CC BY

**مقاله علمی – پژوهشی:**

# تأثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*) ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان به دو روش ژلاسیون یونی و امولسیون داخلی بر عملکرد رشد، تغذیه و فعالیت آنزیم‌های گوارشی قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*)

سیدعبدالحمید حسینی*[۱]، پریتا کوچنین[۲]، مجتبی علیشاهی[۳]، تکاور محمدیان[۳]، محمد ذاکری[۲]

*hoseiniabdolhamid@gmail.com

۱- مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری، مؤسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، یاسوج، ایران

۲- گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی دریا، دانشگاه علوم و فنون دریایی خرمشهر، خرمشهر، ایران

۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۱

## چکیده

فن‌آوری ریزپوشانی یکی از جدیدترین روش‌ها برای افزایش پایداری پروبیوتیک‌هاست. در این مطالعه تأثیر *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان به دو روش ژلاسیون یونی و امولسیون داخلی بر عملکرد رشد، تغذیه و فعالیت آنزیم‌های گوارشی قزل‌آلای رنگین کمان مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین منظور، ۶۰۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۲۵/۵۳±۰/۸۲ گرم به ۵ تیمار در ۳ تکرار تقسیم شدند. تیمار ۱و ۲ به ترتیب شامل: باکتری ریزپوشانی شده به روش ژلاسیون یونی و امولسیون داخلی، تیمار ۳: آلژینات/کیتوزان بدون حضور باکتری، تیمار ۴: باکتری به تنهایی و تیمار ۵ شاهد. ماهیان به مدت ۶۰ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شده و پس از آن ۱۵ روز با غذای فاقد پروبیوتیک غذادهی شدند. نمونه‌گیری در روزهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ انجام و شاخص‌های ضریب تبدیل غذایی، میزان کارایی پروتئین، ضریب رشد ویژه، فاکتور وضعیت و درصد افزایش وزن بدن و همچنین آنزیم‌های گوارشی لیپاز، پروتئاز، تریپسین و کموتریپسین مورد ارزیابی قرار گرفتند. بهترین ضریب تبدیل غذایی در روز ۳۰ در تیمار ۲ (۰/۹۳±۰/۰۳) و در روز ۶۰ در تیمار ۱ (۱/۳۰±۰/۱۴) و ۲ (۱/۳۱±۰/۰۶) مشاهده شد، که دارای اختلاف معنی‌دار با تیمار شاهد بودند ($p$<۰/۰۵). میزان کارایی پروتئین و فاکتور وضعیت نیز در تیمارهای ریزپوشانی شده نسبت به تیمار شاهد بالاتر بود که این افزایش در مورد تیمار ۲ معنی‌دار بود ($p$<۰/۰۵). همچنین بالا بودن میزان لیپاز و پروتئاز در تیمارهای ریزپوشانی شده نسبت به سایر تیمارها مشاهده شد. نتایج نشان داد ریزپوشانی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به روش امولسیون داخلی تا حدودی باعث بهبود شاخص‌های رشد، تغذیه و آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان شده و می‌تواند به عنوان روشی موثر جهت بهبود کارایی پروبیوتیک‌ها استفاده شود.

**لغات کلیدی:** ریزپوشانی، *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، آلژینات/کیتوزان، ژلاسیون یونی، امولسیون داخلی، آنزیم‌های گوارشی

*نویسنده مسئول



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

## مقدمه

آبزی‌پروری از جمله اصلی‌ترین بخش‌های تولیدکننده غذا در جهان می‌باشد که در سال‌های اخیر رشد چشمگیری داشته است و با تبدیل شدن به یک بخش اقتصادی پررونق (Das *et al*., 2017)، با سرعت زیادی نسبت به سایر بخش‌های تولید پروتئین حیوانی در حال پیشرفت می‌باشد (خادمی حمیدی و همکاران، ۱۳۹۸). از مهم‌ترین اهداف صنعت آبزی‌پروری می‌توان به رشد سریع، بهبود کارایی تغذیه، عملکرد رشد و افزایش مقاومت آبزیان در برابر بیماری‌ها اشاره کرد (Soltani *et al*., 2019). امروزه انواع مختلفی از مکمل‌های غذایی به منظور بهبود پارامترهای رشد، افزایش سطح ایمنی و مقاومت آبزیان در شرایط پرورشی مورد استفاده قرار می‌گیرند که از آن جمله می‌توان به هورمون‌ها، انواع مواد مغذی، آنتی‌بیوتیک‌ها و پروبیوتیک‌ها اشاره کرد (Ringo *et al*., 2018). در این زمینه پروبیوتیک‌ها در تغذیه ماهیان (Wuertz *et al*., 2021) به منظور بهبود عملکرد رشد (Li *et al*., 2018)، بهبود کیفیت آب (Dodoo *et al*., 2018; Sutthi *et al*., 2018)، تولید آنزیم‌های گوارشی (Li *et al*., 2018)، تحمل شرایط استرسی (Hoseinifar *et al*., 2018)، کاهش انواع بیماری‌ها و بهبود عملکرد سیستم ایمنی مورد استفاده قرار می‌گیرند. در سال‌های اخیر استفاده از پروبیوتیک‌ها به دلیل تأثیر مثبت بر تعادل میکروبی روده، هضم و جذب بهتر مواد غذایی در دستگاه گوارش و بهره‌وری بیشتر از مواد غذایی رواج یافته که حاصل آن کاهش هزینه و افزایش درآمد در مراکز آبزی‌پروری بوده است (چوبکار و همکاران، ۱۳۹۷؛ کاهکش و رومیانی، ۱۳۹۶؛ Chi *et al*., 2014; Wu *et al*., 2015). چنین محصولاتی چون سبب کاهش قابل‌توجه استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در مزارع پرورشی می‌شوند، بسیار با اهمیت می‌باشند، زیرا استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها می‌تواند سبب انباشته شدن در بافت موجود، افزایش مقاومت باکتریایی و تاثیرات نامناسب محیطی شود (کرمی شیرازی و همکاران، ۱۳۹۹: یزدان پناه گوهرریزی و همکاران، ۱۳۹۹). پس می‌توان گفت که توسعه پایدار صنعت آبزی‌پروری نیازمند به‌کارگیری فنون جدیدی است که از آن جمله می‌توان به استفاده از پروبیوتیک‌ها در جهت ارتقاء عملکرد آبزیان پرورشی اشاره نمود (محمودی کیا و ایمانی، ۱۳۹۷).

اثربخشی استفاده از پروبیوتیک‌ها گرچه در محیط‌های کشت به اثبات رسیده است، اما انتقال موثر مواد فعال زیستی همچنان یک چالش است (Masoomi Dezfooli *et al*., 2018) و کاهش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در شرایط دستگاه گوارش از مشکلات اساسی کاربرد آنها می‌باشد. بنابراین، به منظور حفظ پروبیوتیک‌ها در مراحل آماده‌سازی، ذخیره‌سازی و مصرف، می‌بایست آماده‌سازی و انتقال آنها به نحو مناسبی انجام گیرد (Chavarri *et al*., 2012). زیرا آنها به دلیل حساسیت به شرایط مختلف نظیر دمای بالا، شرایط اسیدی، نمک‌های صفراوی موجود در دستگاه گوارش، باکتریوفاژها و مواد مضر آنتی‌بیوتیک، نیاز به روش‌هایی برای افزایش قابلیت زیستی دارند تا بتوانند به تعداد کافی به‌وسیله پوششی عمدتاً با خصوصیات هیدروکلوییدی به محیط روده راه یابند و در آن‌جا اثرات سودمند خود را ایفاء کنند (Tripathi and Giri, 2014). روش‌های مختلف محافظت پروبیوتیک در شرایط نامناسب گوارشی گزارش شده است (Masoomi Dezfooli *et al*., 2018). ریزپوشانی، به طور موفقیت‌آمیزی برای حفاظت سلول‌های پروبیوتیک در شرایط مذکور مؤثر بوده (Tripathi and Giri, 2014) و به عنوان یکی از بهترین تکنیک‌ها جهت حفاظت از پروبیوتیک‌ها در برابر شرایط نامساعد محیطی مطرح می‌باشد (Dong *et al*., 2013). همچنان که قلی‌پور و همکاران (۱۳۹۹) اثرات مثبت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با آلژینات/کیتوزان را بر برخی از شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی بأس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*) مورد ارزیابی قرار دادند و بیان نمودند، ریزپوشانی باکتری به نحو مؤثری کارایی پروبیوتیک را بهبود می‌بخشد. در مطالعه دیگری Pirarat و همکاران (۲۰۱۵) با مطالعه زنده‌مانی و ارزیابی ریخت‌شناسی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم در ماهی تیلاپیای نیل،



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

دریافتند که ریزپوشانی باعث افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک و در نهایت افزایش رشد و بقاء ماهی تیلاپیا می‌گردد.
یکی از اصلی‌ترین گروه پروبیوتیک‌ها که در کنترل بیولوژیک بیماری در آبزی‌پروری مورد استفاده قرار گرفته است، متعلق به باکتری‌های اسید لاکتیک (گونه‌های جنس *Lactobacillus* و *Carnobacterium*) می‌باشد. *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* از جمله این باکتری‌های اسید لاکتیک و دارای ارزش تغذیه‌ای می‌باشد. مهم‌ترین مکانیسم‌هایی که این باکتری‌ها به‌وسیله آن می‌توانند موجب ارتقاء سلامت شوند، شامل تولید اسیدهای آلی، پراکسیدها و باکتریوسیدها و رقابت با باکتری‌های مضر و بیماری‌زای روده برای تصاحب جایگاه‌های اتصال روی موکوس می‌باشد (Kabak *et al*., 2009). این پروبیوتیک قادر به تحریک سیستم ایمنی و تقویت پاسخ ایمنی بدن می‌باشد (Mortazavian *et al*., 2007). به همین منظور در این مطالعه تأثیر ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (*Lactobacillus rhamnosus*) بر شاخص‌های رشد، تغذیه و برخی از آنزیم‌های گوارشی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش کار

### تهیه باکتری پروبیوتیک

در این تحقیق از باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* جداسازی شده از روده ماهی شیربت (*Barbus grypus*) استفاده گردید. محمدیان (۱۳۹۲) این باکتری را با استفاده از ژن 16S rRNA جداسازی و شناسایی نمود و با توالی‌یابی، ژن مورد نظر تشخیص جنس و گونه باکتری تایید گردید. باکتری موردنظر در ۲۰ میلی لیتر محیط کشت MRS آگار در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی‌هوازی کشت اولیه گردید، سپس با رشد کلونی‌های باکتریایی تک، یک کلونی خالص به محیط کشت MRS Broth به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط بی‌هوازی و در انکوباتور کشت داده شد. پس از رشد، نمونه‌ها با سرم فیزیولوژی استریل شستشو داده شده و ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد و رسوب حاصله در سرم فیزیولوژی استریل به صورت سوسپانسیون درآمد و بر اساس استاندارد مک فارلند با غلظت $۲/۴ \times ۱۰^{۹}$ باکتری زنده در هر میلی لیتر تنظیم شدند (Mohammadian *et al*., 2019).

