Archive of SID

فصلنامه علمی پژوهشی میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی دوره ۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۵، صفحات ۱۵ تا ۲۴

بررسی امکان استفاده از نکتار پرتقال- انبه به‌عنوان حامل پروبیوتیک

سمیه شکرگزار[۱]، مریم قبادی دانا[۲]، مریم سلامی[۳]

۱-گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، واحد علوم دارویی دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲-گروه پژوهشی میکروبیولوژی، پژوهشکده صنایع غذایی کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران (نویسنده مسئول)*
۳-گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، پردیس کشاورزی دانشکده مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

تاریخ دریافت:۱۳۹٤/۱۱/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۲/۱۵

چکیده

امروزه در ایران فرآورده‌های شیری پروبیوتیک بیشترین فرآورده‌های پروبیوتیک عرضه شده به بازار را تشکیل می‌دهند. اما در سال‌های اخیر به دلایلی چون عدم تحمل لاکتوز، وجود کلسترول و پروتئین‌های آلرژی‌زا در شیر، تقاضا برای محصولات پروبیوتیکی غیرلبنی افزایش یافته است. هدف از این تحقیق بررسی امکان استفاده از نکتار پرتقال- انبه به‌عنوان حامل پروبیوتیک بود. ابتدا خصوصیات فیزیکوشیمیایی نکتار پرتقال- انبه بررسی شد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به‌عنوان سویه پروبیوتیک استفاده شد. باکتری پروبیوتیک به نکتار پرتقال- انبه تلقیح و در دمای ۴ °C درون یخچال نگهداری شد و در انتهای هر هفته زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در نکتار پرتقال- انبه و همچنین pH نکتار پرتقال- انبه بررسی شد. نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار مذکور در هفته اول به تعداد 10^6 cfu/ml و در هفته دوم به تعداد 10^5 cfu/ml بقا داشت. تغییر قابل توجهی در pH نکتار پروبیوتیک وجود نداشت. به نظر می‌رسد، نکتار پرتقال- انبه حامل مناسبی برای سویه پروبیوتیک به صورت آزاد نمی‌تواند باشد. اما از این جهت که باکتری در نکتار تا یک هفته به تعداد قابل قبول باقی مانده و تغییری در pH نکتار پرتقال- انبه نداشته، شروع خوبی برای تحقیقات آینده می‌باشد. برای افزایش زمان نگهداری نکتار پرتقال- انبه پروبیوتیک برای معرفی این فرآورده به صنعت غذا لازم است از تکنیک‌های مختلف همچون تکنیک ریزپوشانی و افزودن پری‌بیوتیک بهره جست.

کلمات کلیدی: پروبیوتیک، نکتار پرتقال- انبه ،*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، زنده‌مانی

