

(مقاله پژوهشی)

## ارزیابی عملکرد ریزپوشانی به همراه عصاره‌های گیاهی بر زنده مانگی باکتری‌های پروبیوتیک در طی مدت نگهداری در آب میوه

وحید کوشکی<sup>۱</sup>، آرش بابایی<sup>۲\*</sup>، معصومه مهربان سنگ آتش<sup>۳</sup>، امید صفری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه پژوهشی تبدیل و نگهداری انگور، پژوهشکده انگور و کشمش، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه ملایر، ملایر، ایران.

۳- استادیار، گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی، جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ایران.

۴- دانشیار، گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی و محیط زیست، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۰۱

### چکیده

فرایند ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های غذایی به‌عنوان یک روش نوین برای افزایش زنده‌مانی و قابلیت تحمل پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده در شرایط نامطلوب محیطی ثابت شده است. با این حال تحقیقات در زمینه ترکیبات بهینه ریزپوشانی به‌منظور افزایش بقای باکتری‌های پروبیوتیک در مواد غذایی و شرایط شبیه‌سازی شده معده و روده ادامه دارد. هدف این پژوهش بررسی اثر حفاظتی عصاره‌های گیاهی اکالیپتوس، کاکوتی، آویشن و چای سبز بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC ۱۶۴۳)، لاکتوباسیلوس کازئی (PTCC ۱۶۰۸) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (PTCC ۱۶۴۴) ریزپوشانی شده در دانک‌های آلژینات و پوشش داده شده توسط کیتوزان طی مدت نگهداری درون آب میوه‌های پرتقال، انار، سیب و کشمش می‌باشد. نتایج نشان داد که جمعیت باقی مانده از لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده با ۰/۰۵ درصد (w/v) عصاره آویشن به طور معنی داری بالاتر از باکتری‌های ریزپوشانی شده با عصاره کاکوتی و اکالیپتوس پس از ۳۰ روز نگهداری بود. سپس این مقدار از عصاره آویشن برای ریزپوشانی باکتری‌ها قبل از تلقیح به آب میوه‌ها و مقایسه با عصاره چای سبز انتخاب گردید. پس از انبارمانی، عصاره‌های آویشن و چای سبز به طور قابل ملاحظه‌ای ( $P < 0.05$ ) پایداری ریزدانک‌های پروبیوتیک را در تمامی آب میوه‌ها در مقایسه با نمونه‌های کنترل فاقد عصاره ارتقا داد. لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده زنده‌مانی بهتری نسبت به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ریزپوشانی شده نشان دادند.

**واژه‌های کلیدی:** آب میوه، باکتری پروبیوتیک، ریزپوشانی، زنده‌مانی، چای سبز

## ۱- مقدمه

علاقه‌مندی به تحویل پروبیوتیک‌ها از طریق غذاهای عملگرا و نوشیدنی‌ها همچنان در حال رشد است. آب میوه به خاطر هویت سلامت بخش آن مورد علاقه بسیاری جهت تحویل پروبیوتیک‌ها می‌باشد (۳۸). با این حال، حفظ بقا باکتری‌های پروبیوتیک در طی مدت فرآوری، انبارمانی و مصرف یکی از مهم‌ترین چالش‌ها برای زنده تحویل دادن باکتری‌ها در آب میوه‌های با pH اسیدی است. تحویل دادن پروبیوتیک‌ها به صورت فعال و ریزپوشانی شده طی ده سال گذشته مورد توجه بسیاری از محققین قرار گرفته است، از این روی که این روش می‌تواند میزان مرگ و میر در باکتری‌های حساس طی مدت انبارمانی و قرار گرفتن در شرایط دستگاہ گوارش را کاهش دهد (۳، ۱۵ و ۳۵). برای بروز ویژگی‌های سلامت بخش پروبیوتیک‌ها، باید به تعداد حداقل  $10^6$ - $10^7$  از این باکتری‌ها در هر گرم یا میلی لیتر از محصول پروبیوتیک وجود داشته باشد (۱). ریزپوشانی به عنوان روشی برای بهبود بقا پروبیوتیک‌ها در محصولات غذایی مختلف، شامل محصولات لبنی و غیر لبنی، مورد استفاده قرار گرفته است (۲۰، ۲۴ و ۳۲). پلیمرهای گوناگونی همانند آلژینات، پکتین، صمغ زانتان، صمغ ژلان، مشتقات نشاسته، کازئین، پروتئین آب پنیر و ژلاتین می‌توانند به عنوان ماده ریزپوشانی کننده استفاده گردند، در این میان آلژینات به میزان گسترده در فرایند ریزپوشانی استفاده شده است. از مزایای آلژینات کلسیم می‌توان به هزینه پایین آن، غیر سمی بودن و آسان بودن تشکیل کپسول اشاره کرد. با این حال، استفاده از آن در برخی محصولات غذایی اسیدی و در حضور عوامل درگیرکننده یون کلسیم، همانند لاکتات‌ها، فسفات‌ها و سترات‌ها می‌تواند به طور بالقوه مشکل ساز باشد. بنابراین پوشش‌دهی آلژینات بوسیله کیتوزان، همانگونه که در تحقیقات پیشین گزارش شده

است، باعث افزایش پایداری دانک‌ها و در نتیجه ارتقا زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده می‌گردد (۵). پری‌بیوتیک‌ها فاکتورهای غذایی هستند که باعث تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌شوند (۱۸)؛ با این وجود تأثیر پری‌بیوتیک‌های کربوهیدراتی ممکن است همیشه مثبت نباشد، به خاطر اینکه آن‌ها همچنین می‌توانند باعث افزایش رشد باکتری‌های غیر پروبیوتیک نیز گردند (۱۴). همان‌گونه که بلو و همکارانش (۲۰۱۲) گزارش کردند، استفاده از فروکتو الیگوساکارید باعث افزایش رشد کلستری‌دیوم پرفرینجس<sup>۲</sup> و یوباکتریوم بایفورم<sup>۳</sup> گردید (۶). بنابراین، جایگزین‌های جدیدی همانند پری‌بیوتیک‌های غیر کربوهیدراتی جهت تحریک رشد پروبیوتیک‌ها مورد نیاز می‌باشد. ترکیبات زیست فعال که به طور طبیعی در گیاهان یافت می‌شوند (۱۱)، می‌تواند راهی مؤثر برای افزایش رشد پروبیوتیک‌ها باشد. اعتقاد بر این است که با به کار بردن همزمان پروبیوتیک‌ها و مواد رشد پری بیوتیک انتخابی، می‌توان به صورت گزینشی باعث افزایش جمعیت پروبیوتیک‌ها در روده انسان گردید. آنتی‌اکسیدان به ماده‌ای گفته می‌شود که در فرایند اکسیداسیون مداخله می‌کند و با قابلیت مهارکنندگی اکسیژن، اکسید شدن را به تاخیر می‌اندازد. تحقیقات پیشین نشان داده است که نگهداری محصولات طی مدت طولانی باعث صدمه به غشا سلولی باکتری‌ها می‌شود و مطابق گزارشات بعضی از آنتی‌اکسیدان‌ها از چربی‌های غشایی در برابر این نوع صدمات محافظت می‌کنند (۴۴). در میان آنتی‌اکسیدان‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با توجه به اثرات جانبی که روی مصرف‌کنندگان دارند از قبیل جهش‌زایی، ایجاد مشکلات تنفسی، التهاب پوستی، کبیر و آگزما، ایجاد سرطان، اسپاسم عضلانی، مشکلات حاد گوارشی و افزایش کلسترول کاربردشان در حال محدود شدن است (۴۱). یافتن جایگزین طبیعی آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی با

1-Bello et al

2-Clostridium perfringens

3-Ubacterium biforme

به بریکس ۱۳ و پاستوریزاسیون در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه تهیه گردید. باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۱</sup> (PTCC ۱۶۴۳)، لاکتوباسیلوس کازئی<sup>۲</sup> (PTCC ۱۶۰۸) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم<sup>۳</sup> (PTCC) به صورت خشک شده و انجمادی از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی بخش کلکسیون میکروبی، محیط کشت جامد و مایع MRS، آژینات سدیم با ویسکوزیته متوسط، کلرید سدیم، اسید هیدروکلریک، کیتوزان (وزن مولکولی کم)، خاک دیاتومه، نمک بافر فسفات، پیتون واتر از شرکت مرک (آلمان) و کاغذ صافی (واتمن، انگلستان) تهیه گردید.