### ریزپوشانی به روش ژلاسیون یونی[1]

این روش یک فرآیند دو مرحله‌ای چند یونی با کلرید کلسیم و به دنبال ارتباط متقاطع چند کاتیونی تهیه می شود (Sarmento *et al*., 2007). ۶۰۰ میلی‌لیتر محلول آلژینات سدیم ۶۳/ درصد را که pH آن روی ۴/۹ تنظیم شده با ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون باکتریایی مخلوط و در حالت چرخش با دور ۸۰۰ قرار داده شد. سپس، ۳۵ میلی‌لیتر از محلول کلرید کلسیم ۱۸ میلی مولار قطره قطره در مدت ۶۰ دقیقه به آن اضافه گردید. به نحوی که یک پیش ژل آلژینات تهیه شد. سپس، ۲۰۰ میلی‌لیتر از محلول کیتوزان ۰۷/ درصد که pH آن روی ۴/۶ تنظیم شده، قطره قطره به پیش ژل طی ۹۰ دقیقه اضافه گردید. بعد از اضافه کردن پیش ژل، محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه دیگر به حالت فوق باقی مانده تا زمانی که کپسولاسیون کامل گردید (Maria *et al*., 2014).

### ریزپوشانی به روش امولسیون داخلی[2]

بر اساس روش Huiyi و همکاران (۲۰۱۳) ابتدا ۵ گرم پودر کربنات کلسیم به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۱۵ دقیقه سونیکه شد. مقدار ۷ میلی‌لیتر سوسپانسیون کربنات کلسیم به ۱۱۰ میلی‌لیتر محلول آلژینات ۲ درصد بر روی دستگاه همزن مغناطیسی با دور ۲۰۰ در دقیقه اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه هموژن گردید. ۱۰۰ میلی‌لیتر از محلول حاصل با ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون میکروبی با غلظت $۱ \times ۱۰^{۱۰}$ مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه با همزن با دور ۳۵۰ هموژن گردید. در بشر دیگر ۷۰ میلی‌لیتر روغن زیتون با ۱ گرم اسپن ۸۰ مخلوط و به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰ هم زده شد، سپس

[1] Ionic gelation
[2] Internal emulsification



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

محلول حاصل با محلول بالا مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه با هموژن گردید. ۲۰ میلی‌لیتر روغن زیتون و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک با هم مخلوط و قطره قطره به محلول مذکور اضافه گردید. به نحوی که pH به حدود ۳/۵ رسید. سپس ۳۰ دقیقه با دور ۲۰۰ هم زده شد. سپس جهت جداسازی روغن، با استفاده از بافر فسفات، محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. در مرحله نهایی میزان ۳۰ میلی‌لیتر محلول کیتوزان ۴/ درصد در اسید استیک ۱/ درصد به مدت ۳۰ دقیقه قطره قطره با دور ۸۰۰ به محلول اضافه گردید. سپس محلول حاصل به مدت ۱ ساعت در حال چرخش گذاشته شد تا هم زده شود. محصول در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان مخلوط نمودن به خوراک نگهداری گردید.

**شمارش تعداد باکتری‌های ریزپوشانی شده**

یک گرم از نمونه‌های کپسول تهیه شده در ۹۹ میلی‌لیتر محلول ۱ درصد (وزنی/حجمی) سدیم سیترات استریل در pH حدود ۶ پراکنده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق همزده شد تا کپسول‌ها به طور کامل حل و باکتری‌ها آزاد شوند. آنگاه با استفاده از محیط کشت MRS در شرایط بی هوازی، دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه گذاری و تعداد باکتری‌ها شمارش گردید. این شمارش در سه تکرار صورت گرفت (رضایی مکرم و همکاران، ۱۳۸۹).

**تعیین اندازه ذرات و نحوه پراکنش آنها:** اندازه کپسول‌های حاصل و فراوانی هر یک از آنها با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری قطر ذرات تعیین گردید. برای این منظور کپسول‌ها در آب یون‌زدایی شده پراکنده و نتایج بر اساس قطر حجم میانگین ذرات استاندارد خطا، $d_{10}$, $d_{25}$, $d_{50}$, $d_{90}$, $d_{75}$ و همچنین $d_{peak}$ گزارش شد (Mokarram *et al.*, 2009).

**تعیین پتانسیل زتا**[1]

با استفاده از دستگاه زتا سایزر (Malvern, UK) تعیین گردید. پتانسیل زتا یک خاصیت فیزیکی ذرات خنثی است که در فصل مشترک فاز جامد با محلول‌های الکترولیتی بروز می‌کند (Burgos and Moreno, 2009).

**تعیین مورفولوژی ذرات:** برای تعیین مرفولوژی ذرات، اندازه و مشاهده شکل ظاهری آنها، از میکروسکوپ الکترونی و تکنیک SEM[2] استفاده شد. بدین‌منظور، کپسول‌ها به‌وسیله چسب دوطرفه بر استاب تثبیت و به مدت ۲ دقیقه به‌وسیله طلا و پالادیوم پوشش داده شدند. مشاهده کپسول‌ها به‌وسیله میکروسکوپ الکترونی با تابش الکترونی ۱۰ کیلووات انجام گرفت.

**محل انجام آزمایش:** این تحقیق به مدت سه ماه با پرورش ماهیان تیمارهای مختلف در مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردآبی شهید مطهری یاسوج در ۱۵ عدد مخزن فایبرگلاس با گنجایش ۲۰۰۰ لیتر همراه با شرایط محیطی کنترل شده و یکسان انجام پذیرفت. تأمین آب از طریق چشمه با میانگین دمای ۱۱/۵±۰/۷ درجه سانتی‌گراد، اکسیژن ۷±۰/۴ میلی‌گرم در لیتر، سختی ۲۵۰±۲۲ میلی‌گرم در لیتر و میزان pH برابر با ۷/۸±۰/۲ و تعویض آب مخازن (جریان آب) به صورت ثقلی انجام شد.

**تیماربندی ماهیان:** تعداد ۶۰۰ قطعه بچه ماهی با میانگین وزنی ۲۵/۵۳±۸۲/ گرم (انحراف معیار± میانگین) از مزرعه پرورشی واقع در شهرستان بویراحمد تهیه و بعد از انتقال به مرکز تحقیقات ماهیان سردابی شهید مطهّری به مدت ۲ هفته آداپتاسیون با شرایط جدید انجام گرفت. ماهیان به صورت تصادفی به ۵ گروه در سه تکرار تقسیم، و به شرح جدول ۱ پرورش یافتند. جهت آماده سازی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و افزودن آنها به غذای ماهیان از روش Planas و همکاران (۲۰۰۴) و Vine و همکاران (۲۰۰۶) استفاده گردید. بدین‌منظور، باکتری در شرایط بی‌هوازی کشت داده شده و پس از رشد، با سانتریفوژ جداسازی و شستشو و به کمک لوله‌های

[1] Zeta potential
[2] Scanning electron microscope



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

استاندارد مک فارلند ۸ ($۲/۴ \times ۱۰^{۸}$) تنظیم گردید. بعد از ریزپوشانی باکتری‌ها، از آنها برای ایجاد غلظت $۵ \times ۱۰^{۷}$ باکتری در گرم خوراک ماهی‌ها استفاده شد. در این مرحله باکتری ریزپوشانی شده به روش‌های ژلاسیون و امولسیون، آلژینات و کیتوزان، باکتری به تنهایی و سرم فیزیولوژی به عنوان تیمارهای مورد آزمایش بر روی غذای محاسبه شده برای هر تیمار (بر اساس وزن، درجه حرارت) اسپری گردیدند.

**جدول ۱: تیمارهای آزمایشی**

**Table 1: Experimental treatments**

| تیمار | نوع افزودنی | تعداد ماهی |
|---|---|---|
| ۱ | *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی | ۱۲۰ قطعه (در سه تکرار) |
| ۲ | *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی | ۱۲۰ قطعه (در سه تکرار) |
| ۳ | آلژینات / کیتوزان بدون حضور *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* | ۱۲۰ قطعه (در سه تکرار) |
| ۴ | *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به تنهایی | ۱۲۰ قطعه (در سه تکرار) |
| **شاهد** | بدون مکمل پروبیوتیک و آلژینات / کیتوزان | ۱۲۰ قطعه (در سه تکرار) |

تغذیه ماهیان بر اساس بیوماس و درجه حرارت آب و طبق توصیه کارخانه سازنده خوراک به مدت ۶۰ روز صورت گرفت (جدول ۲). جهت بررسی ماندگاری باکتری و تأثیر آن بر سیستم ایمنی بدن میزبان، غذادهی نیمی از هر گروه از ماهیان، به منظور بررسی ارزیابی مدت ماندگاری اثر پروبیوتیک‌های ریز پوشانی شده، ۷۵-۶۰ روز (پایان دوره) با جیره بدون مکمل پروبیوتیک ادامه یافت. در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۷۵ آزمایش ۳ قطعه ماهی از هر تکرار صید و بعد از بیهوشی (پودر گل میخک با غلظت ۱۵۰ppm) خون‌گیری ماهیان از طریق ورید ساقه دمی (Caudal vein) انجام و سپس پلاسمای خون با سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور جداسازی گردید.

