Journal of Microbial World
Volume 13, No. 2, July 2020

Short Communication

The prebiotic effect of inulin on the microbial, quality indexes and shelf life of probiotic pomegranate juice containing *Lactobacillus plantarum*

Leila lakzadeh[1], Arezoo Sabzevari[2], Mehdi Amouheidari[3]

[1]Assistant Professor, Department. of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shahreza Branch.
[2]MSc., Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shahreza Branch.
[3]Ph. D. Student, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Shahreza Branch.

Abstract

Natural juices are an excellent substrate for the production of synbiotic functional food for the high nutritional value and common use. Therefore, the survival of the probiotic bacteria and the technological effects of bacteria and inulin were studied on the pomegranate juice quality. Inulin in different percentages (1.5, 3, 5) and *Lactobacillus plantarum* bacteria equivalent to 0.5 McFarland were added to pomegranate juice. The number of bacteria and the ability of inulin and bacteria in inhibition of fungi and preservation of antioxidant quality of pomegranate juice was considered in compare to the control sample, probiotic sample and prebiotic sample with 3% inulin due to the prohibition of preserver usage in functional food. Based on the results, the pomegranate juice sample containing 3% inulin was able to protect the number of lactobacilli bacteria to 1.5×10^7 cfu/ml in the 4th week in addition to the highest sensory score. Decrease of the antioxidant activity and counting of the fungi were 25.4%, 150 cfu/ml in the control sample, 0.38%, 90 cfu/ml in the prebiotic sample with 3% inulin and 0.26%, 65 cfu/ml in the symbiotic sample with 3% inulin, respectively, in the fourth week. Finally, production of the pomegranate juice with 3% inulin can effect on the maintenance of the antioxidant quality and increase of the product shelf life up to 4 weeks meanwhile making a functional product with preserving of the suitable number of probiotic bacteria.

Keywords: Functional food, Antioxidant, Inulin, Probiotic, *Lactobacillus plantarum.*

Correspondence to: Leila lakzadeh

Tel: +98 9132216762

E-mail: lakzadeh@iaush.ac.ir

Journal of Microbial World 2020, 13(2): 165-172.

DOI:

Copyright © 2019, This article is published in Journal of Microbial World as an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License. Non-commercial, unrestricted use, distribution, and reproduction of this article is permitted in any medium, provided the original work is properly cited.

مجله دنیای میکروب‌ها
سال سیزدهم شماره دوم (پیاپی ۴۳) بهار ۱۳۹۹
صفحات ۱۷۲-۱۶۵

Short Communication

تاثیر پری بیوتیکی اینولین بر روی شاخص های میکروبی، کیفی و ماندگاری آب انار پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

لیلا لک زاده*[۱]، آرزو سبزواری[۲]، مهدی عموحیدری[۳]

[۱]استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، ایران، [۲]کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و مهندسی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، ایران، [۳]دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده فنی و مهندسی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا، ایران.

چکیده

آب میوه ها به دلیل استفاده رایج و داشتن ترکیبات فعال زیستی بستر مناسبی برای تولید غذاهای فراسودمند سین بیوتیک می باشند. بنابراین امکان زنده مانی باکتری پروبیوتیک و تاثیر تکنولوژیک باکتری و اینولین بر کیفیت آب انار بررسی شد. اینولین در درصدهای مختلف (۱/۵، ۳ و ۵) و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* معادل ۰/۵ مک فارلند به آب انار اضافه شدند و در مقایسه با نمونه شاهد، نمونه پروبیوتیک و نمونه پری بیوتیک حاوی ۳ درصد اینولین، تعداد باکتری و توانایی اینولین و باکتری در جلوگیری از رشد قارچ ها و حفظ ویژگی های آنتی اکسیدانی آب انار با توجه به ممنوعیت استفاده از نگه دارنده در محصول فراسودمند بررسی شد. نتایج نشان داد که آب انار سین بیوتیک حاوی ۳ درصد اینولین ضمن کسب بالاترین امتیاز حسی، توانست ماندگاری باکتری *لاکتوباسیلوس* را تا $1/5\times10^{7}$ cfu/ml در هفته چهارم حفظ نماید. کاهش ویژگی آنتی اکسیدانی و شمارش قارچ در هفته چهارم به ترتیب در نمونه شاهد ۲۵/۴ درصد و ۱۵۰ cfu/ml، در نمونه پری بیوتیک حاوی ۳ درصد اینولین ۰/۳۸ درصد و ۹۰ cfu/ml و در سین بیوتیک حاوی ۳ درصد اینولین ۰/۲۶ درصد و ۶۵ cfu/ml بود. از این رو می توان نتیجه گرفت که تولید آب انار سین بیوتیک با ۳ درصد اینولین می تواند ضمن ایجاد محصولی فراسودمند با حفظ تعداد مناسب باکتری پروبیوتیک، موجب حفظ کیفیت آنتی اکسیدانی و افزایش ماندگاری محصول نیز به مدت ۴ هفته گردد.

