مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تولید آب میوه پروبیوتیک انبه و پرتقال: بررسی ویژگی های کیفی و زنده مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC 1643

مریم عباسی گزنق[۱،۲]، محمود رضازاد باری[۳]، محمد علیزاده خالد آباد[۴]، صابر امیری[۵*]

۱- دانشجوی دکترای تخصصی زیست فناوری مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

۲- دکتری تخصصی زیست فناوری مواد غذایی، آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، معاونت غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان آذربایجان غربی، ارومیه، ایران

۳-استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۴- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۵- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰

کلمات کلیدی:

درون پوشانی،

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC 1643،

آب میوه پروبیوتیک

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61.

* مسئول مکاتبات:

sa.amiri@urmia.ac.ir

چکیده

هدف از این پژوهش، ارزیابی زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC 1643 میکروکپسوله با ایزوله پروتئین سویا، صمغ زانتان و فروکتوالیگوساکارید به عنوان مواد دیواره به روش خشک کردن انجمادی پس از تلقیح به دو آب میوه انبه و پرتقال و بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب میوه‌ها در دوره نگهداری می‌باشد. آزمون‌های بررسی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک، تعیین اسیدیته، pH، بریکس، قند کل، اندیس فرمالین، ویژگی‌های میکروبی و ارزیابی حسی آب میوه، انجام گردید. ارزیابی نتایج با آنالیز واریانس دو طرفه[1] ANOVA بدون تکرار و برای مقایسه تحلیل LSD[2] با استفاده از نرم افزار Excel 2019 نمونه‌ها نشان داد که زنده مانی باکتری‌ها در نمونه‌های مختلف آب میوه انبه و پرتقال، دارای تفاوت معنی-دار نبود. همچنین بر اساس نتایج زمان، اختلاف معنی‌داری در میانگین زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک تلقیح شده در نمونه آب میوه، طی زمان نگهداری وجود دارد. دمای پایین نگهداری نمونه‌ها، pH پایین و اسیدیته بالا در نمونه‌ها مانع رشد باکتری‌ها شده، به طوریکه رشد آن‌ها را محدود می‌کند و در نهایت جمعیت میکروبی در طول زمان نگهداری کاهش می‌یابد. همچنین بر اساس نتایج حاصل شده، میزان زنده‌مانی باکتری درون پوشانی شده با صمغ زانتان، ایزوله پروتئین سویا و فروکتوالیگوساکارید بیشتر از نمونه‌های آب میوه با باکتری آزاد بود. در واقع به علت ساختار چند کاتیونی و فیزیکی مواد دیواره که لایه پوششی اطراف باکتری ایجاد می‌کنند موجب استحکام دیواره میکروکپسول‌ها و محافظت از باکتری می‌گردند. بر اساس نتایج نمونه و زمان، اختلاف معنی داری در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب میوه ها شامل اسیدیته، pH، قند کل، اندیس فرمالین میانگین نمونه‌ها در طی زمان ماندگاری آن‌ها و نوع آب میوه مشاهده نگردید. از نظر ارزیابی حسی آب میوه‌ها در طی زمان و بسته به نوع آب میوه، نتایج بین میانگین نمونه‌های آب پرتقال و آب انبه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

1-Two-way ANOVA

2- Least significant difference

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

۱-مقدمه

در دهه‌های اخیر، توسعه غذاهای عملگرا مانند محصولات پروبیوتیکی افزایش یافته است. پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده تعریف می‌شوند که می‌توانند تاثیر مثبتی بر میزبان در صورت استفاده کافی داشته باشند. پروبیوتیک‌ها فوایدی همچون حفظ میکرو فلور طبیعی روده، تقویت سیستم ایمنی و کاهش کلسترول خون دارند [۱، ۲]. رایج‌ترین پروبیوتیک‌های وارد شده به غذاهای کاربردی گونه‌های لاکتوباسیلوس هستند که به عنوان میکروارگانیسم‌های مفید موجود در روده شناخته می‌شوند و نقش مهمی در جلوگیری از کلونی شدن پاتوژن‌ها و تنظیم پاسخ ایمنی میزبان دارند . *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[3] به دلیل تشکیل اسیدهای آلی و باکتریوسین اثر ضد میکروبی نشان می‌دهد [۳]. همچنین مقاوم به اسید صفراوی است و اثر آنتی بیوتیکی روی پاتوژن‌های روده دارد [٤، ٥]. میکروکپسولاسیون یکی از رایج‌ترین تکنیک‌هایی است که برای افزایش زنده ماندن پروبیوتیک‌ها استفاده می‌شود. انکپسولاسیون یک عامل فعال (مواد هسته) را در داخل ترکیبی دیگر (مواد دیواره) به دام می‌اندازد و ذرات در محدوده نانومتر یا میکرومتر تولید می‌کند. دیواره یا مواد پوششی مورد استفاده در روش‌های ریزپوشانی باید خوراکی، ایمن و زیست تخریب پذیر باشند. این ترکیبات می‌توانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، رزین‌ها و لیپیدها باشند [٦،٧].

صمغ زانتان یک هتروپلی ساکارید است که از واحدهای D-گلوکز، D-مانوز و D-گلوکورونیک اسید که از باکتری‌ها و قارچ‌ها مشتق یافتند، تشکیل شده‌اند. صمغ زانتان از تخمیر هوازی محیط کشت *زانتاموناس کامپستریس* خالص تولید می‌شود [۸]. این هیدروکلوئید به دلیل عملکرد بالا به ویژه در محیط‌هایی مانند اسید، نمک زیاد و تنش برشی بالا به یکی از موفق ترین هیدروکلوئیدها تبدیل شده است [۹].

