استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تولید آب انار پروبیوتیک

ندا قضاوی[۱*]، حمدالله مشتاقی[۲]، مجتبی بنیادیان[۳]، رویا عابدی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۲- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۳- استادیار گروه بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی، دانشکده ی دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
٤- دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده ی تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹٤/۰٦/۰۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۲/۱٤)

چکیده

امروزه، مصرف فراورده های غذایی پروبیوتیک با توجه به اثرات سلامت بخش آن، مورد توجه قرار گرفته است. از بین نوشیدنی های پروبیوتیکی، نوشیدنی های با پایه ی شیر به دلیل اثرات درمانی آن بر بدن، توسعه ی بیشتری یافته است. اخیرا مصرف کنندگان تمایل بیشتری به مصرف آب میوه های پروبیوتیک نشان داده اند. در این مطالعه از آب انار با دو رقم انار ایرانی شهرضا و نطنز به عنوان پایه ای برای تلقیح باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* استفاده شد. سپس قابلیت زنده مانی این باکتری در دو رقم، مورد مقایسه قرارگرفت. تغییرات pH، اسیدیته ی قابل تیتر، رسوب و نیز زنده مانی سلول های پروبیوتیک، تحت شرایط کنترل شده ای در دمای $4\ ^{\circ}c$ تعیین شد و نمونه ها، در روز های پنجم و دهم از تخمیر، از لحاظ رنگ، طعم، بو، غلظت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد قابلیت بقای باکتری در آب انار رقم نطنز به دلیل pH کمتر آن نسبت به رقم شهرضا، پایین تر بوده و طی هفته ی اول جمعیت میکروبی از ۷/٤۳ سیکل لگاریتمی به ٤/۵ سیکل لگاریتمی کاهش یافت. در حالی که در آب انار شهرضا، در طی این مدت جمعیت باکتری از۷/٤۹ به ۵/۳۳ سیکل لگاریتمی رسید. در هفته ی دوم در هیچ یک از دو تیمار، باکتری شناسایی نشد. درهر دو تیمار، شاهد کاهش معنادار pH، رسوب و نیز جمعیت باکتری در پایان مدت نگهداری بودیم ولی تغییرات اسیدیته معنادار نبود ($P < 0.01$). پروبیوتیک کردن آب انار اثر نامطلوبی بر خواص حسی آن نداشته است. در کل قابلیت بقای باکتری لاکتوباسیلوس در آب انار به دلیل شرایط اسیدی آن، کوتاه مدت بوده است.

کلید واژگان: آب انار، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

* مسئول مکاتبات: neda.ghazavi@gmail.com

۱- مقدمه

غذاهای فراسودمند[1] به غذاهایی گفته می شود که علاوه بر دارابودن مواد مغذی پایه ای برای بدن، باعث بهبود سلامت بدن نیز می گردند. فرآورده های پروبیوتیکی که با افزودن باکتری های پروبیوتیک بدست می آیند را می توان از انواع محصولات فراسودمند به حساب آورد. این باکتری ها که منشا اصلی آن ها از دستگاه گوارش و روده است، اثرات مفیدی بر سلامتی مصرف کننده برجای می‌گذارند [۱]. امروزه عواملی از قبیل عادت های نادرست تغذیه ای، مصرف آنتی بیوتیک ها، استرس ها، اشعه درمانی، ورود سموم به بدن از راه آب، هوا و غذا و ... باعث کاهش جمعیت این باکتری ها در بدن و برهم خوردن توازن آن ها در دستگاه گوارش می شوند، مصرف فراورده های مختلف پروبیوتیکی به جبران فلور میکروبی از دست رفته در بدن کمک می کند و در پیشگیری از بروز بیماری های مختلف موثر است و کارهای تحقیقاتی زیادی در این زمینه انجام گرفته است [۲]. بیشتر میکروارگانیسم های پروبیوتیکی مورد استفاده از گونه هایی از بیفیدوباکتریوم ها و لاکتوباسیلوس ها هستند [۳]. باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[2] مهمترین و پر مصرف ترین ریززنده ی پروبیوتیکی است. این باکتری گرم مثبت، غیراسپورزا، بی هوازی اختیاری، میله ای شکل با انتهای گرد، منفرد و یا جفت در قالب زنجیره های کوتاه دیده می شود [٤]. این باکتری با تولید ترکیبات ضدمیکروبی مانند اسیدهای آلی، آب اکسیژنه و آنتی بیوتیک رشد باکتری های بیماری زا را مهار می کنند [٥]. تحقیقات انجام شده نشان داده است که افزودن پروبیوتیک ها بر کاهش میزان کلسترول سرم خون، بهبود عملکرد معده – روده ای، تقویت سیستم ایمنی، کاهش خطر ابتلا به سرطان روده، ،جلوگیری از فعالیت باکتری های سندرم روده تحریک پذیر و التهاب مزمن روده ای و جلوگیری از عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* [3] موثر بوده است [٦،١]. علاوه بر آن، ساخت ویتامین ها، هضم اولیه ی پروتئین ها، بهبود جذب کلسیم، متابولیسم لاکتوز وکاهش عوارض عدم تحمل لاکتوز که در رابطه با مصرف شیرایجاد شده، گوشه ای از ویژگی های تغذیه ای فراورده های پروبیوتیکی است [۷].