* dana.m@standard.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

امروزه در ایران فرآورده‌های شیری پروبیوتیک [1] بیشترین فرآورده‌های پروبیوتیک عرضه شده به بازار را تشکیل می‌دهند (۱). اما در سال‌های اخیر تقاضا برای محصولات پروبیوتیک غیرلبنی [2] افزایش یافته است (۲). عدم تحمل لاکتوز [3]، وجود کلسترول و پروتئین‌های آلرژی‌زا در شیر [4] از اشکالات عمده در رابطه با مصرف محصولات لبنی بوده و منجر به توسعه محصولات پروبیوتیک غیرلبنی شده است (۳,۴). به نظر می‌رسد آب‌میوه‌ها می‌توانند یک حامل مناسب برای پروبیوتیک و جایگزین مناسبی برای محصولات لبنی پروبیوتیک باشند (۴)؛ زیرا آن‌ها حاوی مواد مغذی ضروری مانند ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدآن‌ها و پلی‌فنول‌ها بوده و اغلب به دلیل دارا بودن ترکیبات مهارکننده اکسیژن مثل آسکوربیک اسید می‌توانند شرایط بی‌هوازی را تقویت کنند و همچنین دارای قند فراوانی بوده، که همه این عوامل رشد پروبیوتیک‌ها را تحریک می‌کنند (۷-۴). علاوه بر این، دارای طعم خوبی بوده و مورد توجه و علاقه تمام گروه‌های سنی هستند و به‌عنوان فرآورده‌های غذایی سلامت‌بخش و نشاط‌آور شناخته شده‌اند (۸). به منظور این‌که باکتری‌های پروبیوتیک بتوانند فواید سلامت‌بخش خود را در انسان ایجاد کنند بر طبق استانداردهای بین‌المللی وجود Cfu/ml 10^8-10^6 باکتری پروبیوتیک درمحصول، هنگام مصرف، لازم است تا تعداد کافی و مناسب از ارگانیسم‌های زنده بتوانند به روده بزرگ برسند و در آنجا فعالیت‌های مفید خود را به انجام رسانند (۹,۱۰). بنابراین نکته حائز اهمیت در تولید و عرضه محصولات پروبیوتیک حفظ بقا و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها از لحظه‌ی تولید تا رسیدن به روده بزرگ می‌باشد (۱۱,۱۲). زیرا تعداد قابل توجهی از باکتری‌ها در طول تولید و نگهداری و پس از آن در حین عبور از دستگاه گوارش از بین می‌روند. برای این منظور انتخاب سوش مناسب که در برابر شرایط محیطی نامناسب در هنگام فرآوری و ذخیره‌سازی و در برابر اسیدهای معده و صفرا مقاوم و پایدار بوده و زنده بماند، یکی از اولویت‌های مهم است (۱۳,۱۴). باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* [5] یکی از مفیدترین گونه‌های لاکتوباسیلوس است. جزو فلور طبیعی روده انسان و حیوانات می‌باشد (۱۵,۱). همچنین یکی از مقاوم‌ترین گونه‌های لاکتوباسیلوس به شرایط اسیدی مانند شیره معده و همچنین نمک‌های صفراوی می‌باشد و در داخل فرآورده‌های معمول تخمیری نیز وجود دارد که بنابر دلایل نام برده شده به‌عنوان پرمصرف‌ترین پروبیوتیک شناخته شده است و دارای بسیاری از اثرات مفید ذکر شده برای پروبیوتیک‌ها مانند کاهش کلسترول خون، تقویت سیستم ایمنی بدن، بازسازی فلور روده (پس از درمان با آنتی بیوتیک و رادیو درمانی)، مهار عفونت باکتریایی و دفع مواد سرطان‌زا نیز می‌باشد(۱,۱۶,۱۷). از آنجایی‌که نکتار پرتقال- انبه دارای مقبولیت زیادی در بین مصرف‌کنندگان بوده و یکی از محصولات پرمصرف می‌باشد و ارزش تغذیه‌ای بالایی دارد، در این تحقیق مورد توجه قرارگرفته است (۱۸). هدف از این تحقیق بررسی امکان پروبیوتیک کردن نکتار پرتقال- انبه بود.

مواد و روش‌ها

بررسی‌های فیزیکوشیمیایی

برای انتخاب سوش مناسب که بتواند شرایط نکتار پرتقال- انبه را تحمل کرده و با محیط این آب میوه سازگارتر باشد، ابتدا خواص فیزیکوشیمیایی نکتار پرتقال- انبه مورد بررسی قرار گرفت.

[1] Probiotic dairy products
[2] Non-dairy probiotic products
[3] Lactose intolerance
[4] Allergenic milk proteins

[5] *Lactobacillus acidophilus*

www.SID.ir

Archive of SID

اندازه‌گیری محتوی قند کل

اندازه‌گیری محتوی قند کل بر اساس روش انجام آزمون قند کل مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۲ به روش فهلینگ انجام گردید (۱۹).

اندازه‌گیری اسیدیته

تعیین اسیدیته با استفاده از روش پتانسیومتری مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۲ انجام گردید (۱۹).

اندازه‌گیری pH

اندازه‌گیری pH به‌وسیله دستگاه pH متر انجام شد. قبل از شروع کار دستگاه pH متر به ترتیب با محلول بافر با pH= ۷ و محلول بافر با pH =۴ کالیبره شد. پس از آن از نکتار پرتقال- انبه به میزان کافی در یک بشر خشک و تمیز ریخته و الکترود دستگاه درون آن قرار داده شد. با توجه به دمای نمونه باید دمای pH متر تنظیم شود. پس از ثابت شدن عدد، pH نمونه خوانده و ثبت شد (۱۹).

آماده‌سازی باکتری پروبیوتیک

ابتدا باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت خشک شده انجمادی خالص از بازار تهیه شد و پس از تلقیح در ۵ ml محیط کشت مایع MRS[1] به مدت زمان ۴۸ h در دمای ۳۷ °C و با شرایط میکروآیروفیل گرمخانه‌گذاری شد. سپس حجم مایع کشت داده شده پس از پاساژهای مکرر به ۱۲۰ml رسید و هر مرحله در شرایط بیان شده گرمخانه‌گذاری شد. این کار چندین بار تکرار شد تا حجم مورد نظر از بیومس به دست آید. بیومس حاصل را به‌وسیله سانتریفیوژ یخچال‌دار در دمای ۴ °C در g × ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۵ min جدا ساخته و دو بار با محلول پپتون استریل ۰/۱٪ شسته شد و در یخچال در دمای ۴ °C نگهداری شد (۲۰).

تلقیح سلول‌های پروبیوتیک به نکتار پرتقال- انبه

ابتدا برای مشخص شدن میزان تلقیح اولیه مناسب، مقادیر متفاوتی از سوسپانسیون با غلظت‌های $۳/۱۸ \times ۱۰^{۶}$ cfu/ml و $۷/۹ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به بطری‌های شیشه‌ای استریل حاوی ۱۰۰ ml نکتار پرتقال- انبه تهیه شده از واحد تولیدی سان استار[2]، افزوده شد. سه تیمار تهیه شدکه دو تیمار بدون گرمخانه‌گذاری بود و تیمار سوم به منظور بررسی اثر گرمخانه‌گذاری بر قابلیت زنده‌مانی پس از تلقیح به این ترتیب تهیه شد که سوسپانسیون باکتری پروبیوتیک با غلظت $۳/۱۸ \times ۱۰^{۶}$ cfu/ml به بطری شیشه‌ای استریل حاوی ۱۰۰ml نکتار پرتقال- انبه تلقیح شد. سپس به مدت ۴۸ h در دمای ۳۷ °C گرمخانه‌گذاری شد. تیمارها درون یخچال در دمای ۴ °C نگهداری شدند. هر تیمار در سه تکرار و تمام مراحل در شرایط استریل انجام شد.

بررسی قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه

به منظور بررسی قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه در پایان هرهفته، شمارش باکتری‌ها با رقیق‌سازی با استفاده از رینگر و کشت در محیط MRS آگار[3] به روش پورپلیت و گرمخانه‌گذاری تحت شرایط بی هوازی، در دمای ۳۷ °C و به مدت ۴۸ h انجام شد. هر شمارش در سه تکرار انجام پذیرفت (۲۱).

اندازه‌گیری تغییرات pH

برای بررسی تاثیر باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بر pH نکتار پرتقال – انبه، این فاکتور به صورت هفتگی، در انتهای هر هفته اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری pH به‌وسیله دستگاه pH متر انجام شد (۱۹).

[1] MRS broth

[2] Sun star

[3] MRS agar

www.SID.ir

Archive of SID

آنالیز آماری

در این تحقیق طرح آماری مورد استفاده، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی بود. با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۲ نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD صورت پذیرفت. از نرم افزار Excel برای رسم منحنی‌ها استفاده شد.

نتایج

بررسی‌های فیزیکوشیمیایی

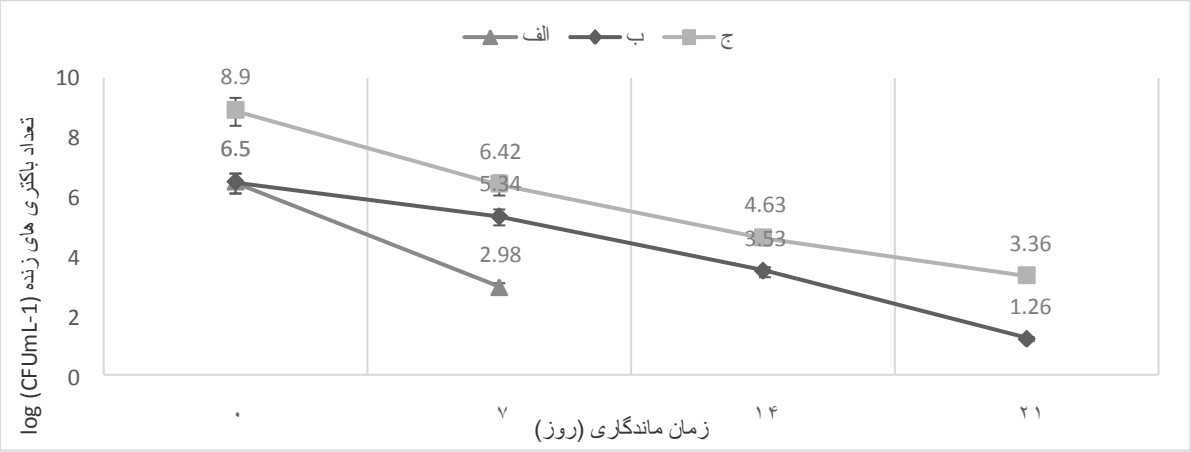
نتایج حاصل از بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نکتار پرتقال- انبه در جدول (۱) آورده شده است. نتایج نشان داد که نکتار پرتقال- انبه یک محیط رشد اسیدی برای باکتری است.

جدول(۱): خصوصیات فیزیکوشیمیایی نکتار پرتقال – انبه

خصوصیات فیزیکوشیمیایی	محتوی قندکل (g/L)	اسیدیته (۱۰۰g/ml)	pH
نکتار پرتقال- انبه	۱۵۳/۴	۰/۵۲	۲/۷

بررسی قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال – انبه

نتایج به دست آمده از بررسی قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه در نمودار (۱) آورده شده است. در تیمار اول تعداد باکتری زنده در هفته اول از 10^6 cfu/ml به 10^2 cfu/ml رسید. در تیمار دوم تعداد باکتری زنده در هفته اول از 10^6 cfu/ml به 10^5 cfu/ml و در هفته دوم از 10^5 cfu/ml به 10^3 cfu/ml و در هفته سوم به 10^1 cfu/ml رسید. در تیمار سوم تعداد باکتری زنده در هفته اول از 10^8cfu/ml به 10^6 cfu/ml و درهفته دوم از 10^6 cfu/ml به 10^4 cfu/ml و در هفته سوم به 10^3 cfu/ml رسید.



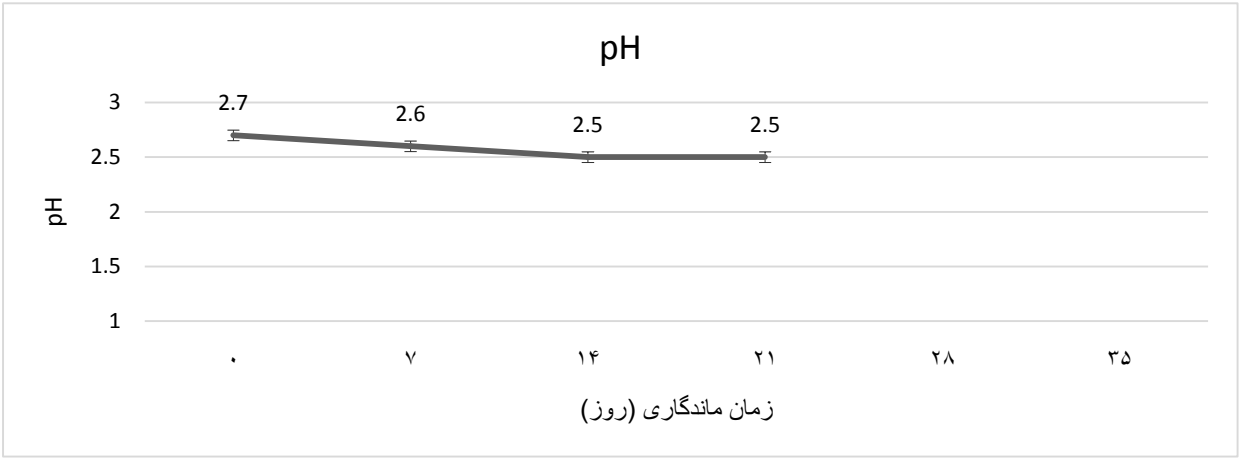
نمودار(۱): بررسی قابلیت زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* درحالت آزاد در نکتارپرتقال- انبه طی دوره ماندگاری. الف: تیمار اول با میزان تلقیح اولیه 10^6 × ۳/۱۸ cfu/ml با گرمخانه‌گذاری بعد از تلقیح ب: تیمار دوم با میزان تلقیح اولیه 10^6 × ۳/۱۸ cfu/ml بدون گرمخانه‌گذاری بعد از تلقیح ج: تیمار سوم با میزان تلقیح اولیه 10^8× ۷/۹ cfu/ml بدون گرمخانه

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی تغییرات pH

بررسی تغییرات pH به صورت هفتگی برای نکتار پرتقال- انبه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با میزان تلقیح اولیه $۷/۹ \times ۱۰^{۸}$ cfu/ml انجام پذیرفت که نتایج به‌دست آمده در نمودار (۲) آورده شده است. pH نکتار پرتقال – انبه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هفته اول از ۲/۷ به ۲/۶ و در هفته دوم از ۲/۶ به ۲/۵ رسید و در هفته سوم تغییری در pH نکتار ایجاد نشد. بر اساس نتایج به‌دست آمده تغییرات قابل توجهی در pH نکتار پرتقال- انبه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی دوره ارزیابی مشاهده نشد.



نمودار(۲): تغییرات pH نکتار پرتقال- انبه حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی دوره نگهداری

بحث و نتیجه‌گیری

شرط اول قابلیت نکتار پرتقال- انبه به‌عنوان حامل پروبیوتیک این است که شرایط فیزیکوشیمیایی مناسبی برای رشد سویه پروبیوتیک فراهم نموده تا در زمان عمر نگهداری با کاهش شدید تعداد سویه پروبیوتیک مواجه نگردد.یکی از شرایط فیزیکوشیمیایی pH فرآورده و دیگری میزان قندکل موجود در حامل پروبیوتیک می‌باشد که هر دو متغیر برای رشد و زنده‌مانی میکروب از اهمیت خاص برخوردار است. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی (جدول۱) نشان داد که pH محیط نکتار پرتقال- انبه برای سویه پروبیوتیک اسیدی می‌باشد (pH=۲/۷). بنابراین نیاز به سویه‌ای اسیددوست بوده که تحمل شرایط اسیدی را داشته و بتواند با این محیط سازگار باشد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یکی از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* مقاوم به شرایط اسیدی مانند شیره معده و نمک‌های صفراوی می‌باشد و در داخل فرآورده‌های معمول تخمیری نیز وجود دارد که بنابر دلایل نام برده شده به عنوان پرمصرف‌ترین پروبیوتیک شناخته شده است(۱). بدین منظور در این تحقیق این سویه مورد استفاده قرار گرفت. نکتار پرتقال- انبه دارای محتوی قندکل قابل توجه می‌باشد. باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز قابلیت تخمیر قندهای سلوبیوز ، فروکتوز، گالاکتوز، مالتوز، مانوز، ساکارز و تره‌هالوز را دارد (۲۲,۲۳). بنابراین نیازهای تغذیه‌ای این سوش تا حدودی در محیط نکتار پرتقال- انبه تامین می‌شود.

شرط اول قابلیت نکتار پرتقال- انبه به‌عنوان حامل پروبیوتیک این است که شرایط فیزیکوشیمیایی مناسبی برای رشد سویه پروبیوتیک فراهم نموده تا در زمان عمر نگهداری با کاهش شدید تعداد سویه پروبیوتیک مواجه نگردد.یکی از شرایط فیزیکوشیمیایی pH فرآورده و دیگری میزان قندکل موجود در حامل پروبیوتیک می‌باشد که هر دو متغیر برای رشد و زنده‌مانی میکروب از اهمیت

www.SID.ir

Archive of SID

خاص برخوردار است. بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی (جدول۱) نشان داد که pH محیط نکتار پرتقال- انبه برای سویه پروبیوتیک اسیدی می‌باشد (pH=۲/۷). بنابراین نیاز به سویه‌ای اسیددوست بوده که تحمل شرایط اسیدی را داشته و بتواند با این محیط سازگار باشد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یکی از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* مقاوم به شرایط اسیدی مانند شیره معده و نمک‌های صفراوی می‌باشد و در داخل فرآورده‌های معمول تخمیری نیز وجود دارد که بنابر دلایل نام برده شده به عنوان پرمصرف‌ترین پروبیوتیک شناخته شده است(۱). بدین منظور در این تحقیق این سویه مورد استفاده قرار گرفت. نکتار پرتقال- انبه دارای محتوی قندکل قابل توجه می‌باشد. باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز قابلیت تخمیر قندهای سلوبیوز ، فروکتوز، گالاکتوز، مالتوز، مانوز، ساکارز و تره‌هالوز را دارد (۲۲,۲۳). بنابراین نیازهای تغذیه‌ای این سوش تا حدودی در محیط نکتار پرتقال- انبه تامین می‌شود.

نتایج حاصل از بررسی میزان تلقیح اولیه نشان داد هرچه میزان تلقیح اولیه بیشتر باشد، زمان نگهداری نکتار پرتقال- انبه افزایش می‌یابد. در بررسی مطالعات گذشته شواهدی مبنی بر اثر افزایشی انکوباسیون آب میوه پروبیوتیک پس از تلقیح بر زنده‌مانی سویه پروبیوتیک وجود دارد از جمله کاستا[1] و همکاران تاثیر گرمخانه‌گذاری در بازه‌های زمانی متفاوت پس از تلقیح بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک را در آب آناناس مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که گرمخانه‌گذاری در زمان‌های بیش از ۲۴ h بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک تاثیر مثبت دارد و سبب افزایش تعداد باکتری پروبیوتیک به میزان دو سیکل لگاریتمی می‌شود (۲۴). اما در تحقیق حاضر گرمخانه‌گذاری پس از تلقیح تاثیر منفی بر قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* داشته و سبب کاهش مدت زمان نگهداری نکتار پرتقال-انبه پروبیوتیک شد. همچنین نتایج حاصل از بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه نگهداری شده در یخچال در دمای $4\ ^{\circ}C$ (نمودار۱)، نشان داد که این باکتری در این محیط به مدت بیش از یک هفته می‌تواند زنده بماند. یک هفته پس از تلقیح میزان باکتری با کاهش دو سیکل لگاریتمی به $2/5 \times 10^{6}$ cfu/ml رسید. همچنین این تعداد در هفته دوم با کاهش دو سیکل لگاریتمی به $4/4 \times 10^{4}$ cfu/ml رسید. اما در هفته سوم تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به $2/2 \times 10^{3}$ cfu/ml رسید که کاهش تعداد در طی این هفته یک سیکل لگاریتمی بود، در نتیجه الگوی کاهش تعداد باکتری در این هفته با هفته اول و دوم متفاوت بود. بررسی تفاوت معنی‌دار بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD نشان داد که در تلقیح باکتری به نکتار پرتقال- انبه، زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هفته اول با هفته دوم و هفته دوم با هفته سوم اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد وجود دارد. به نظر می رسد پایین بودن pH نکتار پرتقال- انبه باعث می‌شود که باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نتواند مدت زیادی در آب میوه زنده باقی بماند.

تحقیقات مشابهی در زمینه زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آب میوه‌های پروبیوتیک در گذشته صورت پذیرفته است.در تحقیق شاه[2] ودینگ[3] (۲۰۰۸) زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در آب سیب بررسی کردند و دریافتند که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب سیب تا دو هفته به میزان 10^{6} cfu/ml توانست باقی بماند (۷). همچنین در تحقیق دیگری سهیل[4] و همکاران (۲۰۱۲) زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در آب پرتقال بررسی کردند. نتایج حاصل نشان داد که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب پرتقال تا دو هفته به میزان 10^{6} cfu/ml توانسته باقی بماند که نتایج دو تحقیق

[1] Garcia Maia Costa

2 Ding
3 Shah
4 Sohail

www.SID.ir

Archive of SID

مذکور نسبتاً شبیه به نتایج حاصل از تحقیق حاضر می‌باشد زیرا که در تحقیق حاضر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیش از یک هفته به 10^6 cfu/ml رسیده است (۸). که به نظر می‌رسد علت ماندگاری بیشتر *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، pH بالاتر آب پرتقال (pH=۳/۸) و آب سیب (pH=۲/۹) در مقابل نکتار پرتقال- انبه (pH=۲/۷) می‌باشد. در تحقیق دیگری نیول‌کایکول[1] و همکاران (۲۰۱۱) بقای باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* [2] را در آب میوه‌های انار و لیمو مورد بررسی قرار دادند (۲۵). باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در آب انار توانسته دو هفته به میزان 10^6 cfu/ml باقی بماند. همچنین این باکتری توانسته در آب لیمو تا ۶ هفته به میزان 10^6 cfu/ml باقی بماند که بیشتر از ماندگاری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه در تحقیق حاضر بوده است. به نظر می رسد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* توانایی بیشتری در تحمل شرایط اسیدی نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارد و نقش مهم انتخاب سویه پروبیوتیک بسیار اهمیت پیدا می‌کند. همچنین در تحقیق دیگری که توسط نیول‌کایکول و همکاران (۲۰۱۳) انجام شد بقای باکتری *بیفیدوباکتریوم لانگوم*[3] را در دو آب میوه انار و کران بری مورد بررسی قرار دادند (۲۶). باکتری *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در آب انار به مدت یک هفته به میزان 10^6 cfu/ml زنده مانده است که مدت زنده‌مانی آن با مدت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نکتار پرتقال- انبه برابر است. هرچند *بیفیدوباکتریوم لانگوم* نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تحمل کمتری نسبت به شرایط اسیدی دارد، اما علت این مقاومت *بیفیدوباکتریوم لانگوم*، pH بالاتر آب انار (pH=۳/۲) نسبت به pH نکتار پرتقال- انبه (pH=۲/۷) می‌باشد. باکتری *بیفیدوباکتریوم لانگوم* در آب کران بری در کمتر از یک هفته به میزان 10^6 cfu/ml رسید. که ماندگاری این سویه پروبیوتیک از سویه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تحقیق حاضر کمتر بود. این اختلاف را می‌توان با این مطلب توجیه نمود که سویه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نسبت به *بیفیدوباکتریوم لانگوم* به شرایط اسیدی مقاوم‌تر است. اما دلیل دیگر می‌تواند پایین‌تر بودن pH آب کران بری[4] (pH=۲/۵) در مقایسه با نکتار پرتقال- انبه (pH=۲/۷) باشد.

بر اساس نتایج به‌دست آمده تغییرات قابل توجهی در pH نکتار پرتقال- انبه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طی دوره ارزیابی مشاهده نشد که به نظر می‌رسد به دلیل کم بودن مدت زمان زنده‌مانی باکتری بوده که در این مدت میزان اسید تولید شده در اثر مصرف قند توسط باکتری به میزانی بوده که تاثیر قابل توجهی بر pH نداشته است (۲۷). همچنین کاهش pH در هفته اول بیشتر از هفته دوم و در هفته سوم تقریبا صفر است که نشان می‌دهد با کاهش هرچه بیشتر تعداد باکتری مصرف قند و تولید اسید، کاهش یافته و بر همین مبنا کاهش pH تقریبا به صفر رسیده است. نتایج ما با نتایج به دست آمده توسط شاه و دینگ (۲۰۰۸) که زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در آب سیب وهمچنین تغییرات pH آن را بررسی کرده مشابهت دارد. در این تحقیق pH آب سیب از ۲/۹ به ۲/۴ رسید که این تغییرات pH در آب سیب پروبیوتیک معنی‌دار نبوده است (۷). همچنین نیول کایکول و همکاران (۲۰۱۱)، باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را در آب میوه‌های انار و لیمو مورد بررسی قرار دادند و تغییرات pH را نیز در طی ماندگاری آب انار پروبیوتیک و آب لیمو پروبیوتیک بررسی کردند (۲۵). در این تحقیق pH آب انار از۳/۲۵ به ۳/۲۱ و pH آب لیمو از ۲/۵۲ به ۲/۵۱ رسید که این نتایج حاکی از تغییرات بسیار جزیی pH در طی این زمان بود و تغییرات در هر دو آب میوه پروبیوتیک معنی‌دار نبود که با نتایج تحقیق حاضر مشابه می‌باشد.

1 Nualkaekul
2 *Lactobacillus plantarum*
3 *Bifidobacterium longum*
4 Cranberry

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به نتایج تحقیق، نکتار پرتقال- انبه حامل مناسبی برای سویه پروبیوتیک به صورت آزاد نمی‌تواند باشد. اما از این جهت که نکتار پرتقال- انبه به‌عنوان یکی از محصولات پرمصرف است که مورد توجه مصرف‌کننده می‌باشد و به دلیل غنی بودن از مواد معدنی، آنتی‌اکسیدآن‌ها و فیبرهای غذایی خواص سلامت‌بخش فراوانی برای مصرف‌کننده دارد که افزودن پروبیوتیک می‌تواند بر خواص این محصول بیفزاید. همچنین از آنجایی‌که باکتری در نکتار تا یک هفته به تعداد قابل قبول باقی مانده و تغییری در pH نکتار پرتقال- انبه نداشته، لذا قابلیت این سویه به عنوان حامل قابل بررسی می‌باشد. اما نیاز است برای افزایش مدت زمان نگهداری نکتار پرتقال- انبه پروبیوتیک، از تکنیک‌های مختلف ریزپوشانی و افزودن پری‌بیوتیک‌ها استفاده شود که این خود نیازمند تحقیق بیشتری در این زمینه می‌باشد. همچنین می‌توان در تحقیقات آینده دیگر آب‌میوه‌ها را از جهت قابلیت استفاده به عنوان حامل پروبیوتیک بررسی نمود.

تشکر و قدردانی

از همکاران گروه پژوهشی میکروبیولوژی پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی پژوهشگاه استاندارد به خاطر همکاری در این پایان‌نامه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

۱-خسروانی دارانی، ک.، کوشکی، م. ر. پروبیوتیک‌ها در شیر و فرآورده‌های آن. انتشارات مرز دانش، تهران، ۱۳۷۸؛(۴)۸: ۹۳-۹۶.

2-Vivek KB. Use of encapsulated probiotics in dairy based foods. International Journal of Food 2013; 3 (1):1-12.

3- Antunes AE, Liserre AM, Coelho AL, Menezes CR, Moreno I, Yotsuyanagi K, Azambuja NC. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. LWT-Food Science and Technology. 2013;54(1):125-131.

4-Lúcia F, Pereira AC, Maciel T, