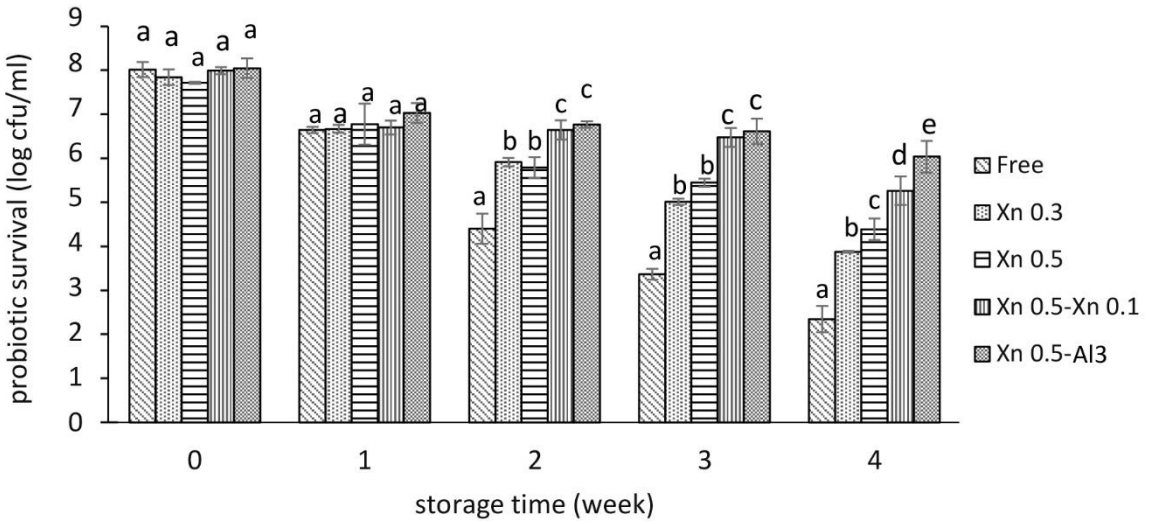


تصویر ۱. زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته. *حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد ($P<۰/۰۵$).*

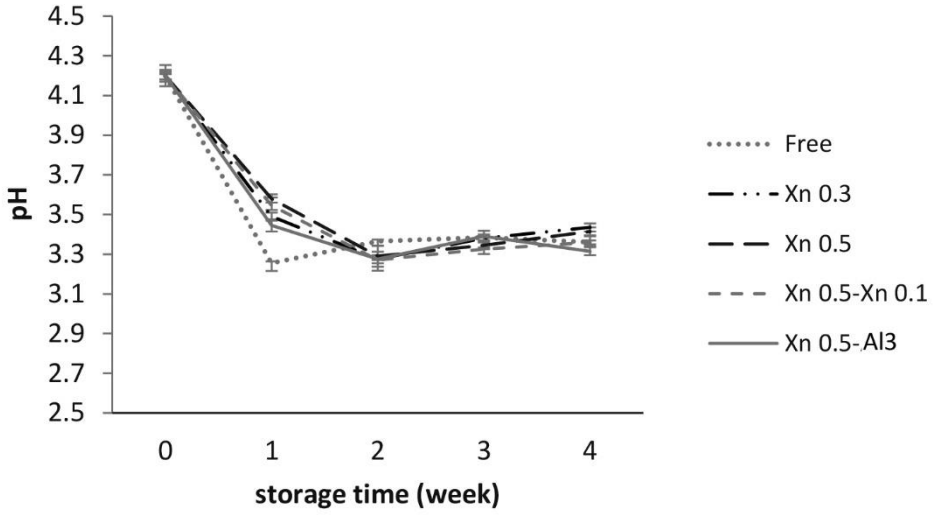
بررسی تغییرات pH: با استفاده از دستگاه pH متر (Denver Instruments, USA)، pH نمونه‌هایی که در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته بودند در طی ۴ هفته اندازه‌گیری گردیدند.

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.

