Jundishapur
Scientific Medical Journal

November & December 2022. Vol 21. No 5

Research Paper

Preparing a Synbiotic Jelly Product Using Wild Sage Seed Mucilage, Carrageenan, and Free and Encapsulated *Lactobacillus Casei* Bacteria

Homeyra Nasiri Reneh[1],*Leila Golestan[1], Seyed-Ahmad Shahidi[2], Pegah Darjani[3]

1. Department of Food Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
3. Zistfanavaran Salamatgostar Tabarestan Company, Simorgh Incubator, Mazandaran Science and Technology Park, Kiakola, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Nasiri Reneh H, Golestan L, Shahidi SA, Darjani P. [Preparing a Synbiotic Jelly Product Using Wild Sage Seed Mucilage, Carrageenan, and Free and Encapsulated Lactobacillus Casei Bacteria (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(5):674-687. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2573

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2573

ABSTRACT

Background and Objectives Synbiotic foods have beneficial effects on the health. This study aims to evaluate the survival of *Lactobacillus casei (L. casei)* bacteria in the jelly containing sage seed mucilage and carrageenan.

Subjects and Methods In this study, after extracting the mucilage from wild sage seed, its 1% concentration and 2% sodium alginate (Carrageenan), as an encapsulating material, were used to protect *L. casei* bacteria. In this regard, five groups of jelly samples were prepared: Carrageenan alone, carrageenan + wild sage seed mucilage, carrageenan+wild sage mucilage+free *L. casei*, carrageenan+free *L. casei,* and carrageenan+carrageenan+encapsulated *L. casei*. The pH and acidity of the produced jelly samples were evaluated during 28 days of storage at 4°C.

Results During 28 days of storage, the log reduction of the logarithmic cycle in the carrageenan+wild sage seed mucilage+encapsulated *L. casei* group (1.9±0.01) was significantly lower than in the carrageenan + free *L. casei* group (4.08±0.1). The log number of remaining encapsulated *L. casei* group bacteria at the end of 28 days was higher than the standard limit (6.65±0.2). The presence of mucilage in the jelly led to an increase in the viability of free *L. casei* bacteria (3.09±0.21). In the samples containing free *L. casei* bacteria, acidity increased and pH decreased significantly during the storage period (P<0.05), while in samples containing encapsulated probiotics, changes in acidity and pH during storage were not significant (P>0.05).

Conclusion Prebiotic bacteria can survive better in the encapsulated form. The addition of sage seed mucilage, can increases the survival of *L. casei* bacteria in the jelly during 28 days of storage.

Keywords Jelly, *Lactobacillus casei*, Sage seed mucilage, Encapsulation

Received: 11 Jul 2021
Accepted: 08 Sep 2021
Available Online: 22 Nov 2022

**** Corresponding Author:***
Leila Golestan, Associate Professor.
Address: Department of Food Hygiene, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran.
Tel: +98 (912) 7098640
E-Mail: golestan57@yahoo.com

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Extended Abstract

Introduction

Functional food ingredients, including probiotics, vitamins, and minerals, have beneficial effects on the health. Supplementation with probiotics has a role in the gut microbiota composition. Probiotic bacteria also protect the intestinal barrier function against pathogenic microorganisms. The survival of probiotics during storage depends on several factors, including the probiotic strain, physicochemical characteristics of the food matrix, oxygen content, acidity of the product, and storage conditions. Therefore, in order to ensure the known health benefits, foods must contain sufficient amounts of live probiotics at the time of consumption. To maintain the viability of the probiotics in food products, the microencapsulation technique has been proposed as a suitable method. In this method, a coating material formed around the probiotic bacteria acts a physical barrier against harmful storage conditions and thereby improve their survival.

In recent years, many studies have focused on expanding the production of foods enriched with probiotics. Currently, *Lactobacillus casei* (*L. casei*) bacteria are successfully used in drink powders, fermented milk, ice creams, and fruit juices [4, 5, 10, 11]. However, none of these studies have evaluated the effect of combining sage seed mucilage with sodium alginate (carrageenan) on the survival of *L. casei* bacteria in jelly. This study thus aims to evaluate the potential of jelly as a food matrix for *L. casei* bacteria. Therefore, in the present study, a probiotic jelly was first produced. Then, the survival of free and encapsulated probiotics, as well as the pH and acidity of the jelly, were assessed.

Methods

Samples were prepared in three main stages. In the first stage, 40 g of sage seeds (purchased from the local markets in Mashhad, Iran) were immersed in water (25°C, pH 5.5) for 20 minutes. The water-to-seed ratio was 51:1. A laboratory extractor (Model 412, Pars Khazar Co., Iran) was used to separate the mucilage from the seeds. The impurities in the collected crude mucilage were separated by centrifugation at 7200 rpm for 10 minutes. The mucilage was finally dried in a 70°C oven, milled, and kept in a desiccator (0% RH) at a temperature of 4°C until use. Next, *L. casei* bacteria (Nutrish® L. CASEI 431, Chr. Hansen, Horsholm, Denmark) were encapsulated in the presence of a 2% sodium alginate solution (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, Missouri, USA) and 1% sage seed mucilage, and stored at 4°C. In the next step, according to Table 1, jellies were prepared using a mixture of carrageenan (3%), sugar (16%), sodium citrate (2%), and citric acid (2%). *L. casei* was inoculated into the hot jellies before pregelation in the following forms: free or non-encapsulated and encapsulated. Each group contained a final concentration of 1011 CFU/g of jelly. The study samples were all incubated at 4°C for 28 days. The survival of probiotic bacteria, pH, and acidity of the samples were measured on days 7, 14, 21, and 28.

Results

The viability of probiotic bacteria after 28 days of storage in the encapsulated form was higher than the minimum recommended limit of 6 logs CFU/g. These results indicate that the micro-encapsulated wall (sage seed mucilage and sodium alginate can effectively protect probiotic bacteria against adverse environmental factors. At the end of 28 days, the number of free live probiotic bacteria in the jelly containing mucilage was higher than in the jelly without mucilage. This suggests that the sage seed

Table 1. Formula of jelly samples

Sample code	Carrageenan	Sugar (%)	Citric acid (%)	Sodium citrate (%)	WSSM (%)	L. casei (CFU/g)
C (Carrageenan)	3	16	0.2	0.2	0	0
CW (C+WSSM)	3	16	0.2	0.2	1	0
CWF (C+WSSM+Free Lactobacillus Casei)	3	16	0.2	0.2	1	10^{11}
CF (C+Free Lactobacillus Casei)	3	16	0.2	0.2	0	10^{11}
CE (C+Encapsulated Lactobacillus Casei)	3	16	0.2	0.2	0	10^{11}

WSSM: wild sage seed mucilage; C: carrageenan

Jundishapur
Scientific Medical Journal

Table 2. The viability of Lac.Casei (Log cfu/gr)

Sample / Days	Mean±SD					Log reduction
	1	7	14	21	28	
CF	9.35±0.07[a]	8.45±0.05[a]	7.82±0.17[a]	6.65±0.21[a]	5.27±0.03[a]	4.08±0.1[a]
CWF	9.75±0.14[a]	8.77±0.1[ab]	8.25±0.06[a]	7.3±0.14[ab]	5.85±0.07[b]	3.9±0.21[a]
CE	8.55±0.21[b]	8.32±0.21[b]	8.17±0.03[a]	7.52±0.1[b]	6.65±0.2	1.9±0.01[a]

[a-b] Different letters in a column indicate a significant difference (P<0.05).