**جدول ۲: آنالیز ترکیبات جیره مورد استفاده در آزمایش، تهیه شده از شرکت ۲۱ بیضاء**

**Table 2: Ingredients of diet used in experiment, prepared by Beyza Feed Mill 21**

| نوع جیره | اندازه (میلی‌متر) | فسفر | رطوبت | انرژی (کیلوکالری/ کیلوگرم) | فیبر | چربی | پروتئین |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ex-TG2 | ۳/۲-۳/۴ | ۰/۸ | ٪۱۰ | ۴۳۰۰ | ٪۲/۲ | ۱۴/۵٪ | ٪۴۴ |

**اندازه‌گیری شاخص‌های رشد و تغذیه:** شاخص‌های رشد و تغذیه تیمارهای آزمایشی شامل ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین، میزان رشد ویژه، فاکتور وضعیت و درصد افزایش وزن بدن در روزهای صفر، ۳۰ و ۶۰ طبق رابطه‌های ذیل اندازه‌گیری شد (Salas *et al*., 2010):

$$FCR = \frac{F}{W_f - W_i}$$

F: غذای مصرفی (وزن خشک به گرم)، Wf: وزن نهایی (گرم)، Wi: وزن اولیه (گرم)

ضریب تبدیل غذایی Feed Conversion ratio (FCR)

$$PER = \frac{BW_f - BW_i}{AP}$$

BWf: وزن نهایی (گرم)، BWi: وزن اولیه (گرم)

میزان کارآیی پروتئین Protein efficiency ratio (PER)



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

| | |
|---|---|
| $\%SGR = \frac{LnW_f - Ln\,W_i}{t_2 - t_1} \times 100$<br>Wf: وزن نهایی (گرم)، Wi: وزن اولیه (گرم)، $(t_2 - t_1)$: تعداد روزهای آزمایش | میزان رشد ویژه Specific growth rate (SGR) |
| $CF = (W/L^3) \times 100$<br>W: وزن ماهی (وزن تر به گرم)، L: طول ماهی (سانتی متر) | فاکتور وضعیت Condition factor(CF) |
| $\%WGP = WG_f - WG_i / WG_i \times 100$<br>WGf: وزن نهایی (گرم)، WGi: وزن اولیه (گرم) | درصد افزایش وزن بدن gain percentage Weight (WGP) |

**فعالیت آنزیم‌های گوارشی**

برای تجزیه و تحلیل فعالیت آنزیم‌های گوارشی، در روزهای ۰، ۳۰ و ۶۰ آزمایش و نیز ۱۵ روز پس از قطع غذا، ماهیان به مدت ۲۴ ساعت گرسنگی داده شده و ۳ ماهی به طور تصادفی صید گردید. روده تحت شرایط استریل و در دمای پایین تشریح شد. نمونه‌ها در یک بافر سرد حاوی ۵۰ میلی مولار تریس هیدروکلراید هموژن، سپس به مدت ۳۰ دقیقه با دور ۱۳۵۰۰ سانتریفیوژ انجام گرفت. مایع رویی جمع‌آوری و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد ( Rungruangsak-Torrissen *et al.*, 2002; Rungruangsak-Torrissen and Fosseidengen, 2007).

فعالیت تریپسین با استفاده از ان-آ-بنزوئیل-ال-آرژینین اتیل آستر (BAEE) اندازه گیری شد، این سوبسترا تحت تأثیر آنزیم تریپسین تجزیه و به N - بنزوئیل-L- آرژنین تبدیل می‌شود. برای این‌کار ابتدا ۱۸۰ میکرولیتر از محلول سوبسترای BAEE با ۵۷۰ میکرولیتر از اسید کلریدریک ۱ میلی‌مولار مخلوط شد و سپس برای هم دمایی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. در مرحله بعد ۳۰ میکرولیتر از نمونه رقیق شده (به نسبت ۱ به ۲۰) به محلول مذکور اضافه گردید و دانسیته نوری آن با اسپکتروفتومتر (یونیکو مدل UV ۲۸۰۲) در طول موج ۲۵۳ نانومتر در زمان‌های صفر، ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ دقیقه اندازه‌گیری شد (Erlanger *et al.*, 1961). همچنین بنزوئیل-ال-تیروزین اتیل آستر (BTEE) به عنوان ماده زمینه‌ای جهت اندازه‌گیری فعالیت کموتریپسین مورد استفاده قرار گرفت (Hummel, 1959). سوبسترا تحت تأثیر آنزیم کموتریپسین تجزیه و به N - بنزوئیل-L- تیروزین و اتانول تبدیل می‌شود.

برای سنجش آنزیم لیپاز از امولسیون روغن زیتون به عنوان سوبسترا استفاده شد. سوبسترا تحت تأثیر آنزیم لیپاز تجزیه و به دی‌گلیسرید و اسید چرب تبدیل می‌شود (Borlongan, 1990). سنجش فعالیت آنزیم پروتئاز با استفاده از محلول سوبسترا آزوکازئین ۲ درصد در ۵۰ میلی مولار بافر Tris/Hcl در pH =۷/۵ صورت پذیرفت. ۲۰ میکرولیتر از نمونه عصاره آنزیمی به ۰/۵ میلی‌لیتر آزوکازئین ۲ درصد تهیه شده در بافر 50 Tris/Hcl میلی‌مولار در pH = ۷/۵ اضافه و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انکوباسیون گردید. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید جهت توقف واکنش به محلول مذکور اضافه گردید. سپس میکروتیوب‌ها به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۶۵۰۰ دور سانتریفوژ شدند. سرانجام محلول رویی هر میکروتیوپ را داخل میکروپلیت ته صاف ۴۸ خانه ریخته و میزان جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتری ( Biotek synergy HT) ساخت کشور آمریکا با طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت شدند. برای گروه شاهد نیز TCA قبل از آزوکازئین به عصاره آنزیمی اضافه شد و در نهایت میزان جذب نوری در طول موج ۴۴۰ نانومتر قرائت گردید (Garcia-carreno *et al.*, 1993). فعالیت آنزیم‌ها به



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

صورت تغییر در جذب با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری و به عنوان فعالیت اختصاصی ( U/mg protein) بیان شد (Sun *et al*., 2012). جهت سنجش آنزیم پروتئاز از سوبسترای کازئین استفاده شد. در این روش میزان پروتئاز از شیب خط به‌دست آمده از استاندارد تیروزین محاسبه شد (Badoei-Dalfard *et al*., 2013).

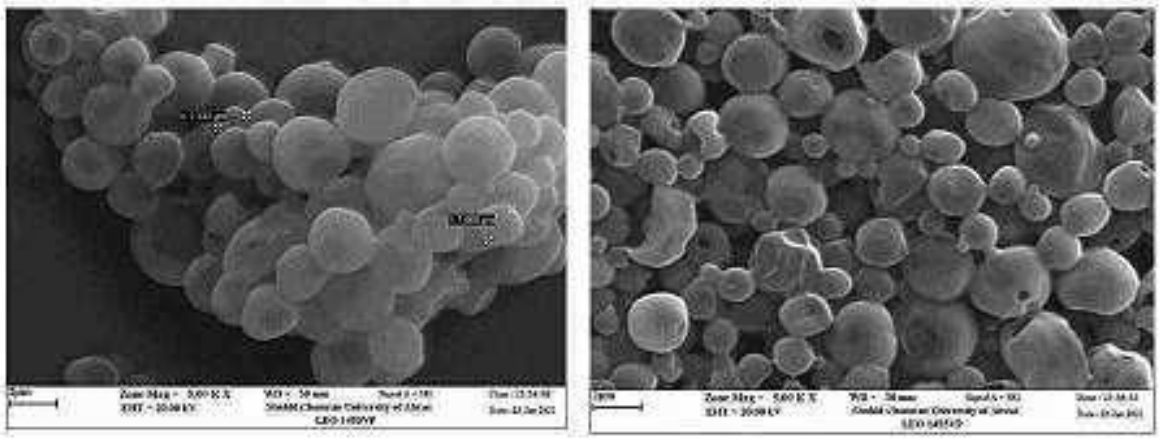
### روش تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد. برای بررسی معنی‌داری بودن تفاوت میانگین‌ها از پس آزمون دانکن استفاده شد. در تمام بررسی‌ها سطح معنی‌دار آزمون‌ها $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. همچنین ترسیم نمودارها در فضای نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

## نتایج

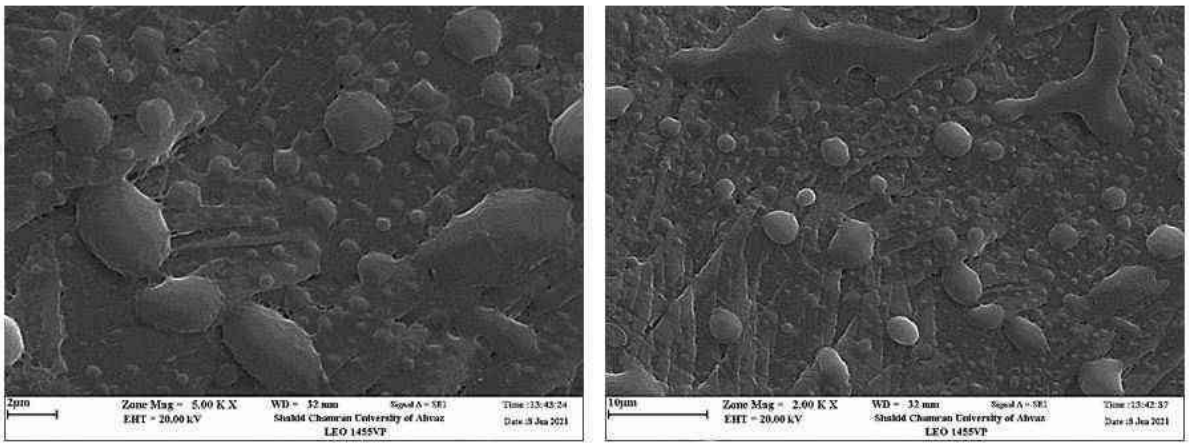
### خصوصیات محصول ریزپوشانی شده

بازده ریزپوشانی (کارایی ریزپوشانی) در روش امولسیون داخلی ۸۸ درصد و در روش ژلاسیون یونی ۷۸ درصد محاسبه شد. مشاهده با روش SEM نشان داد که ریزپوشینه‌ها از نظر شکل ظاهری تا حدود زیادی به شکل کروی هستند (شکل‌های ۱ و ۲).