واژه های کلیدی: غذای فراسودمند، آنتی اکسیدان، اینولین، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*.

دریافت مقاله: اسفند ماه ۹۸ پذیرش برای چاپ: اردیبهشت ماه ۹۹

مقدمه

پروبیوتیک ها به ارگانیسم های زنده و غیرپاتوژنی اطلاق می شود که در صورت مصرف مقادیر کافی اثرات سلامت بخش ویژه ای برای میزبان دارند و سبب افزایش ایمنی، کاهش بار میکروبی بدن به ویژه در دستگاه گوارش و اثرات سلامت بخش متعدد دیگری می گردند و بدین صورت نقش پیشگیری یا حتی درمانی برای برخی از بیماری ها می توانند داشته باشند (۱). برای تقویت رشد پروبیوتیک ها می توان از پری بیوتیک ها نیزاستفاده نمود. پری بیوتیک ها نه تنها می توانند به عنوان یک عامل مغذی از رشد و پایداری باکتری های پروبیوتیک حمایت کنند بلکه برخی از آن ها به تنهایی نیز اثرات مفیدی بر وضعیت سلامت میزبان مصرف کننده از جمله پیشگیری از سرطان و بیماری های مختلف، کنترل واکنش های آلرژیک و

*) آدرس برای مکاتبه: شهرضا،دانشگاه آزاد اسلامی شهرضا، گروه علوم و صنایع غذایی.
تلفن: ۰۹۱۳۲۲۱۶۷۶۲ پست الکترونیک: lakzadeh@ iaush.ac.ir

حقوق نویسندگان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد و تحت مجوز مالکیت خلاقانه (http://creativecommons.org/licenses/bync/4.0/) در فصلنامه دنیای میکروب‌ها منتشر شده است. هرگونه استفاده غیرتجاری فقط با استناد و ارجاع به اثر اصلی مجاز است.

تنظیم فلور نرمال دستگاه گوارش دارند. بنابراین یک فرآورده سین بیوتیک که حاوی باکتری های پروبیوتیک و ترکیبات پری بیوتیک است به صورت هم زمان مزیت پروبیوتیکی و پری بیوتیکی را دارد (۲). اینولین از جمله پری بیوتیک ها می باشد که دارای پیوند بتا فروکتوز است. مهم ترین منابع اینولین در طبیعت کاسنی و سیب زمینی ترشی است. اینولین علاوه بر اثرات پری بیوتیکی، با توجه به طول زنجیره و درجه پلیمریزاسیون دارای خواص تکنولوژیکی ارزنده ای نیز در محصولات غذایی است که از آن جمله می توان به جایگزینی چربی و اصلاح بافت در محصولات لبنی، غنی سازی ماکارونی و کاهش اندیس گلایسمی، جایگزین چربی در فراورده های گوشتی مانند سوسیس تخمیری، غنی سازی نان و غیره اشاره کرد. هم چنین اینولین دارای خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی مناسبی است که می توان از آن ها در ماندگاری مواد غذایی و جایگزین شدن با نگه دارنده های شیمیایی استفاده نمود (۳). با وجود مزایای زیاد تولید محصولات سین بیوتیک استفاده از پروبیوتیک و پری بیوتیک ها در قالب مواد غذایی نیاز به بررسی های مختلف به ویژه در زمینه انتخاب باکتری و ماده غذایی دارد. مواد غذایی حاوی این باکتری ها بایستی شرایط لازم برای زنده مانی و ایجاد اثرات مفید آن ها را داشته باشند. آن ها نباید حاوی آلودگی ها یا نگه دارنده شیمیایی باشند تا بتواند به عنوان حامل باکتری های پروبیوتیک، غذای فراسودمند را تولید نمایند. نکته دیگر زنده ماندن پروبیوتیک ها در فرایند تولید، بسته بندی و نگه داری مواد غذایی با توجه به عدم تکثیر مناسب آن ها در غذا و تاثیر تعداد باکتری در ایجاد اثرات سلامت بخش آن ها در بدن می باشد. تعداد بالای پروبیوتیک ها باید در غذا حفظ شده تا بتوانند پس از ورود به بدن اثرات مناسب خود را داشته باشند (۴). باکتری پروبیوتیک ضمن حفظ خواص حسی محصول بایستی دارای بقای مناسب در آن نیز باشد. هدف از این پژوهش بررسی امکان تولید آب انار سین بیوتیک با ماندگاری به مدت ۴ هفته با استفاده از اینولین استخراج شده از گیاه سیب زمینی ترشی و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود و همچنین تاثیر باکتری *لاکتوباسیلوس* و اینولین بر ویژگی های کیفی آب انار شامل حفظ خاصیت آنتی اکسیدانی و کنترل رشد کپک و مخمر نیز در مقایسه با نمونه شاهد بررسی گردید.

مواد و روش ها

الف) آماده سازی باکتری پروبیوتیک: آمپول لیوفیلیزه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، از کلکسیون میکروبی پاستور تهران تهیه گردید. سپس به منظور بدست آوردن کشت فعال، باکتری به محیط کشت مایع MRS شرکت Merck تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت در شرایط بی هوازی با استفاده از جار بی هوازی و گازپک گرمخانه گذاری گردید (۵).

ب) تولید آب انار سین بیوتیک: به منظور تلقیح باکتری پروبیوتیک به آب انار، سلول های میکروبی رشد کرده در محیط مایع MRS توسط سانتریفیوژ (۴۰۰۰ rpm، ۱۰ دقیقه) جمع آوری و در سرم فیزیولوژی استریل شست و شو داده شدند. سپس از رسوب سلولی حاصل شده یک سوسپانسیون میکروبی در آب مقطر استریل با کدورتی معادل ۰/۵ مک فارلند (10^8 سلول باکتری در هر میلی لیتر) تهیه گردید. سپس مقدار ۱ میلی لیتر از سوسپانسیون بدست آمده را به فلاسک های حاوی ۱۰۰ میلی لیتر آب انار پاستوریزه حاوی درصدهای مختلف اینولین با توجه نتایج اولیه آزمون چشایی و احتمال زنده مانی باکتری در محیط آب میوه، شامل ۱/۵، ۳ و ۵ اضافه گردید. در نهایت فلاسک ها به یخچال ۴ درجه سلسیوس منتقل گردید (۶).

ج) شمارش تعداد لاکتوباسیلوس پلانتارم زنده: تعداد باکتری زنده *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به روش پور پلیت در زمان های ۱، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز نگه داری با محیط ام.آر.اس آگار و گرمخانه گذاری در شرایط بی هوازی و دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت انجام شد (۵).

د) ارزیابی حسی آب انار سین بیوتیک با درصدهای مختلف اینولین: ارزیابی توسط ۲۰ ارزیاب در هفته اول نگه داری آب انار بر اساس روش هدونیک و اندازه گیری فاکتورهای رنگ، طعم و پذیرش کلی صورت گرفت (۶).

ه) اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH: ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر آب انار با ۳ میلی لیتر *DPPH* (1,1-Diphenyl-2-picryl-hydrazyl) شرکت Merck در متانول مخلوط گردید. سپس جذب مخلوط در طول موج ۵۱۷ nm اندازه گیری شد (۷).

$$\text{درصد فعالیت آنتی اکسیدانی} = \frac{(\text{جذب نمونه} - \text{جذب کنترل})}{\text{جذب کنترل}} \times ۱۰۰$$

(رابطه ۱)

و) اندازه گیری فعالیت ضد قارچی : شمارش کلنی های کپک و مخمر با استفاده از روش کشت آمیخته در محیط کشت YGC (Yeast Extract Glucose Chloramphenicol Agar) انجام گردید. سپس گرمخانه گذاری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ روز انجام شد (۸).

ز) آنالیز آماری: به منظور ارزیابی داده ها از نسخه بیست و دوم نرم افزار *SPSS* و آنالیز واریانس یک طرفه *ANOVA* با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. داده ها به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد. مرز معنی داری در $p<0.05$ قرار داده شد.