در میان تمام پروتئین‌های غذایی، ایزوله پروتئین سویا یک پروتئین غذایی مهم با پتانسیل زیادی است که به دلیل طبیعت آبگریز سطحی، به عنوان حامل (نانو) عوامل زیستی نامحلول از طریق پیچیدگی نانو عمل می‌کند. ایزوله پروتئین سویا به دلیل خواص عملکردی، ماهیت غیر سمی، هزینه کم، در دسترس بودن آسان و ارزش غذایی بالا در صنایع غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرد [٦]. همچنین این ترکیب به دلیل قابلیت امولسیون‌کنندگی و ژل کنندگی در بسیاری از محصولات غذایی مانند گوشت فرآوری شده، نوشیدنی‌های مغذی، شیرخشک نوزادان و جایگزین محصولات لبنی به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۰]. اجزای پروتئینی اصلی در ایزوله پروتئین سویا، گلیسینین و β-کانگلایسینین هستند. گلیسینین از یک زیر واحد اسیدی و یک زیر واحد اساسی تشکیل شده است که توسط یک پل دی سولفیدی واحد متصل می‌شوند. β- کانگلایسینین نیز از سه زیر واحد α، α' و β تشکیل شده است [۱۱].

فروکتوالیگوساکاریدها یک الیگومر فروکتوز است که به مولکول‌های گلوکز یا فروکتوز مرتبط است که حاوی حداکثر ده بخش قند است. فروکتوالیگوساکاریدها بسیار محلول در آب و جز کربوهیدرات‌های کم کالری است. سطوح دوز فروکتوالیگوساکارید در محدوده ۲ تا ۵۰ درصد (وزنی/وزنی) برای فرمولاسیون‌های مختلف غذایی توصیه می‌شود. فروکتوالیگوساکاریدها جز کربوهیدرات‌های زنجیره کوتاه بوده که در حال حاضر جز دسته پری بیوتیک‌ها هستند. این کربوهیدرات‌ها با خواص پری بیوتیک مقاومت بالایی به هضم و جذب توسط دستگاه گوارش نشان می‌دهند که سبب کاهش محتوای کالری می‌شوند [۱۲، ۱۳].

در سال‌های اخیر پژوهش‌های بسیاری در خصوص درون پوشانی پروبیوتیک‌ها توسط محققان مختلف انجام

3-*Lactobacillus acidophilus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

گرفته است که می‌توان به درون پوشانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با دیواره پروتئین پوسته برنج و مالتودکسترین [۱۴]، درون پوشانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با دیواره ایزوله پروتئین آب پنیر و لاکتوز [۱۵]، درون پوشانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با دیواره آلژینات و ایزوله پروتئین آب پنیر [۱۶] و درون پوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با دیواره پروتئین سویا [۱۷] اشاره کرد.

هدف از این پژوهش، تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* انکپسوله با دیواره کامپوزیتی صمغ زانتان، ایزوله پروتئین سویا و فروکتوالیگوساکارید به آب میوه های انبه و پرتقال و بررسی زنده مانی باکتری در طول زمان نگهداری می‌باشد. همچنین، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب میوه ها شامل تعیین اسیدیته، pH، بریکس، قند کل، اندیس فرمالین، ویژگی‌های میکروبی و ارزیابی حسی آب میوه در طی زمان نگهداری آب میوه ها و بسته به نوع آب میوه از نظر ویژگی‌های میکروکپسول، انجام گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد مورد نیاز

صمغ زانتان، ایزوله پروتئین سویا و فروکتوالیگوساکارید از شرکت سیگما آلدریچ، محیط کشت MRS آگار و MRS براث از شرکت مرک آلمان واجزای تشکیل دهنده بافر PBS[4] شامل KH_2PO_4 ، KCl، NaCl و Na_2HPO_4 و سایر مواد شیمیایی با درصد خلوص آزمایشگاهی نیز از شرکت مرک آلمان بودند. سویه مرجع *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC 1643 از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی، خریداری شد. دو آب میوه انبه و پرتقال نیز با مارک لاوین در بسته بندی تتراپک ۲۰۰ میلی لیتری خریداری گردید.

۲-۲-آماده سازی باکتری پروبیوتیک

برای تهیه تلقیح، ۰/۵ گرم از پودر خشک شده انجمادی سلول‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به ۵ میلی لیتر از MRS براث اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت، به صورت بی‌هوازی انکوبه شد. سپس محیط کشت‌ها در ۹۵ میلی‌لیتر از MRS براث کشت شده و در همان شرایط تا رسیدن به 10^9 log CFU/ml[5] ۱۲ از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به مدت 72 ساعت انکوبه شد. زیست توده با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۴۰۰۰ ×g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتیگراد برداشت شد. مایع رویی دور انداخته شده و سلول‌ها دو بار با بافرنمکی استریل شسته و سانتریفوژ شدند. سپس، مجدداً، سوسپانسیون نمکی حاوی log CFU/ml ۱۲ باکتری برای انجام ریزپوشانی آماده شد. دانسیته نوری در ٦۲۵ نانومتر با استفاده از یک اسپکتروفتومتر (UV-1800PC، Shimadzu Corp.، کیوتو، ژاپن) تعداد سلول‌ها را در log CFU/mL ۱۲ ارائه کرد. شمارش میکروبی به صورت CFU/mL اندازه گیری شد و میانگین داده‌های حاصله به log CFU/mL تبدیل گردید [۱۸].

