مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تولید آب آناناس پروبیوتیک با ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* توسط صمغ‌های کیتوزان و کتیرا

صبا صباغ پور لنگرودی[۱]، لیلا نوری[۲]*، محمدحسین عزیزی [۳]

۱- دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

۲- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹ /۰۹/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۵/۱۶

کلمات کلیدی:

آب آناناس،

ریزپوشانی،

کتیرا،

کیتوزان،

لاکتوباسیلوس پلانتاروم.

DOI: 10.52547/fsct.18.09.16

* مسئول مکاتبات:

nouri.le.ir@gmail.com

چکیده

ریزپوشانی با پلی‌ساکاریدها یکی از روش‌های جدید جهت افزایش پایداری ترکیبات زیست فعال و همچنین بهبود قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در طی فرآوری و نگه‌داری مواد غذایی به شمار می‌رود. از این رو با توجه به مزایای بالای فرآورده‌های پروبیوتیک در سلامت انسان، در این پژوهش اثرات ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* توسط صمغ‌های کیتوزان، کتیرا و ترکیب آن‌ها در غلظت ۱ درصد بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و پذیرش کلی آب آناناس در طول ۳۰ روز نگه‌داری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از کاهش **pH** و افزایش اسیدیته در نمونه‌های مورد بررسی بود (**P<۰/۰۵**). علاوه بر این، افزایش قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در نمونه‌های ریزپوشانی شده توسط ترکیب دو صمغ کیتوزان و کتیرا مشاهده شد به طوری که تعداد سلول زنده باکتری در روز سی‌ام نگه‌داری بالاتر از **log cfu/ml** ۶ گزارش شد. اندیس فرمالین نیز در فاصله زمانی بین روز بیستم الی روز سی‌ام، در همه نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت (**P<۰/۰۵**). همچنین بیشترین پذیرش کلی در بین نمونه‌های مورد بررسی متعلق به نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با کیتوزان بود (**P<۰/۰۵**). نتایج نشان داد آب آناناس، بستر مناسبی برای رشد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بوده و می‌تواند به عنوان یک حامل برای انتقال سویه‌های پروبیوتیک به بدن انسان در نظر گرفته شود. علاوه بر این، افراد با نیازمندی‌های غذایی خاص می‌توانند از مزایای آب آناناس پروبیوتیک از جمله فقدان لاکتوز، کلسترول و غنی بودن از مواد معدنی بهره‌مند شوند.

۱- مقدمه

پروبیوتیک‌ها موجودات زنده‌ای هستند که با تعدیل فلور میکروبی روده، اثرات مفیدی از خود بر سلامت میزبان بر جای می‌گذارند. از این رو امروزه مصرف مواد غذایی حاوی این دسته از ریزسازواره‌ها به عنوان کاندید مناسبی جهت درمان بیماری‌های گوارشی و غیرگوارشی مانند سرطان و فشار خون مورد توجه قرار گرفته است[۱]. به طور عمده مواد غذایی پروبیوتیک جزء محصولات لبنی بوده و این فرآورده‌های لبنی توسط افراد دارای حساسیت به پروتئین شیر یا مبتلا به عدم تحمل لاکتوز قابل مصرف نیستند، بنابراین نیاز به فرآوری و تولید مواد غذایی جایگزین در این زمینه احساس می‌شود[۲]. این موضوع از آن جهت حائز اهمیت است که نوشیدنی‌های پروبیوتیک غیرلبنی از جمله آب‌میوه‌ها نه تنها می‌توانند در بهبود اختلالات گوارشی در افرادی که به فرآورده‌های پروبیوتیک لبنی آلرژی دارند مؤثر واقع شوند، بلکه به دلیل فقدان کلسترول و همچنین غنی بودن از مواد مغذی نظیر ویتامین‌ها، ضداکساینده‌ها و مواد معدنی می‌توانند توسط افراد با محدودیت غذایی خاص مصرف شوند[۳]. به طور عمده پروبیوتیک‌هایی که بیش از همه کانون تحقیقات قرار گرفته‌اند، باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک شامل گونه‌های لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتریوم هستند. سازوکار تأثیر پروبیوتیک‌ها در بدن انسان از طریق تعدیل pH روده، تولید ترکیبات مهارکننده رشد باکتری‌ها، رقابت برای جذب مواد غذایی و تقویت سیستم ایمنی میزبان بروز می‌کند[٤]. آب آناناس منبع غنی از ویتامین C بوده و حاوی ویتامین A، B_1 و B_2 است. همچنین کلسیم، فسفر، آهن، منیزیم، پتاسیم، سدیم و منگنز از دیگر املاح و مواد معدنی موجود در آب آناناس هستند. علاوه بر این حاوی فیبرهای رژیمی[۱] بوده که سبب بهبود عملکرد دستگاه گوارش و جلوگیری از یبوست می‌شوند. تاکنون پژوهش‌های متعددی در ارتباط با پروسه فرآوری، تولید و ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی آب‌میوه‌های فراسودمند با استفاده از گونه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک انجام گرفته است که از جمله آن‌ها می‌توان به تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه فرنگی و مخلوط سبزیجات[۵]، آب هویج پروبیوتیک[٦و٧]، آب پرتقال پروبیوتیک[٨]، آب آلبالو و آب سیب پروبیوتیک[٩]، آب انار پروبیوتیک[١٠]، آب هلو پروبیوتیک[١١و١٢]، آب انگور قرمز پروبیوتیک[١٣] و نوشیدنی‌های ترکیبی-تخمیری پروبیوتیک بر پایه آب سیب، هویج، چغندر قرمز[١٤] و آب هویج و کدو[١٥] اشاره کرد. با توجه به قابلیت زیستی[۲] اندک باکتری‌های پروبیوتیک در طول پروسه فرآوری به دلیل شرایط نامطلوب محیطی (دمای بالا، نور و اکسیژن) و شرایط اسیدی دستگاه گوارش، ریزپوشانی به عنوان یکی از تکنیک‌های نوین توانسته است موجب افزایش پایداری و رهایش تنظیم شده این ترکیبات شود که در نهایت منجر به حفاظت از ترکیبات غذا و ارزش تغذیه‌ای آن‌ها به خصوص در محصولات فراسودمند[۳] می‌شود[٨]. ترکیبات پلی‌ساکاریدی به جهت در دسترس بودن و غیرسمی بودن اغلب به عنوان پوشش‌دهنده مناسب جهت حفاظت پروبیوتیک‌ها استفاده می‌شوند[٣و٨]. علوی لواسانی و همکاران (۱۳۹۱) به بررسی تولید آب هندوانه آناناسی با باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* پرداختند. حضور ویتامین‌های A، C و رنگدانه لوتئین در آب هندوانه آناناسی از یک طرف و باکتری‌های اسیدلاکتیک در آن از طرف دیگر، می‌تواند این نوشیدنی را به یک نوشیدنی تخمیری فراسودمند تبدیل کند[١٦]. سهراب‌وندی و همکاران (١٣٩٤) نیز در تولید آب پرتقال رژیمی با استفاده از پری‌بیوتیک‌هایی نظیر اینولین و تاگاتوز گزارش کردند که شفافیت نمونه‌های تیمار شده تفاوتی با نمونه شاهد نداشت اما طعم نمونه‌های نگه‌داری شده در دمای محیط تغییر کرد[١٧]. رنوکا و همکاران (٢٠٠٩) نیز فروکتوالیگوساکاریدها را به سه نوع آب‌میوه آناناس، انبه و پرتقال افزودند. نتایج نشان داد که بدون تغییر در کیفیت محصول نهایی، می‌توان فروکتوالیگوساکاریدها را به صورت نسبی جایگزین ساکارز کرد[١٨]. با توجه به افزایش سرانه مصرف آب‌میوه در بین سنین مختلف و عدم وجود منابع پژوهشی انتشار یافته در زمینه استفاده از پلی‌ساکاریدها جهت ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک در آب آناناس، هدف این پژوهش تولید نوشیدنی فراسودمند بر پایه آب آناناس به عنوان محیط مغذی با شرایط اسیدی مناسب جهت فرآیند تخمیر است تا بتوان به کمک تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با صمغ‌های کیتوزان و کتیرا[٤] فرآورده‌ای