تجزیه‌وتحلیل آماری: داده‌های مطالعه حاضر با میانگین ± انحراف‌معیار 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 ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته. حروف انگلیسی متفاوت نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین تیمارها می‌باشد (P<۰/۰۵).

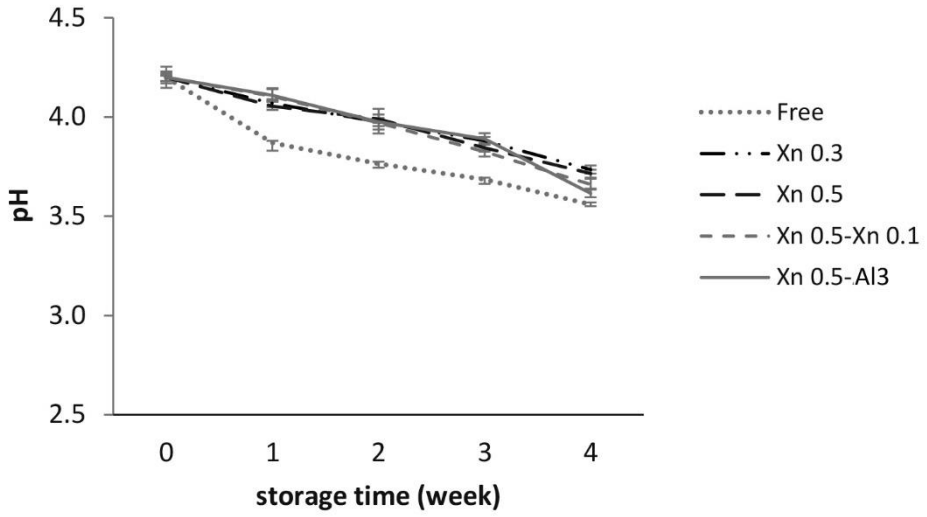


تصویر ۳. میزان pH آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ هفته.