۲-۳- درون پوشانی باکتری پروبیوتیک

درون پوشانی باکتری مطابق روش Maleki و همکاران [۱] انجام شد. ابتدا مواد دیواره شامل ایزوله پروتئین سویا، صمغ زانتان و فروکتوالیگوساکارید با نسبت‌های مختلف در بافر فسفات استریل پس از انحلال مخلوط و آماده‌سازی شدند. به طوری که، غلظت محلول زانتان اولیه، قبل از اختلاط 0.2٪ (w/v) در بافر فسفات استریل بود. غلظت ایزوله سویا 0.5 ٪ (w/v) در بافر فسفات استریل بوده و انحلال در pH ۱۰ انجام شد. محلول‌های اولیه تهیه شده به مدت ٢٤ ساعت به منظور آبرسانی کامل در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس، اختلاط با نسبت های موجود در طرح با استفاده از همزن مغناطیسی، انجام گردید. در ادامه، پودر فروکتوالیگوساکارید طبق درصد تعیین شده به مخلوط حاصله اضافه شده و با استفاده از همزن

4-Phosphate saline buffer

5-Colony forming unit per milliliter

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

مغناطیسی، همزدن به مدت ۱۰ دقیقه انجام یافت. در شرایط استریل، ۱۰ میلی لیتر از سوسپانسیون باکتریایی (غلظت باکتریایی 7.5×10^{9} CFU/mL) تهیه شد. سپس به ٤٠ میلی لیتر از محلول صمغ، ایزوله و فروکتوالیگوساکارید، اضافه گردید و با همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط گردید. پس از طی این مرحله، ۲٪ توئین ۸۰ استریل و ۲٪ گلیسرول استریل، به سوسپانسیون حاصله افزوده شده و با همزن مغناطیسی به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط گردید. قبل از قرار دادن محلول آماده شده در خشک کن انجمادی، نمونه در فریزر ۳۰- درجه سانتی‌گراد، منجمد شد. سپس در شرایط خلاء، در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد، وارد خشک کن انجمادی شد. فرآیند خشک نمودن انجمادی، ٤٨ ساعت به طول انجامید. میکروکپسول‌های خشک جمع آوری شده و در ظروف آلومینیومی استریل شده در دمای ٤ درجه سانتیگراد، نگهداری شدند. [۱]

٤-۲- آماده سازی نمونه های آب میوه پروبیوتیک

به منظور تلقیح باکتری انکپسوله به هر یک از دو آب میوه انبه و پرتقال، باکتری انکپسوله با غلظت 12 log CFU/ mL به ۱۰۰ میلی لیتر آب میوه اضافه شد. نمونه های کنترل مثبت آب میوه ها نیز با تلقیح باکتری غیر کپسوله شده به همان میزان 12 log CFU/ mL به ۱۰۰ میلی لیتر آب انبه و آب پرتقال آماده شد. نمونه کنترل منفی بدون افزودن باکتری پروبیوتیک تهیه گردید [۹].

سپس، آب میوه ها به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت منتقل شدند. این میزان از نظر شمارش باکتری، معادل ۰/۵ گرم باکتری میکروکپسوله اضافه شده به ۱۰ میلی لیتر بافر فسفات و نگهداری شده در ۳۰ درجه به مدت ۱ ساعت می باشد. بعد از خرد کردن میکروکپسول افزوده شده داخل محلول، باکتری های انکپسوله شده آزاد شدند. با استفاده از رقت های متوالی تهیه شده، باکتری ها بر روی MRS آگار برای تعیین زنده مانی کشت شده و به مدت ۷۲ ساعت به انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد منتقل شدند. کشت آب میوه‌ها در مورد هر دو آب میوه انبه و پرتقال در روزهای اول، دهم، بیستم و سی‌ام پس از تلقیح باکتری انکپسوله به آب میوه‌ها انجام گردید.

۵-۲- آزمون های فیزیکو شیمیایی آب میوه

شامل تعیین قند کل آب میوه، تعیین اندیس فرمالین آب میوه، تعیین pH آب میوه و تعیین بریکس آب میوه که مطابق استاندارد شماره ۲٦۸۵، روش آزمون آب میوه‌ها در آزمایشگاه کنترل غذا و داروی ارومیه، انجام شد.

۵-۲-۱- آزمون تعیین قند کل آب میوه

در این روش ساکارز که یک دی‌ساکارید می‌باشد در حضور اسید و در اثر حرارت به دو مولکول گلوکز و فروکتوز شکسته شده و میزان قندهای احیاءکننده حاصل توسط روش لین آینون، با تبدیل مس دو ظرفیتی موجود در محلول‌های فهلینگ به مس یک ظرفیتی که نهایتاً با تشکیل رسوب قرمز آجری رنگ همراه است، تعیین می‌گردد. مجموع درصد ساکاروز و قندهای احیاء کننده به عنوان درصد قند کل آب میوه، گزارش می گردد.