1. Dietary fiber

2. Viability
3. Functional beverage
4. Tragacanth

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

سلامت بخش و مطلوب تولید و در اختیار مصرف کنندگان قرار داد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

در این تحقیق باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از مرکز کلکسیون ریزسازواره‌های صنعتی ایران به صورت بسته‌های ۲۰ گرمی لیوفیلیزه محتوی گرانول‌های باکتری تهیه و در فریزر ۱۸- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. کنسانتره آناناس با بریکس ٦٥ درصد از شرکت لیدوما، محصول کشور تایلند خریداری شد. صمغ‌های کیتوزان (پلیمر کاتیونی با وزن مولکولی کم و درجه استیلاسیون ۸۵ درصد) از شرکت سیگما و کتیرا پولکی (پلیمر آنیونی با اندازه ذرات ۲۰۰-۵۰۰ میکرون) از شرکت فرآیندسازان خریداری شدند. محیط کشت مغذی MRS[1] آگار، سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش نیز با خلوص آزمایشگاهی از شرکت‌های مرک و سیگما آلدوریچ تهیه شدند.

۲-۲- تهیه آب آناناس پروبیوتیک با تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به نمونه‌ها

جهت تهیه آب آناناس مطابق با دستورالعمل مربوطه، مقدار مشخصی از کنسانتره آناناس با آب مخلوط گردید. سپس توسط همزن دیجیتالی (IKA، BN3، ساخت آلمان) با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه یکنواخت شد. پاستوریزاسیون مخلوط همگن شده جهت غیرفعال کردن آنزیم‌ها در حمام آب گرم (medi and lab works، ساخت ایران) با دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد و سپس جهت تکمیل فرآیند، نمونه‌ها تا ۳۷ درجه سانتی‌گراد سرد شدند[۱۲-۱۰]. در ادامه، به ۳۰۰ میلی‌لیتر آب آناناس پاستوریزه شده، ۵۰ میلی‌گرم گرانول‌های باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* افزوده شد[۱۰]. جهت آماده‌سازی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از محیط کشت استریل MRS آگار استفاده شد. بدین منظور پس از خنک و بسته‌شدن آگار در درون پلیت‌ها، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از کشت اولیه به پلیت منتقل و به صورت خطی کشت داده شد. سپس پلیت‌ها به صورت بی‌هوازی درون انکوباتور (Memmert، ساخت آلمان) در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٨ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از گذشت این زمان کلونی‌هایی از باکتری روی محیط کشت ایجاد شدند[۱۱].

۲-۳-ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با صمغ‌های کیتوزان و کتیرا

ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر اساس روش ارائه شده توسط شو و مارشال (۱۹۹۳) انجام شد. بدین منظور ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده در مرحله قبل (با شمارش میکروبی ۱۰ سیکل لگاریتمی) به ۵۰ میلی‌لیتر محلول حاوی صمغ‌های کیتوزان و کتیرا که قبلا به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد پاستوریزه شده بودند، به صورت مجزا با غلظت ۱ درصد و به صورت ترکیب با هم به نسبت ۱:۱ (وزنی-وزنی) اضافه شد. این مخلوط با استفاده از یک سرنگ استریل و در شرایط استریل به صورت قطره قطره به ۲۵۰ میلی‌لیتر روغن حاوی ۰/۲ درصد توئین[2] اضافه گردید. به منظور تشکیل امولسیونی از نوع آب در روغن[3] با بافت یکنواخت، مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه روی همزن مغناطیسی دیجیتال (IKA، BN_3، ساخت آلمان) با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه قرار گرفت تا دو فاز آبی و آلی آن کاملا با یکدیگر مخلوط شدند. برای تشکیل ریزپوشینه‌ها[4] و شکستن امولسیون، ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول کلرید کلسیم ۰/۱ مولار با دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به آرامی از یک طرف ظرف به امولسیون اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه روی همزن مغناطیسی دیجیتال با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه با محلول کلرید کلسیم مخلوط شد. پس از اتمام زمان مخلوط شدن، ۳۰ دقیقه زمان داده شد تا ریزپوشینه‌های تشکیل شده در کف ظرف به طور کامل ته نشین شوند. سپس لایه روغنی و ریزپوشینه‌ها با استفاده از سانتریفو (Sigma 1-14، ساخت آلمان) با سرعت g ×۳۵۰ در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه از فاز آبی جمع آوری شدند. ریزپوشینه‌های جدا شده با سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد دو مرتبه شسته شدند تا روغن باقی‌مانده بین ذرات خارج شود. در انتها به منظور خارج کردن سرم اضافی، ریزپوشینه‌ها با کاغذ صافی استریل صاف و تا زمان استفاده در مراحل بعدی آزمایش، در ظروف شیشه‌ای

1. de Man Rogosa Sharpe

2. Tween
3. Water in oil (w/o) emulsion
4. Microcapsules

استریل در یخچال نگه‌داری شدند[۱۹]. همچنین نمونه ریزپوشانی نشده نیز به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. تمامی تیمارهای آماده شده به مدت ۳۰ روز در دمای یخچال نگه‌داری شدند و در فواصل زمانی مشخص (هر ۱۰ روز یکبار) تأثیر تیمارهای اعمال شده روی پارامترهای تعریف شده در این پژوهش شامل pH، اسیدیته، اندیس فرمالین، قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و پذیرش کلی نمونه‌ها بررسی شد[۱۰].

۲-۴- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۲-۴-۱- اندازه‌گیری pH و اسیدیته

اندازه‌گیری pH با دستگاه pH متر (Metrohm, 744، ساخت سوئیس) مطابق با روش AOAC (۲۰۰۷) انجام شد. ابتدا pH متر توسط بافرهای ٤ و ٥ کالیبره شد. قبل از اندازه‌گیری pH، نمونه‌ها کاملا هم زده شدند. اسیدیته قابل تیتراسیون نیز با روش AOAC (۲۰۰۷) با استفاده از محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال و فنل فتالئین به عنوان شناساگر، بر حسب درصد اسیدمالیک محاسبه و گزارش شد[۲۰].