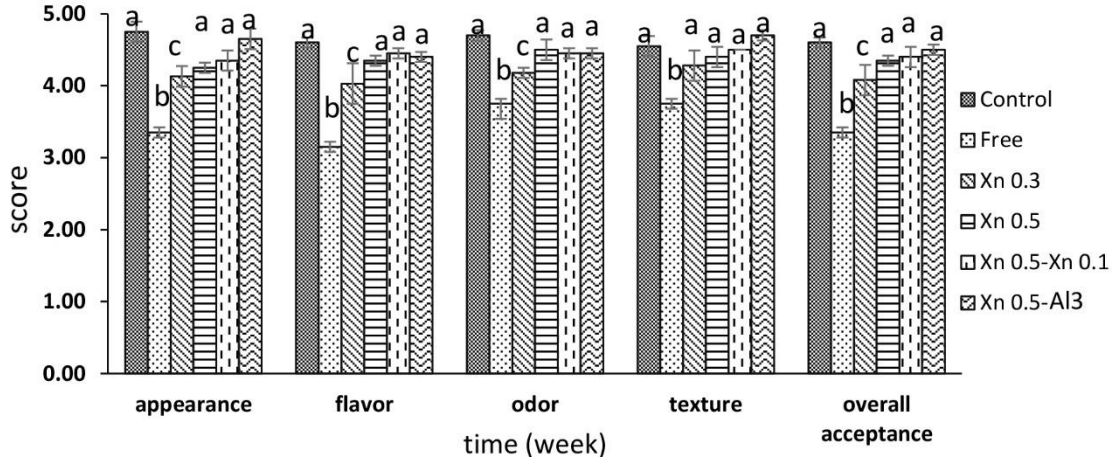
نتایج

زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG: نتایج زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در تصویر ۱ آمده است. در گروه حاوی باکتری آزاد، کاهش تعداد باکتری پروبیوتیک مشاهده شد. به‌طوری‌که 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 ریزپوشانی‌شده با زانتان ۰/۳ درصد (Xn۰/۳) و ۰/۵ درصد (Xn۰/۵) در طول نگهداری کاهش یافت، اما این کاهش به‌طور معنی‌داری از گروه آزاد کمتر بود (P<۰/۰۵) و اختلاف معنی‌داری بین شمارش باکتریایی در این دو گروه مشاهده نشد (P>۰/۰۵). بالاترین زنده‌مانی مربوط به دو گروه Xn۰/۵-Xn۰/۱ و Xn۰/۵-Al۳ بود که اختلاف معنی‌داری بین شمارش باکتریایی در این دو گروه مشاهده نشد (P>۰/۰۵). نتایج فاکتور حفاظتی ریزپوشانی در زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در جدول ۱ آمده است. بیشترین میزان افزایش زنده‌مانی مربوط به گروه Xn۰/۵-Al۳ بود که در هفته چهارم زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی‌شده مذکور ۷۱/۹ درصد بیش از باکتری آزاد

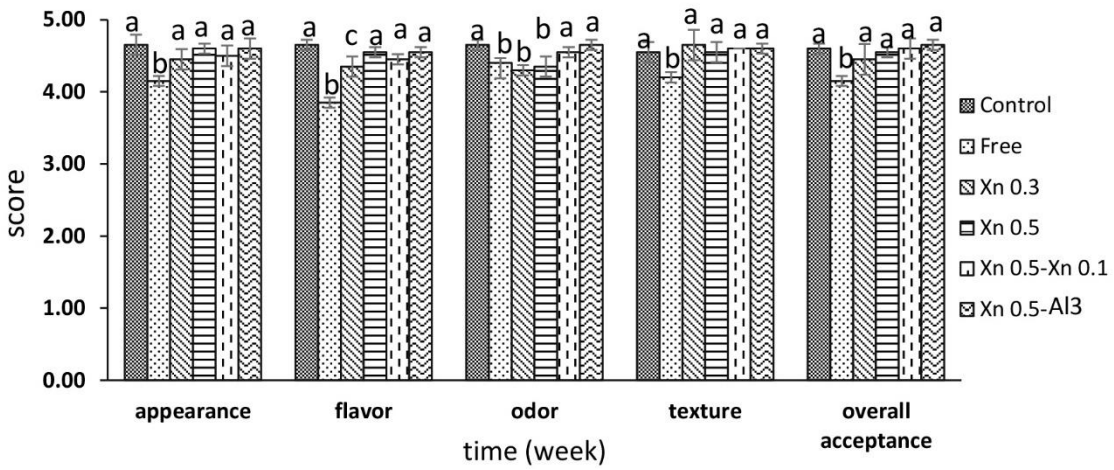
بود. کمترین فاکتور حفاظتی در گروه Xn۰/۳ دیده شد که در هفته چهارم زنده‌مانی باکتری را به میزان ۳۲/۶ درصد نسبت به گروه آزاد افزایش داد. نتایج زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در آب انبه نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در تصویر ۲ قابل‌مشاهده است. 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 ریزپوشانی‌شده Xn۰/۳ و Xn۰/۵ کاهش باکتریایی بیش از گروه‌های ریزپوشانی‌شده دیگر بود. در گروه ریزپوشانی‌شده Xn۰/۵-Xn۰/۱ و Xn۰/۵-Al۳ 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 Xn۰/۵-Al۳ 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 نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در جدول ۲ آمده است. به‌طورکلی ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک از ۰/۳ درصد تا ۱۵۷/۲ درصد نسبت به گروه آزاد شد. بیشترین میزان حفاظت در گروه ریزپوشانی‌شده Xn۰/۵-Al۳ 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 Xn۰/۳ بوده که افزایش زنده‌مانی برابر با ۶۵/۲ درصد نسبت به گروه آزاد را در هفته چهارم درپی داشت.



تصویر ۴. میزان pH آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته.



تصویر ۵. خصوصیات حسی آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته.



تصویر ۶. خصوصیات حسی آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان نگهداری‌شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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 pH **شدید** 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 موردمطالعه 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 ($P>۰/۰۵$).