1. Functional food
2. Lactobacillus acidophilus
3. Helicobacter pylori

پاک بین و همکاران (۲۰۱٤)، اقدام به تولید آب هلوی پروبیوتیک با استفاده ازباکتری های *لاکتوباسیلوس دلبروکی*[4] و *لاکتوباسیلوس کازئی*[5] کردند که مشخص شد *لاکتوباسیلوس دلبروکی* قابلیت بیشتری در مصرف قند، کاهش pH و تولید اسیدلاکتیک داشته و برای تولید آب هلوی پروبیوتیک مناسب است اما *لاکتوباسیلوس کازئی* در دمای $٤\ ^{\circ}c$ قادر به زنده ماندن در آب هلوی تخمیر شده نبود [۸]. Vasudha Sharma و همکاران (۲۰۱۳) از کدو و هویج به عنوان پایه ای برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک کردند که نتایج حاکی از کاهش pH و کاهش تدریجی سلول های زنده ی کشت های لاکتیکی در سرما بود [۹]. نتایج حاصل از استفاده از کشت های لاکتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس DSM 20079 و لاکتوباسیلوس دلبروکی ۱۵۹۹٦ در تخمیر آب کرفس که توسط امینی و همکاران (۹۳) در دمای $٣٧\ ^{\circ}C$ به مدت ٢٤ ساعت انجام گرفت، نشان داد که هر دو سوش بخوبی قادر به رشد و فعالیت در آب کرفس هستند و بیشترین اثرات کاهش pH، افزایش اسیدیته و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده گردید [۱۰].

در این مطالعه سعی شده است امکان بقا و رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب انار مورد مطالعه قرار گیرد؛ ضمن اینکه دو رقم انار شهرضا و نطنز در این رابطه مورد مقایسه قرار گرفته و با توجه به تفاوت اولیه دو رقم انار از لحاظ خصوصیات فیزیکی، گونه ی مناسب تر به منظور تلقیح باکتری لاکتوباسیلوس اسید انتخاب شود. تاکنون مطالعات گسترده ای در زمینه ی تولید آب میوه های پروبیوتیک انجام شده و نتایج حاکی از مناسب بودن آب مبوه ها برای کشت های پروبیوتیکی است؛ چراکه سرشار ازموادمغذی بوده، با دارا بودن میزان بالای قند رشد پروبیوتیک ها را تقویت نموده و بر خلاف نوشیدنی های تهیه شده از شیر، فاقد کشت های استارتری بوده که به معنای حذف یک عامل رقابتی بر سرراه باکتری های پروبیوتیکی است [۱۱]. به دلیل کم بودن مطالعات در زمینه آب انارپروبیوتیک، آبدار بودن، نیز غنی بودن اناراز قندها، آنتوسیانین ها، فنل ها، اسید اسکوربیک و پروتئین ها [۱۲] این میوه برای مطالعه اخیر انتخاب گشت. از طرفی تولید آب انار نسبت به سایر فراورده های تهیه شده از انار به علت

4. Lactobacillus Delbruecki
5. Lactobacillus casei

سهولت مصرف آن و نیز امکان استفاده از میوه های درجه دو و یا بیش از حد رسیده، توسعه ی بیشتری یافته است [۱۳]. با توجه به اینکه این میوه خود ارزش تغذیه ای و اثرات درمانی چشمگیری را داراست[۱٤]، تلقیح باکتری های لاکتیکی نیز، می تواند خواص سلامت بخش آن را ارتقا بخشد [۱۳].

۲- مواد وروش ها

۲-۱- تهیه آب انار به عنوان نمونه های مورد آزمون

میوه انار از دو رقم شهرضا و نطنز از بازار محلی اصفهان خریداری و در یخچال نگهداری شد. پس از گرفتن آب میوه ها، با استفاده از صافی صاف گردیدند و در حمام آب گرم (ساخت ایران، medi & lab works) در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شدند. ضمن اینکه ظرف محتوی نمونه در حمام آب گرم به منظور همگن شدن دمای آن تکان داده شد. کنترل دما به کمک دماسنج جیوه ای انجام گرفت.