۲-٤-۲- اندازه‌گیری اندیس فرمالین

تعیین اندیس فرمالین آب‌میوه به روش تیتراسیون پتاسیومتری مطابق استاندارد ملی ۲٦۸٥ انجام شد. در ابتدا برای تهیه فرمالدئید خنثی، دستگاه pH متر به ترتیب با محلول بافر ۷ و سپس ٤ کالیبره شد. سپس حجم مورد نیاز فرمالدئید ۳٥ درصد به یک بشر منتقل گردید و تا رسیدن به pH=۸/۱، هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به صورت قره‌چکانی به آن اضافه گردید تا فرمالدئید خنثی تهیه شد. در ادامه به ۲٥ میلی‌لیتر آب آناناس به صورت قطره قطره هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال اضافه شد تا نمونه به pH=۸/۱ رسید و با ۱۰ میلی‌لیتر محلول فرمالدئید خنثی مخلوط گردید. در انتها تا رسیدن به pH=۸/۱ هیدروکسید سدیم ۰/۲٥ نرمال به آرامی به مخلوط فوق اضافه گردید و حجم هیدروکسید سدیم ۰/۲٥ نرمال مصرفی یادداشت شد و مطابق با فرمول زیر اندیس فرمالین محاسبه گردید[۲۱].

$$\text{اندیس فرمالین} = [(V \times N \times ۱۰) / V_0] \times ۱۰۰$$

V=حجم مصرفی هیدروکسید سدیم برحسب میلی‌لیتر، V_0=حجم مصرفی نمونه برحسب میلی‌لیتر، N=نرمالیته هیدروکسید سدیم

۲-٥- اندازه‌گیری قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک

جهت شمارش باکتری‌ها در نمونه‌های مورد بررسی، از روش رقت‌سازی ده‌گانی و کشت عمقی[۱] استفاده شد. ابتدا محلول سرم فیزیولوژی ۰/۹ درصد توسط کلرید سدیم خالص تهیه شد. سپس در لوله‌های آزمایش به میزان ۹ میلی‌لیتر تقسیم و استریل گردید. پس از خنک شدن لوله‌های استریل شده، جهت دستیابی به رقت $۱۰^{-۱}$، از نمونه حاوی ریزسازواره در محیط کشت اصلی، ۱ میلی‌لیتر به اولین لوله اضافه شد. این کار تا حصول رقت $۱۰^{-۸}$ تکرار شد. سپس تحت شرایط استریل، ۱۰۰۰ میکرولیتر از رقت مورد نظر به داخل پلیت استریل منتقل شد و به میزان کافی محیط MRS آگار استریل (pH=٥/٦) به آن اضافه گردید. محیط‌های کشت پس از بسته شدن، با پارافیلم پوشانده و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. تعداد کلونی‌های تشکیل شده در هر میلی‌لیتر نمونه، از حاصل ضرب تعداد کلونی در عکس فاکتور رقت بدست آمد و عدد نهایی به صورت تعداد کلونی در هر میلی لیتر (cfu/ml) بیان شد[۲۲].

۲-٦- ارزیابی پذیرش کلی

پذیرش کلی نمونه‌های مورد بررسی توسط ۱٥ نفر ارزیاب حسی آموزش دیده به روش امتیازبندی هدونیک[۲] نه نقطه‌ای صورت گرفت. بدین ترتیب که پرسشنامه‌هایی تهیه و بین تیم ارزیاب توزیع گردید. برای هر سؤال ۹ گزینه به عنوان پاسخ در نظر گرفته شد که عدد ۱ مربوط به نمونه با کمترین امتیاز حسی و عدد ۹ مربوط به نمونه با بیشترین امتیاز حسی بود [۲۳].

۲-۷- تجزیه و تحلیل آماری نتایج

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با آرایش فاکتوریل توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۲٫۰ انجام شد. تجزیه و تحلیل نتایج توسط آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح احتمال ۹٥ درصد انجام شد. رسم نمودارهای مربوطه با Excel نسخه ۲۰۱۳ انجام شد. کلیه آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و پذیرش کلی در سه تکرار انجام شدند.

1. Pure plate
2. Hedonic

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های آب آناناس پروبیوتیک ریزپوشانی شده طی دوره نگه‌داری

از آنجا که غلظت یون هیدروژن بر فعالیت عوامل تخمیر اثر می‌گذارد، لازم است غلظت آن به طور پیوسته در طول فرآیند تخمیر/دوره نگه‌داری اندازه‌گیری شود. میانگین تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های آب آناناس پروبیوتیک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* طی ۳۰ روز نگه‌داری در یخچال در شکل ۱-(a) و ۱-(b) به تصویر کشیده شده است. تأثیر زمان روی pH نمونه‌ها معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) به طوری که pH تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان کاهش یافت (pH=۳/۰۵-٤/٤١) و سرعت افت pH به خصوص ظرف ۱۰ روز ابتدائی دوره نگه‌داری کاملا محسوس بود. از طرف دیگر تأثیر نوع صمغ نیز روی تغییرات pH معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). مطابق شکل ۱-(a)، تغییرات pH در طول زمان نشان داد که ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با هر یک از صمغ‌های کیتوزان و کتیرا به تنهایی و همچنین ترکیب هر دو صمغ، منجر به کاهش قابل توجه pH آب آناناس پروبیوتیک در مقایسه با نمونه شاهد (ریزپوشانی نشده) در سطح مورد آزمون شد (P<۰/۰۵)، به طوری که نمونه ریزپوشانی شده با هر دو صمغ، کمترین میانگین pH را از خود نشان داد (P<۰/۰۵). این در حالی است که بیشترین میزان تغییرات pH در طول زمان، در نمونه ریزپوشانی شده با هر دو صمغ و کمترین میزان این تغییرات در نمونه شاهد رخ داد که شیب تغییرات در طول بازه زمانی مورد بررسی، مؤید این مطلب بود (P<۰/۰۵).