۵-۲-۲- آزمون تعیین اندیس فرمالین آب میوه

هدف تعیین اندیس فرمالین در انواع کنسانتره و آبمیوه از طریق آزادسازی اسیدهای آمینه موجود و تیتراسیون آن‌ها با مواد قلیایی در مجاورت فرمالین خنثی می باشد. این اندیس که شاخص طبیعی بودن آبمیوه و کنسانتره می‌باشد، جهت تعیین کیفیت انواع آبمیوه و کنسانتره کاربرد دارد. اندیس فرمالین عبارتست از تعداد میلی‌لیتر سود ۰/۱ نرمال که جهت خنثی کردن اسیدهای آمینه موجود در۱۰۰ گرم یا ۱۰۰ mL نمونه مصرف می‌شود. در این روش اسیدهای آمینه موجود در آب‌میوه در مجاورت فرمالین خنثی، با مواد قلیایی تیتر می‌شود.

۵-۲-۳- آزمون تعیین pH آب میوه

در این روش با قرار دادن الکترود دستگاه pH متر کالیبره شده داخل نمونه، pH نمونه تعیین می‌شود. قبل از شروع کالیبراسیون از سالم بودن الکترود اطمینان حاصل کنید.روش کالیبراسیون دستگاه pH متر بسته به نوع کمپانی سازنده می‌تواند متفاوت باشد؛ ولی اساس کار تنظیم دستگاه با

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

محلول بافر با pH نزدیک به محلول مورد آزمایش می‌باشد. دو بافر ٤ و ۷ را دور از نور و در یخچال نگهداری کنید. هر ظرف محلول بافر بعد از باز شدن حداکثر تا ۳ ماه قابل استفاده است. الکترود دستگاه را بعد از آزمایش داخل محلول KCL سه مولار، قرار دهید.

۵-۲-٤-آزمون تعیین بریکس (مواد جامد محلول در آب) آب میوه

تعیین بریکس و ضریب شکست درانواع نمونه آب میوه با استفاده از دستگاه رفراکتومتر انجام می‌گیرد. بریکس به درصد مواد جامد محلول در آب اطلاق می‌شود. در این روش، بریکس (مواد جامد محلول در آب) ، براساس گرم ساکارز در ۱۰۰ گرم نمونه به وسیله دستگاه رفراکتومتر، تعیین می‌گردد.

٦-۲- آزمون های میکروبی آب میوه

شامل جستجوی باکتری های اسید لاکتیک، باکتری های مقاوم به اسید، کپک و مخمر که مطابق ب استاندارد شماره ۳٤۱٤ ، میکروبیولوژی آب میوه، آب سبزی و فرآورده‌های آن در آزمایشگاه کنترل غذا و داروی ارومیه، انجام شد.

۳ - آنالیز آماری

در این تحقیق از طرح کاملا تصادفی برای تهیه نمونه ها استفاده شد. سپس برای آنالیز داده های حاصله از آزمون نمونه ها از آنالیز واریانس دو طرفه[6] ANOVA بدون تکرار و برای مقایسه از تحلیل LSD با نرم افزار Excel 2019 استفاده شد. و در این مطالعه سطح خطای نوع اول ۰/۰۵ = α بود.

۵- نتایج و بحث

۱-٤- زنده مانی باکتری پروبیوتیک

نتایج نشان داد که زنده مانی باکتری‌ها در میانگین نمونه‌های مختلف آب میوه انبه و پرتقال معنی دار نبود. همچنین بر اساس نتایج زمان، اختلاف معنی داری در میانگین زنده مانی باکتری پروبیوتیک تلقیح شده در نمونه آب میوه طی زمان نگهداری وجود دارد. بر اساس نتایج میزان زنده ماندی باکتری در طی ۳۰ روز نگهداری در همه تیمارهای آب میوه انبه و پرتقال مورد بررسی کاهش یافت. دمای پایین نگهداری نمونه‌ها، pH پایین و اسیدیته بالا در نمونه‌ها مانع رشد باکتری‌ها شده، به طوریکه رشد آن‌ها را محدود می‌کند و در نهایت جمعیت میکروبی در طول زمان نگهداری کاهش می‌یابد. همچنین بر اساس نتایج حاصل شده، میزان زنده مانی باکتری درون پوشانی شده با صمغ زانتان، ایزوله پروتئین سویا و فروکتوالیگوساکارید بیشتر از نمونه‌های آب میوه با باکتری آزاد بود. در واقع به علت ساختار چند کاتیونی و فیزیکی مواد دیواره که لایه پوششی اطراف باکتری ایجاد می‌کنند موجب استحکام دیواره کپسول‌ها و محافظت از باکتری‌ها می‌گردند. در نتیجه مقاومت و زنده مانی باکتری پروبیوتیک در شرایط اسیدی دستگاه گوارش و آب میوه افزایش می‌یابد. بر اساس نتایج، اختلاف معنی داری در قند کل میانگین نمونه‌ها در طی زمان ماندگاری آن‌ها مشاهده نگردید. همچنین نتایج قند کل نمونه‌ها نشان داد که میانگین بین نمونه‌های آب انبه غیرمعنی دار بود. نتایج آب پرتقال نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین نمونه‌ها وجود داشت (جدول ۱). اما مطابق نتایج اختلاف بین نمونه‌های آب پرتقال O_c[7] و O_8[8] معنی دار نبود. به طوریکه بیشترین میزان قند کل (۰/۰۰۱ ± ۷/۸۵) مربوط به نمونه آب پرتقال O_{15}[9] بود. دلیل این رفتار احتمالا به علت وجود صمغ زانتان به صورت تکی در ساختار دیواره کپسول‌ها می‌باشد؛ که در نمونه $O2$[10] از ۷۵٪ صمغ زانتان، ۲۵٪ ایزوله پروتئین سویا و ۱/۵٪ فروکتوالیگوساکارید استفاده شد. [۱٤]