۲-۲- انتقال باکتری ها به آب میوه ها

بسته ی ۲۵ گرمی لیوفیلیزه محتوی گرانول های باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس از شرکت پیشگامان پخش صدیق تهران* تهیه و در داخل فریزر نگهداری شد. به هرکدام از تیمارها به میزان۵۰ میلی گرم در ۳۰۰ سی سی از گرانول های باکتری افزوده شد. سپس به یخچال منتقل شده تا در زمان های مشخصی آزمون های شیمیایی و میکروبی برروی آن ها انجام شود.

۲-۳- آزمون های میکروبی و شیمیایی

۲-۳-۱- آزمون های شیمیایی

بر روی هر نمونه، آزمون های اندازه گیری pH، اسیدیته و رسوب انجام گرفت. اندازه گیری pH با استفاده از pH متر (ساخت کمپانی Consort بلژیک) و پس از کالیبره کردن آن با بافرهای ٤ و ۷ صورت گرفت [۱۵]. برای اندازه گیری اسیدیته، ۱۰cc ازآب انار برداشته و تیتراسیون با سود ۱/۰ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۲ انجام گرفت [۱۵]. میزان رسوب آب میوه ها، با داشتن وزن لوله خالی(A)، وزن آب انار ها (B) و وزن لوله و آب انار و رسوب بعد از سانتریفیوژ(C) محاسبه شد (۱۳۰۰RPM/۱۵ min)

$$sediment = C-(A+B)$$
$$\%sediment= (sediment/m)\times 100$$

وزن آب انار= m

۲-۳-۲- آزمون میکروبی

محیط کشت MRS[1] آگار (ساخت شرکت Merk آلمان) پس از ساخته شدن با استفاده از اتوکلاو استریل شد. برای کشت باکتری ابتدا سری های رقت ساخته شد. درروز های اول شروع کار، به دلیل بالا بودن تعداد باکتری ها، از رقت های بالا کشت داده شد (10^{-5} و 10^{-6})، اما در روزهای آخر به دلیل کاهش تعداد باکتری ها، از رقت های کمتر یعنی 10^{-1}، 10^{-2} و 10^{-3} کشت داده شد. کشت باکتری به صورت کشت عمقی[2] و دولایه[3] بود. پلیت ها در داخل انکوباتور بی هوازی ۳۷ °C به مدت ٤۸ ساعت قرار داده شد و در نهایت پرگنه باکتری ها شمارش شد [۱٦].

٤-۲- کشت کنترل

در کنار تمام کشت های میکروبی انجام گرفته، کشت کنترل نیز انجام شد. اقدامات انجام شده مشابه اقدامات انجام شده برای نمونه آب انار بود با این تفاوت که به جای آب انار، تلقیح باکتری در محیط MRS براث انجام شد.

۲-۵- ارزیابی حسی

نمونه های پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک از آب انار در روزهای پنج و ده با حضور هفت پنلیست از لحاظ رنگ، طعم، بو، غلظت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر پانلیست بر اساس مقیاس هدونیک از ۱ برای "غیرقابل پذیرش " و ۹ برای "عالی" نمره داد.

٦-۲- آنالیز آماری

آزمایشات بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. تجزیه تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS20 انجام گرفت. برای مقایسه آنها از آزمون مقایسه میانگین چند دامنه ای دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۹۵ ٪ استفاده شد.

1. de Man Rogosa Sharpe
2. pure plate
3. Double layer

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تغییرات جمعیت باکتری آب انارشهرضا و نطنز در دمای ٤°C