Jundishapur
Scientific Medical Journal

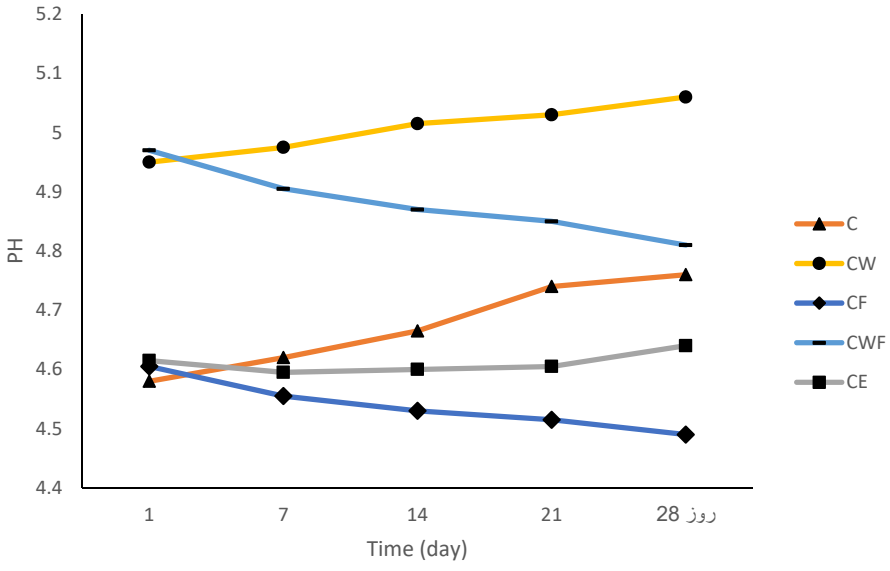


Figure 1. pH changes during the storage period

Jundishapur
Scientific Medical Journal

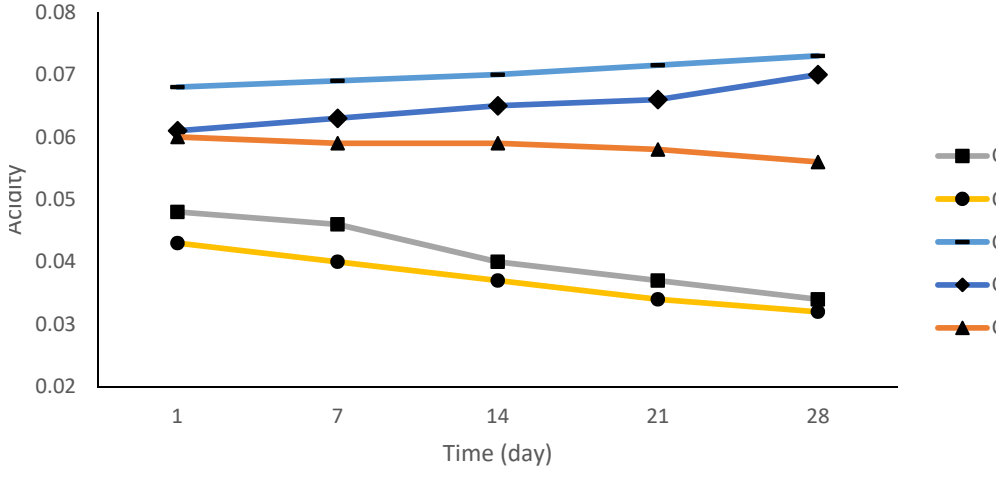


Figure 2. Acidity changes during the storage period

Jundishapur
Scientific Medical Journal

mucilage acts as a prebiotic compound and promotes the growth and survival of probiotic bacteria. Wild sage seed mucilage (WSSM), which is a galactomannan with a rigid and rod-like shape, could be a suitable choice as a prebiotic (Table 2).

As shown in Figure 1 and Figure 2, the pH and acidity of the samples ranged from 5.00 to 5.641 and from 0.073 to 0.032, respectively. Furthermore, in the samples containing free *L. casei* bacteria, the pH decreased and the acidity increased significantly during storage ($P<0.05$), while non-significant changes in pH and acidity during storage were detected in samples containing encapsulated probiotics ($P>0.05$)

Conclusion

Logarithmic reduction in the jelly sample containing sodium alginate, sage mucilage, and encapsulated *L. Casei* was significantly less than the samples with free *L. Casei*. The combination of sage mucilage and sodium alginate provided a stable protective barrier around probiotic bacteria in adverse conditions. It also improved the survival and viability of probiotic bacteria up to a desired limit (CFU/mL 107-106). Addition of sage seed mucilage improved the viability of non-encapsulated *L. Casei* during storage and created a beneficial combination of probiotics and prebiotics (synbiotic) in the jelly. In conclusion, the use of prebiotic compounds such as sage seed mucilage, in addition to having nutritional and health benefits, can increases the survival of probiotic bacteria in the jelly during storage. These findings demonstrate the potential of jelly as a food matrix for probiotic supplementation containing *L. casei* bacteria. The encapsulation method is suggested as a suitable approach for protecting probiotics in the jelly matrix during storage.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

In this study, living beings such as animals were not used; there for no action was taken to obtain the code of ethics.

Funding

This research did not receive any specific grant from agencies in the public commercial, or, not for profit sectors.

Authors contributions

The authors contributed equally to preparing this paper.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

This Page Intentionally Left Blank

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور
آذر و دی ۱۴۰۱. دوره ۲۱. شماره ۵

مقاله پژوهشی

تولید ژله سین‌بیوتیک با استفاده از موسیلاژ دانه مرو و باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی آزاد و کپسوله‌شده

حمیرا نصیری رینه[۱]، *لیلا گلستان[۱] سید احمد شهیدی[۲]، پگاه درجانی[۳]

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران.
۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت‌الله آملی، آمل، ایران.
۳. شرکت زیست فناوران سلامت گستر طبرستان، مرکز رشد سیمرغ، پارک علم و فناوری مازندران، کیاکلا، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Nasiri Reneh H, Golestan L, Shahidi SA, Darjani P. [Preparing a Synbiotic Jelly Product Using Wild Sage Seed Mucilage, Carrageenan, and Free and Encapsulated Lactobacillus Casei Bacteria (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(5):674-687. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2573

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.5.2573

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف غذاهای فراسودمند، اثرات مفیدی بر سلامت میزبان دارند. هدف از این مطالعه ارزیابی پتانسیل ژله به‌عنوان یک ماتریکس غذایی برای باکتری لاکتوباسیلوس کازئی است.

روش بررسی در این مطالعه پس از استخراج موسیلاژ دانه مرو، غلظت ۱ درصد آن در ترکیب با آلژینات ۲ درصد، به‌عنوان یک ماده کپسوله‌کننده برای محافظت از باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی استفاده شد. پس از آن تیمارهای مختلفی از ژله آماده بر پایه کاراگینان تولید و زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به شکل کپسوله و یا به‌صورت آزاد همراه و بدون حضور موسیلاژ مرو و همچنین pH و اسیدیته ژله تولیدشده، طی ۲۸ روز ذخیره‌سازی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ارزیابی شد.

یافته‌ها طی ۲۸ روز ذخیره‌سازی ژله، کاهش سیکل لگاریتمی لاکتوباسیلوس کازئی به شکل کپسوله (۱/۹۰±۰/۰۱) به‌طور معناداری کمتر از فرم آزاد بود (۴/۰±۰۸/۱)، تعداد لگاریتم باکتری کپسوله باقیمانده در پایان ۲۸ روز بالاتر از حد استاندارد بود (۶۵/۲±۶/۰). البته حضور موسیلاژ در ژله به افزایش زنده‌مانی باکتری به فرم آزاد منجر شد (۳/۰±۰۹/۲۱). در نمونه‌های حاوی باکتری آزاد، اسیدیته به‌طور قابل‌توجهی در طول دوره ذخیره‌سازی افزایش و pH کاهش یافت (P<۰/۰۵)، درحالی‌که در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌های کپسوله، تغییرات اسیدیته و pH طی انبارمانی ناچیز بود (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری این نتایج حاکی از زنده‌مانی خوب پروبیوتیک‌ها در شکل ریزپوشانی است و افزودن موسیلاژ دانه مرو به ژله‌ها، بقای پروبیوتیک‌ها را طی ۲۸ روز ذخیره‌سازی به‌طور قابل‌توجه بهبود می‌بخشد.

کلیدواژه‌ها ژله، لاکتوباسیلوس کازئی، موسیلاژ مرو، ریزپوشانی

تاریخ دریافت: ۲۰ تیر ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۱۷ شهریور ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۰۱ آذر ۱۴۰۱

* **نویسنده مسئول:**
دکتر لیلا گلستان
نشانی: آمل، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌الله آملی، گروه بهداشت مواد غذایی.
تلفن: ۷۰۹۸۶۴۰ (۹۱۲) ۹۸+
رایانامه: golestan57@yahoo.com

مقدمه

امروزه، تقاضای فزاینده‌ای برای دریافت محصولات غذایی فراسودمند و سالم ازجمله فراورده‌های پروبیوتیک، افزایش یافته است [۱، ۲]. شناخت هرچه بیشتر فناوری‌ها و ترکیبات غذایی، می‌تواند دریچه‌های بیشتری را در جهت تأمین نیازهای غذایی بگشاید و پاسخ مناسبی به تقاضای بازار دهد و موجب ارتقای سطح سلامتی جامعه شود [۳].

به گفته میراندا و کوستا [۴] و طالب‌زاده و شریفان [۵]، محصولات قنادی مانند ژله و آب‌نبات، ماتریس‌های غذایی هستند که به‌دلیل محبوبیت در بین مصرف‌کنندگان، برای افزودن مواد کاربردی مانند ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و پروبیوتیک‌ها مناسب هستند. پروبیوتیک‌ها به‌عنوان میکروارگانیسم‌های زنده تعریف می‌شوند که اگر در مقادیر کافی (۱۰^{۶} تا ۱۰^{۸}) مصرف شوند، همراه با اثرات سلامت‌بخشی برای میزبان هستند [۶].

رایج‌ترین پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی، گونه‌هایی از جنس لاکتوباسیلوس و بیفدوباکتر هستند. از خواص سلامت‌بخشی پروبیوتیک‌ها، می‌توان به بهبود هضم لاکتوز، بهبود جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها و پروتئین‌ها، تحریک و ارتقای سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول سرم خون، کاهش علائم آلرژیک، جلوگیری از انواع سرطان به‌ویژه سرطان روده بزرگ، بهبود تعادل میکروبی روده، جلوگیری از رشد و فعالیت میکروب‌های بیماری‌زا، افزایش ارزش تغذیه‌ای اشاره کرد [۷-۹].

در سال‌های اخیر، تحقیقات روزافزونی در گسترش تولید محصولات غذایی غنی‌شده با پروبیوتیک‌ها متمرکز شده است. هم‌اکنون، باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی با موفقیت در پودرهای نوشیدنی [۱۰]، شیر تخمیرشده [۱۱]، بستنی‌ها [۱۲] و آب‌میوه‌ها [۱۳-۱۵] مورد استفاده قرار می‌گیرند که نشان‌دهنده زنده‌مانی خوب آن‌ها در این ماده غذایی است. بااین‌حال، هیچ اطلاعاتی درمورد بقای باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی در ژله قابل‌دسترسی نیست.

گزارش شده است که تعداد زیادی از باکتری‌های اضافه‌شده به محصولات غذایی، طی دوره نگهداری آن‌ها، زنده نمی‌مانند و بنابراین نمی‌توانند مزایای سلامتی را برای مصرف‌کننده ایجاد کنند [۸].

همان‌طور که ریورا-اسپینوزا و گالاردو-ناوارو [۱۶] بیان کردند، زنده ماندن پروبیوتیک در طول ذخیره‌سازی محصولات غذایی، به تعدادی از عوامل ازجمله سویه پروبیوتیک، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ماتریکس غذا، مقدار اکسیژن، اسیدیته محصول و همچنین شرایط ذخیره‌سازی بستگی دارد. بنابراین، برای اطمینان از فواید شناخته‌شده سلامتی، غذاها باید در زمان مصرف، حاوی تعداد کافی پروبیوتیک‌های زنده باشند [۱۷].

برای حفظ قابلیت زنده ماندن پروبیوتیک‌های اضافه‌شده، تکنیک ریزپوشانی به‌عنوان یک روش مناسب، برای محافظت از آن‌ها پیشنهاد می‌شود [۱۲، ۱۶]. در این روش، مواد دیواره‌ای تشکیل‌شده در اطراف باکتری‌های پروبیوتیک، سد فیزیکی در برابر شرایط ذخیره‌سازی مضر ایجاد می‌کنند؛ بنابراین بقای آن‌ها را بهبود می‌بخشد [۸، ۱۸]. آلژینات سدیم به‌دلیل کم‌هزینه بودن و غیرسمی بودن، متداول‌ترین ماده‌ای است که برای کپسوله‌سازی پروبیوتیک‌ها در محصولات غذایی استفاده می‌شود. بااین‌حال، پایداری کم آن، استفاده از آن را محدود کرده است [۳]. برای افزایش پایداری میکروکپسول‌های آلژینات سدیم و درنتیجه کاهش تلفات باکتری‌های پروبیوتیک محصورشده، ترکیب آلژینات سدیم را با سایر هیدروکلوئیدهای مناسب مطرح کردند.

همان‌طور که در مطالعه نصیری گزارش شده است، ترکیب آلژینات سدیم با موسیلاژ دانه مرو توانست بر ثبات آلژینات به‌عنوان ماده دیواره‌ای و بنابراین، بقای باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی[1] به‌طور قابل‌توجهی مؤثر باشد. همان‌طور که نصیری و همکاران گزارش کرده‌اند، ترکیب آلژینات با موسیلاژ دانه مریم‌گلی وحشی[2] می‌تواند به‌طور مؤثر ثبات آلژینات را به‌عنوان ماده دیواری بهبود بخشد و بنابراین، بقای لاکتوباسیلوس کازئی را به‌طور قابل‌توجهی بهبود می‌بخشد. این موسیلاژ یک گالاکتو مانان است و پس از تورم در آب از دانه مرو استخراج می‌شود [۱۹].

بااین‌حال تا به امروز، گزارشی درمورد ارزیابی اثر ترکیب موسیلاژ دانه مرو با آلژینات سدیم به‌عنوان مواد دیواره‌ای، برای بقای پروبیوتیک‌های محصورشده، در ژله‌ها ارائه نشده است. باتوجه‌به دانش ما، هیچ تحقیقی در تلاش نبوده است که ترکیب کازئی را که با آلژینات و مریم‌گلی وحشی محصور شده است، به‌عنوان مواد دیواری در ژله‌ها ترکیب کند. بنابراین در مطالعه حاضر، در ابتدا محصول ژله‌ای پروبیوتیک تولید و سپس زنده‌مانی پروبیوتیک‌های آزاد و محصورشده و میزان pH، اسیدیته ژله در طی ذخیره‌سازی در ۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۸ روز بررسی شد.

روش بررسی

این مطالعه از نوع آزمایشگاهی است.

مواد شیمیایی و مواد مورداستفاده

باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی لیوفیلیز[3] مورد استفاده در این پژوهش، از کریستین هانسن (Horsholm, Denmark) خریداری شدند. دانه‌های مرو که به‌عنوان مواد خام برای استخراج موسیلاژ استفاده می‌شوند از بازار محلی مشهد، استان خراسان

1. L. casei
2. Wild Sage Seed Mucilage (WSSM)
3. Nutrish® L. casei 431®

رضوی، ایران تهیه شد. آلژینات سدیم از سیگما آلدریچ (سنت لوئیس، میسوری، ایالات متحده آمریکا)، خریداری شدند. سایر مواد، مانند محیط کشت آگار MRS[4] نمک صفراوی، آب پپتون، کاراگینان، روغن کانولا و امولسیفایر توین ۸۰، کلسیم کلرید، گلاسیال اسید استیک، هیدروکسید سدیم، سدیم سیترات، کلرید سدیم، مونو پتاسیم فسفات (KH_2PO_4)، گلیسرول، اسید استیک، هیدروکسید سدیم و اسید هیدروکلریک، توسط شرکت مرک آلمان (Darmstadt,Germany) تهیه شدند.

استخراج موسیلاژ دانه مرو

موسیلاژ دانه مرو از دانه مرو با به‌کار بردن روش بستان و همکاران استخراج و آماده شد [۲۰]. در ابتدا دانه‌ها به‌صورت دستی تمیز شدند تا کلیه مواد خارجی مانند گردوغبار، دود و سنگ از آن پاک شود. سپس ۴۰ گرم از دانه با آب ۲۵ درجه سانتی‌گراد در pH=۵/۵ و نسبت آب به دانه ۱:۵۱ (حجمی به وزنی) به‌مدت ۲۰ دقیقه مخلوط شدند. برای تنظیم درجه حرارت از یک حمام آب که دمای آن در ۲۵ درجه سلسیوس تنظیم شده بود، استفاده شد. pH آن ازطریق سود، اسید کلریدریک ۰/۱ نرمال تنظیم شد. پس از ۲۰ دقیقه، با عبور این مواد از دستگاه اکستراکتور آزمایشگاه (مدل ۴۱۲، شرکت پارس خزر، ایران)، موسیلاژ جدا شد و سپس برای جمع‌آوری ناخالصی‌های موجود در صمغ خام از سانتریفیوژ (۷۲۰۰ دور در دقیقه) به‌مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. صمغ به‌دست‌آمده، سرانجام در کوره ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و آسیاب شد و تا زمان استفاده در دیسیکاتور (صفر درصد RH) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

آماده‌سازی سوسپانسیون پروبیوتیک

برای ساخت سوسپانسیون باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی، ۱۰۰ میلی‌لیتر آبگوشت آگار MRS توسط ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریایی تلقیح و در شرایط هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۶ تا ۱۸ ساعت (فاز لگاریتمی) انکوبه شد. پروبیوتیک‌ها با سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) به‌مدت ۵ دقیقه برداشت شد و سپس با محلول استریل پپتون (۰/۱ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) شست‌وشو شدند [۱].

ریزپوشانی باکتری پروبیوتیک با آلژینات و موسیلاژ دانه مرو

میکروکپسولاسیون باکتری لاکتوباسیلوس کازئی براساس تکنیک امولسیون توصیف‌شده توسط شفیع‌زاده و همکاران انجام شد [۸]. قبل از شروع فرایند کپسول‌سازی، تمام ظروف و محلول‌های شیشه‌ای موردنیاز برای حدود ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. سپس یک محلول ۲ درصد آلژینات سدیم تهیه و ۱ درصد از باکتری‌های فعال‌شده با آن مخلوط شدند. سپس نمونه‌های حاوی ۱ درصد موسیلاژ دانه مرو به‌صورت جداگانه به محلول‌های آماده آلژینات سدیم اضافه شد و در مرحله بعد مخلوط حاصل در روغن کانولا (۲۰۰ میلی‌لیتر) حاوی ۰/۰۵ درصد امولسیفایر (توئین ۸۰) اضافه شد و تا ایجاد امولسیون‌های رنگ سفید به‌شدت هم زده و مخلوط شد. سپس ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول کلرید کلسیم ۰/۱۵ مولار با استفاده از پیپت به کناره بشر به‌آرامی اضافه شد و حدود ۲۰ دقیقه با شدت هم زده شد تا اینکه امولسیون به ۲ فاز جدا تبدیل شد (فاز سوسپانسیونی و امولسیون روغن و آب). برای جدا کردن آلژینات کلسیم، محیط ۳۰ دقیقه به حال خود گذاشته شد تا دانه‌های آلژینات کلسیم جدا شود و در بشر رسوب کنند. سپس فاز روغن رویی برداشته و فاز آبی به‌وسیله کاغذ صافی واتمن نمره ۴۲ جدا و جمع‌آوری شد. کپسول‌ها با استفاده از محلول سالین ۰/۹ درصد شست‌وشو و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ذخیره شدند.