6-Two-way ANOVA

7- Orange juice control sample

8-Orange juice eight sample

9- Orange juice fifteen sample

10-Orange juice two sample

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

۲-٤- ویژگی های فیزیکوشیمیایی آب میوه

۱-۲-٤- قند کل آب میوه

بر اساس نتایج، اختلاف معنی داری در قند کل میانگین نمونه‌ها در طی زمان ماندگاری آن‌ها مشاهده نگردید. همچنین نتایج قند کل نمونه‌ها نشان داد که میانگین بین نمونه‌های آب انبه غیرمعنی دار بود. درحالیکه نتایج رای آب پرتقال نشان داد که اختلاف معنی داری بین میانگین نمونه‌ها وجود داشت (جدول ۱). اما مطابق نتایج اختلاف بین نمونه‌های آب پرتقال O_c و O_8 معنی دار نبود. به طوریکه بیشترین میزان قند کل (۰/۰۰۱ ± ۷/۸۵) مربوط به نمونه آب پرتقال O_{15} بود. دلیل این رفتار احتمالا به علت وجود صمغ زانتان به صورت تکی در ساختار دیواره کپسول‌ها می‌باشد؛ که در نمونه O2 از ۷۵٪ صمغ زانتان، ۲۵٪ ایزوله پروتئین سویا و ۱/۵٪ فروکتوالیگوساکارید استفاده شد [۳۲]و [۳۳].

۲-۲-٤ اندیس فرمالین آب میوه

اندیس فرمالین به عنوان شاخص تعیین اسیدهای آمینه در آب میوه‌ها می‌باشد. اهمیت اندیس فرمالین به این علت است که در صورت بالا بودن اسیدهای آمینه در طی فرایند تولید، موجب ترکیب اسیدهای آمینه با قند موجود در آبمیوه شده که وارد واکنش‌های غیرآنزیمی مانند مایلارد شده و در نهایت تیره شدن رنگ آب میوه می‌گردد. نتایج زمان نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار بین میانگین زمان در طی زمان ذخیره سازی تا ۳۰ روز بود. بر اساس نتایج، بین میانگین اندیس فرمالین نمونه‌های آب انبه و آب پرتقال اختلاف معنی داری وجود داشت. اما اختلاف محسوسی بین نمونه آب انبه شاهد با باکتری درون پوشانی نشده (Mc)[11] و آب انبه حاوی $۱/۵ \times ۱۰^{۵-}$ باکتری پروبیوتیک درون پوشانی شده (M8)[12] مشاهده نشد. مطابق نتایج آورده شده در جدول (۱) نمونه آب پرتقال O_8[13] با باکتری درون پوشانی شده بیشترین اندیس فرمالین و نمونه آب پرتقال با باکتری آزاد O_c کمترین اندیس فرمالین را داشتند. کمترین اندیس فرمالین در آبمیوه با باکتری آزاد احتمالا به علت تمایل بیشتر باکتری‌های درون پوشانی نشده به انواع درون پوشانی شده به مصرف قندها نسبت به اسیدهای آمینه می‌باشد که متابولیسم قندها (به ویژه فروکتوز و گلوکز) در آن‌ها به راحتی انجام می‌گیرد، با وجود اینکه وابستگی آن‌ها به قندها یکسان نیست، نتایج حاصله همسو با یافته‌های صباغ پورلنگرودی و همکاران، ۱٤۰۰ بود که گزارش کردند اندیس فرمالین در نمونه آبمیوه با باکتری درون پوشانی شده بیشتر از آبمیوه با باکتری آزاد بود [۱۷].

Table 1: Viability, Total Sugar and Formalin Index of probiotic Mango and Orange juice

Samples and Storage time	Viability (Log_{10}) CFU/mL	Total Sugar (%)	Formalin Index (%)
M_2	5.93±1.77[a]	13.12±0.00 [a]	4.06±0.00[c]
M_{15}	6.65±0.73[a]	13.17±0.00[a]	4.17±0.00[d]
M_8	6.88±0.57[a]	13.15±0.00[a]	3.82±0.00[b]
Mc	4.97±10.19[a]	13.04±0.00[a]	3.79±0.00[a]
O_2	5.65±2.51[a]	7.65±0.01[b]	5.06±0.00$_b$
O_{15}	5.59±2.47[a]	7.85±0.00[d]	5.17±0.00[c]
O_8	6.77±0.65[a]	7.71±0.00[c]	5.55±0.00[d]
O_C	4.86±10.68	7.62±0.01[a]	5.02±0.00[a]
Day 0	3.187±0.05[a]	10.48±8.15[a]	4.58±0.47[a]

11- Mango juice control sample

12- Mango juice eight sample

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

Day 10	3.212±0.08[a]	10.39±8.48[a]	4.59±0.48[a]
Day 20	3.125±0.03[a]	10.39±8.47[a]	4.57±0.48[a]
Day 30	3.212±0.03[a]	10.39±8.48[a]	4.57±0.47[a]

M2: Mango juice sample 2, MC: Mango juice Control sample, O2: Orange juice sample 2, O_C: Orange juice Control sample, M8: Mango juice sample 8, M15: Mango juice sample 15, O8: Orange juice sample 8, O15: Orange juice sample 15