شکل ۱ نشان می دهد که جمعیت باکتری در آب انار، طی ٢٤ ساعت اول پس از تلقیح، از میزان اولیه ی ۷/٤۹ (شهرضا) و ۷/٤۳ (نطنز) سیکل لگاریتمی به ٦/۲۷ (شهرضا) و ٦/۳۹ (نطنز) سیکل لگاریتمی کاهش یافت. در هفته ی اول جمعیت باکتری به ۵/۳۳ (شهرضا) و ٤/۵۰ (نطنز) سیکل لگاریتمی کاهش یافت و در هفته ی دوم پس از تلقیح عملا باکتری برای هیچیک از دو رقم شناسایی نشد. بنابراین شاهد کاهش معنادار جمعیت باکتری برای دورقم انار طی نگهداری بوده ایم. آب انار دارای pH پایین تری نسبت به pH مطلوب برای رشد باکتری است (محیط کشت مغذی MRS که مطلوب رشد باکتری است pH برابر با ۵/٦ داشته در حالی که آب انارهای واریته ی شهرضا و نطنز دارای pH به ترتیب برابر با ۳/٦ و ۳/٤ هستند) و باکتری در طی ٢٤ ساعت اول پس از تلقیح در رویارویی با این استرس مغلوب گشته و جمعیت آن یک سیکل لگاریتمی کاهش می یابد. pH پایین و اسیدیته ی بالا و نیز دمای پایین نگهداری آن به عنوان عوامل ممانعت کننده رشد باکتری تلقی شده و شرایط را برای رشد باکتری محدود کرده؛ به طوری که در آب انار درهفته ی دوم پس از تلقیح، هیچ گونه باکتری شناسایی نشده است [۱۷]. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۱، اقدام به تولید آب انار پروبیوتیک با استفاده از٤ گونه باکتری اسیدلاکتیک نمودند، مشخص شد که استفاده از *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب میوه های خیلی اسیدی مانند آب انار توصیه نمی شود. همچنین اسید سیتریک به عنوان اسید آلی در آب انار، محیط مناسبی برای تولید یک نوشیدنی پروبیوتیکی تخمیری بود [۱۷] که نتایج بدست آمده از مطالعه ی حاضر همسو با مطالعه ی موسوی بود و نشان داده شد که محیط اسیدی آب انار مناسب رشد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نبوده است. با توجه به pH پایین تر رقم نطنز نسبت به شهرضا مشاهده شده است که قابلیت بقای باکتری در آب انار رقم نطنز پایین تر بوده، در آب انار نطنز نسبت به آب انار شهرضا، طی هفته ی اول کاهش بیشتری درجمعیت باکتری مشاهده شده است. بنابراین آب انار نطنز شرایط نامطلوب تری برای رشد باکتری دارد [۱۷]. جمعیت باکتری درنمونه ی کنترل، در روز صفر پس از تلقیح باکتری، ۸ سیکل لگاریتمی بوده است و در طی این مدت افزایش جمعیت باکتری مشاهده شده است و در تمام روزها بین تیمارها و نمونه ی کنترل تفاوت معناداری مشاهده شده است. تغییرات لگاریتم رشد میکروبی نسبت به زمان و نوع تیمار معنی دار بوده است، یعنی گذشت زمان و نیز نوع تیمار بر کاهش جمعیت باکتری موثر بوده است ($P < ۰/۰۵$).

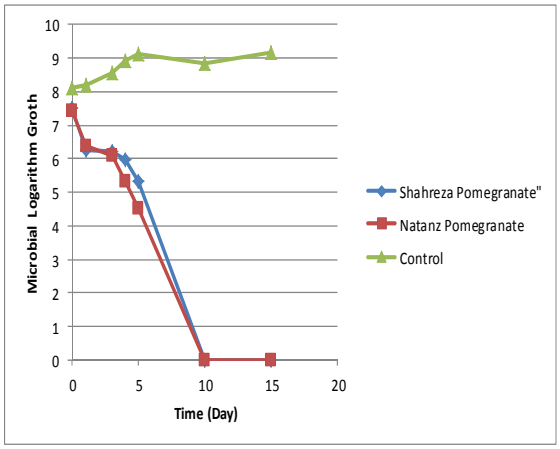

Fig 1 Changes in the population of Lactobacillus acidophilus in pomegranate juice of Shahreza and Natanz cultivars at 4°C.

۳-۲- تغییرات pH آب انارشهرضا و نطنز در حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ٤°C

شکل ۲ نشان می دهد که pH ابتدایی آب انار شهرضا برابر ۳/٦۲ وآب انار نطنز برابر۳/٤۵ بوده که در پایان مدت بقای باکتری در آب انار شهرضا و نطنز به ترتیب برابر با ۳/٤۷ و ۳/۳۳ بوده است. pH در هردو تیمار روز پنجم و پانزدهم پس از تلقیح باکتری، کاهش معناداری را نشان می دهد($P < ۰/۰۵$) که می تواند به دلیل تولید اسید لاکتیک توسط باکتری و نیز همزمان مرگ جمعیتی از باکتری ها باشد؛ باتوجه به اینکه مرگ باکتری باعث آزاد شدن اسید شده و pH کاهش می یابد. افزایش در pH در هردو تیمار در روز چهارم دیده شده است که می تواند به علت مصرف اسید سیتریک آب انار به عنوان

یک ماده ی مغذی توسط باکتری باشد، هرچند باکتری اسید لاکتیک تولید کرده ولی تاثیر مصرف اسیدسیتریک بیشتر بوده است [۱۷]. یونگ و همکاران(۲۰۰۵)، از چغندرهای بزرگ با بافت سفت به عنوان محیط مناسب برای رشد پروبیوتیک ها استفاده کردند. نتایج نشان داد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به سایرگونه ها میزان بیشتری اسید لاکتیک تولید می کنند و می توانند پس از ٤٨ ساعت گرمخانه گذاری در ۳۰°C، pH آب چغندر تخمیر شده را از۶/۳ به کمتر از ٤/٥ کاهش دهند [۱۸]. نتایج حاصل از تحقیق پاکبین و همکاران در سال ۲۰۱٤ نیز نشان دهنده ی کاهش pH آب هلوی پروبیوتیک شده طی ۷۲ ساعت اول بود [۸]. مرحمتی زاده و همکاران در سال ۲۰۱۲ اقدام به تولید آب پرتقال و آب سیب پروبیوتیک با استفاده از *باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* کردند که نتایج حاصل، کاهش pH آب میوه ها را طی نگهداری نشان داد [۱۹].

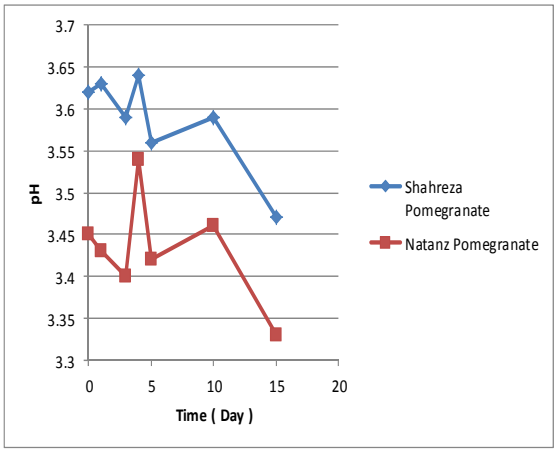

Fig 2 pH changes of Shaheza and Natanz pomegranate juice in the presence of bacteria Lactobacillus acidophilus at 4°C.

۳-۳- تغییرات اسیدیته آب انار شهرضا و نطنز در حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ٤°C

نمودار۳ نشان می دهد، اسیدیته آب انار شهرضا، در روز صفر برابر ۰/٥۲٤ گرم بر لیتر بر اساس اسید سیتریک بوده که در پایان مدت بقای باکتری در آب انار (روز دهم)، میزان اسیدیته برابر ۰/٤٥ بوده است و تفاوت معناداری مشاهده نشده است($P < ۰/۰۵$). در تمام مدت نگهداری در هردو تیمار آب انار، تغییر معناداری در اسیدیته مشاهده نشده است و همچنین اسیدیته ی دو تیمار نیز نسبت به هم اختلاف معناداری را نشان نداده است ($P < ۰/۰۵$).

تغییرات اسیدیته ی در طی مدت بقای باکتری در آب انارها در هردو رقم، تفاوت معناداری را نشان نمی دهد ($p<۰/۰۵$). بنابراین رشد باکتری اثر معناداری برتغییرات اسیدیته ی آب انارها نداشته است. اسیدسیتریک که اسید غالب آب انار است، جز اسیدهای ضعیف بوده و اسید های ضعیف درpH پایین به کندی تجزیه شده و بنابراین اسیدیته تغییر معناداری نخواهد داشت. برخلاف نتایج حاصل از تحقیق حاضر، نتایج تحقیقات موسوی و همکاران (۲۰۱۰) نشان داد که اسید لاکتیک تولیدی توسط باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نتوانسته اسید سیتریک مصرفی را پوشش دهد و بنابراین اسیدیته کاهش می یابد [۱۷].

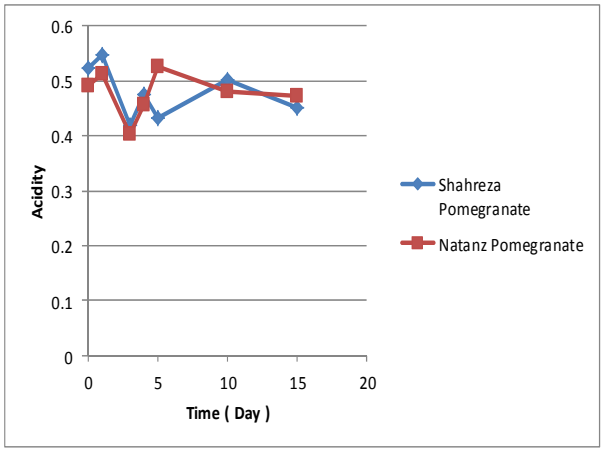

Fig 3 Acidity changes of Shahreza and Natanz pomegranate juice in the presence of bacteria Lactobacillus acidophilus at 4°C.

۳-٤- تغییرات رسوب آب انار شهرضا و نطنز در حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ٤°c

شکل ٤ نشان می دهد که تغییرات رسوب در هردو رقم آب انار روند مشابهی داشته است. از ابتدا درصد رسوب برای آب انار شهرضا و آب انار نطنز ۲/۸۷ و۱/٥٦ بوده است و روزهای

سوم و چهارم میزان درصد رسوب به ترتیب در دو رقم اب انار شهرضا و نطنز به میزان ٤/٦٨ و ٢/٦٧ رسیده و افزایش یافته است و در روز دهم (پایان بقای باکتری) میزان رسوب کاهش یافته و به ٢/٥٤٪ و ٢/٠٦٪ رسیده است. میزان درصد رسوب درروز ١٥ بازهم کاهش یافته است. علت افزایش رسوب در روز سوم و چهارم را می توان این طور بیان کرد که باکتری در ابتدا برای تامین انرژی، اسید سیتریک و قند مصرف کرده بنابراین در شروع رشد باکتری، پکتین مصرف نشده و پکتین باقی مانده در آب انار باعث افزایش رسوب شده است و نیز با شروع مرگ باکتری شاهد افزایش رسوب بوده ایم. ولی با گذشت زمان و کاهش اسید سیتریک آب انار، باکتری برای تامین انرژی خود پکتین مصرف کرده و بنابراین میزان رسوب کاهش یافته است.

اثرات زمان و تیمار و اثر متقابل زمان و تیمار بر تغییرات رسوب آب انار معنادار بوده است(P <٠/٠٥). تغییرات رسوب در هردو رقم آب انار روند مشابهی را نشان می دهد.

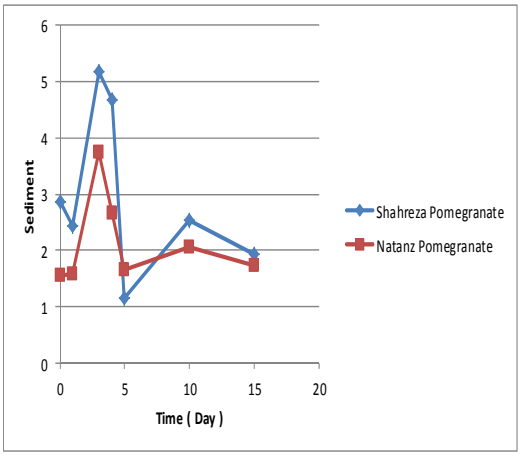

Fig 4 Sediment Changes of Shahreza and Natanz pomegranate juice in the presence of bacteria Lactobacillus acidophilus at 4°C.

٣-٥- ارزیابی حسی

با توجه به شکل ٥، در روز پنجم تفاوت معناداری بین آب انار شاهد و پروبیوتیک از لحاظ رنگ، طعم، بو، غلظت و پذیرش کلی مشاهده نشده است(P <٠/٠٥).

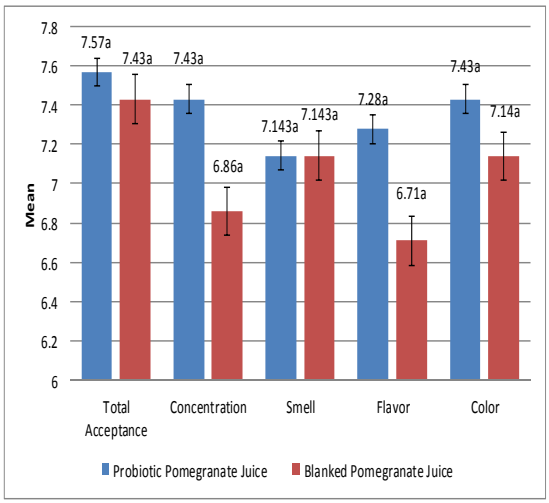

Fig 5 Sensory evaluation of blanked and pobiotic pomegranate juice in fifth day after Lactobacillus acidophilus incubation.
Similar letters indicate no significant difference is . (P<0.05)

شکل ٦ نشان می دهد که در روز دهم پس از تلقیح باکتری، بین نمونه ی شاهد و پروبیوتیک از لحاظ ویژگی های مورد ارزیابی تفاوت معناداری مشاهده نشده است و فقط از لحاظ رنگ، نمونه ی شاهد، میانگین نمرات بالاتری دریافت کرده است و تفاوت معناداری وجودداشته است (P <٠/٠٥).

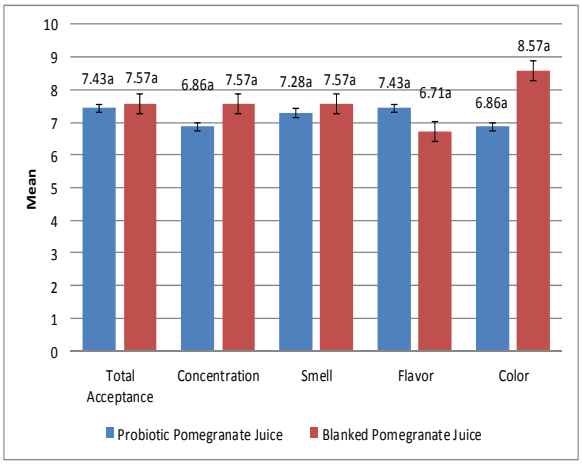

Fig 6 Sensory evaluation of blanked and probiotic pomegranate Juice in thenth day after Lactobacillus acidophilus incubation.
Similar letters indicate no significant difference is . (P<0.05)

افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب انار اثر نامطلوبی بر خواص حسی آن نسبت به نمونه شاهد نداشته است. بنابراین فعالیت متابولیکی باکتری از این لحاظ قابل قبول بوده است. نتایج حاصل از تحقیق شیخ قاسمی و همکاران در سال ۹۲ نیز نشان داد که پروبیوتیک کردن آب سیب با باکتری مذکور اثر نامطلوبی بر خواص حسی آن نداشت [۲۰].

٤- نتیجه گیری

آب انار با دارا بودن ترکیبات مغذی فراوان می تواند محیط مناسبی برای رشد میکروبی باشد ولی pH پایین و اسیدیته ی بالای آن و نیز نگهداری آن در دمای ٤ درجه ی سانتی گراد از عوامل محدودکننده ی رشد باکتری هستند؛ به طوری که در هفته ی دوم، هیچ گونه باکتری شمارش نشد. نتیجه گیری نهایی این است که آب انار محیط مناسبی برای رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نبوده و برای تولید آب انار پروبیوتیک با استفاده از این باکتری، به منظور رسیدن تعداد کافی از باکتری مذکور به دستگاه گوارش و تاثیرات سلامت بخش بر سلامت میزبان، لازم است که آب انار پروبیوتیک طی ٤٨-٢٤ ساعت اول پس از تلقیح باکتری و نگهداری شدن در یخچال، به مصرف برسد. آب انار شهرضا نسبت به آب انار نطنز شرایط بهتری برای رشد باکتری دارد. ایده ی دیگری که می تواند به بقای باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شرایط اسیدی کمک کند ریزپوشینه کردن آن با ترکیباتی نظیر سدیم آلژینات است [۱۵]. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نیز نشان می دهد افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب انار اثر نامطلوبی بر خواص حسی آن نداشته است.

٥- تشکر و قدردانی

از کارشناس محترم آزمایشگاه بهداشت و کنترل کیفی موادغذایی دانشگاه شهرکرد جناب آقای مهندس خسروی که ما را در این پروژه یاری دادند کمال تشکر را داریم.

٦- منابع

[1] Daneshi, M., Ehsani, M., Razavi, S. H., Labbafi, M. 2013. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. Electronic Journal of Biotechnology. 16(5): 22-25.

[2] Zomorodi, Sh., Abron, N., KhosroshshiAsl, A. 1394. Increase the survival of *Lactobacillus acidophilus* and improved quality properties of senbiotic yogurt using apple and wheat fibers. Journal of Food Science and Technology. 12(48): 203-214 [in Persian].

[3] Freter, R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller R, ed. 1992. Probiotics, the scientific basis. London: Champan & Hall. P: 44-111.

[4] Tan Y.X,Chu G.L, Shen, R Q.Yu. 2008. A Signal-amplified Electrochemical Immunosensor for Aflatoxin B1 Determination in Rice. Analytical Biochemistry. 387: 82-86.

[5] Ziemer, C.J., Gibson, G.R. 1998.An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal. 8(5-6):473-479.

[6] Fla´vera, C., Prado, A., Jose, L., Parada, A., Ashok Pandey, B., Carlos, R ,Soccol. 2008. Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Research Internationa. 41: 111–123 .

[7] Saxelin ,M., Grenov, B., Svensson, U., Fonden, R., Reniero, R., Mattila-Sandholm,,T. 1999.The technology of probiotics. Trends in Food Science & Technology. Elsevier.10: 387-392.

[8] Pakbin, B., Razavi, S H., Mahmoudi, R., Gajarbeygi, P. 2014. Producing Probiotic Peach Juice. Biotech Health Science1:1-5

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

[10] Amini nia, H,. Razavi, S H,. Eivaz zadeh, O. Producing celery juice as functional drink by lactic acid bacteria. Journal of Food Science and Technology. 13(51):103-111.

[11] Jaiswal, A.K., Abu-Ghannam, N. 2013. Kinetic studies for the preparation of probiotic cabbage juice: Impact on phytochemicals and bioactivity. Industrial Crops & Products. 50: 212-218.

[12] El-Nemr, S.E., Ismail, I.A., Ragab, M. 1990. Chemical composition of juice and seeds of pomegranate fruit. Die Nahrung. 34: 601-606.

[13] Mena, P., García-Viguera, C., Navarro-Rico, J., Moreno, D.A., Bartual, J., Saura, D., Martí, N. 2011a. Phytochemical characterisation for industrial use of pomegranate (Punica granatum L.) cultivars grown in Spain. Journal of the Science of Food and Agriculture. 91: 1893–1906.

[14] Middha, SK., Usha, T., Pande, V. A. 2013. Review on antihyperglycemic and antihepatoprotective activity of eco-friendly Punica granatum peel waste. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. pp: 1-10.

[15] He, Y., Ji, Z., Li, S. 2007. Effective clarification of apple juice using membrane filtration without enzyme and pasteurization pretreatment. Separation and Purification Technology. 57: 366-373.

[16] http://www.isiri. org/ portal/ files/ std/ 6332. doc.

[17] Mousavi, ZE., Mousavi, SM., Razavi, SH., Emam-Djomeh, Z., Kiani, H. 2011. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World JMicrobiol Biotechnol. 27: 123–128.

[18] Yoon, KY., Woodams, EE., Hang, YD. 2005. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. Lebensm Wiss Technology. 38:73–75.

[19] Marhamatizadeh, M H., Rezazadeh, S., Kazemeini, F., Kazemi, M R. 2012. The Study of Probiotic Juice Product Conditions Supplemented by Culture of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum, Middle-East Journal of Scientific Research. 11: 287-295

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

Using *Lactobacillus acidophilus* in production of probiotic pomegranate juice

Ghazavi, N. [1*], Moshtaghi, H. [2], Bonyadian, M. [3], Abedi, R. [4]

1. Graduate student of health and food quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University
2. The Department of Health and food quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University
3. The Department of Health and food quality control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University
4. Graduate student of health and food safety, Faculty of Nutrition, Isfahan University of Medical Science, Esfahan University

(Received: 2015/08/30 Accepted:2016/05/03)

Today, consumption of probiotic food products is taken into consideration due to their effects on health. Among probiotic drinks, milk-based drinks have been more developed because of their therapeutic effects on the body. Recently, consumers have shown a greater tendency to consume probiotic juice. In this study, the pomegranate juice which is produced from two varieties of Iranian pomegranet, Shahreza and Natanz, were used as the basis for inoculation of *Lactobacillus acidophilus*. Then viability potential of this bacterium in two varieties, were compared. Changes in pH, titratable acidity, sediment and viability of probiotics cells, were determined at 4 ˚c temperature and under controlled conditions. On the fifth and tenth days of fermentation, samples were evaluated in terms of color, taste, odor, concentration and overall acceptability. The results showed that the survival of the bacterium in the Natanz pomegranate juice, was less than Shahreza variety because of its lower pH and during the first week of storage, the microbial population were decrease from 7.43 to 4.5 logarithmic cycles. While in Shahreza Pomegranate juice, during this period, the population of bacteria, changes from 7.49 logarithmic cycles to 5.33. In the second week, no bacteria was detected in any of the two treatments. At the end of the storage time, a significant decrease was seen in pH, sediment and bacteria populations in both treatments. But the changes in acidity were not significant ($P < 0.01$). Probiotication of pomegranate juice had no adverse effect on the organoleptic properties. In general, due to its acidic conditions, the survival potential of *Lactobacillus bacteria* in pomegranate juice decreased.

Keywords: Pomgranate juice, Probiotics, *Lactobacillus acidophilus*

*Corresponding Author E-Mail Address: Roya_Abedi@ymail.com