ارزیابی حسی: نتایج ارزیابی حسی آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در طی نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در تصویر ۵ ارائه شده است. در گروه حاوی پروبیوتیک آزاد بیشترین کاهش شفافیت دیده شد، به‌طوری‌که رتبه کسب‌شده در این گروه ۴/۱۵ بود. بعد از این گروه، کمترین رتبه در ارتباط با ظاهر محصول مربوط به باکتری ریزپوشانی‌شده Xn۰/۳ بود و تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های ریزپوشانی‌شده دیگر وجود نداشت ($P>۰/۰۵$). همچنین ازنظر 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 Xn۰/۳ با رتبه ۴/۰۳ قرار داشت. تفاوت معنی‌داری بین طعم آب سیب در سایر گروه‌ها مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$). همچنین گروه باکتری آزاد و گروه ریزپوشانی‌شده Xn۰/۳، کاهش پذیرش ازنظر خصوصیات بو را نشان دادند، درحالی‌که سایر گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). ازنظر خصوصیات بافتی نیز گروه حاوی باکتری آزاد رتبه کمتری نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کرد. به‌طورکلی گروه حاوی باکتری آزاد ازنظر خصوصیات حسی پذیرش کلی کمتری را نسبت به سایر گروه‌ها دریافت کرد، به‌طوری‌که رتبه پذیرش کلی در این گروه ۳/۳۵ بود و بعد از آن گروه Xn۰/۳ قرار داشت، درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین پذیرش کلی در سایر گروه‌های موردمطالعه دیده نشد ($P>۰/۰۵$). نتایج ارزیابی حسی آب انبه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG ریزپوشانی‌شده با زانتان و کیتوزان در طی نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴ هفته در تصویر ۶ گزارش شده است. ازنظر 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 ($P>۰/۰۵$). همچنین ازنظر 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 Xn۰/۳ با رتبه ۴/۳۵ قرار داشت. تفاوت معنی‌داری بین طعم آب انبه در سایر گروه‌ها مشاهده

نشد ($P>۰/۰۵$). همچنین گروه باکتری آزاد و گروه ریزپوشانی Xn۰/۳ کاهش پذیرش ازنظر خصوصیات بو را نشان دادند، درحالی‌که سایر گروه‌ها از این نظر تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند ($P>۰/۰۵$). کمترین پذیرش بافت مرتبط با گروه حاوی باکتری آزاد با رتبه ۴/۲۰ بود و پس از آن گروه ریزپوشانی‌شده Xn۰/۳ با رتبه ۴/۵۵ قرار داشت؛ درحالی‌که تفاوت معنی‌داری بین پذیرش بافت در سایر گروه‌های موردمطالعه دیده نشد ($P>۰/۰۵$). 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 ریزپوشانی‌شده Xn۰/۳ با رتبه ۴/۴۵ بود؛ اما تفاوت معنی‌داری بین پذیرش ظاهری سایر گروه‌ها دیده نشد ($P>۰/۰۵$).

بحث

یکی از شیوه‌های نوین در جهت افزایش ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک در فراورده‌های غذایی و همچنین زنده‌مانی این باکتری‌ها در حین عبور از دستگاه گوارش به‌منظور انتقال ایمن آن‌ها به روده بزرگ، ریزپوشانی سلول‌های پروبیوتیکی است (۲۲). در مطالعه حاضر اثر ریزپوشانی یک یا دولایه با زانتان، کیتوزان و آلژینات بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG در آب انبه در طی نگهداری به‌مدت 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 اسیدوفیلوس* توسط زانتان ـ کیتوزان و زانتان ـ کیتوزان ـ زانتان 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 رامنوسوس* 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 اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* ریزپوشانی‌شده در دانک آلژینات و پوشش داده‌شده با کیتوزان در آبمیوه‌های پرتقال، انار و سیب در طی نگهداری به‌مدت ۳۰ روز، افزایش زنده‌مانی باکتریایی را گزارش کردند (۲۷).