**شکل ۱: تصویر میکروسکوپ الکترونی از میکروکپسول‌ها (روش امولسیون داخلی)**

**Figure 1: Electron microscope image of microcapsules (internal emulsification method)**




**شکل ۲: تصویر میکروسکوپ الکترونی از میکروکپسول‌ها (روش ژلاسیون یونی)**

**Figure 2: Electron microscope image of microcapsules (ionic gelation method)**



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

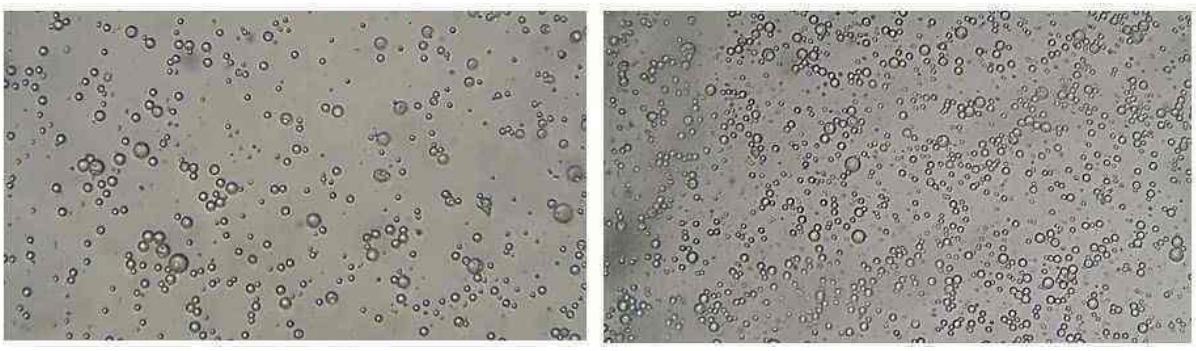
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

حدود قطر اندازه‌گیری و نحوه پراکنش اندازه ذرات اندازه گیری شده با دستگاه پارتیکل سایز آنالایزر برای هر دو روش ریزپوشانی در جدول ۳ ارائه شده است. در ژلاسیون یونی قطر متوسط ۹۰ درصد از دانک‌ها ($d_{90}$) برابر ۱۲/۹ میکرومتر و در امولسیون داخلی قطر متوسط ۹۰ درصد دانک‌ها ($d_{90}$) مساوی یا کمتر از ۶/۰۲ میکرومتر بود. همچنین $d_{peak}$ در ژلاسیون یونی ۳۹/۹ میکرومتر و در امولسیون داخلی ۱۴/۹ میکرومتر محاسبه شد. نحوه و میزان پراکنش اندازه ذرات و درصد فراوانی آنها به دو روش امولسیون داخلی و ژلاسیون یونی در شکل‌های ۳، ۴ و ۵ نشان داده شده است.

**جدول ۳: میزان فراوانی قطرهای مختلف ذرات ریزپوشانی شده**

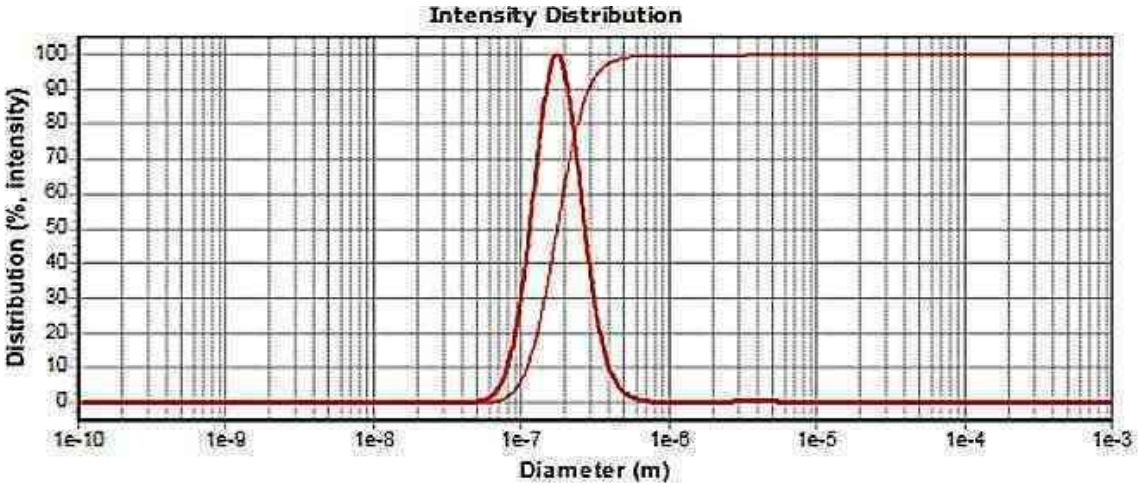
**Table 3: Frequency of different diameters of microcapsulated particles**

| روش ریزپوشانی | D (10) | D (25) | D (50) | D (75) | D (90) |
|---|---|---|---|---|---|
| ژلاسیون یونی | ۵/۱۵ | ۷/۳۸ | ۷/۷۸ | ۱۲/۸ | ۱۲/۹ |
| امولسیون داخلی | ۲/۲۹ | ۲/۹۴ | ۳/۷۷ | ۴/۸۴ | ۶/۰۲ |



**شکل ۳: تصویر میکروسکوپ فازکنتراست از میکروکپسول‌ها (سمت راست روش امولسیون داخلی سمت چپ روش ژلاسیون یونی) بزرگنمایی X ۴۰۰۰**

**Figure 3: Phase contrast microscope image of microcapsules (right image: internal emulsification method. Left image: ionic gelation method)**

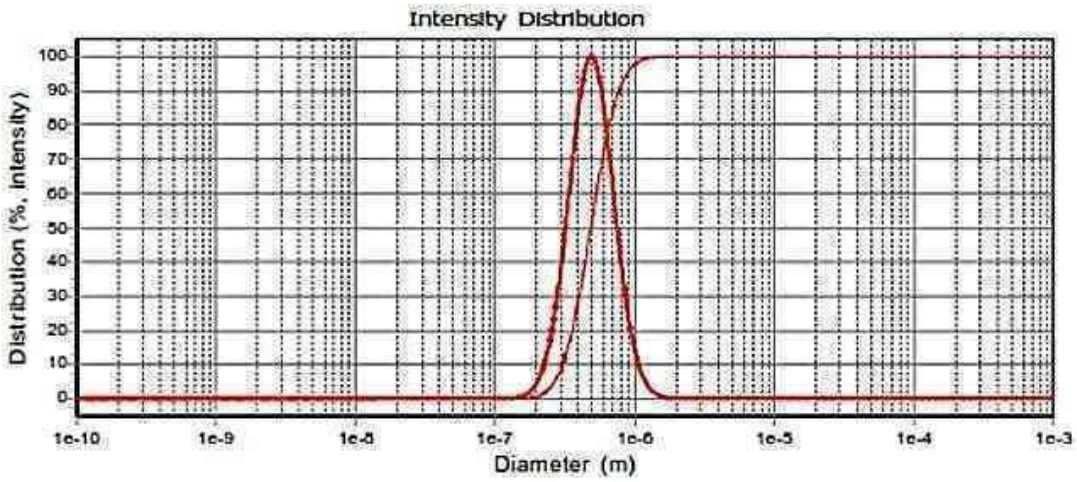



**شکل ۴: پراکنش اندازه ذرات میکروکپسول و درصد فراوانی آنها به روش امولسیون داخلی**

**Figure 4: Particle size distribution and their frequency percentage by internal emulsification method.**



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]




**شکل ۵: پراکنش اندازه ذرات میکروکپسول و درصد فراوانی آنها به روش ژلاسیون یونی**

**Figure 5: Particle size distribution and their frequency percentage by ionic gelation method.**

با توجه به جدول ۴، میزان ضریب تبدیل غذایی (FCR) در روز ۳۰ آزمایش در تیمار ۲ برابر با ۰/۹۳±۰/۰۳ بوده که دارای کمترین مقدار در بین تیمارهای آزمایشی بوده و نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p$<۰/۰۵). همچنین در روز ۶۰ آزمایش تیمارهای ۱ و ۲ به‌ترتیب با میزان ۱/۳۰±۰/۱۴ و ۱/۳۱±۰/۰۶ دارای کمترین مقدار بودند به‌طوری‌که مقادیر دو تیمار مذکور با تیمار شاهد (۱/۵۱±۰/۰۳)، دارای اختلاف معنی‌دار بود ($p$<۰/۰۵). نتایج مربوط به محاسبه میزان کارایی پروتئین (PER) طی دوره آزمایشی نشان می‌دهد که در روز ۳۰ بیشترین میزان کارایی پروتئین در تیمار ۲ مشاهده شد (۲/۴۲±۰/۰۸) که این میزان با تیمار شاهد (۲/۱۶±۰/۰۵) اختلاف معنی‌داری نشان داد ($p$<۰/۰۵). نتایج به‌دست آمده در روز ۶۰ نیز مشابه با نتایج روز ۳۰ می‌باشد به‌طوری‌که بیشترین میزان کارایی پروتئین در تیمار ۲ (۱/۸۲±۰/۰۹) و کمترین میزان در تیمار شاهد مشاهد گردید (۱/۵۰±۰/۰۳) که دارای اختلاف معنی‌دار با هم می‌باشند. نتایج مربوط به محاسبه ضریب رشد ویژه (SGR) در تیمارهای آزمایشی در روز ۳۰ پس از شروع تغذیه، به رغم افزایش در تیمارهای ریزپوشانی شده، نسبت به تیمار شاهد اما این افزایش معنی‌دار نبود ($p$>۰/۰۵). همچنین مقایسه این فاکتور در روز ۶۰ بین تیمارهای آزمایشی نشان داد که هیچ اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود ندارد.

بیشترین میزان شاخص فاکتور وضعیت (CF) در روز ۳۰ آزمایش در تیمار ۲ مشاهده شد که این افزایش نسبت به سایر تیمارها معنی‌دار نبود ($p$>۰/۰۵). در روز ۶۰ آزمایش بیشترین میزان فاکتور وضعیت در همین تیمار (۱/۳۰±۰/۱) مشاهده شد که این میزان نسبت به تیمار شاهد دارای اختلاف معنی‌دار ($p$<۰/۰۵) و نسبت به سایر تیمارها غیر معنی‌دار بود. نتایج مربوط به محاسبه درصد افزایش وزن بدن (WGP) طی دوره آزمایشی در روزهای ۳۰ و ۶۰ هیچ اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

با توجه به شکل ۶، فعالیت آنزیم لیپاز در روزهای ۳۰ و ۷۵ آزمایش اختلاف معنی‌داری در بین گروههای آزمایشی نشان نداد. این در حالی است که در روز ۶۰ آزمایش تیمار ۲ نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p$<۰/۰۵).



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

**جدول ۴: شاخص‌های رشد و تغذیه تیمارهای آزمایشی طی روزهای ۳۰ و ۶۰ آزمایش (Mean±SD). اعداد با حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p$<۰/۰۵) می‌باشد.**

**Table 4: Growth and nutrition indices of experimental treatments during the experimental period on the 30th and 60th days (Mean±SD). Different small alphabetic letters in the same column show significant differences ($p$<0.05).**

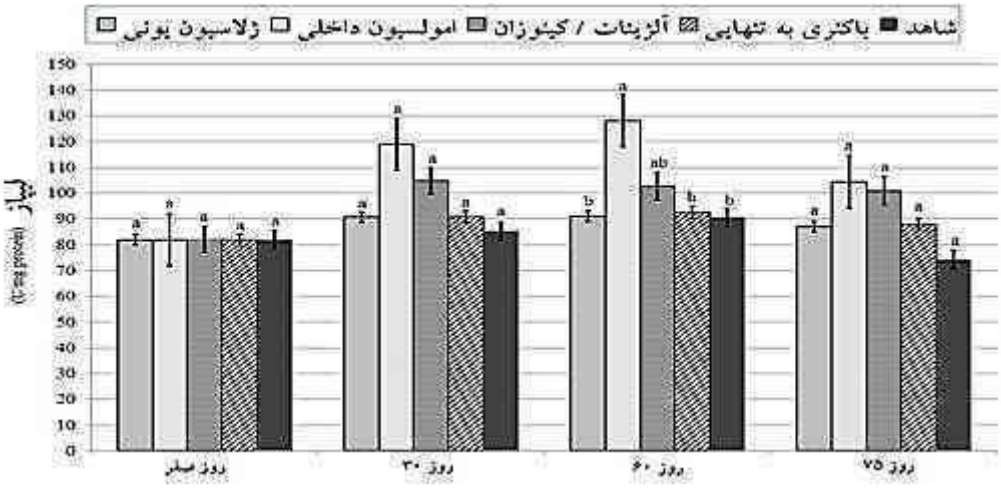
| شاخص | تیمار | روز ۳۰ | روز ۶۰ |
|---|---|---|---|
| FCR ضریب تبدیل غذایی | T1 | ۰/۹۷±۰/۰۱$^{ab}$ | ۱/۳۰±۰/۱۴$^{b}$ |
| | T2 | ۰/۹۳±۰/۰۳$^{b}$ | ۱/۳۱±۰/۰۶$^{b}$ |
| | T3 | ۰/۹۷±۰/۰۵$^{ab}$ | ۱/۳۸±۰/۱۳$^{ab}$ |
| | T4 | ۱/۰۱±۰/۰۹$^{ab}$ | ۱/۴۳±۰/۰۳$^{ab}$ |
| | T5 | ۱/۰۴±۰/۰۲$^{a}$ | ۱/۵۱±۰/۰۳$^{a}$ |
| PER میزان کارایی پروتئین | T1 | ۲/۳۳±۰/۰۲$^{ab}$ | ۱/۷۵±۰/۲۰$^{ab}$ |
| | T2 | ۲/۴۲±۰/۰۸$^{a}$ | ۱/۸۲±۰/۰۹$^{a}$ |
| | T3 | ۲/۳۴±۰/۱۲$^{ab}$ | ۱/۶۵±۰/۱۷$^{ab}$ |
| | T4 | ۲/۲۴±۰/۲۲$^{ab}$ | ۱/۵۸±۰/۰۴$^{ab}$ |
| | T5 | ۲/۱۶±۰/۰۵$^{b}$ | ۱/۵۰±۰/۰۳$^{b}$ |
| SGR ضریب رشد ویژه (درصد/روز) | T1 | ۱/۳۶±۰/۰۲$^{a}$ | ۰/۶۰±۰/۰۵$^{a}$ |
| | T2 | ۱/۳۷±۰/۰۵$^{a}$ | ۰/۵۹±۰/۰۲$^{a}$ |
| | T3 | ۱/۳۴±۰/۰۴$^{a}$ | ۰/۶۰±۰/۰۷$^{a}$ |
| | T4 | ۱/۲۹±۰/۱۰$^{a}$ | ۰/۶۲±۰/۰۴$^{a}$ |
| | T5 | ۱/۳۰±۰/۰۳$^{a}$ | ۰/۶۰±۰/۰۱$^{a}$ |
| CF فاکتور وضعیت | T1 | ۱/۳۵±۰/۰۲۴$^{a}$ | ۱/۲۲±۰/۰۵۲$^{ab}$ |
| | T2 | ۱/۴۰±۰/۰۲۸$^{a}$ | ۱/۳۰±۰/۱۰۱$^{a}$ |
| | T3 | ۱/۳۶±۰/۰۸۸$^{a}$ | ۱/۲۳±۰/۰۲۰$^{ab}$ |
| | T4 | ۱/۳۶±۰/۰۲۷$^{a}$ | ۱/۲۱±۰/۰۵$^{ab}$ |
| | T5 | ۱/۳۵±۰/۰۷۷$^{a}$ | ۱/۱۶±۰/۰۳۹$^{b}$ |
| WGP درصد افزایش وزن بدن | T1 | ۱۵۶/۶۸±۴/۸۴$^{a}$ | ۵۲/۰۵±۵/۳۵$^{a}$ |
| | T2 | ۱۵۷/۸۵±۸/۸۵$^{a}$ | ۵۰/۳۳± ۲/۰۹$^{a}$ |
| | T3 | ۱۵۳/۶۷±۷/۰۳$^{a}$ | ۵۲/۲۸±۷/۷۶$^{a}$ |
| | T4 | ۱۴۵/۷۱±۱۷/۳۴$^{a}$ | ۵۳/۸۰±۴/۲۸$^{a}$ |
| | T5 | ۱۴۶/۷۸±۶/۰۷$^{a}$ | ۵۱/۴۴±۱/۳۱$^{a}$ |

فعالیت آنزیم پروتئاز در روز صفر فاقد تفاوت معنی‌دار بود درحالی‌که در روز ۳۰ و ۶۰ بیشترین میزان فعالیت آنزیم پروتئاز در تیمار ۲ و ۳ مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها از افزایش معنی‌داری برخوردار بود ($p$<۰/۰۵) (شکل ۷).



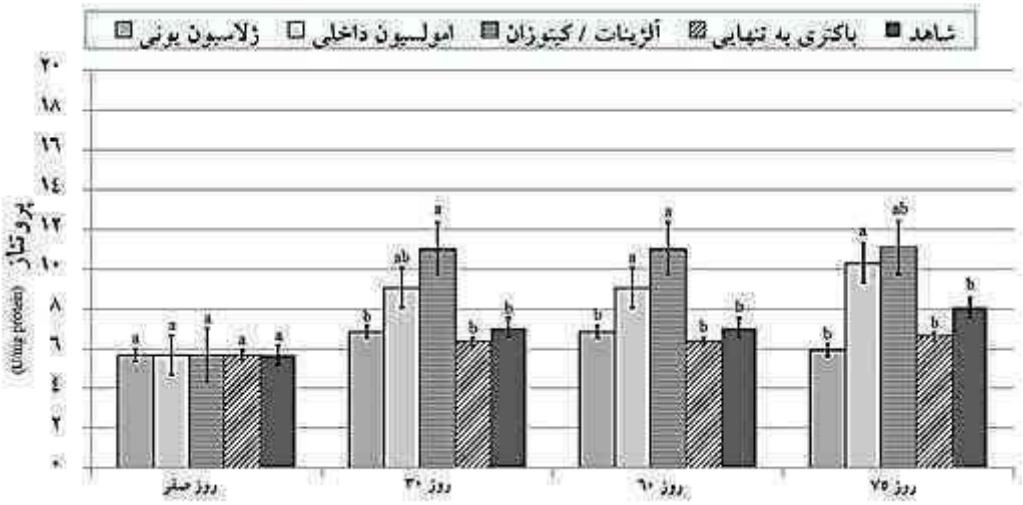
[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]




**شکل ۶: فعالیت لیپاز در تیمارهای مختلف در روزهای ۰، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ آزمایش. حروف لاتین کوچک متفاوت در هر روز نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.**

**Figure 6: Lipase activity in different treatments on days 0, 30, 60 and 75 of the experiment. Different small alphabetic letters in the same column show significant differences (*p*<0.05)**




**شکل ۷: فعالیت پروتئاز در تیمارهای مختلف در روزهای ۰، ۳۰، ۶۰ و ۷۵ آزمایش. حروف لاتین کوچک متفاوت در هر روز نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.**

**Figure 7: Protease activity in different treatments on days 0, 30, 60 and 75 of the experiment. Different small alphabetic letters in the same column show significant differences (*p*<0.05)**

## بحث

استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک در آبزیان در حال افزایش می‌باشد. اهمیت روزافزون پروبیوتیک‌ها، از سویی و قابلیت زنده مانی اندک این میکروارگانیسم‌ها در حین عبور از دستگاه گوارش از سوی دیگر، عمدتاً به دلیل pH پایین و نمک‌های صفراوی، باعث شد تا پژوهشگران همیشه به دنبال راه‌هایی برای افزایش ماندگاری این میکروارگانیسم‌ها باشند (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۸). با این‌حال، هنوز نیاز به تحقیقات زیادی در این مورد می‌باشد. به منظور افزایش زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در شرایط معده و روده ماهی