تهیه ژله

ژله‌ها با استفاده از گرانول شکر، کاراگینان، سیترات سدیم و اسیدسیتریک موجود در مقادیر ارائه‌شده در جدول شماره ۱ تهیه شدند. برای نمونه‌های حاوی موسیلاژ دانه مرو، ۱ درصد از این صمغ

4. Man, Rogosa, Sharpe

جدول ۱. فرمول نمونه‌های ژله

کد نمونه	نمونه	کاراگینان(%)	شکر(%)	اسیدسیتریک(%)	سیترات سدیم (%)	WSSM (%)	L. casei (CFU/g)
C	کاراگینان	۳	۱۶	۰/۲	۰/۲	۰	۰
CW	کاراگینان+موسیلاژ دانه مرو	۳	۱۶	۰/۲	۰/۲	۱	۰
CWF	کاراگینان+موسیلاژ دانه مرو+ لاکتوباسیلوس کازئی آزاد	۳	۱۶	۰/۲	۰/۲	۱	$۱۰^{۱۱}$
CF	کاراگینان+ لاکتوباسیلوس کازئیآزاد	۳	۱۶	۰/۲	۰/۲	۰	$۱۰^{۱۱}$
CE	کازئین+ لاکتوباسیلوس کازئی کپسوله شده	۳	۱۶	۰/۲	۰/۲	۰	$۱۰^{۱۱}$

به محلول کاراگینان اضافه شد. سپس مخلوط ۲۰ تا ۳۰ دقیقه تا دمای ۸۰ تا ۸۵ گرم شد. pH نهایی توسط اسیدسیتریک در حدود ۳ تا ۴ تنظیم شد. برای نمونه‌های حاوی پروبیوتیک، باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی (به‌صورت آزاد و محصورشده) قبل از ژل شدن در ژله‌های داغ تلقیح شدند. این نمونه‌ها حاوی غلظت نهایی 10^{11} کلنی/ گرم[5] بودند.

سرانجام نمونه‌ها با حرارت حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد درون شیشه‌های بهداشتی پر شدند و به‌مدت ۴ هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای نمونه‌های حاوی پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی (به‌صورت آزاد و محصورشده) قبل از ژل شدن در ژله‌های داغ تلقیح شد. زنده‌مانی پروبیوتیک‌های آزاد و محصورشده، میزان pH و اسیدیته ژله بررسی شدند [۵، ۱۹].

ارزیابی زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی

تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ ذخیره‌سازی ژله، تعیین شد. برای این منظور، ۲۵ گرم از هر نمونه ژله در ۲۲۵ میلی‌لیتر آب پپتون استریل ۰/۱ درصد حل شد و با همان رقیق‌کننده در رقت‌های سریال قرار گرفت. عمل رقت‌سازی با افزودن ۱ سی‌سی از هر رقت به ۹ سی‌سی آب پپتونه استریل صورت گرفت. جهت کشت سطحی، ۰/۱ سی‌سی از هر رقت بر روی محیط کشت آگار MRS تلقیح شد و ازطریق اسید استیک گلاسیال، pH آن به ۵/۴ رسید و سپس به‌صورت هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه شد. سپس پلیت‌های حاوی ۳۰۰ پرگنه ازطریق پور پلیت شمارش و اندازه‌گیری‌ها در ۳ مرتبه انجام شد [۲۱].

بررسی pH دسر ژله‌ای

برای تعیین pH نمونه‌ها، از دستگاه pH متر استفاده شد. pH متر قبل از استفاده با محلول‌های بافر استاندارد با pH=۴ و pH=۷ کالیبره شد. pH ژله‌ها در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ اندازه‌گیری شد (دستگاه pH متر مدل jenway 3505 ساخت انگلستان) [۲۱].

5. CFU/g

اندازه‌گیری اسیدیته دسر ژله‌ای

اسیدیته با استفاده از تیتراسیون با محلول ۰/۱ نرمال سود با به‌کار بردن روش والنسیا و سالاگادو [۲۱] براساس اسید لاکتیک تعیین شد.

تحلیل آماری

آزمایش‌ها در یک طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. داده‌ها براساس تجزیه‌وتحلیل واریانس یک‌طرفه[6] (آنووا) با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب نسخه ۱۹ مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی[7] در سطح معناداری ۵ درصد مقایسه شدند.

یافته‌ها

جدول شماره ۲، تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی آزاد و انکپسوله‌شده را در ژله نشان می‌دهد. با مقایسه زنده‌مانی لاکتوباسیلوس کازئی آزاد و انکپسوله شده نقش و تأثیر ریزپوشانی در طی ۲۸ روز نگهداری قابل‌ملاحظه است (P<۰/۰۵). باتوجه‌به یافته‌ها، پروبیوتیک‌های انکپسوله‌شده، زنده‌مانی بیشتری را در مقایسه با حالت آزاد نشان داده‌اند.

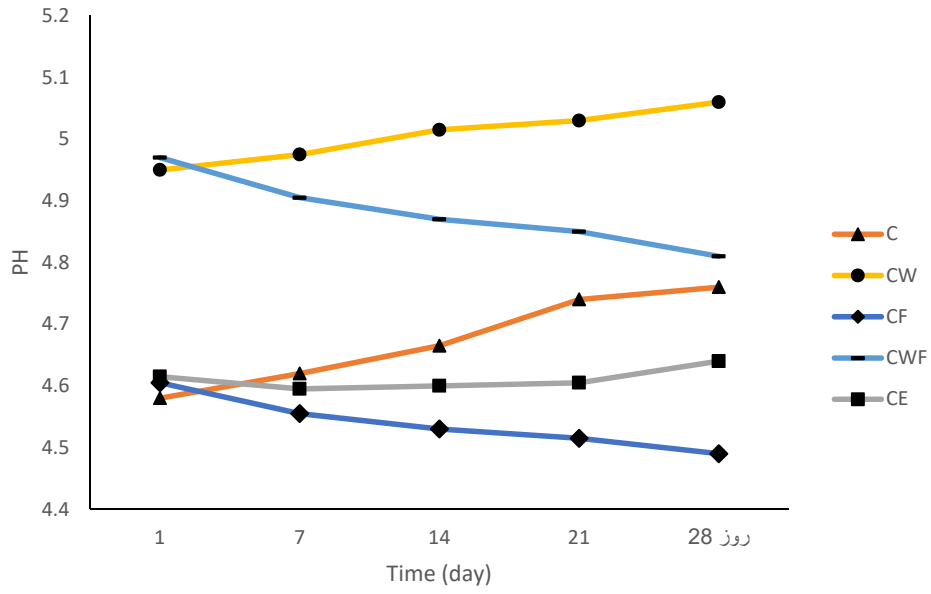
تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده پس از ۲۸ روز ذخیره‌سازی در ژله انکپسوله‌شده از حداقل حد مجاز توصیه‌شده (6 logs CFU/g) بیشتر بود. این نتایج حاکی از آن است که دیواره ریزپوشانی (موسیلاژ دانه مرو و آلژینات سدیم) می‌توانند به‌خوبی از باکتری‌های پروبیوتیک در برابر عوامل محیطی نامساعد محافظت کنند. در پایان ۲۸ روز، تعداد باکتری‌های آزاد پروبیوتیک زنده در ژله حاوی موسیلاژ[8] بیشتر از ژله بدون موسیلاژ[9] بود که این امر نشان می‌دهد که موسیلاژ دانه مرو به‌عنوان ترکیب پریبیوتیک در رشد و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نقش دارد.