همچنین در مطالعات دیگر نیز افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آبمیوه‌های مختلف درنتیجه ریزپوشانی گزارش شده است، ازجمله باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی‌شده با آژینات و آلژینات ـ زانتان در آب پرتقال در طی نگهداری به‌مدت ۳ هفته (۲۸)، باکتری *باسیلوس کوآگولانس* ریزپوشانی‌شده با ژلان و کاراگینان در آب نارگیل در طی نگهداری به‌مدت ۳ هفته (۲۹)، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی‌شده با سدیم آلژینات ـ ایزوله آب پنیر در آب انبه طی نگهداری به‌مدت ۴ هفته (۳۰)، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ریزپوشانی‌شده با کیتوزان و صمغ تراگاکانت در آب آناناس (۳۱)، *باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در آب انگور (۳۲)، باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در آب انبه (۳۳)، باکتری *انتروکوکوس فاسیوم* در آب آلبالو (۳۴)، باکتری *باسیلوس کوآگولانس* ریزپوشانی شده با پکتین ـ نانوکیتین ـ نانوالیگوسلولز در آب هلوی سینبیوتیک (۳۵) و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* ریزپوشانی‌شده با زانتان ـ کیتوزان در آب سیب (۳۶).

در مطالعه حاضر مشاهده شد که ریزپوشانی دولایه، 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 اسیدوفیلوس* در دانک‌های زانتان ـ کیتوزان پوشش داده‌شده با زانتان در طی نگهداری در نوشیدنی لبنی به‌مدت ۳ هفته، بیشتر از دانک‌های تک‌لایه زانتان ـ کیتوزان است (۲۵). با مقایسه فاکتور حفاظتی ریزپوشانی در دو دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتی‌گراد مشاهده می‌شود که به‌طورکلی فاکتور حفاظتی در دمای یخچالی بسیار بالاتر از فاکتور حفاظتی در دمای محیطی است، به‌طوری‌که 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 ریزپوشانی‌شده و آزاد بود. بااین‌حال، مقادیر نهایی pH در گروه‌های ریزپوشانی‌شده بالاتر از گروه آزاد بود. علت این امر را می‌توان چنین بیان کرد که ریزپوشانی باکتری‌ها در دانک‌ها می‌تواند ازطریق کاهش انتقال مواد مغذی به داخل دانک‌ها و درنتیجه 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 ریزپوشانی‌شده 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 قابل‌توجهی که در pH آبمیوه‌های حاوی پروبیوتیک ریزپوشانی‌شده و نشده طی ۴ هفته نگهداری در دمای یخچالی مشاهده شد، تفاوت قابل‌توجهی در pH بین گروه ریزپوشانی‌شده و آزاد مشاهده نشد (۳۷). همچنین نتایج Ying و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان داد تغییر اندکی در pH آب سیب با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی‌شده در زمان نگهداری در ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت 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 به‌دلیل خواص ظاهری و حسی آن‌ها می‌باشد، بنابراین در تولید محصولات پروبیوتیک علاوه‌بر 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 ریزپوشانی‌شده 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 حسی 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 به‌طورکلی بالاتر بود. دلیل این امر می‌تواند کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها در دمای یخچالی و درنتیجه 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 نگهداری‌شده 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. باتوجه‌به نتایج مطالعه حاضر، استفاده از روش ریزپوشانی مورداستفاده 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

هیچ گونه تعارض منافعی 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 PMID: 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 PMID: 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

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. Ziaeifar 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 PMID: 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 PMID: 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 PMID: 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

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

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

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 PMID: 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 PMID: 20659775

16. Sopade PA, Halley PJ, Cichero JA, Ward LC, Liu J, Varliveli 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

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

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

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 PMID: 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

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 PMID: 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* (la5) 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 PMID: 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

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 Perssian)

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

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

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 PMID: 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

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

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

36. Yousefi M, Khanniri E, Khorshidian N, Sohrabvandi 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

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

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 PMID: 22633536