اسیدیته قابل تیتر شامل اسیدیته کل آب‌میوه است که بر اساس اسید آلی غالب میوه اندازه‌گیری می‌شود. اسیدهای سیتریک و مالیک به عنوان اسیدهای آلی غالب در آب آناناس هستند که محیط مناسبی را برای تولید نوشیدنی تخمیری فراهم می‌کنند. اثر متقابل زمان و نوع صمغ کاربردی تأثیر معنادار روی اسیدیته نشان داد (P<۰/۰۵، شکل ۱-(b)) بدین معنا که گذشت زمان، نوع صمغ و برهم‌کنش آنها بر افزایش درصد اسیدیته آب آناناس مؤثر بود (۰/۸-۲ درصد برحسب اسیدمالیک). در این پژوهش، روند تغییرات اسیدیته در همه نمونه‌ها طی دوره نگه‌داری صعودی ارزیابی شد که با توجه به نتایج تأیید شده مبنی بر وجود همبستگی معکوس بین نتایج pH و اسیدیته در گزارشات ارائه شده توسط سایر محققین [۵، ۸، ۹، ۱۲ و٢٤]، نتایج حاصل از آزمون اسیدیته، قابل انتظار بود. مطابق با شکل ۱-(b) مشخص شد که ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با هر یک از صمغ‌های کیتوزان و کتیرا به تنهایی و همچنین ترکیب هر دو نوع صمغ، منجر به افزایش قابل توجه اسیدیته نمونه‌ها در مقایسه با نمونه شاهد (فاقد ریزپوشینه) در سطح مورد آزمون شد (P<۰/۰۵). همچنین در پایان دوره ۳۰ روزه نگه‌داری یخچالی، بالاترین میانگین تولید اسیدمالیک در نمونه ریزپوشانی شده با ترکیب دو نوع صمغ و نمونه ریزپوشانی شده با کتیرا به تنهایی ملاحظه شد (P<۰/۰۵). به عبارت دیگر تأثیر ریزپوشانی با صمغ کتیرا به تنهایی/ ترکیب صمغ‌های کتیرا+کیتوزان بر روی اسیدیته در طی دوره نگه‌داری، بیشتر از صمغ کیتوزان به تنهایی بود. لازم به ذکر است که بیشترین تغییرات اسیدیته در طول زمان در نمونه ریزپوشانی شده با هر دو نوع صمغ و نمونه ریزپوشانی شده با کتیرا به تنهایی رخ داد در حالی که کمترین میزان این تغییرات در نمونه شاهد رخ داد (P<۰/۰۵).

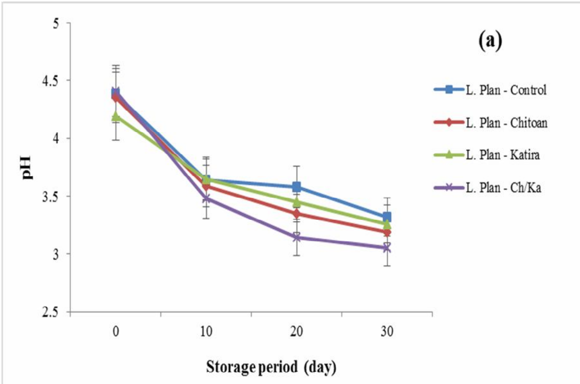
علت کاهش pH و افزایش اسیدیته، می‌تواند به pH ذاتی آب‌میوه و همچنین با فرآیند تخمیر کربوهیدرات‌ها توسط باکتری و به دنبال آن تولید و تجمع اسیدهای آلی مرتبط باشد. در واقع باکتری‌های پروبیوتیک تثبیت نشده در ریزپوشینه (آزاد یا فاقد ریزپوشینه) به دلیل دارا بودن خاصیت ساکارولیتیکی[1]، توانایی استفاده از کربوهیدرات‌ها را داشته و در اثر متابولیسم قندها و تولید متابولیت‌های حاصل از تخمیر نظیر اسیدهای آلی، منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته آب آناناس می‌شوند که با یافته‌های گزارش شده توسط دینگ و شاه (۲۰۰۸) همخوانی داشت[۲۵]. از طرف دیگر این احتمال نیز وجود دارد که سلول‌های مرده باکتری‌های پروبیوتیک فاقد ریزپوشینه، که طی دوره ذخیره‌سازی از بین می‌روند، آنزیم‌هایی جهت هیدرولیز قندها در آب‌میوه آزاد کنند که به تبع روی pH و اسیدیته نمونه‌ها مؤثر باشند[۲۵]. همچنین مقادیر بالاتر pH در نمونه شاهد (ریزپوشانی نشده) را می‌توان به کاهش بیشتر تعداد سلول‌های زنده باکتری پروبیوتیک طی دوره نگه‌داری و کاهش متابولیت‌های تخمیر نسبت داد.

1. Saccharolytic properties

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

همراستا با یافته‌های این پژوهش، ایاسه و همکاران (۱۳۹٦) و همچنین تانتی پایبولووت و همکاران (۲۰۰۸) نیز به کاهش pH و افزایش اسیدیته به ترتیب در آب هویج پروبیوتیک تولید شده با باکتری *لاکتوکوکوس لاکتیس* و آب راسل تخمیر شده با باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* اشاره کردند که نشان‌دهنده توانایی بالای این باکتری‌ها در تولید اسید بود [۷و۲٦]. همچنین نتایج مشابه در مطالعه انجام شده توسط پاک‌بین و همکاران (۲۰۱٤) در مورد تولید آب هلو پروبیوتیک توسط سه باکتری *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* مشاهده شد. نتایج حاکی از آن بود که میزان اسیدیته آب هلو بر حسب اسید لاکتیک طی تخمیر، روند افزایشی داشت در حالی که سیر تغییرات pH نمونه‌ها برای هر سه باکتری ذکر شده نزولی بود[۱۲]. در مطالعه انجام شده توسط مارشال و تمیم (۱۹۹۷) مشخص شد که دلیل کاهش pH و افزایش اسیدیته نمونه‌های ریزپوشانی شده با آلژینات کلسیم ناشی از کندی در جذب مواد مغذی و همچنین آزادسازی متابولیت‌ها از طریق پوشش است[۲۷].



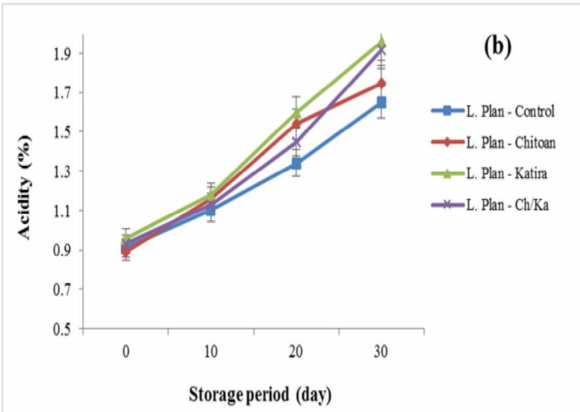


Fig 1 pH (a) and acidity (b) changes of probiotic pineapple juice encapsulated by chitosan and tragacanth gums during storage

۳-۲- تغییرات اندیس فرمالین نمونه‌های آب آناناس پروبیوتیک ریزپوشانی شده طی دوره نگه‌داری

آزمایش اندازه‌گیری میزان فرمالین آب‌میوه برای تعیین مقدار پروتئین (اسیدهای آمینه) آن انجام می‌شود. این آزمون از این جهت دارای اهمیت است که اگر مقدار اسیدهای آمینه در آب‌میوه بالا باشد، طی پروسه تولید، اسیدهای آمینه با قند آب‌میوه ترکیب شده و وارد واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی[1] مانند واکنش میلارد[2] می‌شوند، در نتیجه رنگ آب‌میوه تیره خواهد شد. شکل ۲ تغییرات اندیس فرمالین نمونه‌های مورد بررسی را در طول دوره نگه‌داری نشان می‌دهد. اثر نوع صمغ کاربردی و زمان روی اندیس فرمالین قابل توجه بود ($P<0.05$). با توجه به شکل ۲، روند تغییرات اندیس فرمالین در همه تیمارها تا روز بیستم دوره نگه‌داری تقریبا یکنواخت ارزیابی شد اما با ادامه نگه‌داری نمونه‌ها در یخچال، عدد فرمالین در آن‌ها افزایش یافت. این در حالی است که در تیمار حاوی ترکیب دو صمغ، سیر صعودی در میزان اندیس فرمالین در سراسر دوره نگه‌داری مشاهده شد($P<0.05$). اما نکته قابل توجه این بود که تا روز بیستم دوره نگه‌داری اندیس فرمالین در تیمار ترکیبی(آب‌میوه ریزپوشانی شده با ترکیب صمغ‌های کیتوزان+کتیرا) پایین‌تر از سایر تیمارها بود ولی با ادامه دوره نگه‌داری این روند معکوس شد به طوری که در روز سی‌ام، بالاترین میانگین اندیس فرمالین در تیمار ترکیبی گزارش شد هرچند که میانگین اندیس فرمالین تیمارهای حاوی صمغ‌های مورد بررسی به صورت مجزا نیز بالاتر از نمونه شاهد ارزیابی شد ($P<0.05$). با توجه به این که در محیط آب‌میوه مصرف قندها بر اسیدهای آمینه ترجیح داده می‌شود[۹]، این احتمال وجود دارد که تا روز بیستم دوره نگه‌داری، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از کربوهیدرات‌ها جهت تخمیر استفاده کرده و با کاهش ذخایر قندی به خصوص در فاصله زمانی روز بیستم الی سی‌ام به سراغ اسیدهای آمینه جهت تأمین نیازمندی‌های تغذیه‌ای خود رفته باشد که منجر به افزایش عدد فرمالین در این بازه زمانی شد. از طرفی باید توجه داشت که باکتری‌های پروبیوتیک فاقد ریزپوشینه نسبت به انواع ریزپوشانی شده تمایل بیشتری به

1. Non-enzymatic browning
2. Maillard reaction

مصرف قندها نسبت به اسیدهای آمینه داشته و متابولیسم قندها (به خصوص گلوگز و فروکتوز) در آنها به سهولت انجام می‌گیرد، هر چند که وابستگی آنها به مصرف قندها یکسان نیست. از این رو در این پژوهش نیز علت پایین‌تر بودن عدد فرمالین در نمونه ریزپوشانی نشده (شاهد) به این امر نسبت داده می‌شود. نتایج این بخش از پژوهش هم با نتایج اعلام شده توسط دینگ و شاه (۲۰۰۸) مطابقت داشت[۲۵]. همسو با نتایج این پژوهش، حسینی و همکاران (۱۳۹۶) نیز افزایش اندیس فرمالین در فاصله زمانی بین روزهای چهاردهم الی بیست و هشتم دوره نگه‌داری را بر اساس اولویت بندی ریزسازواره‌های پروبیوتیکی، مربوط به مصرف قند و سپس اسیدآمینه دانستند[۹]. با توجه به این موضوع که در محیط آب‌میوه، مصرف قندها بر اسیدهای آمینه ترجیح داده می‌شود اما این دو با یکدیگر خاصیت هم‌افزایی[۱] داشته و در طول تخمیر به مقدار کمی از اسیدهای آمینه نیز استفاده می‌شود. اگر سلول‌های آزاد باکتری در محیط وجود داشته باشند تجزیه پروتئین‌ها رخ داده و از اسیدهای آمینه برای رشد استفاده می‌کنند، هر چند که نوع پروبیوتیک و میزان تلقیح/تراکم آن نیز حائز اهمیت است[۲۸].

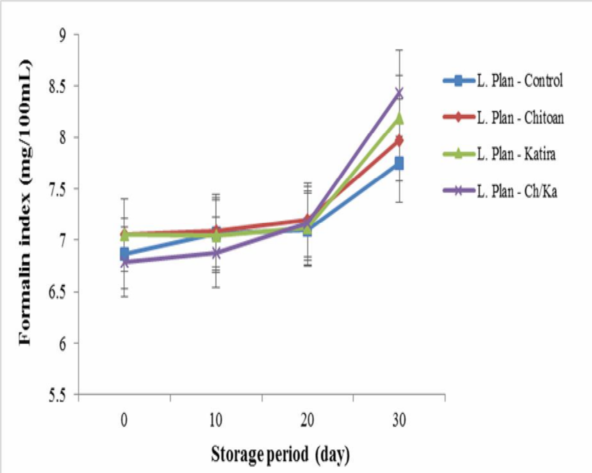


Fig 2 Formalin index changes of probiotic pineapple juice encapsulated by chitosan and tragacanth gums during storage

۳-۳- تغییرات قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در نمونه‌های مورد بررسی طی دوره نگه‌داری

تغییرات میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در نمونه‌های مورد بررسی در طول دوره نگه‌داری در شکل ۳ نمایش داده شده است. اثر نوع صمغ کاربردی، زمان و اثر متقابل آنها روی میزان زنده‌مانی باکتری معنی‌دار بود (P<۰/۰۵). با توجه به شکل ۳، روند تغییرات ایجاد شده در میزان سلول‌های زنده باکتری در آب آناناس پروبیوتیک در طول سی روز، در همه تیمارها کاهشی ارزیابی شد. pH پایین، اسیدیته بالا و نیز دمای پایین نگه‌داری نمونه‌های مورد بررسی، به عنوان عوامل ممانعت‌کننده رشد باکتری تلقی شده و شرایط را برای رشد باکتری محدود کردند که در نهایت شاهد کاهش جمعیت میکروبی در بازه زمانی مورد بررسی بودیم. قضاوی و همکاران (۱۳۹۷) اعلام کردند که طی پروسه تخمیر، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می‌تواند میزان بیشتری اسیدلاکتیک نسبت به سایرگونه‌ها تولید کند که خود در کاهش pH نمونه مؤثر است. از طرف دیگر مرگ باکتری‌ها نیز با آزاد شدن اسید و کاهش بیشتر pH نمونه در ارتباط است[۱۰]. اما میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در همه نمونه‌های ریزپوشانی شده با صمغ‌های مورد بررسی در این پژوهش، چه به صورت مجزا و چه به صورت ترکیبی بالاتر از نمونه شاهد بود (P<۰/۰۵) به طوری که بیشترین تعداد سلول زنده باکتری در تیمار ترکیبی تعیین شد که این میزان در روز سی‌ام بیشتر از ٦ log cfu/ml گزارش شد که بالاتر از حد توصیه شده درمانی بود. این موضوع نشان می‌دهد ریزپوشانی سلول‌های باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با ترکیب صمغ‌ها نقش حفاظت کنندگی بیشتر و به تبع تأثیر مثبت بیشتری روی زنده‌مانی آنها در مقایسه با کاربرد هر یک از صمغ‌ها به تنهایی دارد. نتایج حاصله دلالت بر مقاومت بالاتر سلول‌های باکتریایی ریزپوشانی شده در شرایط اسیدی آب آناناس در مقایسه با انواع فاقد ریزپوشینه (شاهد) دارد و کاهش جمعیت پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده کمتر از باکتری‌های پروبیوتیک فاقد ریزپوشینه بود که به خصوص در تیمارهای ترکیبی، تحت تأثیر اثر هم‌افزایی صمغ‌ها رخ داد. در واقع لایه پوششی ایجاد شده توسط ترکیب پلی‌ساکاریدهای کیتوزان+کتیرا با داشتن ساختاری فیزیکی و چند کاتیونی علاوه بر استحکام ساختار ریزپوشینه‌ها، نقش محافظتی برای آنها ایفا کرده و زنده‌مانی و مقاومت باکتری‌های پروبیوتیکی را در برابر شرایط اسیدی آب‌میوه/ دستگاه گوارش افزایش می‌دهند [۳۱-۲۹]. به

1. Synergistic effect

طورکلی، بقای سلولی به نژادهای مورد استفاده، برهم‌کنش مابین گونه‌های موجود، اسیدیته نهایی محصول، غلظت اسیدلاکتیک، اسیداستیک، ترکیبات بازدارنده رشد و شرایط محیط کشت از جمله محتوای اکسیژن و مواد مغذی بستگی دارد [۱۳]. همچنین طی فرآیند تخمیر، در کلیه تیمارهای ریزپوشانی شده، بالاتر بودن تعداد سلول زنده باکتری پروبیوتیک به دلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در آب‌میوه/ ریزپوشینه رخ داد که با نتایج بدست آمده توسط زندی و همکاران (۲۰۱۶) در تولید نوشیدنی بر پایه مخلوط آب سیب، هویج و چغندر قرمز توسط باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و دولت آبادی و همکاران (۱۳۹۵) در تولید آب پرتقال پروبیوتیک توسط ریزپوشانی به روش ژلاتیناسیون خارجی[1] مطابقت داشت [۱۴و۸]. مطابق با نتایج بدست آمده از این مطالعه، مشخص شد که رشد باکتری‌ها، کاهش pH و افزایش اسیدیته نمونه‌های آب آناناس را در طی فرآیند تخمیر و نگه‌داری در یخچال به همراه داشته است که در بخش ۳-۱ به تفصیل به آن پرداختیم. در واقع علت اصلی این امر، مربوط به مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی می‌باشد[۵]. پژوهش‌ها نشان دادند که میزان باکتری‌های زنده در محصول پروبیوتیک در زمان مصرف باید حداقل cfu/ml 10^6 باشد تا اثربخشی مناسب بر سلامتی فرد مصرف کننده داشته باشند[۴]. نتایجی مشابه با یافته‌های شارما و میشرا (۲۰۱۳) که امکان تولید نوشیدنی پروبیوتیک حاصل از مخلوط آب هویج و کدو را با باکتری‌های اسیدلاکتیک به خصوص *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بررسی کرده بودند، بدست آمد[۱۵]. آن‌ها گزارش کردند که میزان زنده‌مانی باکتری‌ها پس از ۴ هفته ذخیره‌سازی نمونه‌های آب‌میوه ترکیبی، ۸ log cfu/ml بود که بیانگر امکان تولید نوشیدنی پروبیوتیک تحت شرایط مذکور می‌باشد. نالکاکون و همکاران (۲۰۱۳) نیز به بررسی تأثیر ریزپوشانی با آلژینات و پکتین بر بقاء *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در آب انار و کرانبری[2] پرداختند[۳۲]. نتایج حاکی از ثبات بیشتر و افزایش قابلیت زنده‌مانی گونه‌های پروبیوتیک مورد بررسی در طی شش هفته انبارمانی نمونه‌های آب‌میوه بود. شمارش سلول‌های زنده آن‌ها در آب انار و کرانبری به ترتیب cfu/ml 10^8 و cfu/ml 10^6 بود.

1. External gelation method
2. Cranberry

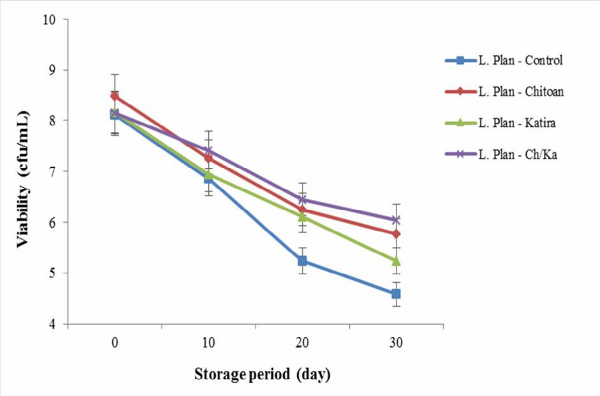


Fig 3 Viability of *Lactobacillus plantarum* encapsulated by chitosan and tragacanth gums in probiotic pineapple juice during storage

۳-۴- تغییرات پذیرش کلی نمونه‌های آب آناناس پروبیوتیک ریزپوشانی شده طی دوره نگه‌داری

پذیرش کلی نمونه‌های مورد بررسی در بازه‌های زمانی متفاوت (روزهای ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰) مورد ارزیابی قرار گرفتند که نتایج آن در جدول ۱ نشان داده شده است. آنالیز واریانس نمونه‌های آب آناناس پروبیوتیک حاکی از معنی‌دار بودن اثر نوع صمغ کاربردی و مدت زمان نگه‌داری بر روی پذیرش کلی در سطح اطمینان مورد بررسی بود (P<۰/۰۵). کمترین امتیاز اختصاص داده شده به نمونه‌های مورد بررسی پس از تلقیح باکتری، به تیمار ترکیبی تعلق گرفت به طوری که بین این تیمار و نمونه شاهد اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵، روز صفر). همچنین بین دو تیمار حاوی صمغ‌های کیتوزان و کتیرا به تنهایی نیز به لحاظ آماری، تفاوت قابل توجهی مشاهده نشد (P>۰/۰۵، روز صفر)، هر چند که آب‌میوه ریزپوشانی شده با کیتوزان در این روز، پذیرش کلی بالاتری در بین تمام نمونه‌های مورد بررسی داشت (P<۰/۰۵). بالاترین پذیرش کلی آب آناناس پروبیوتیک در روز دهم نگه‌داری، به نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با کیتوزان تعلق داشت که با نمونه شاهد تفاوت شایان توجهی ملاحظه نشد (P>۰/۰۵، روز دهم). اما نمونه ریزپوشانی شده با صمغ کتیرا از میزان پذیرش کلی کمتری در این روز نسبت به سایر نمونه‌ها برخوردار بود که نشان دهنده تأثیر منفی حضور صمغ کتیرا بر پذیرش کلی آب آناناس بود (P<۰/۰۵). با افزایش طول دوره نگه‌داری تا روز بیستم،

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]
[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

تفاوت بین تیمارهای مورد بررسی محسوس‌تر شد اما نتایج حاصل شده در این روز، با نتایج روز دهم مشابهت داشت (P>۰/۰۵، روز ۱۰ الی ۲۰ دوره نگه‌داری). میانگین امتیازهای پذیرش کلی اختصاص داده شده به نمونه‌های ریزپوشانی شده با صمغ کیتوزان به تنهایی تفاوت معناداری با نمونه‌های ریزپوشانی شده با ترکیب صمغ‌ها در روز سی‌ام نداشت و بیشترین امتیاز ارزیابی پذیرش کلی به دو تیمار فوق‌الذکر اختصاص داده شد (P>۰/۰۵). همچنین در انتهای دوره نگه‌داری یخچالی، پذیرش کلی نمونه‌های ریزپوشانی شده با صمغ کتیرا مشابه تیمار شاهد ارزیابی شد (P>۰/۰۵، روز سی‌ام). در واقع با گذشت زمان پذیرش کلی نمونه‌ها به طور نسبی کاهش یافت که این افت، بین فاصله زمانی روزهای بیستم الی سی‌ام محسوس‌تر بود. بابائی و همکاران (۱۳۹۷) بیان کردند که نوع، نسبت باکتری‌های پروبیوتیکی مورد استفاده و طول دوره انبارمانی تأثیر کاملا معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی طعم و مزه، عطر و بو، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن رنگ، ظاهر و پذیرش کلی نوشیدنی داشت [۵].