## ۲-۲- آماده‌سازی میکروارگانسیم‌ها

جهت آماده‌سازی باکتری‌ها محتوای ویال منجمد باکتری به ۱۰۰ میلی‌لیتر محیط MRS Broth تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و محیط بی‌هوای گرمخانه گذاری گردید. مقدار ۱ میلی‌لیتر از محیط فوق به ۹۹ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS Broth جدید منتقل و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ تا ۱۲ ساعت گرمخانه‌گذاری گردید. تمامی باکتری‌ها بوسیله سانتریفوژ در ۴۵۰۰×g، دمای ۴ °C و به مدت ۱۵ دقیقه جداسازی و سپس شستشوی سلول‌های جدا شده دوبار توسط محلول ۰/۱ درصد استریل پیتون واتر تحت شرایط مذکور صورت گرفت و برای استفاده مستقیم در آزمایش رقت‌سازی از رسوب حاصله انجام شد. در طول هفته بر حسب تعداد سلول مورد نیاز از مقداری از محیط قبلی حاوی سلول‌های باکتری به محیط جدید انتقال داده شده و بعد از ۱۲ ساعت مراحل سانتریفوژ و شستشو انجام گرفت. این عمل جهت حفظ کردن دائمی باکتری‌ها در فاز لگاریتمی صورت گرفت.

اثرات جانبی کمتر، فرایندی است که سال‌هاست توسط محققین مختلف در حال انجام شدن است و در گزارش‌های متعددی بیان شده که گیاهان دارویی، داری ترکیبات با خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌رادیکالی می‌باشند (۱۳). چای سبز، آویشن، کاکوتی و اکالیپتوس منابع سرشار از ترکیبات پلی‌فنلی و فلاونوئیدها هستند و می‌توان از آن‌ها به عنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی بهره برد (۳، ۲۵، ۳۷ و ۴۱). استفاده از سویه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک در تولید نوشیدنی‌های فراسودمند مانند آب پرتقال حاوی پروتئین آب پنیر (۴۵)، نوشیدنی پروبیوتیکی آب طالبی حاوی عصاره‌های گیاهی (۳۶)، آب نارنگی سین بیوتیک حاوی تره‌الوز به عنوان پری بیوتیک (۲)، آب انبه (۱۵)، آب خیار (۳۵)، نوشیدنی کاکائو حاوی سوکرالوز بعنوان منبع کربوهیدرات (۱۰)، آب میوه گل ساعتی حاوی بیفیدوباکتریوم‌ها (۸)، آب انگور سفید (۳۳)، انار (۳۰)، زغال اخته (۲۹) و سیب (۲۸) مورد بررسی قرار گرفته است. هدف از این پژوهش تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره‌های گیاهی به عنوان پری بیوتیک و تکنیک ریزپوشانی، به منظور بررسی اثرگذاری آن روی افزایش بقا باکتری پروبیوتیک طی دوره نگهداری ۳۰ روزه می‌باشد.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد

عصاره‌های آویشن، کاکوتی، اکالیپتوس و چای سبز از شرکت آدونیس گل دارو خریداری شد. آب میوه پاستوریزه سیب، پرتقال و انار از بازار محلی خریداری گردید (برند سن ایچ). کنسانتره کشمش با بریکس ۷۰ از کشمش رقم بیدانه سفید منطقه ملایر استخراج گردید و برای مصارف بعدی در محیط یخچال و به دور از نور خورشید نگه‌داری گردید. آب میوه کشمش بوسیله رقیق کردن کنسانتره توسط آب تارسیدن

1-Lactobacillus acidophilus

2-Lactobacillus casei

3-Bifidobacterium bifidum

### ۲-۳- ریزپوشانی باکتری‌ها

ریزپوشانی باکتری مطابق روش کراساکوپت و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۰۳) با اندکی تغییرات بود (۲۴). بدین صورت که مقدار ۲۰ میلی لیتر از رسوب باکتری ( $10^{10}$  CFU/mL) و مقادیر مختلف از عصاره گیاهی (w/v، % ۰/۲ - ۰/۱ - ۰/۰۵) در ۸۰ میلی لیتر محلول استریل ۱/۸ درصد آلژینات سدیم با استفاده از همزن مغناطیسی حل شد. سپس محلول حاصل بوسیله سرنگ استریل ۰/۵۰ mm به محلول استریل ۰/۱ مولار کلرید کلسیم تزریق گردید. دانک‌های تشکیل شده اجازه داده شد به مدت ۳۰ دقیقه دیگر نیز در شرایط فوق باقیب ماند تا ژلاتیناسیون کامل شود. دانک‌های تشکیل شده، سپس با استفاده از سانتریفوژ در دمای ۴ °C به مدت ۵ دقیقه جداسازی و شستشو گردید و تا زمان استفاده در دمای ۴ °C و شرایط بهداشتی و استریل نگهداری شدند.

### ۲-۴- پوشش دهی با کیتوزان

۴ گرم کیتوزان با وزن مولکولی کم در ۹۵۰ میلی لیتر اسید استیک ۰/۱ مولار بوسیله همزن مغناطیسی حل و pH بوسیله هیدروکسید سدیم ۱ مولار روی ۶ تنظیم شد. سپس با استفاده از آب مقطر حجم محلول به یک لیتر رسانده و به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره ۴ فیلتر گردید، پس از استریل کردن (دمای ۷۲ °C بمدت ۳۰ ثانیه) با قرار دادن بر روی یخ به دمای محیط بازگردانده شد. کپسول‌های تک لایه تشکیل شده در مرحله قبل به این محلول اضافه گردیده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه هم زده شد تا پوشش دهی به صورت کامل انجام شود، سپس کپسول‌های پوشش داده شده جداسازی و شستشو گردید.

### ۲-۵- شمارش تعداد باکتری‌های به دام افتاده در کپسول‌ها

جهت تعیین کارایی فرآیند ریزپوشانی از روش نوآلکااکل و همکاران<sup>۲</sup> (۲۰۱۲) استفاده شد (۳۲). به طور خلاصه، مقدار ۱ گرم از کپسول باکتری به ۹۹ میلی لیتر محلول بافر فسفات استریل (pH=۷) منتقل و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق بوسیله همزن مغناطیسی هم زده شد، آنگاه به وسیله محیط جامد MRS و به مدت ۴۸ ساعت به صورت بی‌هوای گرمخانه‌گذاری و شمارش گردید.

### ۲-۶- زنده مانی باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده به همراه عصاره گیاهی در طی مدت انبارمانی

مقدار ۱۰ گرم از دانک‌های باکتری به صورت معمولی یا تحت خلأ در بسته‌های پلی اتیلنی بسته بندی شدند و به مدت ۳۰ روز در دمای ۴ °C نگهداری شدند. به منظور شمارش تعداد باکتری‌های زنده مانده هر ۵ روز یکبار نمونه برداری گردید، سپس، بر روی محیط جامد MRS کشت داده و به مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت به صورت بی‌هوای گرمخانه‌گذاری و شمارش شدند.