6. ANOVA
7. Tukey
8. CWF
9. CF

جدول ۲. میزان زنده‌مانی باکتری‌ها (Log cfu /ml) در نمونه‌های ژله CWF، CFو CE طی دوره نگهداری در یخچال 4°C در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸

نمونه / روز	میانگین±انحراف‌معیار					
	۱	۷	۱۴	۲۱	۲۸	کاهش سیکل
CF	۹/۰±۳۵/۰۷ [a]	۸/۰±۴۵/۰۵ [a]	۰/۱۷±۷/۸۲[a]	۰/۲۱±۶/۶۵[a]	۰/۰۳±۵/۲۷[a]	۰/۱۰±۴/۰۸[a]
CWF	۰/۱۴±۹/۷۵ [a]	۰/۱۰±۸/۷۷[ab]	۰/۰۶±۸/۲۵[a]	۰/۱۴±۷/۳[ab]	۰/۰۷±۵/۸۵[b]	۰/۲۱±۳/۹[a]
CE	۸/۰±۵۵/۲۱ [b]	۰/۰۲±۸/۳۲[b]	۰/۰۳±۸/۱۷[a]	۰/۱۰±۷/۵۲[b]	۰/۲۰±۶/۶۵	۰/۰۱±۱/۹ [a]

[a-b]حروف متفاوت در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنادار (P<۰/۰۵)



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

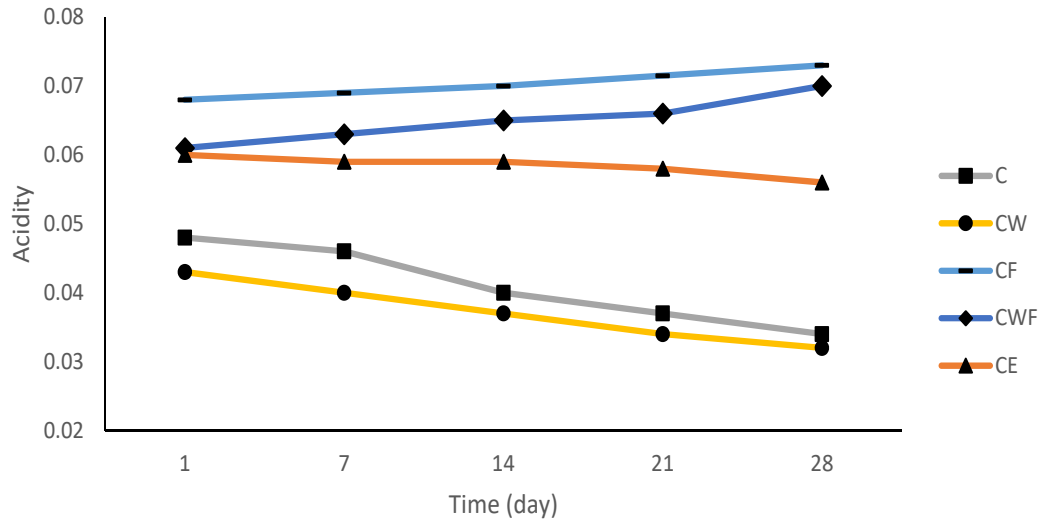
تصویر۱. pH در نمونه‌های ژله CWF ،CF ،CW ،C و CE طی دوره نگهداری در یخچال 4°C در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸

pH و اسیدیته

براساس نتایج این تحقیق، میانگین و انحراف‌معیار مقادیر pH و اسیدیته نمونه‌های ژله پروبیوتیک طی دوره نگهداری در یخچال در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ پس از تولید در تصاویر شماره ۱ و ۲ نشان داده شده است. باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر، pH و میزان اسیدیته نمونه‌ها به‌ترتیب بین ۵/۰۰ تا ۶/۴۱ و ۰/۰۷۳ تا ۰/۰۳۲ بود. علاوه‌براین، در نمونه‌های حاوی باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی آزاد، مقدار pH کاهش یافته و میزان اسیدیته به‌طور قابل‌توجهی در طول دوره ذخیره‌سازی افزایش یافته است (P<۰/۰۵)، درحالی‌که در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌های محصورشده، تغییرات pH و اسیدیته در طول ذخیره‌سازی ناچیز تشخیص داده شد (P>۰/۰۵).

بحث

تحقیق حاضر، در ادامه تحقیقات سال‌های اخیر و با هدف ارزیابی محصول سلامت بخش، مطابق با ذائقه ایرانی طراحی و انجام شد. درنهایت سعی بر آن بود که ژله‌ای عمل‌گرا با خواص کیفی مطلوب تولید شود. بهبود بقای باکتری‌های پروبیوتیک انکپسوله‌شده با مواد دیواره‌ای موسیلاژ دانه مرو و آلژینات سدیم در مقایسه با حالت آزاد در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴



مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

تصویر ۲. اسیدیته در نمونه‌های ژله CWF ،CF ،CW C و CE طی دوره نگهداری در یخچال 4°C در روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸

درجه سانتی‌گراد را می‌توان به‌دلیل اثر تحریکی موسیلاژ دانه مرو در رشد باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی دانست. همان‌طورکه توسط بستان و همکاران [۲۰] گزارش شد، موسیلاژ دانه مرو عمدتاً حاوی کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، خاکستر، پروتئین‌ها و فیبر خام است که می‌تواند به‌عنوان منابع کربن برای پروبیوتیک‌ها عمل کند و دوام آن‌ها را بهبود بخشد.

نتایج حاصله از این بررسی با مطالعات متعددی هم‌خوانی دارد. دوکوهکی و سخاوتی‌زاده [۲۲] گزارش کردند که ریزپوشانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس رامنوس با استفاده از موسیلاژ دانه گلابی به‌عنوان مواد دیواره‌ای، موجب افزایش زنده‌مانی باکتری‌های مزبور در دسر لبنی شد و جمعیت پروبیوتیک‌ها در طی ۲۱ روز ذخیره‌سازی در ۴ درجه سانتی‌گراد بیش‌ازحد مجاز (log CFU/g 6) بود.

اثر مثبت کربوهیدرات‌های طبیعی مانند موسیلاژ بذر کتان [۲، ۲۳]، اینولین [۱]، آرابینوکسیلان [۲۴]، صمغ گوار [۲۰] بر زنده ماندن پروبیوتیک‌های مختلف نیز قبلاً گزارش شده است.

اسماعیل و همکاران [۲۳] گزارش کردند پروبیوتیک‌ها در pH و دمای پایین، دچار آسیب می‌شوند و استفاده بهینه آن‌ها از مواد مغذی محدود می‌شود. این مطالعه با اتخاذ رویکرد استفاده از صمغ آلژینات-زانتان پوشش داده‌شده با کیتوزان باعث افزایش زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتروم (LAB12) در ۴ درجه سانتی‌گراد شد.