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

قزل‌آلای رنگین‌کمان، این باکتری به‌وسیله آلژینات/ کیتوزان به روش‌های ژلاسیون یونی و امولسیون داخلی ریزپوشانی شد و اثر آن بر برخی از شاخص‌های رشد و تغذیه و نیز آنزیم‌های گوارشی مورد بررسی قرار گرفت.
نتایج این تحقیق نشان داد که ریزپوشینه‌ها از نظر شکل ظاهری تا حدود زیادی به شکل کروی هستند. کپسول‌های ساخته شده به روش ژلاسیون یونی دارای توزیع اندازه وسیع‌تر در محدوده ۱۲۵ نانومتر الی ۳۹/۹ میکرومتر بودند. برخلاف روش ژلاسیون یونی، کپسول‌های تهیه شده به روش امولسیون داخلی توزیع اندازه یکنواخت‌تری داشته به‌طوری‌که اندازه ۴۴/۶ نانومتر الی ۱۴/۹ میکرومتر داشتند. ذرات در این روش ریزتز و دارای ثبات بیشتر بودند. اندازه و توزیع اندازه ریزپوشینه‌ها، تحت تأثیر نسبت روغن به آب، غلظت سورفاکتانت و سرعت مخلوط کردن می‌باشد (Ma *et al*., 2012). همچنین $d_{peak}$ در روش امولسیون داخلی ۱۴/۹ میکرومتر و در روش ژلاسیون یونی ۳۹/۹ میکرومتر محاسبه شد. کپسول‌های تولیدی به روش امولسیون داخلی، سطح هموارتر و توزیع اندازه محدودتری داشته و به صورت یکنواخت در محلول انتشار داشتند. زیرا پودر کربنات کلسیم ($CaCo_3$) در محلول آلژینات حل شده و یون کلسیم ($Ca^{2+}$) با افزودن اسید لاکتیک بدون اختلال در قطره امولسیون و حفظ شکل، در لحظه تشکیل می‌شود (Huiyi *et al*., 2013) درحالی‌که میکروکپسول‌های تولیدی در روش ژلاسیون یونی دارای اندازه غیریکنواخت و توزیع پراکنده‌تر بودند که این توزیع نامتقارن به دلیل انتشار غیریکنواخت یون کلسیم ($Ca^{2+}$) می‌باشد. زیرا وقتی قطره کلرید کلسیم ($CaCl_2$) کوچکتر، قطره آلژینات سدیم بزرگتر را می‌بلعد، توزیع غیریکنواخت یون کلسیم باعث ایجاد ساختار نامتقارن ژل می‌گردد و بالعکس. میکروکپسول‌های بزرگتر به رغم حفاظت بیشتر، دارای تأثیر سنسوری منفی بر محصول می‌باشند. اندازه زیر ۱۰۰ میکرومتر جهت جلوگیری از تأثیر سنسوری منفی مطلوب می‌باشد (Hansen *et al*., 2002). البته با توجه به اندازه بزرگ باکتری‌ها، اندازه ذرات لزوماً باید از اندازه باکتری‌ها بزرگتر باشد.

بازده ریزپوشانی (کارایی ریزپوشانی) یعنی درصد باکتری‌های ریزپوشانی شده که در مقایسه با باکتری‌های اولیه به‌کار رفته در مورد روش امولسیون داخلی ۸۸ درصد و در روش ژلاسیون یونی ۷۸ درصد بود که نشان‌دهنده کارایی ریزپوشانی بهتر روش امولسیون داخلی در مقایسه با روش ژلاسیون یونی بود. درصد کم باکتری‌های از دست رفته نشانگر دقت مناسب به‌کار رفته در روش و نحوه ریزپوشانی می‌باشد. در مطالعه حسینی و همکاران (۱۳۹۶) بازده ریزپوشانی در روش امولسیون داخلی ۹۲ درصد و در روش ژلاسیون یونی ۸۷/۶ درصد گزارش شد. بنابراین، حفظ قابلیت زنده‌مانی سلول عامل مهمی در انتخاب فرآیند تولید کپسول‌ها می‌باشد. در ریزپوشانی سلول‌های مخمر به روش امولسیون داخلی و خارجی بازده ریزپوشانی به‌ترتیب ۸۰ و ۷۷ درصد گزارش شد (Huiyi *et al*., 2013). به دلیل استفاده از اسید در روش امولسیون داخلی، قابلیت زنده‌مانی سلول مورد تهدید واقع می‌شود. نوع سلول ریزپوشانی شونده نیز بر میزان بازده ریزپوشانی مؤثر می‌باشد (حسینی و همکاران، ۱۳۹۶). برای مثال، بازده ریزپوشانی ویتامین ریبوفلاوین ($B_2$) ۵۵/۹ درصد گزارش شد (Azevedo *et al*., 2014). همچنین غلظت پلیمر نیز به نحو مؤثری باعث بالا رفتن بازده ریزپوشانی می‌گردد.
پتانسیل زتا (الکتروسینتیک)، اختلاف پتانسیل بین لایه یونی متحرک و لایه غیرمتحرک می‌باشد و بهترین شاخص برای تعیین وضعیت الکتریکی سطحی دیسپرسیون‌هاست، زیرا نشان‌دهنده میزان تجمع بار در لایه غیرمتحرک و شدت جذب یون‌های مخالف به سطح ذره است. عوامل مختلفی مانند pH، قدرت یونی، نوع و غلظت بیوپلیمرهای مورد استفاده، نسبت بین آنها و ... بر میزان بار سطح و پتانسیل زتای کمپلکس مؤثر است (اکرمی و همکاران، ۱۳۹۵). بنابراین، بار ذرات اغلب بر حسب پتانسیل زتا گزارش می‌شود. هرچه میزان پتانسیل زتای ذرات کلوئیدی بالاتر باشد، نیروی دافعه الکترواستاتیک بالاتر می‌رود و باعث افزایش پایداری فیزیکی سیستم می‌شود. پتانسیل زتای بالای ۳۰+ میلی‌ولت یا زیر ۳۰- میلی‌ولت معمولاً متعادل در نظر



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

گرفته می‌شود (Burgos and Moreno, 2009). در این بررسی، پتانسیل زتا در روش امولسیون داخلی ۳۶/۵ میلی‌ولت و در روش ژلاسیون یونی ۴۱/۱+ میلی‌ولت محاسبه شد که نشان‌دهنده تعادل کلوئیدال مناسب کپسول‌های تولیدی می‌باشد که این باعث جلوگیری از آگلومره شدن می‌شود. تفاوت اندک در مقدار پتانسیل زتا احتمالاً به دلیل تفاوت در میزان pH محلول و غلظت پلی‌ساکاریدهای به‌کار رفته در دو روش ریزپوشانی می‌باشد. زیرا pH و غلظت ماکرومولکول‌های پلی‌ساکاریدی و پروتئینی مورد استفاده و نسبت بین آنها بر میزان پتانسیل زتا مؤثر می‌باشد (Peinado *et al.*, 2010).

در مطالعه حاضر، اثر باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی و ژلاسیون یونی در جیره غذایی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ریزپوشانی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* به روش امولسیون داخلی بر شاخص‌هایی مانند ضریب تبدیل غذایی، میزان کارایی پروتئین و فاکتور وضعیت دارای تأثیر معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد می‌باشد. همچنان که در مطالعه قلی‌پور و همکاران (۱۳۹۹) اثرات مثبت *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی بر ضریب رشد ویژه و ضریب تبدیل غذایی ماهی باس دریایی آسیایی گزارش گردید. در مطالعه حاضر، بهبود پارامترهای رشد و تغذیه را احتمالاً می‌توان به افزایش زنده‌مانی باکتری‌ها در شرایط معده و روده بعد از ریزپوشانی با ذرات آلژینات/کیتوزان به روش امولسیون داخلی ارتباط داد (قلی‌پور و همکاران، ۱۳۹۹). در واقع، عملکرد جمعیت میکروبی روده به توانایی تعامل میکروارگانیسم‌ها با دستگاه گوارش بستگی دارد و اثرات بیولوژیک این تعامل می‌تواند بر عملکرد رشد میزبان مؤثر باشد (Dawood *et al.*, 2018) و از طریق کاهش pH روده و رقابت با باکتری‌های مضر از رشد آنها جلوگیری کند (Ringo *et al.*, 2018) و با تحریک سیستم ایمنی باعث افزایش مقاومت و کاهش استرس در میزبان شود (Hoseinifar *et al.*, 2018) که مجموعه این عوامل منجر به بهبود پارامترهای رشد میزبان خواهد شد. همچنان که در مطالعه ویسی و همکاران (۱۳۹۹) بیشترین میزان رشد روزانه، فاکتور وضعیت، افزایش وزن، درصد افزایش وزن و کمترین میزان ضریب تبدیل غذایی در ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تغذیه شده با پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده با آلژینات سدیم-کیتوزان مشاهده شد.

بیشتر اثرات مفید استفاده از پروبیوتیک‌ها مربوط به تولید آنزیم‌های تولیدی از این موجودات سودمند می‌باشد (Sahandi *et al.*, 2018). این امر از طریق بهبود فلور میکروبی روده، تولید انواع ویتامین‌ها و ترشح آنزیم‌هایی مانند پروتئاز، لیپاز و آمیلاز انجام می‌گیرد که سبب تجزیه ترکیبات غیرقابل هضم، افزایش متابولیسم میکروبی، تحریک اشتها و جذب مناسب‌تر مواد غذایی در میزبان می‌شوند (Merrifield and Ringø, 2014; Hai, 2015; Das *et al.*, 2017; Ringø *et al.*, 2018).

آنزیم‌های گوارشی برای متابولیسم طبیعی سلول‌ها و سلامتی جانور ضروری هستند و به عنوان نشانگرهای بیوشیمایی در فیزیولوژی گوراش در ماهیان مورد توجه بوده و پارامترهای مهمی در ارزیابی کیفیت هضم و جذب و سلامت ماهی هستند (قلی‌پور و همکاران، ۱۳۹۹).

در مطالعه حاضر، نتایج حاصل از تجویز خوراکی پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* ریزپوشانی شده به روش‌های مختلف در ماهی قزل‌آلای رنگین کمان طی دوره آزمایشی نشان داد که میزان آنزیم‌های لیپاز، در تیمار ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی در روز ۶۰، همچنین آنزیم پروتئاز در تیمار ریزپوشانی شده به روش امولسیون داخلی و تیمار آلژینات/کیتوزان در روزهای ۳۰، ۶۰ و ۷۵ آزمایش نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی‌دار می‌باشد که دلیل آن می‌تواند به علت رشد بیشتر سلول‌های ترشح‌کننده آنزیم (Tovar *et al.*, 2002)، ترشح محدوده وسیعی از آنزیم‌های باکتری پروبیوتیک (اگزوآنزیم‌ها) یا افزایش فعالیت آنزیم‌های گوارشی (اندوآنزیم‌ها) باشد. همچنان که در مطالعه‌ای، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های گوارشی مانند آلفا آمیلاز و فسفاتاز قلیایی در ماهیان بأس دریایی تغذیه شده



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

با آلژینات/ کیتوزان مشاهده گردید (قلی‌پور و همکاران، ۱۳۹۹).

به رغم بهبود معنی‌دار و مشخص برخی شاخص‌های رشد و تغذیه در این مطالعه مانند ضریب تبدیل غذایی، کارایی پروتئین و فاکتور وضعیت و نیز بهبود آنزیم‌های گوارشی (لیپاز و پروتئاز)، از آن‌جایی‌که استفاده از روش‌های ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها در صنعت آبزی‌پروری مبحث بسیار جدیدی می‌باشد و مطالعات بسیار اندکی در این خصوص انجام گرفته است، ضروری است تحقیقات بیشتری به منظور درک مکانسیم عمل میکروکپسول‌ها انجام شود تا بتوان تأثیر مثبت روش‌های ریزپوشانی را بر افزایش کارایی پروبیوتیک‌ها اثبات نمود.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری ریاست و پرسنل محترم مرکز تحقیقات ژنتیک و اصلاح نژاد ماهیان سردابی شهید مطهری یاسوج برای فراهم کردن امکانات انجام این پژوهش و نیز کارشناسان محترم آزمایشگاه بهداشت آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

**اکرمی، م.، قنبرزاده، ب.، پورظفر، ف.، مرتضوی، ع.، دیناروند، ر. و دهقان‌نیا، ج.، ۱۳۹۵.** نانوکمپلکس‌های صمغ عربی-کازئینات حامل بتاکاروتن: بررسی اندازه ذرات، پتانسیل زتا، مورفولوژی و کارایی انکپسولاسیون. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۶(۴): ۷۷۸-۷۶۳.

**چوبکار، ن.، کاکولکی، ش.، صحرایی، ف.، آقاجانی، ع.، رضایی منش، م. و محمدی، ف.، ۱۳۹۷.** بررسی تاثیر غذای غنی شده با پروبیوتیک بر فراسنجه های رشد ماهی پرورشی قزل آلای رنگین کمان. مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۵): ۱۲۴-۱۱۵.

**حسینی، ص.، محمدیان، ت.، عباسپور، م. و علیشاهی، م.، ۱۳۹۶.** اثر ریزپوشانی با آلژینات / کیتوزان بر بقاء پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (*Lactobacillus plantarum*) در شرایط شبیه سازی شده معده و روده در فیل ماهی (*Huso huso*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۷(۲): ۱۷۳-۱۶۱.

**خادمی حمیدی، م.، آدینه، ح.، هرسیچ، م. و قلی پور کنعانی، ح.، ۱۳۹۸.** تاثیر استفاده برخی از عصاره‌های گیاهی بر رشد و تغذیه، آنزیم‌های گوارشی و پارامترهای ایمنی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۸(۵): ۵۷-۴۷.

**رضایی مکرم، ر.، مرتضوی، ع. حبیبی نجفی، م. شهیدی، ف. و خمیری، م.، ۱۳۸۹.** اثر میکروانکپسولاسیون آلژینات کلسیم بر قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* PTCC1643 در شرایط شبیه سازی شده معده و روده انسان. فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۷(۲): ۶۰-۵۱.

**قلی‌پور، م.، سلطانیان، س.، اخلاقی، م.، علیشاهی، م.، میربخش، م. و قیصری، ح.، ۱۳۹۹.** بررسی اثر ریزپوشانی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با آلژینات/کیتوزان بر شاخص‌های رشد و فعالیت آنزیم‌های گوارشی ماهی بأس دریایی آسیایی (*Lates calcarifer*). فصلنامه محیط زیست جانوری، ۱۲(۳): ۲۰۶-۱۹۷.
Doi: 10.22034/aej.2020.114800

**کاهکش، م. و رومیانی، ل.، ۱۳۹۶.** تاثیر خوراکی لاکتوباسیلوس کازئی و سطوح مختلف ایمونوژن بر عملکرد فاکتورهای ایمنی و خونی کپور معمولی (*Cyprinus carpio*). مجله علمی شیلات ایران، ۲۶ (۶): ۱۵۰-۱۳۹.

**کرمی شیرازی، م.ل.، سوری نژاد، ا. و سلطانیان، س. ۱۳۹۹.** تاثیر محرک ایمنی زایموزان بر رشد و مقاومت *Artemia fransiscana* در برابر عفونت باکتری‌های *Vibrio campbelli* و *Vibrio proteolyitcus* در سیستم آزمایش گنوتوبیوتیک. مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۱): ۱۰۵-۱۱۶.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]
[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

**محمدیان، ت.، ۱۳۹۲.** ارزیابی توان پروبیوتیکی و تحریک کنندگی ایمنی برخی لاکتوباسیلوس‌های جدا شده از روده ماهی شیربت *Barbus grypus*. پایان نامه دوره دکترای Ph.D، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، ۱۸۴ صفحه.

**محمدیان، ت.، بیتا، س. و ناصری، ر.، ۱۳۹۸.** تاثیر *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ریزپوشانی شده با آلژینات / کیتوزان بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی پلاسمای خون در فیل ماهی (*Huso huso*). مجله تحقیقات دامپزشکی، ۷۴(۱): ۱۰۳-۹۳. Doi: 10.22059/JVR.2018.233209.2627

**محمودی‌کیا، ز. و ایمانی، ا.، ۱۳۹۷.** شیوه‌های مختلف تقویت سیستم ایمنی در ماهیان. فصلنامه علوم آبزی‌پروری پیشرفته. ۲(۲): ۴۱-۲۹.

**ویسی، ا.ف.، اورجی، ح.، رفیعی، غ.ر.، فیروزبخش، ف. و کرامت، ع.، ۱۳۹۹.** بررسی اثرات جیره‌های غذایی حاوی باکتری‌های ریزپوشانی شده *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136 با آلژینات سدیم و کیتوزان بر رشد بچه‌ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان (*Oncorhunchus mykiss*). مجله منابع طبیعی ایران. ۷۴(۳): ۴۱۶-۴۰۱.

**یزدان پناه گوهرریزی، ل.، رخ بخش زمین، ف.، ذریه زهرا، ج.، کاظمی پور، ن. و خیرخواه، ب.، ۱۳۹۹.** بررسی اثرات استفاده از باکتریوفاژ AHϕ3 در میزان بازماندگی ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) آلوده به باکتری آئروموناس هیدروفیلا (*Aeromonas hydrophila*) در شرایط درون تنی. مجله علمی شیلات ایران، ۲۹(۱): ۴۷-۳۷.

**Azevedo, M.A., Bourbon, A.I., Vicente, A.A. and Cerqueira, M.A., 2014.** Alginate/chitosan nanoparticles for encapsulation and controlled release of vitamin B 2. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71: 141-146. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.036.

**Badoei-Dalfard, A. and Karami, Z., 2013.** Screening and isolation of an organic solvent tolerant-protease from Bacillus sp. JER02: activity optimization by response surface methodology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 89: 15-23. Doi: 10.1016/j.molcatb.2012.11.016

**Borlongan, I., 1990.** Studies on the digestive lipases of milkfish, *Chanos chanos*. *Aquaculture*, 89: 315-325. Doi: 10.1016/0044-8486 (90)90135-A.

**Burgos, O. and Moreno, R., 2009.** Stability of concentrated suspensions of Al2O3–SiO2 measured by multiple light scattering. *Journal of the European Ceramic Society*, 29: 603–610. Doi: 10.1016/j.jeurceramsoc.2008.07.044.

**Chavarri, M., Maranon, I. and Villaan, M.C., 2012.** Encapsulation technology to protect probiotic bacteria. INTECH Open Access Publisher, 501–540. Doi: 10.5772/50046.

**Chi, C., Jiang, B., Yu, X.B., Liu, T.Q., Xia, L. and Wang, G.X., 2014.** Effects of three strains of intestinal autochthonous bacteria and their extracellular products on the immune response and disease resistance of common carp, *Cyprinus carpio*. *Fish and Shellfish Immunology*, 36: 9-18. Doi: 10.1016/j.fsi.2013.10.003.

**Das, S., Mondal, K. and Haque, S.J.G., 2017.** A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5: 422-429.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

**Dawood, M.A., Koshio, S., Abdel-Daim, M.M. and Van Doan, H.J., 2018.** Probiotic application for sustainable aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11: 907-924. Doi: 10.1111/raq.12272.

**Dodoo, C.C., Stapleton, P., Basit, A.W. and Gaisford, S.J., 2018.** Use of a water-based probiotic to treat common gut pathogens. *International Journal of Pharmaceutics*, 556: 136-141. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2018.11.075.

**Dong, Q.Y., Chen, M.Y., Xin, Y., Qin, X.Y., Cheng, Z., Shi, L.E. and Tang, Z.X., 2013.** Alginate-based and protein-based materials for probiotics encapsulation: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 48: 1339–1351. Doi: 10.1111/ijfs.12078.

**Erlanger, B.F., Kokowsky, N. and Cohen, W., 1961.** The preparation and properties of two new chromogenic substrates of trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 95: 271-278. Doi: 10.1016/0003-9861 (61)90145-X.

**Garcı´a-Carren˜o, F., Haard, N. and Dimes, N., 1993.** Substrategel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Analytical Biochemistry*, 214: 65–69.

**Hai, N.V., 2015.** The use of probiotics in aquaculture. *Journal of Applied Microbiology*, 119: 917–935. Doi: 10.1111/jam.12886.

**Hansen, L.T., Allan-Wojtas, P.M., Jin, Y.L. and Paulson, A.T., 2002.** Survival of Ca-alginate microencapsulated Bifidobacterium spp. in milk and simulated gastrointestinal conditions. *Food microbiology*, 19: 35-45. Doi: 10.1006/fmic.2001.0452.

**Hoseinifar, S.H., Sun, Y., Wang, A. and Zhou, Z.J., 2018.** Probiotics as means of diseases control in aquaculture, A Review of current knowledge and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1-18. Doi: 10.3389/fmicb.2018.02429.

**Huiyi, S., Weiting, Y., Meng, G., Xiudong, L. and Xiaojun, M., 2013.** Microencapsulated probiotics using emulsification technique coupled with internal or external gelation process. *Carbohudrate Polymers*, 96: 181-189. Doi: 10.1016/j.carbpol.2013.03.068.

**Hummel, B.C., 1959.** A modified spectrophotometric determination of chymotrypsin, trypsin, and thrombin. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 1393-1399. Doi: 10.1139/o59-157.