### ۲-۷- زنده مانی باکتری پروبیوتیک ریزپوشانی شده در آب میوه طی مدت انبارمانی

به منظور ارزیابی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در آب میوه، پروبیوتیک‌های ریزپوشانی شده به ۹ میلی لیتر آب میوه پاستوریزه انار، کنساتره کشمش، پرتقال و سیب اضافه شد، غلظت اولیه سلول‌های باکتری در آب میوه حدوداً  $10^9$  CFU/mL  $\times 3/8$  بود. آب میوه‌ها به مدت ۴ هفته در دمای ۴ °C نگهداری شدند. سپس، طی روزهای ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ به منظور شمارش تعداد باکتری‌ها نمونه برداری و بعد از رقت سازی بر روی محیط جامد MRS کشت داده و به مدت ۴۲ الی ۷۲ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند (۲۵).

## ۲-۸- طرح آماری

نتایج حاصل از این پژوهش بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار و با استفاده از نرم افزارهای SPSS16 و Microsoft Office Excel (۲۰۱۳) مورد تجزیه تحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد انجام شد.

## ۳- نتایج و بحث

## ۳-۱- زنده مانی باکتری ریزپوشانی شده به همراه عصاره گیاهی طی دوره انبارمانی

گیاهان دارویی کشور ایران به خصوص آویشن، اکالیپتوس، چای سبز و کاکوتی دارای مقادیر زیادی مواد پلی فنل، زیست فعال و دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۱۲، ۲۷، ۳۹ و ۴۲). در این پژوهش برای نخستین بار تأثیر ریزپوشانی همزمان عصاره گیاهان دارویی و باکتری لاکتوباسیلوس کازنی و نگهداری در شرایط اتمسفری و تحت خلا بر زنده‌مانی باکتری مورد ارزیابی قرار گرفت. بررسی نتایج نشان داد که با افزودن مقدار ۰/۰۵ درصد عصاره آویشن در مقایسه با مقادیر دیگر عصاره و نمونه کنترل (بدون عصاره) به میزان قابل توجهی موجب افزایش زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازنی گردید ( $P < 0/05$ ). تأثیر افزودن عصاره اکالیپتوس و کاکوتی بر بهبود بقای سلول‌های پروبیوتیک معنی‌دار نبود (جدول ۱). همچنین مشاهده گردید با افزایش غلظت عصاره اکالیپتوس و کاکوتی در کپسول‌ها میزان زنده مانی باکتری‌ها کاهش پیدا کرد، به خصوص عصاره اکالیپتوس در سطح ۰/۲ درصد اثر مهارکنندگی بر رشد این باکتری مشاهده شد. اثرات مشابهی از عصاره اکالیپتوس و کاکوتی در هر دو حالت بسته بندی (خلا و اتمسفر) بر روی باکتری لاکتوباسیلوس کازنی مشاهده گردید. با این وجود، سلول‌های ریزپوشانی

شده که در شرایط تحت خلا انبارمانی شدند زنده مانی بالاتری نسبت به باکتری‌های شرایط اتمسفری از خود نشان دادند ( $P < 0/05$ ). سیائو و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۰۴) دریافتند که میزان زنده مانی باکتری پروبیوتیک در ظروف شیشه‌ای نسبت به ظروف PET بالاتر است. آنها به این نتیجه رسیدند که نفوذپذیری بیشتر ظروف PET نسبت به اکسیژن در طی دوره انبارمانی باعث کاهش زنده مانی باکتری پروبیوتیک می‌گردد (۲۲). کراسکوپت و سوتان وونگ<sup>۲</sup> (۲۰۰۸) در مطالعه خود به تأثیر تلقیح باکتری به قطعات میوه و آب میوه تحت شرایط خلا و میزان فشار ۵۰ میلی بار پرداخته، بعد از ۴ هفته نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  مشاهده نمودند که میزان زنده‌مانی و پایداری باکتری لاکتوباسیلوس کازنی بالاتر از حد مجاز تعیین شده جهت ایفای نقش درمانی بودند و شرایط بی‌هوازی مناسب رشد باکتری پروبیوتیک بود (۲۵). در مجموع، می‌توان این گونه نتیجه‌گیری کرد که اکسیژن عامل مهمی در بقا باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد و به سه طریق بر بقا باکتری پروبیوتیک تأثیر می‌گذارد، حضور اکسیژن در محیط برای بعضی سلول‌ها سمیت دارد و کشنده است، تعدادی از محیط‌های کشت در حضور اکسیژن ترکیبات سمی همانند پراکسید تولید می‌کنند و رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون ترکیبات محیط برای باکتری‌های پروبیوتیک سمی می‌باشند (۲۳). در این تحقیق، افزودن ۰/۰۵ درصد عصاره آویشن به مواد ریزپوشانی تأثیر محافظتی بر زنده‌مانی باکتری در طی مدت انبارمانی در یخچال داشت. در حال حاضر هیچ گونه کار پژوهشی راجع به افزایش زنده‌مانی باکتری‌ها پس از ریزپوشانی به همراه عصاره آویشن گزارش نشده است. با این وجود، طبق تحقیقات اسکات<sup>۳</sup> (۲۰۱۷)، داوکان و عبدالله<sup>۴</sup> (۲۰۱۷) گیاه آویشن دارای مقادیر زیادی ترکیبات پلی فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۷ و ۳۹).

1-Hsiao *et al*

2-Krasaekoopt and Suthanwong

3-Schött

4-Dauqan and Abdullah

توضیح احتمالی دیگر برای تحریک رشد باکتری به وسیله ترکیبات فنلی این است که بعضی از میکروارگانیسم‌ها، همانند لاکتوباسیل‌ها، قادر به تجزیه این ترکیبات و استفاده از آن‌ها به عنوان ماده غذایی می‌باشند. همچنین می‌توان گفت که این ترکیبات علاوه بر تأثیر مثبت بر سوخت و ساز باکتری می‌توانند مصرف مواد مغذی توسط باکتری را افزایش دهند (۱۶). در مجموع می‌توان گفت که باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده با ۰/۰۵ درصد عصاره آویشن بالاترین نرخ زنده‌مانی طی انبارمانی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد را نشان داد. بنابراین، این مقدار از عصاره به منظور استفاده در آزمایشات بعدی برای بررسی میزان ماندگاری در آب میوه و مقایسه با عصاره چای سبز انتخاب گردید.

ترکیبات پلی فنلی با حذف اکسیژن و ترکیبات حاصل از اکسیژن یک محیط بی‌هوازی مورد علاقه باکتری‌های پروبیوتیک را بوجود می‌آورند و باعث افزایش بقا آنها می‌شوند. این نظریه با نتایج حاصل از پژوهش هرورت هرناوندز و همکاران<sup>۱</sup>(۲۰۰۹)، عصاره فنولی انگور باعث افزایش رشد قابل توجه باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در هر دو محیط کشت مایع و جامد گردید، مطابقت دارد (۲۱). اکالیپتوس، کاکوتی و آویشن از لحاظ محتوای فنولی با هم متفاوت هستند و هر کدام دارای سطوح مختلفی از ترکیبات فنولی می‌باشند، بنابراین علت تفاوت در پاسخ لاکتوباسیلوس کازئی به عصاره‌ها می‌تواند به طور مستقیم به محتوای فنولی قابل استخراج از هر گیاه وابسته باشد. یک

جدول ۱- اثر ریزپوشانی به همراه عصاره‌های گیاهی و شرایط بسته بندی مختلف بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در طول ۴ هفته نگهداری در دمای یخچال