مانی لوپز و جیمنز-هرناندز [۲۵] مقادیر ۴/۳ تا ۴/۴۴ pH را برای دسرهای ژلاتین انبه غنی‌شده با میکروکپسول‌های لاکتوباسیلوس فرمنتوم گزارش کردند. افزایش اسیدیته نمونه‌های حاوی پروبیوتیک آزاد را می‌توان با توانایی تولید اسید توسط باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی توضیح داد. سایر محققان نیز کاهش pH را هنگام افزودن باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس به دسرهای حاوی هیدروکلوئید مشاهده کردند. کوره و کاسترو [۲۶] ازطریق نارگیل اضافه‌شده به سلول‌های لاکتوباسیلوس پارا کازئی در طی ۲۸ روز کاهش قابل‌توجهی (P<۰/۰۵) در pH مشاهده کردند. آن‌ها این کاهش pH را به فعالیت متابولیکی لاکتوباسیلوس پارا کازئی نسبت دادند. کاهش معنادار pH برای پودینگ‌های کاکائو اضافه‌شده به سلول‌های آزاد لاکتوباسیلوس کازئی در طی ۲۵ روز ذخیره‌سازی گزارش شد [۲۷].

طالب‌زاده و شریفان [۵] گزارش کردند باکتری‌های پروبیوتیک آزاد قادر به مصرف کربوهیدرات و تولید اسیدهای آلی هستند. بنابراین در هنگام ذخیره‌سازی، pH کاهش می‌یابد. این پدیده به‌دلیل آنزیم‌های ترشح‌شده از سلول‌های پروبیوتیک مرده است و به‌تدریج تشدید می‌شود. ازاین‌رو میکروکپسولاسیون باکتری‌های پروبیوتیک می‌تواند فعالیت متابولیکی آن‌ها را کاهش دهد و با گذشت زمان از محصولات با ثبات بیشتری محافظت کند. این نتیجه قبلاً توسط شوجی و اولیویرا [۲۸] پشتیبانی شد که در آن لاکتوباسیلوس‌های اسیدوفیلوس کپسوله‌شده توسط پکتین و کازئین در مقایسه با باکتری‌های آزاد موجب تولید اسیدیته کمتر در ماست شدند.

داده‌های تصویر شماره ۲ نشان می‌دهد نمونه‌های حاوی کاراگینان+موسیلاژ+باکتری آزاد در مقایسه با نمونه‌های شاهد و کاراگینان+موسیلاژ به‌طور قابل‌توجهی دارای مقدار اسیدیته بالاتری (به‌دلیل تولید اسید توسط باکتری‌های آزاد) بودند (P<۰/۰۵). باتوجه‌به اینکه تغییرات pH معنادار نبود، این امر می‌تواند مربوط به ظرفیت بافری موسیلاژ دانه مرو باشد. از طرفی گزارش شد که پروتئین‌ها می‌توانند مقدار کمی از اسید اضافه‌شده را خنثی کنند و pH محصول را پایدار نگه دارند. همان‌طور که در مقاله نصیری گزارش شد [۱۹]، موسیلاژ دانه مرو مورد استفاده در این مطالعه حاوی ۱۱/۷±۱/۰۷ درصد (وزنی/وزنی) پروتئین است که می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب بافر در ژله عمل کند. قبلاً خاصیت بافر شدن بیوپلیمرهای دیگر مانند کربوکسی متیل سلولز [۲۹]، کازئین [۳۰] و پروتئین‌های آب‌پنیر [۳۱] نیز گزارش شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد در ژله فراسودمند، تکنیک ریزپوشانی باموسیلاژمرو، باعث‌افزایش پایداری میکروانکپسولاسیون آلژینات در شرایط نامساعد می‌شود و بقا و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را تا حد مجاز (10^{7}-10^{6} کلنی/ میلی لیتر[10]) برای بروز اثرات سلامتی‌بخش در بدن بهبود می‌بخشد. ترکیب مفید و سودمندی از هم‌افزایی پروبیوتیک و پریبیوتیک (سینبیوتیک) ایجاد شد. در نتیجه‌گیری نهایی می‌توان گفت به‌کارگیری ترکیبات پریبیوتیک مانند موسیلاژ دانه مرو، علاوه‌بر خواص تغذیه‌ای و سلامتی‌بخشی، موجب بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی و فناوری دانش‌بنیان و افزایش بقای باکتری‌های پروبیوتیک در ژله در طول دوره نگهداری شد. این یافته‌ها پتانسیل ژله را به‌عنوان یک ماتریکس غذایی برای مکمل پروبیوتیک (باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی) نشان می‌دهد و همچنین روش کپسوله‌سازی را به‌عنوان یک روش مناسب برای محافظت از پروبیوتیک‌ها در ماتریکس ژله در حین ذخیره‌سازی اثبات می‌کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

نویسندگان در رابطه با انتشار مقاله ارائه‌شده به‌طور کامل از اخلاق نشر تبعیت کرده‌اند. از موارد سوءاخلاق همانند سرقت ادبی، سوءرفتار، جعل داده‌ها و یا ارسال و انتشار دوگانه، پرهیز کرده‌اند.

10. cfu/ml

حامی مالی

این پژوهش هیچ‌گونه کمک مالی از سازمانی‌های دولتی، خصوصی و غیرانتفاعی دریافت نکرده است.

مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در آماده‌سازی این مقاله مشارکت داشتند..

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

References

[1] Mostafavi FS. Evaluating the effect of fat content on the properties of vanilla ice cream using principal component analysis. J Food Meas Charact. 2019; 13(3):2417-25. [Link]

[2] Mostafavi FS, Tehrani MM, Mohebbi M. Rheological and sensory properties of fat reduced vanilla ice creams containing milk protein concentrate (MPC). J Food Meas Charact. 2017; 11(2):567-75. [DOI:10.1007/s11694-016-9424-y]

[3] Li Z, Srigley CT. A novel method for the quantification of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) in gummy dietary supplements. J Food Compost Anal. 2017; 56:1-10. [DOI:10.1016/j.jfca.2016.11.006]

[4] Miranda JS, Costa BV, de Oliveira IV, de Lima DC, Martins EM, Júnior BR, et al. Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and Bacillus coagulans GBI-30 6086. LWT. 2020; 126:109275. [DOI:10.1016/j.lwt.2020.109275]

[5] Talebzadeh S, Sharifan A. Developing probiotic jelly desserts with lactobacillus acidophilus. J Food Process Preserv. 2017; 41(1):e13026. [DOI:10.1111/jfpp.13026]

[6] Ningtyas DW, Bhandari B, Bansal N, Prakash S. The viability of probiotic Lactobacillus rhamnosus (non-encapsulated and encapsulated) in functional reduced-fat cream cheese and its textural properties during storage. Food Control. 2019; 100:8-16. [DOI:10.1016/j.foodcont.2018.12.048]

[7] Rishi P, Mavi SK, Bharrhan S, Shukla G, Tewari R. Protective efficacy of probiotic alone or in conjunction with a prebiotic in Salmonella-induced liver damage. FEMS Microbiol Ecol. 2009; 69(2):222-30. [DOI:10.1111/j.1574-6941.2009.00703.x] [PMID]