**Kabak, B., Brandon, E.F.A., Var, I., Blokland, M. and Sips, A.J., 2009.** Effects of probiotic bacteria on bioaccessibility of aflatoxin B1 and ochrtoxin A using an in vitor digestion model under fed conditions. *Journal of Environmental Science and Health*, 44: 472-80. Doi: 10.1080/03601230902935154.

**Li, C., Ren, Y., Jiang, S., Zhou, S., Zhao, J., Wang, R. and Li, T., 2018.** Effects of dietary supplementation of four strains of lactic acid bacteria on growth, immune-



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

related response and genes expression of the juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicas* Selenka. *Fish & Shellfish Immunology*, l74: 69–75. Doi: 10.1016/j.fsi.2017.12.037.

**Ma, Y., Pacan, J.C., Wang, Q., Sabour, P.M., Huang, X. and Xu, Y., 2012.** Enhanced alginate microspheres as means of oral delivery of bacteriophage for reducing *Staphylococcus aureus* intestinal carriage. *Food Hydrocolloids*, 26: 434-440. Doi: 10.1016/j.foodhyd.2010.11.017.

**Maria, A.A., Ana, I.B., Antonio, A.V. and Miguel, A.C., 2014.** Alginat/chitosan nanopartices for encapsulation and controlled release of vitamin B2. *International Journal of Biological Macromolecules*, 71: 141-146. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.05.036.

**Masoomi Dezfooli, S.S., Maddox, N.G., Alfaro, A. and Seyfoddin, A., 2018.** Encapsulation for delivering bioactives in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 11: 631-660. Doi: 10.1111/raq.12250.

**Merrifield, D.L. and Ringø, E., 2014.** Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics. Wiley-Blackwell, UK, 488 P.

**Mohammadian, T., Tulaby Dezfuly, Z., Ghanei Motlagh, R., Jangaran-Nejad, A., Hosseini, S.S., Khaj, H. and Alijani, N., 2019.** Effect of Encapsulated *Lactobacillus bulgaricus* on Innate Immune System and Hematological Parameters in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*), Post-Administration of Pb. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 12: 1-14. Doi: 10.1007/s12602-019-09544-7.

**Mokarram, R.R., Mortazavi, S.A., Naafi, M.H. and Shahidi, F., 2009.** The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International*, 42: 1040-1045.
Doi: 10.1016/j.foodres.2009.04.023.

**Mortazavian, A., Razavi, S.H., Ehsani, M.R. and Sohrabvandi, S., 2007.** Principles and methods of microencapsulation of Probiotic microorganisms, *Iranian Journal of Biotechnology*, 5: 1-18.

**Peinado, I., Lesmes, U., Andrés, A. and McClements, J.D., 2010.** Fabrication and orphological characterization of biopolymer particles formed by electrostatic complexation of heat-treated lactoferrin and anionic polysaccharides. *Langmuir*, 26: 9827-9834. Doi: 10.1021/la1001013.

**Pirarat, N., Pinpimai, K., Rodkhum, C., Chansue, N., Ooi, E.L., Katagiri, T. and Masashi, M., 2015.** Viability and morphological evaluation of alginate-encapsulated *Lactobacillus rhamnosus* GG under simulated tilapia gastrointestinal conditions and its effect on growth performance intestinal morphology and protection against *Streptococcus agalactiae*. *Animal Feed Science and Technology*, 207: 93–103. Doi: 10.1016/j.anifeedsci.2015.03.002.

**Planas M., Vazquez, J.A., Marques, J., Peres-Lomba, R., Gonzalez M.P. and**



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

**Murado, M., 2004.** Enhancement of rotifer (*Brachionus plicatilis*) growth by using terrestrial lactic acid bacteria. *Aquaculture*, 240: 313-329. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2004.07.016.

**Ringo, E., Hoseinifar, S.H., Ghosh, K., Doan, H.V. and Beck, B.R., 2018.** Lactic acid bacteria in finfish–an update. *Frontiers in Microbiology*, 9: 1-37. Doi: 10.3389/fmicb.2018.01818.

**Rungruagsak-Torrissen, K. and Fosseidengen, J.E., 2007.** Effect of artificial feeding on digestive efficiency, growth and qualities of muscle and oocyte of maturing Atlantic mackerel (*Scomber scombrus* L.). *Journal of Food Biochemistry*, 31: 726-747. Doi: 10.1111/j.1745-4514.2007.00139.x.

**Rungruangsak-Torrissen, K., Rustad, A., Sunde, J., Eiane, S.A., Jensen, H.B., Opstvedt, J., Nygård, E., Samuelsen, T.A., Mundheim, H. and Luzzana, U., 2002.** In vitro digestibility based on fish crude enzyme extract for prediction of feed quality in growth trials. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 644-654. Doi: 10.1002/jsfa.1089.

**Sahandi, J., Jafaryan, H., Soltani, M. and Ebrahimi, P., 2018.** The use of two Bifidobacterium strains enhanced growth performance and nutrient utilization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fry. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 11: 966-972. Doi: 10.1007/s12602-018-9455-2.

**Salas-Leiton, E., Anguis, V., Martín-Antonio, B., Crespo, D.V., Planas, J., Infante, C., Cañavate, J. and Manchado, M., 2010.** Effects of stocking density and feed ration on growth and gene expression in the Senegalese sole (*Solea senegalensis*): Potential effects on the immune response. *Fish and Shellfish Immunology*, 28: 296-302. Doi: 10.1016/j.fsi.2009.11.006.

**Sarmento, B., Riberio, A.J., Veiga, F., Ferreira, D.C. and Neufeld, R.J., 2007.** Insulin-Loaded nanoparticles are prepared by alginate Ionotropic pre-gelation followed by chitosan polyelectrolyte complexation. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 7: 1-9. Doi: 10.1166/jnn.2007.609.

**Soltani, M., Lymbery, A., Song, S.K. and Hosseini Shekarabi, P., 2019.** Adjuvant effects of medicinal herbs and probiotics for fish vaccines. *Reviews in Aquaculture*, 11: 1325-1341. Doi: 10.1111/raq.12295.

**Sun, Y.Z., Yang, H.L., Ma, R.L., Song, K. and Li, J.S., 2012.** Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 18: 281-289. Doi: 10.1111/j.1365-2095.2011.00894.x.

**Sutthi, N., Thaimuangphol, W., Rodmongkoldee, M., Leelapatra, W. and Panase, P., 2018.** Growth performances, survival rate, and biochemical parameters of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) reared in water treated with probiotic. *Comparative Clinical Pathology*, 27: 597-603. Doi: 10.1007/s00580-017-2633-x.



[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

**Tovar, D., Zambonino, J., Cahu, C., Gatesoupe, F., Vázquez-Juárez, R. and Lésel, R., 2002.** Effect of live yeast incorporation in compound diet on digestive enzyme activity in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae. *Aquaculture*, 204: 113-123. Doi: 10.1016/S0044-8486(01)00650.

**Tripathi, M.K. and Giri, S.K., 2014.** Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods*, 9: 225-241. Doi: 10.1016/j.jff.2014.04.030.

**Vine, N.G., Leukes, W.D. and Kaiser, H., 2006.** Probiotics in marine larviculture. *FEMS microbiological Reviews*, 30: 404-427. Doi: 10.1111/j.1574-6976.2006.00017.x.

**Wu, Z.Q., Jiang, C., Ling, F. and Wang, G.X., 2015.** Effects of dietary supplementation of intestinal autochthonous bacteria on the innate immunity and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture*, 438: 105–114. Doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.12.041.

**Wuertz, S., Schroeder, A. and Wanka, K.M., 2021.** Probiotics in Fish Nutrition—Long-Starnding Household Remedy or Native Nutraceuticals. *Water*, 13: 1-19. Doi: 10.3390/w13101348.

[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]

# Effect of *Lactobacillus rhamnosus* microencapsulated by alginate/chitosan in two ways, ionic gelation and internal emulsification on growth and nutrition performance and digestive enzymes activity of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)

Hosseini S.A.[1*]; Kochanian P.[2]; Alishahi M. [3]; Mohammadian T.[3]; Zakeri M.[2]

[*]hoseiniabdolhamid@gmail.com

1-Shahid Motahary Cold water Fishes Genetic and breeding Research Center, Iranian Fisheries Science Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Yasoj, Iran.

2-Department of Fisheries, Faculty of Marine Natural Resources, Khorramshahr University of Marine Science and Technology. Khorramshahr, Iran.

3-Department of Clinical sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

## Abstract

Technology of probiotics encapsulation is one of the newest methods to increase the stability of probiotics. In the current study, the effects of encapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* by alginate/chitosan in two ways, ionic gelation and internal emulsification on nutrition and growth performance and digestive enzymes activity in rainbow trout were evaluated. An experiment was designed with five treatments each with three replicates. 600 juvenile average (±SD) initial weight of 25.53±.82 g were assigned to 4 treatments (each with 3 replications). Fish in T1 and T2 received *Lactobacillus rhamnosus* encapsulated by Ionic gelation and internal emulsification respectively, T3 were fed with alginate/chitosan enriched free probiotic diet, T4 received bacteria without any encapsulation and control group. Fish were fed with experimental diets for 60 days and the study continued for a further 15 days with basic diet in all treatments. Fish were sampled on days 30, 60 and 75 and food conversion ratio, protein efficiency ratio, specific growth rate, condition factor, weight gain percentage and digestive enzymes activity (lipase, protease, trypsin and chymotrypsin) were compared among the treatments. The lowest food conversion ratio (0.93±0.03) at day 30 was seen in T2 which was significantly different from control treatment ($p<0.05$). Protein efficiency ratio values at days 30, 60 and condition factor at day 60 were higher in T1 and T2, that this increase was significant in T2 than control group ($p<0.05$). Also, the measurement of digestive enzymes showed the high level of lipase and protease in microencapsulated treatments compared to other treatments.

It can be concluded that the microencapsulation of *Lactobacillus rhamnosus* by internal emulsification with alginate/chitosan has significant effects on some of nutrition and growth performance and digestive enzymes activity in rainbow trout and the use of this method to improve the performance of the probiotic in rainbow trout is recommended.

**Keywords:** Microencapsulation, *Lactobacillus rhamnosus*, Alginate/chitosan, Ionic gelation, Internal emulsification, Digestive enzymes

[*]Corresponding author

[ Downloaded from isfj.ir on 2026-01-31 ]

[ DOR: 20.1001.1.10261354.1401.31.4.5.3 ]