Table 2: pH, Acidity and Brix of probiotic Mango and Orange juice

Samples and Storage time	pH	Acidity(%)	Brix (%)
M_2	3.175±0.02 [a]	0.292±0.00 [a]	13.2±0.06 [a]
M_{15}	3.125±0.04 [a]	0.297±0.00 [a]	12.95±0.01 [a]
M_8	3.15±0.12 [a]	0.315.±0.00 [a]	13.00±0.04 [a]
Mc	3.15±0.01 [a]	0.25±0.00 [a]	13.17±0.01 [a]
O_2	2.95±0.01 [a]	0.48±0.00 [a]	11.97±0.02 [a]
O_{15}	3.35±0.01 [a]	0.47±0.00 [a]	11.85±0.01 [a]
O_8	3.15±0.01 [a]	0.497±0.00 [a]	11.82±0.06 [a]
O_C	3.425±0.02 [a]	0.385±0.00 [a]	11.9±0.06 [a]
Day 0	3.187±0.05 [a]	0.406±0.01 [a]	12.63±0.45 [a]
Day 10	3.212±0.08 [a]	0.382±0.00 [a]	12.52±0.37 [a]
Day 20	3.125±0.03 [a]	0.363±0.01 [a]	12.40±0.47 [a]
Day 30	3.212±0.03 [a]	0.341±0.00 [a]	12.37±0.44 [a]

M2: Mango juice sample 2, MC: Mango juice Control sample, O2: Orange juice sample 2, O_C: Orange juice Control sample, M8: Mango juice sample 8, M15: Mango juice sample 15, O8: Orange juice sample 8, O15: Orange juice sample 15

pH -۳-۲-٤

مطابق نتایج آنالیز آماری اختلاف معنی داری بین میزان اسیدیته و pH نمونه‌های مختلف آب انبه و آب پرتقال حاوی باکتری‌های پروبیوتیک وجود نداشت. به علاوه میزان اسیدیته و pH نمونه‌های آب میوه غنی سازی شده در طی زمان نگهداری تا ۳۰ روز نیز غیرمعنی دار بود. [۲۸]

٤-۲-٤- بریکس (مواد جامد محلول)

نتایج آنالیز آماری که حداقل اختلاف معنی دار را برای میانگین نمونه‌ها را نشان می‌دهد برای بریکس نمونه‌های آب پرتقال و انبه در جدول (۲) بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار بین نمونه‌های مختلف آب میوه بود. همچنین مطابق نتایج زمان، که حداقل اختلاف معنی دار را در طی زمان نگهداری نمونه‌ها نشان می‌دهد، اختلاف معنی داری بین میانگین زمان نمونه‌ها مشاهده نشد. [۲۹]

۵-۲-٤- ارزیابی حسی آب میوه

ارزیابی حسی نمونه‌های آب انبه و آب پرتقال حاوی باکتری‌های پروبیوتیک درون پوشانی شده و آزاد، توسط ۱۵ نفر ارزیاب در روز اول، دهم، بیستم و سی‌ام، پس از تولید مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که بین میانگین نمونه‌های آب پرتقال و آب انبه مورد مطالعه تفاوت معنی داری مشاهده نشد. [۳۱]

Table 3: Organoleptic evaluation of probiotic Mango and Orange juice

Samples and Storage time	Organoleptic evaluation
M_2	2.25±0.25 [a]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

M_{15}	1. 5±0.33 [a]
M_8	2.00±0.66 [a]
Mc	1.25±0.25 [a]
O_2	2.25±0.25 [a]
O_{15}	2.00±0.66 [a]
O_8	1.75±0.91 [a]
O_C	1.5±0.33 [a]
Day 0	1.37±0.26 [a]
Day 10	1.62±0.55 [a]
Day 20	2.00±0.57 [a]
Day 30	2.25±0.25 [a]

M2: Mango juice sample 2, MC: Mango juice Control sample, O2: Orange juice sample 2, O_C: Orange juice Control sample, M8: Mango juice sample 8, M15: Mango juice sample 15, O8: Orange juice sample 8, O15: Orange juice sample 15

۵- نتیجه گیری

تلقیح باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با نسبت‌های مختلف ایزوله پروتئین سویا، صمغ زانتان و فروکتوالیگوساکارید به دو آب میوه انبه و پرتقال انجام شد. بر اساس نتایج زمان، اختلاف معنی‌داری در میانگین زنده مانی باکتری پروبیوتیک تلقیح شده در نمونه آب میوه طی زمان نگهداری وجود دارد. بر اساس نتایج، میزان زنده مانی باکتری در طی ۳۰ روز نگهداری در همه تیمارهای آب میوه انبه و پرتقال مورد بررسی، کاهش یافت. دمای پایین نگهداری نمونه‌ها، pH پایین و اسیدیته بالا در نمونه‌ها مانع رشد باکتری‌ها شده، به طوری که رشد آن‌ها را محدود می‌کند و در نهایت جمعیت میکروبی در طول زمان نگهداری کاهش می‌یابد. استفاده از دیواره کپسول سه جزئی صمغ زانتان، ایزوله پروتئین سویا و فروکتوالیگوساکارید، برای انکپسوله کردن باکتری به زنده‌مانی بیشتر باکتری پروبیوتیک در آب میوه‌ها منجر شد. همچنین ثابت ماندن خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب میوه پروبیوتیک طی نگهداری به مدت یک ماه در دمای ٤ درجه سانتی گراد می‌تواند منجر به پذیرش فرآورده تولیدی توسط مصرف کنندگان به عنوان نوشیدنی عملگرا گردد.

٦-منابع

[1] Shahmoradi, Z., Khaledabad, M. A., & Amiri, S. (2023). Effect of co-encapsulation of Lactobacillus acidophilus LA5 and selenium in hydrogelated matrix of basil seed mucilage/sodium caseinate on properties of set yogurt. Food Bioscience, 55, 103039.