[8] Shafizadeh A, Golestan L, Ahmadi M, Darjani P, Ghorbani-HasanSaraei A. Encapsulation of Lactobacillus casei in alginate microcapsules: Improvement of the bacterial viability under simulated gastrointestinal conditions using flaxseed mucilage. J Food Meas Charact. 2020; 14:1901-8. [Link]

[9] Lee JS, Cha DS, Park HJ. Survival of freeze-dried Lactobacillus bulgaricus KFRI 673 in chitosan-coated calcium alginate microparticles. J Agric Food Chem. 2004 52(24):7300-5. [DOI:10.1021/jf040235k] [PMID]

[10] Jouki M, Khazaei, N, Rashidi-Alavijeh S, Ahmadi S. Encapsulation of Lactobacillus casei in quince seed gum-alginate beads to produce a functional synbiotic drink powder by agro-industrial by-products and freeze-drying. Food Hydrocoll. 2021; 120:106895. [DOI:10.1016/j.foodhyd.2021.106895]

[11] Dimitrellou D, Kandylis P, Lević S, Petrović T, Ivanović S, Nedović V, et al. Encapsulation of Lactobacillus casei ATCC 393 in alginate capsules for probiotic fermented milk production. LWT. 2019; 116:108501. [DOI:10.1016/j.lwt.2019.108501]

[12] Farias TGSd, Ladislau HFL, Stamford TCM, Medeiros JAC, Soares BLM, Arnaud TMS, et al. Viabilities of Lactobacillus rhamnosus ASCC 290 and Lactobacillus casei ATCC 334 (in free form or encapsulated with calcium alginate-chitosan) in yellow mombin ice cream. LWT. 2019; 100:391-6. [DOI:10.1016/j.lwt.2018.10.084]

[13] Miranda RF, de Paula MM, da Costa GM, Barão CE, da Silva ACR, Raices RSL, et al. Orange juice added with L. casei: Is there an impact of the probiotic addition methodology on the quality parameters? LWT. 2019; 106:186-93. [DOI:10.1016/j.lwt.2019.02.047]

[14] Olivares A, Soto C, Caballero E, Altamirano C. Survival of microencapsulated Lactobacillus casei (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. Electron J Biotechnol. 2019; 42:42-8. [DOI:10.1016/j.ejbt.2019.10.002]

[15] Muhialdin BJ, Hussin ASM, Kadum H, Abdul Hamid A, Jaafar AH. Metabolomic changes and biological activities during the lacto-fermentation of jackfruit juice using Lactobacillus casei ATCC334. LWT. 2021; 141:110940. [DOI:10.1016/j.lwt.2021.110940]

[16] Rivera-Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. Food Microbiol. 2010; 27(1):1-11. [DOI:10.1016/j.fm.2008.06.008] [PMID]

[17] Ouwehand AC, Salminen SJ. The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. Int Dairy J. 1998; 8(9):749-58. [DOI:10.1016/S0958-6946(98)00114-9]

[18] Mostafavi FS, Zaeim D. Polymer coatings for food applications. In: Inamuddin, Boddula R, Ahamed MI, Asiri AM, editors. Polymers coatings: Technology and applications. Beverly: Scrivener Publishing LLC; 2020. [DOI:10.1002/9781119655145.ch10]

[19] Nasiri H, Golestan L, Shahidi SA, Darjani P. Encapsulation of Lactobacillus casei in sodium alginate microcapsules: Improvement gastrointestinal conditions using wild sage mucilage. J Food Meas Charact. 2021; 15:4726–34. [DOI:10.1007/s11694-021-01022-5]

[20] Bostan A, Razavi SM, Farhoosh R. Optimization of hydrocolloid extraction from wild sage seed (Salvia macrosiphon) using response surface. Int J Food Properties. 2010; 13(6):1380-92. [DOI:10.1080/10942910903079242]

[21] Valencia MS, Salgado SM, Andrade SA, Padilha VM, Livera AV, Stamford TL. Development of creamy milk chocolate dessert added with fructo-oligosaccharide and Lactobacillus paracasei subsp. paracasei LBC 81. LWT Food Sci Technol. 2016; 69:104-9. [DOI:10.1016/j.lwt.2016.01.039]

[22] Dokoohaki ZN, Sekhavatizadeh SS, Hosseinzadeh S. Dairy dessert containing microencapsulated Lactobacillus rhamnosus (ATCC 53103) with quince seed mucilage as a coating material. LWT. 2019; 115:108429. [DOI:10.1016/j.lwt.2019.108429]

[23] Ismail B, Nampoothiri KM. Exopolysaccharide production and prevention of syneresis in starch using encapsulated probiotic Lactobacillus plantarum. Food Technol Biotechnol. 2010; 48(4):484-9. [Link]

[24] Figueroa LE, Genovese DB. Fruit jellies enriched with dietary fibre: Development and characterization of a novel functional food product. LWT. 2019; 111:423-428. [DOI:10.1016/j.lwt.2019.05.031]

[25] Mani-López E, Hernández EJ, Palou E, López-Malo A. Viability of Lactobacillus fermentum microencapsulated in flavoured alginate beads and added to a gelatine dessert. J Funct Foods. 2017; 38(Part A):447-53. [DOI:10.1016/j.jff.2017.09.026]

[26] Corrêa SB, Castro IA, Saad SM. Probiotic potential and sensory properties of coconut flan supplemented with Lactobacillus paracasei and Bifidobacterium lactis. Int J food Sci Technol. 2008; 43(9):1560-8. [DOI:10.1111/j.1365-2621.2007.01585.x]

[27] Irkin R, Güldaş M. Evaluation of cacao-pudding as a probiotic food carrier and sensory acceptability properties. Acta Agric-Slov. 2011; 97(3):223 - 32. [DOI:10.2478/v10014-011-0016-6]

[28] Shoji AS, Oliveira AC, Balieiro JC, Freitas OD, Thomazini M, Heinemann RJ, et al. Viability of L. acidophilus microcapsules and their application to buffalo milk yoghurt. Food Bioprod Process. 2013; 91(2):83-8. [DOI:10.1016/j.fbp.2012.08.009]

[29] Basiri S, Haidary N, Shekarforoush SS, Niakousari M. Flaxseed mucilage: A natural stabilizer in stirred yogurt. Carbohydr Polyme. 2018; 187:59-65. [DOI:10.1016/j.carbpol.2018.01.049] [PMID]

[30] Salaun FB, Mietton F. Gaucheron F. Influence of mineral environment on the buffering capacity of casein micelles. Milchwissenschaft Milk Science International. 2007; 62(1):20-3. [Link]

[31] Onwulata CI, Isobe S, Tomasula PM, Cooke PH. Properties of Whey protein isolates extruded under acidic and alkaline conditions1. J Dairy Sci. 2006; 89(1):71-81. [DOI:10.3168/jds.S0022-0302(06)72070-7] [PMID]