میزان کاهش (سیکل لگاریتمی)	میزان زنده‌مانی (Log CFU/g)							غلظت عصاره (% w/v)	ساره اهی
	روز ۳۰	روز ۲۵	روز ۲۰	روز ۱۵	روز ۱۰	روز ۵	روز ۰		
									ته بندی معمولی
۳/۰ ± ۰/۱۵ <sup>BC</sup>	۶/۶ ± ۰/۱ <sup>e</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۸ <sup>d</sup>	۸/۱ ± ۰/۳۶ <sup>c</sup>	۹/۰ ± ۰/۸ <sup>b</sup>	۹/۴ ± ۰/۱ <sup>ab</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۸۷ <sup>a</sup>	۰	نزل
۲/۲ ± ۰/۰۵ <sup>D</sup>	۷/۳ ± ۰/۰۶ <sup>e</sup>	۷/۵ ± ۰/۰۵ <sup>d</sup>	۸/۰ ± ۰/۱ <sup>cd</sup>	۸/۵ ± ۰/۳ <sup>c</sup>	۸/۸ ± ۰/۷ <sup>bc</sup>	۹/۰ ± ۰/۲۶ <sup>b</sup>	۹/۵ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۰/۰۵	یشن
۲/۶ ± ۰/۱۵ <sup>CD</sup>	۷/۰ ± ۰/۰۵ <sup>e</sup>	۷/۹ ± ۰/۰۳ <sup>d</sup>	۸/۲ ± ۰/۰۸ <sup>d</sup>	۸/۷ ± ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۹/۲ ± ۰/۲۳ <sup>ab</sup>	۹/۶ ± ۰/۲۶ <sup>a</sup>	۰/۱	
۲/۷ ± ۰/۲ <sup>CD</sup>	۶/۷ ± ۰/۲۶ <sup>e</sup>	۷/۱ ± ۰/۱ <sup>d</sup>	۷/۹ ± ۰/۲۶ <sup>c</sup>	۸/۵ ± ۰/۰۸ <sup>bc</sup>	۸/۸ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۹/۱ ± ۰/۲ <sup>ab</sup>	۹/۴ ± ۰/۰۸۵ <sup>a</sup>	۰/۲	
۲/۹ ± ۰/۲ <sup>CD</sup>	۶/۷ ± ۰/۱۶ <sup>f</sup>	۷/۰ ± ۰/۲۶ <sup>e</sup>	۷/۵ ± ۰/۰۵ <sup>d</sup>	۸/۰ ± ۰/۲۶ <sup>cd</sup>	۸/۳ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۹/۳ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۰۵	لیپتوس
۲/۳ ± ۰/۳ <sup>AB</sup>	۶/۲ ± ۰/۲۵ <sup>e</sup>	۶/۷ ± ۰/۱۷ <sup>d</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۸/۰ ± ۰/۳۶ <sup>bc</sup>	۸/۷ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۹/۵ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۱	
۲/۸ ± ۰/۲ <sup>AB</sup>	۵/۸ ± ۰/۳۵ <sup>f</sup>	۶/۵ ± ۰/۱۱ <sup>e</sup>	۷/۳ ± ۰/۱ <sup>d</sup>	۸/۱ ± ۰/۱ <sup>c</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۹/۲ ± ۰/۰۹ <sup>ab</sup>	۹/۶ ± ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۲	
۲/۷ ± ۰/۱ <sup>C</sup>	۶/۹ ± ۰/۰۵۳ <sup>d</sup>	۷/۴ ± ۰/۲۶ <sup>d</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۸/۱ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۳۶ <sup>b</sup>	۸/۸ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۰/۰۵	کوتی
۳/۲ ± ۰/۲ <sup>AB</sup>	۶/۲ ± ۰/۱ <sup>e</sup>	۶/۸ ± ۰/۲ <sup>e</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۸ <sup>d</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۸/۲ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۸/۶ ± ۰/۲۴ <sup>b</sup>	۹/۴ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۰/۱	
۳/۴ ± ۰/۴ <sup>A</sup>	۶/۲ ± ۰/۰۶ <sup>f</sup>	۷/۲ ± ۰/۳۳ <sup>e</sup>	۷/۸ ± ۰/۱ <sup>d</sup>	۸/۳ ± ۰/۲۶ <sup>c</sup>	۸/۸ ± ۰/۰۷ <sup>bc</sup>	۹/۰ ± ۰/۲۸ <sup>ab</sup>	۹/۶ ± ۰/۳۵ <sup>a</sup>	۰/۲	
									ته بندی خلا
۲/۴ ± ۰/۲ <sup>CD</sup>	۷/۳ ± ۰/۰۶ <sup>e</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۵ <sup>de</sup>	۸/۱ ± ۰/۱ <sup>d</sup>	۸/۸ ± ۰/۰۶ <sup>c</sup>	۹/۲ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۹/۳ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۹/۷ ± ۰/۶۹ <sup>a</sup>	۰	نزل
۱/۳ ± ۰/۱ <sup>E</sup>	۸/۵ ± ۰/۰۴ <sup>d</sup>	۸/۸ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۹/۰ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۹/۱ ± ۰/۳ <sup>bc</sup>	۹/۲ ± ۰/۰۴ <sup>bc</sup>	۹/۷ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۹/۸ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۰/۰۵	یشن
۱/۶ ± ۰/۰۵ <sup>D</sup>	۸/۰ ± ۰/۰۸ <sup>f</sup>	۸/۶ ± ۰/۰۵ <sup>d</sup>	۸/۸ ± ۰/۲۲ <sup>d</sup>	۹/۰ ± ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۹/۲ ± ۰/۱ <sup>c</sup>	۹/۵ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۰/۱	
۲/۱ ± ۰/۰۸ <sup>D</sup>	۷/۷ ± ۰/۱۲ <sup>e</sup>	۸/۴ ± ۰/۱۵ <sup>e</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۹/۱ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۹/۳ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۹/۸ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۹/۸ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۰/۲	
۲/۵ ± ۰/۱۶ <sup>D</sup>	۷/۰ ± ۰/۲۶ <sup>d</sup>	۷/۹ ± ۰/۱ <sup>ed</sup>	۸/۲ ± ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۳ <sup>b</sup>	۹/۴ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۹/۵ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۹/۵ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۰/۰۵	لیپتوس
۲/۷ ± ۰/۱ <sup>CD</sup>	۶/۹ ± ۰/۰۷ <sup>d</sup>	۷/۷ ± ۰/۰۳ <sup>e</sup>	۷/۹ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۸/۳ ± ۰/۰۴ <sup>c</sup>	۹/۲ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۹/۴ ± ۰/۰۸ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۰/۱	
۲/۹ ± ۰/۲ <sup>CD</sup>	۶/۷ ± ۰/۳۵ <sup>f</sup>	۷/۵ ± ۰/۱ <sup>ef</sup>	۸/۰ ± ۰/۱ <sup>e</sup>	۸/۲ ± ۰/۱۵ <sup>d</sup>	۹/۱ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۹/۵ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۰/۲	
۱/۸ ± ۰/۱۴ <sup>D</sup>	۷/۹ ± ۰/۰۲۲ <sup>d</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۸/۹ ± ۰/۰۳ <sup>c</sup>	۹/۲ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۹/۴ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۹/۶ ± ۰/۰۳ <sup>ab</sup>	۹/۷ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۰/۰۵	کوتی
۲/۶ ± ۰/۰۵ <sup>C</sup>	۷/۲ ± ۰/۰۷ <sup>e</sup>	۷/۹ ± ۰/۰۳ <sup>d</sup>	۸/۴ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	۸/۸ ± ۰/۱ <sup>cd</sup>	۹/۰ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۹/۳ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۹/۸ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۰/۱	
۲/۷ ± ۰/۱ <sup>C</sup>	۷/۰ ± ۰/۲۶ <sup>f</sup>	۷/۶ ± ۰/۰۴ <sup>e</sup>	۸/۰ ± ۰/۴۴ <sup>d</sup>	۸/۳ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۲ <sup>bc</sup>	۹/۰ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۹/۷ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰/۲	

داده‌ها میانگین ۳ تکرار هستند (انحراف معیار ± میانگین). حروف غیر مشترک نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح  $p < ۰/۰۵$  می‌باشد.