[2] Amiri, S., Kohneshahri, S. R. A., & Nabizadeh, F. (2022). The effect of unit operation and adjunct probiotic culture on physicochemical, biochemical, and textural properties of Dutch Edam cheese. LWT, 155, 112859.

[3] Amiri, S., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh Khaledabad, M., Rezaei Mokarram, R., & Sowti Khiabani, M. (2021). Co-production of parabiotic metabolites by Lactobacillus acidophilus LA5 and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB12 in dairy effluents. Chemical Review and Letters, 4(2), 66-76.

[4] Zhang, L. D. H. (2020). Recent advances in probiotics encapsulation by electrospinning. ES Food & Agroforestry, 2, 3-12.

[5] Bahmanpour, H., Sowti Khiabani, M., & Pirsa, S. (2024). Improving the microbial and physicochemical shelf life of yufka paste using Lactobacillus plantarum and calcium propionate. Food Science & Nutrition, 12(3), 1635-1646.

[6] Shinde, T., Sun-Waterhouse, D., & Brooks, J. (2014). Co-extrusion encapsulation of probiotic Lactobacillus acidophilus alone or together with apple skin polyphenols: An aqueous and value-added delivery system using alginate. Food and Bioprocess Technology, 7(6), 1581-1596.

[7] Soleimanian, D., Pirsa, S., & Pirmohamadi, R. (2019). Using whey powder and valerian extracts in orange juice and study the physicochemical properties of the product.

[8] Hazirah, M. N., Isa, M. I. N., & Sarbon, N. M. (2016). Effect of xanthan gum on the physical and mechanical properties of gelatin-carboxymethyl

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

cellulose film blends. Food Packaging and Shelf Life, 9, 55-63.
[9] Balasubramanian, R., Kim, S. S., Lee, J., & Lee, J. (2019). Effect of TiO2 on highly elastic, stretchable UV protective nanocomposite films formed by using a combination of k-Carrageenan, xanthan gum and gellan gum. International journal of biological macromolecules, 123, 1020-1027.
[10] Moradi, M., Daneshzad, E., & Azadbakht, L. (2020). The effects of isolated soy protein, isolated soy isoflavones and soy protein containing isoflavones on serum lipids in postmenopausal women: A systematic review and meta-analysis. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60(20), 3414-3428.
[11] Li, C., Yang, F., Huang, Y., Huang, C., Zhang, K., & Yan, L. (2020). Comparison of hydrodynamic and ultrasonic cavitation effects on soy protein isolate functionality. Journal of Food Engineering, 265, 109697.
[12] Bis-Souza, C. V., Pateiro, M., Domínguez, R., Penna, A. L., Lorenzo, J. M., & Barretto, A. C. S. (2020). Impact of fructooligosaccharides and probiotic strains on the quality parameters of low-fat Spanish Salchichón. Meat science, 159, 107936.
[13] Mishra, S., & Mishra, H. N. (2013). Effect of synbiotic interaction of fructooligosaccharide and probiotics on the acidification profile, textural and rheological characteristics of fermented soy milk. Food and Bioprocess Technology, 6(11), 3166-3176.
[14] Vaniski, R., da Silva, S. C., da Silva-Buzanello, R. A., Canan, C., & Drunkler, D. A. (2021). Improvement of Lactobacillus acidophilus La5 microencapsulation viability by spraydrying with rice bran protein and maltodextrin. Journal of Food Processing and Preservation, 45(4), e15364.
[15] Amiri, S., Nezamdoost-Sani, N., Mostashari, P., McClements, D. J., Marszałek, K., & Mousavi Khaneghah, A. (2024). Effect of the molecular structure and mechanical properties of plant-based hydrogels in food systems to deliver probiotics: an updated review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 64(8), 2130-2156.
[16] Dehkordi, S. S., Alemzadeh, I., Vaziri, A. S., & Vossoughi, A. (2020). Optimization of alginate-whey protein isolate microcapsules for survivability and release behavior of probiotic bacteria. Applied biochemistry and biotechnology, 190(1), 182-196.
[17] González-Ferrero, C., Irache, J. M., Marín-Calvo, B., Ortiz-Romero, L., Virto-Resano, R., & González-Navarro, C. J. (2020). Encapsulation of probiotics in soybean protein-based microparticles preserves viable cell concentration in foods all along the production and storage processes. Journal of microencapsulation, 37(3), 242-253.
[18] Sohrabpour, S., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh, M., & Amiri, S. (2021). Investigation of the rheological, microbial, and physicochemical properties of developed synbiotic yogurt containing Lactobacillus acidophilus LA-5, honey, and cinnamon extract. Journal of Food Processing and Preservation, 45(4), e15323.
[19] Premjit, Y., & Mitra, J. (2021). Optimization of electrospray-assisted microencapsulation of probiotics (Leuconostoc lactis) in soy protein isolate-oil particles using Box-Behnken experimental design. Food and Bioprocess Technology, 14(9), 1712-1729.
[20] Rajam, R., & Anandharamakrishnan, C. (2015). Microencapsulation of Lactobacillus plantarum (MTCC 5422) with fructooligosaccharide as wall material by spray drying. LWT-Food Science and Technology, 60(2), 773-780.
[21] Ribeiro, M. C. E., Chaves, K. S., Gebara, C., Infante, F. N., Grosso, C. R., & Gigante, M. L. (2014). Effect of microencapsulation of Lactobacillus acidophilus LA-5 on physicochemical, sensory and microbiological characteristics of stirred probiotic yoghurt. Food Research International, 66, 424-431.
[22] Ma, J., Xu, C., Yu, H., Feng, Z., Yu, W., Gu, L., ... & Hou, J. (2021). Electro-encapsulation of probiotics in gum Arabic-pullulan blend nanofibres using electrospinning technology. Food Hydrocolloids, 111, 106381.
[23] Yasmin, I., Saeed, M., Pasha, I., & Zia, M. A. (2019). Development of whey protein concentrate-pectin-alginate based delivery system to improve survival of B. longum BL-05 in simulated gastrointestinal conditions. Probiotics and antimicrobial proteins, 11(2), 413-426.
[24] Hosseini, S., Mohammadian, T., Abbaspour, M. and Alishahi, M. (2018). The effect of microencapsulation with alginate/chitosan on survival of probiotic bacteria (Lactobacillus plantarum) in the simulated condition of stomach and intestines in Huso huso. Iranian Scientific Fisheries Journal. 27(2), 161-172.
[25] Peinado, I., Lesmes, U., Andrés, A. and McClements, D. (2010). Fabrication and morphological characterization of biopolymer particles formed by electrostatic complexation of heat treated lactoferrin and anionic polysaccharides. Langmuir, 26(12), 9827-9834.
[26] Huq, T., Fraschini, C., Khan, A., Riedl, B., Bouchard, J., & Lacroix, M. (2017). Alginate based nanocomposite for microencapsulation of probiotic: Effect of cellulose nanocrystal (CNC) and lecithin. Carbohydrate polymers, 168, 61-69.
[27] Duman, D., & Karadag, A. (2021). Inulin added electrospun composite nanofibres by electrospinning for the encapsulation of probiotics: characterisation and assessment of viability during storage and simulated gastrointestinal digestion. International Journal of Food Science & Technology, 56(2), 927-935.
[28] Motalebi Moghanjougi, Z., Rezazadeh Bari, M., Alizadeh Khaledabad, M., Amiri, S., & Almasi, H.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