یافته ها

الف) تاثیر اینولین بر رشد و زنده مانی لاکتوباسیلوس پلانتاروم در آب انار سین بیوتیک: تعداد و زنده مانی باکتری پروبیوتیک موجود در مواد غذایی درشرایط دستگاه گوارش موجودات زنده، در محصولات پروبیوتیک یا سین بیوتیک بسیار حائز اهمیت است (۶). در این پژوهش تعداد باکتری اولیه تلقیح شده به نمونه ها در روز صفر معادل ۰/۵ مک فارلند و برابر با $۱/۵\times۱۰^{۸}$ cfu/ml باکتری بود (۳). بر اساس نتایج جدول ۱، تعداد باکتری در نمونه های آب انار با غلظت های ۱/۵، ۳ درصد اینولین با نمونه شاهد یعنی آب انار پروبیوتیک فاقد اینولین در اکثر روزها دارای اختلاف معنی داری بود. در نمونه ۵ درصد اینولین رشد باکتری پروبیوتیک مشاهده نشد. در بقیه تیمارها نیز با افزایش زمان ماندگاری کاهش در تعداد باکتری مشاهده گردید. نمونه حاوی ۱/۵ درصد اینولین در ابتدا در مقایسه با نمونه ۳ درصد اینولین تاثیر مناسبی بر حفظ تعداد باکتری داشته است، اما به تدریج از روز ۱۴ به بعد مشابه نمونه شاهد روند کاهشی بیشتری را از خود نشان داد. این کاهش در نمونه های شاهد و ۱/۵ درصد اینولین تا جایی بود که تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به ترتیب در این تیمارها در روز ۲۱ و ۲۸ نگه داری به صفر رسید. بر اساس داده ها، آب انار حاوی ۳ درصد اینولین تاثیر بهتری بر زنده مانی باکتری ها داشت.

ب) تاثیر اینولین بر ارزیابی حسی آب انار سین بیوتیک: نتایج این آزمون ها بر اساس جدول ۲ نشان داد که ارزیابان بین نمونه شاهد، نمونه پری بیوتیک و نمونه های سین بیوتیک تفاوت قائل شدند و به طور کلی خواص حسی آب انار پری بیوتیک و

جدول ۱: تغییرات تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ($cfu\ ml^{-1}$) در نمونه شاهد و آب انارهای سین بیوتیک.

دوره نگه داری (روز)	شاهد فاقد اینولین	۱/۵	۳	۵
۱	$۱/۷\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۰۲^{a}$	$۳/۹\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۰۲$	$۳/۳\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۲^{b}$	۰
۷	$۱/۳\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۲^{a}$	$۲/۷\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۲^{b}$	$۳/۷۱\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۱^{b}$	۰
۱۴	$۱/۳\times۱۰^{۶} \pm ۰/۰۴۵^{a}$	$۱/۹\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۴۵^{a}$	$۳/۹\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۲۳^{b}$	۰
۲۱	۰[a]	$۱/۱\times۱۰^{۶} \pm ۰/۰۴۵^{b}$	$۲/۵\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۱۱^{c}$	۰
۲۸	۰[a]	۰[a]	$۱/۵\times۱۰^{۷} \pm ۰/۰۴۵^{b}$	۰

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۲: ارزیابی حسی نمونه آب انار سین بیوتیک و پری بیوتیک در روز هفتم نگه داری در یخچال.

ویژگی	شاهد (فاقد اینولین و باکتری)	آب انار پری بیوتیک ۳ درصد	۱/۵	۳	۵
رنگ	$۵/۶ \pm ۰/۵۵^{b}$	$۸/۳ \pm ۰/۳۸۰^{d}$	$۶/۵ \pm ۰/۰۵^{c}$	$۶/۷ \pm ۰/۲^{c}$	$۵/۴ \pm ۰/۱^{a}$
طعم	$۷/۳ \pm ۰/۲۷^{b}$	$۸/۶ \pm ۰/۰۷^{d}$	$۷/۹ \pm ۰/۰۸^{c}$	$۸/۲ \pm ۰/۰۹^{d}$	$۶/۸ \pm ۰/۳۰^{a}$
پذیرش کلی	$۵/۵ \pm ۰/۲۳^{a}$	$۷/۵ \pm ۰/۰۲^{d}$	$۶/۴ \pm ۰/۳۴^{c}$	$۶/۹ \pm ۰/۰۲^{d}$	$۵/۷ \pm ۰/۲۳۰^{b}$

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

سین بیوتیک در نمونه ۳ درصد مطلوب تر از نمونه شاهد و آب انار سین بیوتیک ۵ درصد ارزیابی شد. از نظر هر سه عامل رنگ، طعم و پذیرش کلی نمونه پری بیوتیک و سین بیوتیک حاوی ۳ درصد اینولین دارای بالاترین امتیاز به صورت معنی داری نسبت به بقیه تیمارها بود. نمونه ۵ درصد توسط ارزیابان کمترین امتیاز را گرفت که دلیل آن می تواند به دلیل بالا بودن درصد اینولین و شیرینی بیش از حد آب انار و بد رنگی باشد.