### ۲-۳- زنده‌مانی باکتری ریزپوشانی شده طی دوره انبارمانی آب میوه

در این پژوهش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در ۳ حالت مختلف، نمونه شاهد (فاقد عصاره و ریزپوشانی شده)، نمونه ریزپوشانی شده به همراه ۰/۰۵ درصد عصاره آویشن و نمونه ریزپوشانی شده به همراه ۰/۰۵ درصد عصاره چای سبز، تلقیح شده به آب میوه‌های پاستوریزه انار، کنسانتره کشمش، پرتقال و سیب طی دوره ۳۰ روزه نگهداری در دمای °C ۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای مختلف (جدول ۲) نشان داد که با گذشت زمان در تمامی نمونه‌های آب میوه تعداد باکتری‌های زنده کاهش یافت. بر این اساس تأثیر ریزپوشانی به همراه عصاره آویشن در مقابل باکتری فاقد عصاره معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ). به طوری که بعد از ۳۰ روز نگهداری در یخچال کاهش ۳/۶ سیکل لگاریتمی در سویه بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ریزپوشانی شده بدون عصاره مشاهده گردید، در حالی که در نمونه حاوی عصاره آویشن حدود ۲ سیکل لگاریتمی کاهش داشت. به علاوه، میزان زنده‌مانی باکتری‌ها در آب میوه کشمش و سیب بالاتر از آب پرتقال و انار بود ( $P < 0/05$ ). در نمونه‌های کنترل بدون وجود عصاره، بیشترین میزان کاهش پس از ۳۰ روز انبارمانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجود در آب پرتقال مشاهده گردید. اگرچه میزان زنده‌مانی در باکتری‌های ریزپوشانی شده حاوی عصاره در طی مدت انبارمانی کاهش پیدا کرد، این کاهش در مقایسه با نمونه‌های کنترل کمتر بود ( $P < 0/05$ ).

میزان بقا دانک‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم حاوی عصاره چای سبز در آب سیب حدود ۲ فاز لگاریتمی از نمونه کنترل آب پرتقال بالاتر بود. بعلاوه، همانند نمونه کنترل، بیشترین میزان کاهش بقا در نمونه‌های حاوی عصاره ۲۵ روز پس از انبارمانی مشاهده گردید. در طی مدت انبارمانی باکتری میزان زنده‌مانی در باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در آب میوه پرتقال به مقدار قابل توجهی بالاتر از سویه‌های دیگر باکتری بود (حدود یک فاز لگاریتمی)، در حالی که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در آب میوه کنسانتره کشمش و سیب بیشترین میزان زنده‌مانی را داشت و بعد از آن لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم قرار دارند. آب میوه‌های مورد استفاده در مطالعه از لحاظ محتوای فنلی و فیبرهای غذایی موجود با هم تفاوت دارند و این تفاوت در محتوای غذایی آب میوه‌ها علت احتمالی پاسخ متفاوت باکتری‌ها به حضور در محیط‌های مختلف آب میوه با pH یکسان می‌باشد. بعلاوه، نحوه واکنش سلول‌های باکتری به شرایط محیطی به طور مستقیم به سویه باکتری و میزان حساسیت آن‌ها به حضور اکسیژن و میزان اسیدیته محیط مرتبط می‌باشد. نوآلکاکل و همکاران (۲۰۱۲)، پی بردند که لاکتوباسیلوس پلانٹاروم ریزپوشانی شده بوسیله آلزینات سدیم و کیتوزان می‌تواند به مدت ۶ هفته در آب انار و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به بقا خود ادامه دهد، در حالی باکتری‌های آزاد بعد از گذشت ۳ هفته بقا خود را از دست دادند (۳۲). طبق گزارش دینگ و شاه (۲۰۰۸) باکتری‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده شامل لاکتوباسیلوس رامنوس<sup>۱</sup>، لاکتوباسیلوس سالیواریوس<sup>۲</sup>، لاکتوباسیلوس پارانکازئی<sup>۳</sup>، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس<sup>۴</sup>، لاکتوباسیلوس پاراکازئی<sup>۵</sup>، بیفیدوباکتریوم لانگوم<sup>۶</sup> و بیفیدوباکتریوم لاکتیس<sup>۷</sup> می‌توانند در

- 1- *Lactobacillus plantarum*
- 2- *Ding and Shah*
- 3- *lactobacillus rhamnosus*
- 4- *lactobacillus salivarius*
- 5- *lactobacillus paracasei*
- 6- *bifidobacterium longum*
- 7- *bifidobacterium lactis*



انجام دادند، افزایش بقا در حدوداً ۲ فاز لگاریتمی در تعداد سلول‌ها مشاهده گردید که در نتیجه ریزپوشانی همزمان با عصاره چای سبز بود. باکتری آزاد پس از ۳۰ روز انبارمانی در دمای یخچال حدوداً ۲ فاز لگاریتمی و دانک‌های حاوی ۵ تا ۱۰ درصد عصاره چای سبز ۰/۸۲-۰/۹۴ فاز لگاریتمی کاهش بقا داشتند (۴۷). در تحقیقی که شاه و همکاران<sup>۵</sup> (۲۰۱۰) انجام دادند و زنده‌مانی سه سویه بیفیدوباکتریوم لاکتیس، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس رامنوس را در مدل‌های مختلف آب میوه بررسی کردند که شامل عصاره چای سبز، هسته انگور و آنتی‌اکسیدان‌های مختلف بود. آن‌ها دریافتند که میزان بقا باکتری پروبیوتیک زمانی که عصاره چای سبز در مدل آب میوه استفاده گردید افزایش یافت. آن‌ها این گونه نتیجه‌گیری کردند که موادی همچون عصاره چای سبز و ویتامین سی به کمک خواص آنتی‌اکسیدانی و مهار اکسیژن محیط بی‌هوازی مطلوب پروبیوتیک‌ها را خلق می‌کنند (۴۰). نتایج تجزیه تحلیل آماری در سطح ۵ درصد نشان دهنده عملکرد مناسب پوشش انجام شده در پایداری سلول‌ها طی مدت زمان نگهداری در آب میوه بود. بر مبنای این تحقیقات و نیز نتایج پژوهش حاضر ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها به همراه عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه ضمن بقا و پایداری در مدل‌های مختلف آب میوه، به عنوان یک راهکار جهت تحمل نمونه‌های غذایی پوشش داده شده در شرایط محیطی سخت و نیز دستگاه گوارش خواهد بود. بر این اساس آلزینات موجود در دیواره ریزپوشینه‌ها از نظر زیستی قابل تجزیه بوده و حضور عامل پوشش دهنده‌ای همانند کیتوزان مانعی در برابر نفوذ عوامل ناپایدار کننده و کاهش دهنده ویسکوزیته و استحکام دیواره ریزپوشینه بوده و در نهایت استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیک و آنتی‌اکسیدان مانند عصاره چای سبز و آویشن از طریق کاهش ترکیبات اکسیدکننده و مهار اکسیژن محیط بی‌هوازی مطلوب پروبیوتیک‌ها را ایجاد می‌کنند و سبب افزایش پایداری و بقا باکتری می‌گردد.