Table 1 Changes in overall acceptability of probiotic pineapple juice encapsulated by chitosan and tragacanth gums during storage

Treatment	Storage period (day)			
	0	10	20	30
L. Plan - Control	7.87 ± 0.62^{b}	8.06 ± 0.37^{a}	7.52 ± 0.61^{b}	7.08 ± 0.37^{c}
L. Plan - Chitoan	8.25 ± 0.60^{a}	8.09 ± 0.88^{a}	7.89 ± 0.31^{a}	7.4 ± 0.36^{ab}
L. Plan - Katira	8.05 ± 0.59^{ab}	7.51 ± 0.35^{c}	7.21 ± 0.42^{c}	7.1 ± 0.34^{c}
L. Plan - Ch/Ka	7.75 ± 0.61^{bc}	7.88 ± 0.28^{b}	7.45 ± 0.48^{b}	7.35 ± 0.51^{b}

Values by different letters are significantly different (P<0.05).

در تحقیق انجام شده توسط نصرتی و همکاران (۲۰۱٤) که در زمینه تولید نوشیدنی غیرلبنی فراسودمند بر پایه آب سبزیجات با استفاده از گونه‌های پروبیوتیک‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* صورت گرفت، نوشیدنی تولید شده مورد پذیرش ارزیاب‌ها قرار نگرفت و نیاز به اصلاح طعم داشت. این بدین معنا بود که نمونه شاهد از دید آن‌ها پذیرش کلی بالاتر و طعم بهتری داشت [۳۳]. در حالی که در پژوهش انجام شده توسط دوگاهه و همکاران (۲۰۱۵) تفاوت قابل توجهی بین نمونه شاهد و تیمار آب انار پروبیوتیکی تهیه شده با *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از نظر طعم، بو و پذیرش کلی وجود نداشت [۳]. در دو پژوهش دیگر، افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب انار و آب سیب اثر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی آن‌ها نسبت به نمونه شاهد نداشت هر چند که از حیث ویژگی رنگ و پذیرش کلی، تیمار شاهد امتیاز بالاتری نسبت به تیمارهای پروبیوتیکی دریافت کرد که حاکی از تأثیر بر هم کنش پروبیوتیک‌ها و ویژگی‌های سوبسترای مورد استفاده بر ویژگی‌های حسی نمونه می‌باشد [۳٤]. در مجموع فعالیت متابولیکی باکتری مذکور از لحاظ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، حسی و قابلیت بقاء باکتری قابل قبول اعلام شد [۹و۳۵]. حسین‌پور و همکاران (۱۳۹۸) نیز بیان کردند که خواص حسی آب هلو پروبیوتیک تفاوت شایان توجهی با محصول مشابه غیرپروبیوتیک نداشت و از نظر مصرف‌کننده قابل قبول بود و پس از ده روز نگه‌داری نمونه‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد، تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در محدوده استانداردهای ارائه شده برای فرآورده‌های پروبیوتیک بود (۸/٤ سیکل لگاریتمی) [۱۱]. پریکون و همکاران (۲۰۱۵) نیز اعلام کردند که هیچ اثر منفی در ویژگی‌های حسی و پذیرش کلی آب آناناس پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس ریوتری*[1] مشاهده نشد [۳٦].

٤- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش حاکی از کاهش pH، افزایش اسیدیته و اندیس فرمالین در همه نمونه‌های مورد بررسی در بازه ۳۰ روزه نگه‌داری بود. بالاترین تعداد سلول زنده باکتریایی در نمونه‌های ریزپوشانی شده توسط ترکیب دو صمغ کیتوزان+ کتیرا گزارش شد. همچنین نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با کیتوزان پذیرش کلی بهتری داشتند. با وجود مطالعات بی‌شمار انجام شده در خصوص کاربرد مفید باکتری‌های پروبیوتیک در محصولات غذایی غیرلبنی، یافته‌های این پژوهش نشان داد که باکتری

1. *Lactobacillus reuteri*

لاکتوباسیلوس پلانتاروم ریزپوشانی شده توسط پلی‌ساکاریدهایی نظیر کیتوزان و کتیرا از قابلیت رشد و زنده‌مانی خوبی در آب آناناس به عنوان محیط پایه برخوردار بود. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که ریزپوشانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در آب آناناس پروبیوتیک علاوه بر داشتن فواید تعریف شده محصولات فراسودمند، می‌تواند به عنوان روشی جهت نگه‌داری فرآورده‌های غیرلبنی بدون استفاده از نگه‌دارنده‌های شیمیایی متداول باشد، به گونه‌ای که این نوشیدنی برای افراد با نیازهای تغذیه‌ای ویژه قابل مصرف باشد. البته این ادعا نیاز به انجام مطالعات تکمیلی از جمله بررسی برهم‌کنش بین باکتری با سایر ترکیبات آب‌میوه از جمله ترکیبات فنولی نیز دارد. کاربرد سایر باکتری‌های پروبیوتیک در این محصول نیز می‌تواند زمینه مناسبی برای تکمیل این ایده باشد.

۵- منابع

[1] Saarela, M., Virkajarvi, I., Alakomi, H.L., Sigvart- Mattila, P., Matto, J. 2006. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. *International Dairy Journal,* 16: 1477–1482.

[2] Luckow, T., Delahunty, C. 2004. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference*, 15:751–759.

[3] Dogahe, K.H., Darani K.K., Tofighi, A., Dadgar, M., Mortazavian, A.M. 2015. Effect of process variables on survival of bacteria in probiotics enriched pomegranate juice. *British Biotechnology Journal*, 5(1):37-50.

[4] Nguyen, B.T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A.T.M., Rezessy-Szabo, J.M., Prasad, R., Nguyen, Q.D. 2019. Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition*, 9: 6:54.

[5] Babaei, M., Hashemiravan, M., Pourahmad, R. 2018. Production of probiotic beverage based on tomato juice and mixture of sweet pepper, celery and coriander juices. *Journal of Food Science and Technology*, 47(5):331-341[In Persian].

[6] Verma, S., Paliya, B.S., Prasad, S., Chaudhary, H.S. 2013. Antimicrobial activity of Probiotic microorganisms from probioticated carrot juice against selective pathogenic strains. *International Journal of Scientific and Engineering Research*, 4(8), ISSN 2229-5518.

[7] Ayaseh, A., Taban, H., Yari Khosroshahi, A. 2017. Production of probiotic carrot juice with using of *Lactococcus lactis*. *Journal of Food Industry Research*, 27(4):183-191[In Persian].