(2021). Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus LA-5 and Bifidobacterium animalis BB-12 in pectin and sodium alginate: A comparative study on viability, stability, and structure. Food Science & Nutrition, 9(9), 5103-5111.
[29] Çabuk, B., & Harsa, Ş. (2015). Whey protein-pullulan (WP/Pullulan) polymer blend for preservation of viability of Lactobacillus acidophilus. Drying Technology, 33(10), 1223-1233.
[30] Oliveira, R. P. D. S., Perego, P., Converti, A., & De Oliveira, M. N. (2009). Effect of inulin on growth and acidification performance of different probiotic bacteria in co-cultures and mixed culture with Streptococcus thermophilus. Journal of food engineering, 91(1), 133-139 .
[31] Tripathi, M. K., & Giri, S. K) .2014 .(Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of Functional Foods, 9, 225-241 .
[32] bbel, A. (2007). The sustainability of functional foods. Social Science & Medicine, 64(3), 554-561 .
[33] Perez-Cacho, P. R., & Rouseff, R. (2008). Processing and storage effects on orange juice aroma: A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(21), 9785-9796 .

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]

Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Production of probiotic Mango and Orange juices: Evaluation of qualitative properties and viability of probiotic *Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643

Maryam Abbasi Ghaznaq [12], Mahmoud Rezazadeh Bari [3], Mohammad Alizadeh Khaledabad [4], Saber Amiri [5*]

1. PhD of Food Biotechnology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2. PhD of Food Biotechnology, Food and Drug Control Laboratory, Food and Drug Assistance, Urmia University of Medical Sciences (West Azarbayjan), Urmia, Iran
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
4. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
5. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2024/8/25

Accepted:2024/12/30

Keywords:

Encapsulation,
Lactobacillus acidophilus PTCC1643,
Probiotic juice

DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61.

*Corresponding Author E-

sa.amiri@urmia.ac.ir

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the viability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* PTCC 1643 with soy protein isolate, xanthan gum and fructooligosaccharide as wall materials by freeze-drying after inoculation into two mango and orange juices and to investigate the physicochemical properties of the juices during storage. Tests were performed to evaluate the viability of probiotic bacterium, determine acidity, pH, Brix, total sugar, formalin index, microbial properties, and sensorial evaluation of the juice. Evaluation of the results with two-way ANOVA analysis without repetition and LSD analysis for comparison of the samples using Excel 2019 software showed that the viability of bacterium in mango and orange juice samples did not have a significant difference. Also, based on the time results, there was a considerable difference in the average viability of probiotic bacterium inoculated in the juice sample during storage. The low storage temperature of the samples, low pH and high acidity prevented the growth of bacterium, so it limited their growth and ultimately decreased the microbial population during the storage period. Also, based on the results obtained, the survival rate of microencapsulated bacterium with xanthan gum, soy protein isolate and fructooligosaccharide was higher than that of fruit juice samples with free bacterium. In fact, due to the multi-cationic and physical structure of the wall materials that create a coating layer around the bacterium, they strengthen the microcapsule wall and protect the bacterium. Based on the results of the sample and time, no significant difference was observed in the physicochemical properties of the fruit juices including acidity, pH, total sugar, formalin index of the average of the samples during their shelf life and the type of fruit juice. In terms of sensorial evaluation of fruit juices over time and depending on the type of fruit juice, no significant difference was observed between the average of the orange juice and mango juice samples studied.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-08-08]

[DOI: 10.22034/FSCT.22.165.61]