آب سیب و پرتقال و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ هفته به بقا خود ادامه دهند، در حالی که سلول‌های آزاد در طی ۵ هفته بقا خود را از دست دادند (۹). به علاوه، کارسکاپت و همکاران دو سویه باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را به دو شکل آزاد و ریزپوشانی شده به آب میوه‌های انگور، آناناس، سیب، نارنگی و پرتقال قرمز تلقیح کردند و در پایان زمان ماندگاری در دمای یخچال دریافتند که سویه لاکتوباسیلوس کازئی، به علت قابلیت سازگاری با ترکیبات مهارکننده موجود در آب میوه، قابلیت زنده‌مانی بالاتری نسبت به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس دارا بود (۲۵). با این حال، با توجه به افزودن عصاره‌های گیاهی در ریزپوشانی باکتری‌ها، نتایج زنده‌مانی طی انبارمانی به خوبی نشان می‌دهد که افزودن عصاره آویشن و چای سبز به تمامی نمونه‌های پروبیوتیکی به طور قابل توجهی باعث افزایش بقا آن‌ها در مقایسه با نمونه‌های کنترل شده است (جدول ۲)، و نیز ریزپوشانی به همراه عصاره چای سبز به ریزپوشانی با عصاره چای سبز به میزان بیشتری افزایش داد. گادرو و همکاران<sup>۱</sup> (۲۰۱۶) دریافتند، استفاده از عصاره چای سبز همراه مواد دیواره در ریزپوشانی لاکتوباسیلوس هلویتیکوس زنده‌مانی باکتری در محیط شبیه سازی شده معده و روده را به اندازه ۴ فاز لگاریتمی نسبت به سلول‌های آزاد افزایش داد (۱۷). مرحمتی زاده و همکاران بیان کردند که در مورد باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم استفاده از عصاره چای سبز در شیر و ماست در طی مدت ۲۱ روز انبارمانی، موجب افزایش رشد و متابولیسم باکتری گردید و باکتری‌ها در بالاترین سطح رشد قرار داشتند و بیشترین میزان زنده‌مانی با به کار بردن ۰/۹ درصد عصاره چای سبز در هر دو محصول مشاهده شد (۳۱). در تحقیقی که وودنار و سوکاسیو<sup>۲</sup> (۲۰۱۲) روی باکتری بیفیدوباکتریوم اینفتیس<sup>۳</sup> و بیفیدوباکتریوم برو<sup>۴</sup>

1-Gaudreau et al

2-Vodnar and Socaciu

3-Bifidobacterium infantis

4-Bifidobacterium breve

5-Shah et al

جدول ۲- میزان بقای سلول‌های ریزپوشانی شده با غلظت‌های مختلف عصاره گیاهی در طول مدت ۴ هفته نگهداری در آب میوه و

دمای یخچال

میوه تازه	تیمار	میزان زنده‌مانی (Log CFU/g)					
		روز ۰	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۵	روز ۲۰	روز ۲۵
آل	کنترل	۹/۷ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۹/۵ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۷/۶ ± ۰/۰۶ <sup>c</sup>	۷/۰ ± ۰/۱ <sup>d</sup>	۶/۵ ± ۰/۲۴ <sup>d</sup>
	آوبشن	۹/۸ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۱۶ <sup>ab</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۷/۹ ± ۰/۰۹ <sup>d</sup>	۷/۶ ± ۰/۱۴ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۶ ± ۰/۱۳ <sup>a</sup>	۹/۱ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۷/۲ ± ۰/۱ <sup>e</sup>	۶/۷ ± ۰/۱۳ <sup>f</sup>
ب	کنترل	۹/۴ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۸/۵ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۷/۳ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	۶/۷ ± ۰/۰۵ <sup>e</sup>	۶/۴ ± ۰/۰۹ <sup>f</sup>
	آوبشن	۹/۳ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۸/۶ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۶ <sup>c</sup>	۷/۱ ± ۰/۲ <sup>d</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۳ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۸/۷ ± ۰/۰۲ <sup>b</sup>	۸/۴ ± ۰/۰۹ <sup>b</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۱ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	۶/۹ ± ۰/۲۴ <sup>e</sup>
ج	کنترل	۹/۶ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۲۲ <sup>c</sup>	۸/۰ ± ۰/۱ <sup>cd</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>
	آوبشن	۹/۶ ± ۰/۰۲ <sup>ab</sup>	۹/۳ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۳ <sup>bc</sup>	۸/۴ ± ۰/۵ <sup>bc</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۱۷ <sup>ab</sup>	۹/۱ ± ۰/۱۵ <sup>ab</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۳ <sup>cd</sup>	۸/۳ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>	۸/۲ ± ۰/۰۸ <sup>c</sup>
ش	کنترل	۹/۷ ± ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۱۱ <sup>b</sup>	۸/۶ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۸/۱ ± ۰/۲۵ <sup>c</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۱ <sup>c</sup>	۷/۳ ± ۰/۱۲ <sup>d</sup>
	آوبشن	۹/۶ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۱۳ <sup>bc</sup>	۸/۲ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۸/۰ ± ۰/۱ <sup>c</sup>
	چای سبز	۹/۸ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۹/۴ ± ۰/۱۵ <sup>ab</sup>	۸/۹ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۰۲ <sup>c</sup>	۸/۲ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>
بی‌غلبه‌وم	کنترل	۹/۴ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۸/۲ ± ۰/۱ <sup>c</sup>	۷/۴ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۷/۱ ± ۰/۲ <sup>d</sup>	۶/۴ ± ۰/۱ <sup>f</sup>
	آوبشن	۹/۵ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۰۳ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۸ <sup>bc</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>cd</sup>	۷/۳ ± ۰/۱ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۴ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۹/۱ ± ۰/۱۲ <sup>ab</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۵ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۳ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۸ <sup>e</sup>
د	کنترل	۹/۷ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۲ ± ۰/۲ <sup>d</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۳ <sup>e</sup>	۶/۳ ± ۰/۱۶ <sup>e</sup>
	آوبشن	۹/۴ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۸/۴ ± ۰/۰۴ <sup>b</sup>	۷/۶ ± ۰/۱۳ <sup>cd</sup>	۷/۲ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۳ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۷/۷ ± ۰/۰۵ <sup>c</sup>	۷/۴ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۶/۷ ± ۰/۱ <sup>f</sup>
ه	کنترل	۹/۷ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۲۴ <sup>a</sup>	۸/۷ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۸/۰ ± ۰/۱ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۰۷ <sup>c</sup>	۷/۴ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>
	آوبشن	۹/۶ ± ۰/۱۵ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۱۴ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>
	چای سبز	۹/۶ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۵ <sup>ab</sup>	۹/۰ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۸/۲ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>
و	کنترل	۹/۴ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۲۷ <sup>a</sup>	۸/۴ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	۷/۶ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	۷/۳ ± ۰/۰۹ <sup>d</sup>	۶/۶ ± ۰/۱۵ <sup>e</sup>
	آوبشن	۹/۴ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۱۲ <sup>ab</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۴ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>
	چای سبز	۹/۶ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۸/۵ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۵ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۷/۵ ± ۰/۱۷ <sup>d</sup>
زیدوفیلوس	کنترل	۹/۷ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۵ <sup>b</sup>	۷/۶ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۶/۹ ± ۰/۱۶ <sup>d</sup>	۶/۶ ± ۰/۱۵ <sup>e</sup>	۶/۰ ± ۰/۱ <sup>f</sup>
	آوبشن	۹/۶ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۸/۴ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۷/۷ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۴ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۷/۰ ± ۰/۱ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۴ ± ۰/۱۶ <sup>a</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۷/۷ ± ۰/۱۶ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۶ <sup>d</sup>	۷/۵ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۶/۳ ± ۰/۱ <sup>e</sup>
ح	کنترل	۹/۷ ± ۰/۰۵ <sup>a</sup>	۸/۷ ± ۰/۲۳ <sup>b</sup>	۷/۵ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۶/۵ ± ۰/۱۸ <sup>e</sup>	۶/۲ ± ۰/۱۴ <sup>f</sup>
	آوبشن	۹/۳ ± ۰/۰۲ <sup>a</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۷ <sup>b</sup>	۷/۷ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۷/۰ ± ۰/۲ <sup>d</sup>	۶/۹ ± ۰/۱۴ <sup>d</sup>	۶/۷ ± ۰/۱۳ <sup>e</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۱ <sup>a</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۲ <sup>c</sup>	۷/۱ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>	۶/۸ ± ۰/۱۷ <sup>d</sup>	۶/۵ ± ۰/۱ <sup>f</sup>
ط	کنترل	۹/۴ ± ۰/۱۷ <sup>a</sup>	۹/۱ ± ۰/۲ <sup>a</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۸/۶ ± ۰/۰۵ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱۷ <sup>c</sup>	۷/۵ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>
	آوبشن	۹/۶ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۴ <sup>ab</sup>	۹/۰ ± ۰/۱۳ <sup>ab</sup>	۸/۵ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۸/۴ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۸/۲ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۱۲ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۱ <sup>b</sup>	۸/۸ ± ۰/۱۶ <sup>b</sup>	۸/۴ ± ۰/۱۹ <sup>c</sup>	۸/۲ ± ۰/۱ <sup>cd</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۳ <sup>cd</sup>
ث	کنترل	۹/۶ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۰ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۸/۵ ± ۰/۲ <sup>b</sup>	۸/۲ ± ۰/۲ <sup>c</sup>	۷/۸ ± ۰/۱۳ <sup>d</sup>
	آوبشن	۹/۷ ± ۰/۰۷ <sup>a</sup>	۹/۵ ± ۰/۱۸ <sup>a</sup>	۹/۳ ± ۰/۱۶ <sup>ab</sup>	۸/۹ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۸/۶ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>	۸/۰ ± ۰/۱۴ <sup>c</sup>
	چای سبز	۹/۵ ± ۰/۰۹ <sup>a</sup>	۹/۲ ± ۰/۱۵ <sup>ab</sup>	۸/۹ ± ۰/۱۳ <sup>b</sup>	۸/۷ ± ۰/۱۴ <sup>b</sup>	۸/۳ ± ۰/۱ <sup>bc</sup>	۷/۹ ± ۰/۱۳ <sup>c</sup>

داده‌ها میانگین ۳ تکرار هستند (انحراف معیار ± میانگین). حروف غیر مشترک نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف میانگین‌ها در سطح  $p < ۰/۰۵$  می‌باشد.

R0011 in an apple-based fruit juice under simulated storage conditions at the consumer level. *Journal of food science*, 73(5):M221-M6.

5. Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, FC., Marzo, F., Villarán, MdC. 2010. Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 142(1):185-9.

6. Dal Bello, F., Walter, J., Hertel, C., Hammes, WP. 2001. In vitro study of prebiotic properties of levan-type exopolysaccharides from lactobacilli and non-digestible carbohydrates using denaturing gradient gel electrophoresis. *Systematic and Applied Microbiology*, 24(2):232-7.

7. Dauqan, EM., Abdullah, A. 2017. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 5(02):017-22.

8. Dias, CO., de Almeida, JD., Pinto, SS., de Oliveira Santana, FC., Verruck, S., Müller, CM., Prudêncio, ES., Amboni, RD. 2018. Development and physico-chemical characterization of microencapsulated bifidobacteria in passion fruit juice: A functional non-dairy product for probiotic delivery. *Food bioscience*, 1;24:26-36.

9. Ding, WK., Shah, NP. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *Int Food Res J*, 15(2):219-32.

10. Dos Santos Filho, AL., Freitas, HV., Rodrigues, S., Abreu, VK., de Oliveira Lemos, T., Gomes, WF., Narain, N., Pereira, AL. 2019. Production and stability of probiotic cocoa juice with sucralose as sugar substitute during refrigerated storage. *LWT*, 1;99:371-8.

11. Dulf, FV., Pamfil, D., Baciú, AD., Pintea, A. 2013. Fatty acid composition of lipids in pot marigold (*Calendula officinalis*L.) seed genotypes. *Chemistry Central Journal*, 7(1):8.

12. Elgin, G., YAVAŞOĞLU, NÜK., Öztürk, B. 2006. Antimicrobial Activity of Endemic *Ziziphora taurica* subsp. *cleonioides* (Boiss) PH Davis Essential Oil. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 48(1).

13. Erkan, N., Ayranci, G., Ayranci, E. 2008. Antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus Officinalis* L.) extract, blackseed (*Nigella sativa*

#### ۴- نتیجه‌گیری

پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، میزان زنده مانی در سلول‌های پروبیوتیک ریزپوشانی شده با ۰/۰۵ درصد عصاره آویشن و بسته بندی شده تحت شرایط اتمسفری و خلا به طور معنی داری نسبت به نمونه‌های ریزپوشانی شده با عصاره اکالیپتوس و کاکوتی بالاتر بود. بنابراین، این میزان غلظت از عصاره آویشن جهت ریزپوشانی باکتری‌ها، تلقیح به آب میوه و مقایسه با یک عصاره گیاهی استاندارد همچون چای سبز انتخاب گردید. در طی مدت نگهداری در یخچال و مقایسه با نمونه‌های کنترل فاقد عصاره، هر دو عصاره آویشن و چای سبز باعث افزایش بقا باکتری پروبیوتیک در آب میوه‌ها گردیدند و در پایان مدت نگهداری نمونه‌های آب میوه سیب و کشمش حاوی باکتری ریزپوشانی شده با عصاره آویشن یا چای سبز دارای تعداد بیشتری باکتری از حداقل تعداد تعیین شده جهت ایفای نقش سلامت بخش خود بودند ( $10^7 \leq$ ). در مجموع، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده زنده‌مانی بیشتری در آب میوه‌ها نسبت به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نشان دادند.

#### ۵- منابع

1. Amine, KM., Champagne, CP., Raymond, Y., St-Gelais, D., Britten, M., Fustier, P., et al. 2014. Survival of microencapsulated *Bifidobacterium longum* in Cheddar cheese during production and storage. *Food Control*, 37:193-9.

2. Barrera, C., Burca, C., Betoret, E., García-Hernández, J., Hernández, M., Betoret, N. 2019. Improving antioxidant properties and probiotic effect of clementine juice inoculated with *Lactobacillus salivarius* spp. *salivarius* (CECT 4063) by trehalose addition and/or sublethal homogenisation. *International Journal of Food Science & Technology*.

3. Cabrera, C., Artacho, R., Giménez, R. 2006. Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2):79-99.

4. Champagne, C., Raymond, Y., Gagnon, R. 2008. Viability of *Lactobacillus rhamnosus*

- Technology, stability and benefits to the human health, 131-69.
24. Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International dairy journal*, 13(1):3-13.
  25. Krasaekoopt, W. and Suthanwong, B., 2008. Vacuum impregnation of probiotics in fruit pieces and their survival during refrigerated storage. *Kasetsart J*, 42:723-731.
  26. Krasaekoopt, W., Watcharapoka, S. 2014. Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2):761-6.
  27. Lee, J-S., Chung, D., Lee, HG. 2008. Preparation and characterization of calcium pectinate gel beads entrapping catechin-loaded liposomes. *International journal of biological macromolecules*, 42(2):178-84.
  28. Li, Z., Teng, J., Lyu, Y., Hu, X., Zhao, Y. and Wang, M., 2019. Enhanced Antioxidant Activity for Apple Juice Fermented with *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Molecules*, 24(1), p.51.
  29. Mantzourani, I., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., Plessas, S. 2019. Production of a potentially synbiotic fermented Cornelian cherry (*Cornus mas* L.) beverage using *Lactobacillus paracasei* K5 immobilized on wheat bran. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 1;17:347-51
  30. Mantzourani, I., Kazakos, S., Terpou, A., Alexopoulos, A., Bezirtzoglou, E., Bekatorou, A., Plessas, S. 2019. Potential of the Probiotic *Lactobacillus Plantarum* ATCC 14917 Strain to Produce Functional Fermented Pomegranate Juice. *Foods*, 8(1):4.
  31. Marhamatizadeh, MH., Ehsandoost, E., Gholami, P. 2013. The influence of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(17):599-606.
  32. Nualkaekul, S., Lenton, D., Cook, MT., Khutoryanskiy, VV., Charalampopoulos, D. 2012. Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated *Lactobacillus* L.) essential oil, carnosic acid, rosmarinic acid and sesamol. *Food Chemistry*, 110(1):76-82.
  14. Floch, MH. 2018. The Role of Prebiotics and Probiotics in Gastrointestinal Disease. *Gastroenterology Clinics*, 47(1):179-91.
  15. Furtado, LL., Martins, ML., Ramos, AM., da Silva, RR., Junior, BR., Martins, EM. 2019. Viability of probiotic bacteria in tropical mango juice and the resistance of the strains to gastrointestinal conditions simulated in vitro. *Semina: Ciências Agrárias*, 15;40(1):149-62
  16. García-Ruiz, A., Bartolomé, B., Martínez-Rodríguez, AJ., Pueyo, E., Martín-Álvarez, PJ., Moreno-Arribas, M. 2008. Potential of phenolic compounds for controlling lactic acid bacteria growth in wine. *Food Control*, 19(9):835-41.
  17. Gaudreau, H., Champagne, CP., Remondetto, GE., Gomaa, A., Subirade, M. 2016. Co-encapsulation of *Lactobacillus helveticus* cells and green tea extract: Influence on cell survival in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*, 26:451-9.
  18. Gibson, GR., Roberfroid, MB. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6):1401-12.
  19. Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., de los Reyes-Gavilán, CG. 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. *Food Research International*, 37(9):839-50.
  20. Heidebach, T., Först, P., Kulozik, U. 2012. Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(4):291-311.
  21. Hervert-Hernández, D., Pintado, C., Rotger, R., Goñi, I. 2009. Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *International journal of food microbiology*, 136(1):119-22.
  22. Hsiao, HC., Lian, WC., Chou, CC. 2004. Effect of packaging conditions and temperature on viability of microencapsulated bifidobacteria during storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(2):134-9.
  23. Korbekandi, H., Mortazavian, A., Iravani, S. 2011. Technology and stability of probiotic in fermented milks. Probiotic and prebiotic foods:

- active Thymus species, its antibacterial activity against *Streptococcus mutans* and the antiadherent effects of *T. vulgaris* on the bacterial colonization of the in situ pellicle. *Fitoterapia*, 121:118-28.
40. Shah, N., Ding, W., Fallourd, M., Leyer, G. 2010. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. *Journal of food science*, 75(5):M278-M82.
41. Siddiqui, BS., Sultana, I., Begum, S. 2000. Triterpenoidal constituents from *Eucalyptus camaldulensis* var. *obtusa* leaves. *Phytochemistry*, 54(8):861-5.
42. Silva, MM., Lidon, FC. An overview on applications and side effects of antioxidant food additives. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 2016:823-32.
43. Takasaki, M., Konoshima, T., Etoh, H., Singh, IP., Tokuda, H., Nishino, H. 2000. Cancer chemopreventive activity of euglobal-G1 from leaves of *Eucalyptus grandis*. *Cancer letters*, 155(1):61-5.
44. Teixeira, P., Castro, M., Malcata, F., Kirby, R. 1995. Survival of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* following spray-drying. *Journal of dairy science*. 78(5):1025-31.
45. Thakkar, P., Vaghela, B., Patel, A., Modi, HA., Prajapati, JB. 2018. Formulation and shelf life study of a whey-based functional beverage containing orange juice and probiotic organisms. *International Food Research Journal*, 1;25(4).
46. Vinderola, C., Bailo, N., Reinheimer, J. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. *Food Research International*, 33(2):97-102.
47. Vodnar, DC., Socaciu, C. 2012. Green tea increases the survival yield of Bifidobacteria in simulated gastrointestinal environment and during refrigerated conditions. *Chemistry Central Journal*, 6(1):61.
- plantarum in pomegranate juice. *Carbohydrate Polymers*, 90(3):1281-7.
33. Okina, VS., Porto, MR., Pimentel, TC., Prudencio, SH. 2018. White grape juice added with *Lactobacillus paracasei* ssp. probiotic culture. *Nutrition & Food Science*, 9;48(4):631-41.
34. Özer, B., Kirmaci, HA., Şenel, E., Atamer, M., Hayaloğlu, A. 2009. Improving the viability of *Bifidobacterium bifidum* BB-12 and *Lactobacillus acidophilus* LA-5 in white-brined cheese by microencapsulation. *International Dairy Journal*, 19(1):22-9.
35. Rajan, NP., Ponnusamy, R., Murugesan, S., Gopal, S., Ranganathan, T. 2018. Development and Evaluation of Probioticated Cucumber Juice Using *Lactobacillus plantarum*. Proceedings of the National Academy of Sciences, *India Section B: Biological Sciences*, 1;88(3):1025-32.
36. Rúa, J., López-Rodríguez, I., Sanz, J., García-Fernández, MC., del Valle, MP., García-Armesto, MR. 2018. Improving functional properties of "Piel de Sapo" melon juice by addition of a *Lippia citriodora* natural extract and probiotic-type lactic acid bacteria. *LWT*, 1;96:75-81.
37. Salehi, P., Sonboli, A., Eftekhari, F., Nejad-Ebrahimi, S., Yousefzadi, M. 2005. Essential Oil Composition, Antibacterial and Antioxidant Activity of the Oil and Various Extracts of *Ziziphora clinopodioides* subsp. *rigida* (B OISS.) R ECH. f. from Iran. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(10):1892-6.
38. Saxelin, M. 2008. Probiotic formulations and applications, the current probiotics market, and changes in the marketplace: a European perspective. *Clinical infectious diseases* : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 46 Suppl 2:S76-9; discussion S144-51.
39. Schött, G., Liesegang, S., Gaunitz, F., Gleß, A., Basche, S., Hannig, C, et al. 2017. The chemical composition of the pharmacologically

(Original Research Paper)

## The Efficacy of Co-encapsulation with Herbal Extracts on Viability of Probiotic Bacteria During Storage in Fruit Juices

Vahid Koushki <sup>1</sup>, Arash Babaei <sup>2\*</sup>, Masoomeh Mehraban Sangatash <sup>3</sup>, Omid Safari <sup>4</sup>

1. PhD student, Department of Grape Processing and Preservation, Research Institute for Grapes and Raisin (RIGR), Malayer University, Malayer, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Sciences, Malayer University, Malayer, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food quality and Safety, Food Science and Technology Research Institute , ACECR, Mashhad, Iran.
4. Associate Professor, Department of Fisheries, Faculty of Natural Resources and Environment, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

Received:21/01/2019

Accepted:06/04/2019

### Abstract

Encapsulation of probiotics in food samples has been proven as a novel technique for enhancing the viability and stability of encapsulated probiotics in unfavorable environmental conditions. However, investigations on the optimized compositions of encapsulation to enhance the viability of the probiotic bacteria in food and simulated gastrointestinal environment are intending to increase. The aim of this study was to investigate the impact of alginate-chitosan encapsulation with herbal extracts including eucalyptus, ziziphora and thymus vulgaris L. on viability of probiotic bacteria suspended in fruit juices (orange, pomegranate, apple and raisin juices) during storage at 4°C. The strains of probiotics used in this work were *Lactobacillus casei* (PTCC 1608), *Lactobacillus acidophilus* (PTCC 1643) and *Bifidobacterium bifidum* (PTCC 1644). The results displayed that the surviving population of *L. casei* cells entrapped with 0.05% (w/v) thymus extract were significantly higher than those encapsulated with eucalyptus and ziziphora extracts, after storage for 30 days. Accordingly, this level of thymus extract was selected to immobilize the cultures before inoculation in to fruit juices, in order to comparison with green tea extract. Upon storage, thymus and green tea extracts noticeably improved the stability of probiotic beads in all the products, as compared to the controls. Encapsulated *L. casei* and *L. acidophilus* showed better survival than encapsulated *B. bifidum*.

**Keywords:** Fruit Juice, Probiotic Bacteria, Microencapsulation, Survival, Green Tea

---

\*Corresponding Author: [a.babaei@sheffield.ac.uk](mailto:a.babaei@sheffield.ac.uk)