[8] Dowlatabadi, M., Mokhtarian, M., Mortazavi, S.A., Elhami Rad, A.H. 2016. Investigation of multilayer encapsulation by method of external gelation on the survival of probiotic bacteria undergoing orange juice pasteurization. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 11(3): 93-102[In Persian].

[9] Hosseini, M., Rezazad Bari, M. Alizadeh Khaledabad, M. 2017. Production of synbiotic juice: study on the effect pH, Brix, Formalin index and Rheological. *Journal of Food Science and Technology*, 63(14):73-81[In Persian].

[10] Ghazavi, N., Moshtaghi, H., Bonyadian, M., Abedi, R. 2018. Using *Lactobacillus acidophilus* in production of probiotic pomegranate juice. *Journal of Food Science and Technology*, 77(15):99-107 [In Persian].

[11] Hosseinpour, A., Shahsavari, S., Mahmoudi, R. 2019. Chemical, sensory and survival properties of *Lactobacillus Plantarum* in peach juice. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 23(4):342-351[In Persian].

[12] Pakbin, B., Razavi, S.H., Mahmoudi, R., Gajarbeygi, P. 2014. Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and Health Sciences*, 1(3):1-5.

[13] Totonchi, P., Hesari, J., Moradi, M., Fathi Achacheoie, B. 2015. Production and evaluation of probiotic red grape juice by *Latobacillus acidophilus* LA-5, and *Lactobacillus casei*. *Journal of Food Industry Research*, 25(4):654-666[In Persian].

[14] Zandi, M., Hashemiravan, M., Berenjy, S.H. 2016. Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juices. *Journal of Paramedical Sciences*, 7(3):17-23[In Persian].

[15] Sharma, H., Mishra, N. 2013. Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. *Nutrafoods*, 12:17-22.

Fermentation of roselle juice by lactic acid bacteria. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 1:213-222.

[27] Marshal, V.M., Tamime, A.Y. 1997. Starter culture employed in the manufacture of biofermented milks. *International Journal of Dairy Technology*, 50(1): 9-35.

[28] Kyung, Y.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97:1427-1430.

[29] Iyer, A., Kailasapathy, K. 2005. 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. *Journal of Food Science*, 70(1):18-23.

[30] Patel, A.R. 2017. Probiotic fruit and vegetable juices- recent advances and future perspective. *International Food Research Journal*, 24(5):1850-1857.

[31] Olivares, A., Soto, C., Caballero, E., Altamirano, C. 2019. Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42:42–48.

[32] Nualkaekul, S., Cook, M.T., Khutoryanskiy, V.V., Charalampopoulos, D. 2013. Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*, 53:304-311.

[33] Nosrati, R., Hashemiravan, M., and Talebi, M. 2014. Fermentation of vegetables juice by probiotic bacteria. *International Journal of Biosciences*, 4(3):171-180.

[34] Aspri, M., Papademas, P., Tsaltas, D. 2020. Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. *Fermentation*, 6:30.

[35] Sheikhghasemi, S.H., Zomorodi, S.H. 2014. The effect of maintenance temperature on free and encapsulated *Lactobacillus* in apple juice. *Food Technology and Nutrition*, 11(3):81-90[In Persian].

[36] Perricone, M., Bevilacqua, A., Altieri, C., Sinigaglia, M., Corbo, M.R. 2015. Challenges for the production of probiotic fruit juices. *Beverages*, 1:95–103.

[16] Alavi lavasani, Z.S., Razavi H., Poorahmad, R. 2012. Production of pineapple watermelon juice with lactic acid bacteria. The second national conference of probiotics and functional foods [In Persian].

[17] Sohrabvandi, S., Mortazavian, S.A.M., Jahani, H., Eivani, M.J., Nematollahhi, A., Komeili, R. 2015. Studying the effects of inulin and tagatose on physicochemical and sensory properties of orange juice. *Jorjani Biomedicine Journal*, 3(1):16-31[In Persian].

[18] Renuka, B., Kulkarni, S.G., Vijayanand, P., Prapulla, S.G. 2009. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *LWT– Food Science and Technology*, 42(5):1031–1033.

[19] Sheu, T.Y., Marshall, R.T. 1993. Micro-entrapment of *lactobacilli* in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*, 54:557-561.

[20] AOAC. 2007. Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

[21] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. 2007. Fruit juices. Test methods, Iranian National Standard No. 2685. 1st.revision [In Persian].

[22] Vinderola, C.G., Reinheimer, J.A. 2000. Enumeration *Lactobacillus casei* in the presence of *L. acidophilus Bifidobacteria* and lactic starter bacteria in fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 10(4):271-275.

[23] Luckow, T., Sheehan, V., Fitzgerald, G., Delahunty, C. 2006. Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. *Appetite*, 47(3):315–323.

[24] Kumar, B.V., Sreed haramurthy, M., sarathireddy, O.V. 2013. Physicochemical analysis of fresh and probioticated fruit juices with *Lactobacilus Casei*. *International journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 1(3):131-137.

[25] Ding, W.K., Shah, N.P. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal,* 15(2):219-232.

[26] Tantipaibulvut, S., Soontornsophan, C., and Luangviphusavanich, S. 2008.

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.118.12.0]

[DOI: 10.52547/fsct.18.118.189]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Production of probiotic pineapple juice with encapsulation of *Lactobacillus plantarum* by chitosan and tragacanth gums

Sabbaghpour Langaroudi, S. [1], Nouri, L. [2*], Azizi, M. H. [3]

1. PhD Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Assistant Professor of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
3. Professor, Department of Food Science & Technology, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2020/ 12/ 20
Accepted 2021/ 08/ 07

Keywords:

Chitosan,
Encapsulation,
Lactobacillus plantarum,
Pineapple juice,
Tragacanth

DOI: 10.52547/fsct.18.09.16

*Corresponding Author E-Mail:
nouri.le.ir@gmail.com

ABSTRACT

Encapsulation with polysaccharides is one of the new methods for increasing the stability of bioactive compounds and improving the viability of probiotics during food processing and storage. In this study, due to the high benefits of probiotic products on human health, the effect of *Lactobacillus plantarum* encapsulated by chitosan, tragacanth gums and their combination in a concentration of 1% (w/w) on the physicochemical and overall acceptance of pineapple juice were evaluated during 30 days storage in the refrigerator. The results showed a decrease in pH and an increase in the acidity of all samples ($P<0.05$). In addition, the viability of *Lactobacillus plantarum* was increased in the treatment encapsulated by the combination of chitosan and tragacanth gums so that, the number of viable bacterial cells was higher than 6 log cfu/ml on the 30th day of storage. The formalin index increased between the 20th and 30th days of storage in all samples ($P<0.05$). Also, the highest overall acceptance was belonged to the sample containing the *Lactobacillus plantarum* encapsulated by chitosan ($P<0.05$). The results showed that pineapple juice is a suitable substrate for the growth of *Lactobacillus plantarum* and it can be considered as a carrier for the transmission of probiotic strains to the human body. Moreover, those with special nutritional needs can take advantage of probiotic pineapple juice, including lactose and cholesterol deficiency as well as richness in mineral substances.