ج) تاثیر اینولین بر ویژگی آنتی اکسیدانی آب انار سین بیوتیک: به منظور بررسی و مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه های سین بیوتیک از نمونه آب انار پروبیوتیک، پری بیوتیک و آب انار معمولی به عنوان نمونه شاهد استفاده گردید، تا اثر اینولین و باکتری پروبیوتیک بر روی این فاکتور جداگانه بررسی گردد. بر اساس نتایج جدول ۳ خاصیت آنتی اکسیدانی آب انار در تمام تیمارها به تدریج روند کاهشی داشت. تنها در روز ۱۴ یک پیک افزایشی در نمونه های سین بیوتیک، پری بیوتیک و پروبیوتیک مشاهده شد که احتمالا می تواند به دلیل آزاد شدن ترکیبات آنتی اکسیدانی کمپلکس باشد. بین نمونه شاهد و نمونه آب انار پروبیوتیک با نمونه های سین بیوتیک و پری بیوتیک اختلاف معنی دار در تمامی روزها مشاهده شد و در بین خود تیمارهای سین بیوتیک نیز اختلاف معنی داری بین نمونه ۵ درصد با دو نمونه ۱/۵ و ۳ درصد در اکثر روزها وجود داشت. به طوری که بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به آب انار سین بیوتیک با ۵ درصد اینولین بود. بر اساس داده ها می توان بیان نمود که اثر اینولین در حفظ ویژگی آنتی اکسیدانی بیشتر از اثر باکتری به تنهایی می باشد.

د) تاثیر اینولین بر تعداد کپک و مخمر آب انار سین بیوتیک: بر اساس جدول ۴ روند افزایشی در تعداد کپک و مخمر در تمام نمونه ها به دلیل ایجاد شرایط رشد آن ها دیده می شود و بین تیمارهای مختلف اینولین سین بیوتیک، نمونه پری بیوتیک و نمونه شاهد در مدت ۴ هفته بررسی، اختلاف معنی داری مشاهده شد. نمونه ۵ درصد اینولین بهترین اثر ضد قارچی را در این مدت از خود نشان داد و نمونه شاهد بدون اینولین بدترین نتایج را از نظر شمارش قارچ داشت. در نمونه های سین بیوتیک، با افزایش مقدار اینولین تاثیر ضد قارچی به صورت معنی داری افزایش یافت. نمونه حاوی باکتری

جدول ۳: فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه آب انار سین بیوتیک، پروبیوتیک، پری بیوتیک و نمونه شاهد.

دوره نگه داری (روز)	شاهد (فاقد اینولین)	آب انار پری بیوتیک ۳ درصد	آب انار پروبیوتیک	۵/۱	۳	۵
۱	۸۰/۷۹±۲/۵^{a}	۸۸/۵۹±۲/۳^{b}	۸۲/۵۴±۲/۷^{a}	۸۶/۵۹±۲/۴^{b}	۸۷/۷۹±۲/۷^{b}	۹۰/۴۸±۲/۴^{c}
۷	۷۷/۹۸±۳/۶^{a}	۹۰/۱۲±۴/۳^{c}	۷۹/۸۹±۳/۴^{a}	۸۷/۶۸±۴/۵^{b}	۸۸/۳۲±۳/۳^{b}	۹۲/۰۴±۳/۸^{c}
۱۴	۷۴/۶۱±۴/۱^{a}	۹۱/۳۰±۵/۷^{c}	۸۲/۳۵±۴/۸^{b}	۹۱/۴۱±۵/۳^{c}	۹۲/۲۰±۵/۴^{c}	۹۳/۹۶±۵/۹^{c}
۲۱	۷۰/۷۰±۶/۸^{a}	۹۰/۴۶±۶/۸^{c}	۸۴/۷۰±۶/۵^{b}	۹۰/۷۰±۷/۱^{c}	۹۱/۴۱±۶/۲^{c}	۹۲/۴۰±۵/۶^{c}
۲۸	۶۰/۲۳±۵/۴^{a}	۸۸/۲۵±۳/۳^{b}	۶۱/۲۲±۵/۶^{a}	۸۵/۲۱±۵/۹^{b}	۸۷/۵۶±۶/۳^{b}	۹۰/۲۰±۲/۱^{c}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

جدول ۴: فعالیت ضد قارچی نمونه آب انار سین بیوتیک، پروبیوتیک، پری بیوتیک و نمونه شاهد.

دوره نگه داری (هفته)	شاهد (فاقد اینولین)	آب انار پری بیوتیک ۳ درصد	آب انار پروبیوتیک	آب انار سین بیوتیک		
				۵/۱	۳	۵
۱	۲۶±۲/۵^{d}	۱۰±۱/۸^{b}	۲۰±۲/۳^{d}	۱۰±۲/۶^{c}	۵±۱/۸^{b}	۰^{a}
۲	۴۶±۴/۵^{d}	۲۰±۳/۲^{b}	۴۵±۴/۷^{d}	۲۰±۴/۳^{c}	۱۰±۳/۲^{b}	۰^{a}
۳	۱۰۰±۴/۱^{d}	۶۳±۴/۲^{b}	۸۵±۴/۵^{c}	۸۰±۵/۱^{c}	۵۰±۴/۲^{b}	۱۰±۵/۷^{a}
۴	۱۵۰±۵/۲^{d}	۹۷±۶/۵^{b}	۱۳۰±۵/۳^{d}	۱۱۰±۵/۷^{c}	۶۵±۴/۲^{b}	۵۰±۵/۸^{a}

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

لاکتوباسیلوس پلانتاروم نیز دارای اثرات ضد قارچی معنی داری در هفته دوم و چهارم نسبت به نمونه شاهد بود که در همین هفته ها نیز با نمونه آب انار سین بیوتیک ۱/۵ درصد نیز اختلاف معنی داری نداشت. این نتایج نشان دهنده اثرات ضد قارچی باکتری پروبیوتیک می باشد که البته به نظر می رسد این اثر در حضور اینولین در آب انار سین بیوتیک تشدید می گردد.

بحث

با توجه به اینکه تهیه انواع محصولات سین بیوتیک غیر لبنی می تواند سبب ایجاد تنوع و بازارپسندی بیشتری برای مصرف کنندگان گردد، در این مطالعه ویژگی های آب انار سین بیوتیک در مقایسه با نمونه شاهد، پروبیوتیک و پری بیوتیک بررسی شد. با توجه به این که حداقل تعداد مناسب باکتری برای یک محصول پروبیوتیک 10^6 cfu/ml تعریف شده است (۳). بنابراین این باکتری ها تنها در محصولات غذایی قابل استفاده می باشند که بتوانند بقای خود را حفظ نمایند. به طوری که در مطالعه قضاوی (Ghazavi) و همکاران (۲۰۱۸) تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب انار در مدت کمتر از دو هفته به صفر رسید. بنابراین توانایی باکتری برای رشد و زنده مانی به طور وسیعی به ظرفیت سازش پذیری آن با محیط و مقدار ماده پری بیوتیک بستگی دارد (۹). بر این اساس در این تحقیق از اینولین به عنوان ماده پری بیوتیکی استفاده گردید. نتایج نیز نشان داد در مقایسه با نمونه آب انار پروبیوتیک، اینولین می تواند سبب بقای باکتری پروبیوتیک گردد. البته مقدار اینولین نیز در ایفای نقش پری بیوتیکی آن مهم است. به طوری که در این تحقیق میزان بیشتر اینولین الزاماً به معنی افزایش رشد یا دوام باکتری نبود و همچنین میزان کم اینولین نیز نتوانست زنده مانی باکتری را در مدت یک ماه ماندگاری محصول تضمین نماید. نتایج شمارش میکروبی نشان داد که در نمونه ۵ درصد اینولین رشد باکتری پروبیوتیک مشاهده نشد که دلیل آن می تواند افزایش فشار اسمزی محیط و عدم توانایی در ایجاد شرایط مناسب برای باکتری باشد (۱۰). اما اینولین در مقدار ۳ درصد توانست به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک مناسب عمل نماید. در این تیمار ابتدا تعداد باکتری روند کاهش داشت که به دلیل مدت زمان لازم برای فاز تاخیری باکتری به منظور انطباق پذیری با محیط و pH اولیه محصول است و بعد از آن باکتری وارد فاز لگاریتمی و افزایش تعداد سلول و تولید متابولیت های خود شد (کرفس). این روند افزایشی تا هفته دوم ادامه داشت که با مطالعه خان بیگی (Khanbagy) و همکاران در بررسی اثر عصاره پوست انار بر زنده مانی باکتری های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس* هم خوانی داشت. آنها بیان داشتند که باکتری به تدریج با انجام فعل و انفعالات شیمیایی خود را با آب انار سازگار می کند (۱۱). از هفته دوم به بعد روند کاهشی در تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس* مشاهده گردید که احتمالا به دلیل افزایش مقدار اسیدهای آلی به ویژه اسید لاکتیک می باشد (۶). در نمونه شاهد و نمونه سین بیوتیک با ۱/۵ درصد اینولین به ترتیب به دلیل عدم وجود یا میزان کم اینولین، باکتری نتوانست خود را با شرایط آب انار تطبیق داده و تکثیر نماید و نهایتا همان تعداد اولیه نیز از به صفر رسید. در این ارتباط در مطالعه پریا (Pereira) باکتری *لاکتوباسیلوس* در آب سیب توانست در ابتدا به رشد خود ادامه دهد،اما به تدریج با افزایش اسیدیته تعداد باکتری دچار افت شد (۴). همچنین در ارزیابی افزودن باکتری های پروبیوتیک به آب انار مشخص گردید که برخی از سویه های *لاکتوباسیلوس* در آب میوه های خیلی اسیدی مانند آب انار نمی توانند بقا داشته باشند (۵). نتایج ارزیابی حسی نمونه نشان داد که نمونه ۱/۵ و ۳ درصد نسبت به نمونه شاهد امتیاز بهتری از ارزیابان گرفتند که می تواند به دلیل مقدار اینولین و تاثیر اینولین در ماندگاری و حفظ ویژگی های آب میوه باشد که در بازار پسندی محصول بسیار مهم است. اینولین به دلیل داشتن خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی می تواند از تغییر ویژگی های حسی آب انار در طی ماندگاری جلوگیری نماید (۷). در نهایت استفاده از درصد مناسبی از اینولین در آب میوه علاوه بر این که طعم نامطلوبی را ایجاد نمی نماید، می تواند سبب مقبولیت بیشتر آب انار توسط ارزیابان گردد که این یکی دیگر از ویژگی های مثبت استفاده از

اینولین در آب انار است. در بین آب میوه ها، آب انار به دلیل داشتن فعالیت های آنتی اکسیدانی، مهار رادیکال های آزاد و حفاظت علیه بیماری های قلبی، عروقی و اثرات ضد سرطانی دارای ویژگی سلامتی بخش زیادی می باشد. البته برای ایجاد این ویژگی ها، آنتی اکسیدان های انار باید در فرایند ماندگاری آن حفظ گردند (۱۲). از طرف دیگر آنتوسیانین ها در آب انار تازه با قند ها گلیکوزیله می شود و این سبب می شود که دسترسی به ترکیبات فنلی در آب انار کمتر شود، اما وجود میکروب های مفید در این محصول می تواند ضمن ایجاد محصول پروبیوتیک، از طریق مصرف قندها مانع از پیوند قند با مواد آنتی اکسیدان ها و آزادسازی گروه های هیدروکسیل شده، موجب افزایش دسترسی به ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی در آب انار نیز گردد (۱۳). در این مطالعه نیز در مقایسه نمونه ها، آب انار پروبیوتیک و سین بیوتیک این مطلب مشاهده گردید. باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در آب انار پروبیوتیک تا حدودی به حفظ خاصیت آنتی اکسیدانی آب انار کمک می نماید، اما این باکتری ها در حضور اینولین به عنوان محرک رشدشان، تاثیرات آنتی اکسیدانی بیشتری در نمونه های سین بیوتیک داشتند. همچنین اینولین نیز به تنهایی دارای اثرات آنتی اکسیدانی نیز می باشد به طوریکه نتایج تحقیقات لک زاده (Lakzadeh) و همکاران در سال ۱۳۹۷، بر روی اینولین سیب زمینی ترشی نشان دهنده اثر آنتی اکسیدانی اینولین می باشد (۷). فیلومنا نزرو (Flominna nazarro) و همکاران نیز در سال ۲۰۰۸ با بررسی تاثیر افزودن دو گونه ی باکتری پروبیوتیک همراه با پری بیوتیک های اینولین و الیگوساکارید به آب هویج، اظهار داشتند که برخی از ویژگی های بیوشیمیایی آب هویج مانند میزان بتا کاروتن و فعالیت آنتی اکسیدان در طول رشد و فعالیت باکتری ها حفظ می شود (۱۵). طبق تحقیق حاضر اینولین علاوه بر خاصیت آنتی اکسیدانی دارای خاصیت ضد میکروبی نیز می باشد و می تواند به عنوان یک ماده موثر در جلوگیری از رشد قارچ ها در مواد غذایی نیز به کار رود. بررسی آکین (Akın) و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان داد افزودن اینولین به آب هویج بویژه در غلظت های بالا می تواند بصورت معنی دار به دلیل تخمیر اینولین و تولید اسیدهای کوتاه زنجیر منجر به کاهش pH سبب کاهش رشد قارچ در محصول گردد (۳).

نتیجه گیری

مقدار ماده پری بیوتیک اینولین در زنده مانی باکتری پروبیوتیک و ویژگی های حسی و کیفی آب انار بسیار تاثیر گذار است. به طوری که تیمار ۵ درصد اینولین با وجود داشتن خواص ضد قارچی و آنتی اکسیدانی بیشتر در آب انار، نتوانست اولین شرط پذیرش محصول نزد مصرف کننده یعنی طعم و مزه مناسب و تعداد مناسب باکتری پروبیوتیک را درآب انار حفظ نماید. اما باکتری پروبیوتیک همراه با مقدار ۳ درصد اینولین به عنوان محرک رشد باکتری می تواند از نظر ماندگاری محصول، خواص تغذیه ای و سلامتی بخشی برای مصرف کنندگان بسیار ارزشمند باشد.

ملاحظات اخلاقی

نویسندگان تمامی نکات اخلاقی شامل عدم سرقت ادبی، انتشار دوگانه، تحریف داده ها و داده سازی را در این مقاله رعایت کرده اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از پرسنل محترم آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا به دلیل حمایت های اجرایی کمال امتنان را دارند.

تعارض منافع

وجود ندارد.

References

1. Shah N, Ding W, Fallourd M, Leyer G. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. Journal of food science. 2010;75(5):M278-M82.
2. Sadeghi A, Ebrahimi M. Isolation, molecular identification and evaluation of the probiotic properties of dominant *Lactobacillus* in whole wheat sourdough. Journal of Microbial World 2016, 9(2): 133-144 [In Persian]..
3. Akın M, Akın M, Kırmacı Z. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food chemistry. 2007;104(1):93-9.
4. Pereira ALF, Maciel TC, Rodrigues S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food research international. 2011;44(5):1276-83.
5. Mousavi Z, Mousavi S, Razavi S, Emam-Djomeh Z, Kiani H. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2011;27(1):123-8.
6. Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Hadinejad M, Emam-Djomeh Z, Mirzapour M. Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. Food Biotechnology. 2013;27(1):1-
7. Lakzadeh L, Sabzevari A, Amouheidari M. Fortification of pomegranate juice with inulin extracted from Jerusalem artichoke for high shelf life prebiotic juice production. Journal of food science and technology. 2019;15(84):51-9.[In Persian].
8. Prathivadi Bayankaram P, Sellamuthu Ps. Antifungal and anti-aflatoxigenic effect of probiotics against Aspergillus flavus and *Aspergillus parasiticus*. Toxin Reviews. 2016;35(1-2):10-5.
9. Ghazavi N, Moshtaghi H, Bonadiyan M, Abedi R. Using Lactobacillus acidophilus in production of probiotic pomegranate juice. Food chemistry. 2018;77:15. [In Persian].
10. Akin MB, Akin MS, Kirmaci Z, Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice cream. Food Chemistry. 2007; 104(1): 93-9.
11. Khanbagy Dogahe M , Towfighi A , Khosravi-Darani K, Dadgar M , Mortazavian AM, Ahmadi. Influence of pomegranate peel on viability of probiotic bacteria in pomegranate juice. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology 2013, 7, 5
12. 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. 2015; 13(51):103-111 [In Persian].
13. Pérez-Vicente A, Gil-Izquierdo A, García-Viguera C. In vitro gastrointestinal digestion study of pomegranate juice phenolic compounds, anthocyanins, and vitamin C. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2002;50(8):2308-12.
14. Piljac-Žegarac J, Šamec D. Antioxidant stability of small fruits in postharvest storage at room and refrigerator temperatures. Food Research International. 2011;44(1):345-50.
15. Nazzaro F, Fratianni F, Sada A, Orlando P. Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2008;88(13):2271-6. 15. Vasudha sharma H, Mishra N. Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria, Springer Healthcare, Nutrafoods. 2013;12: 17-22.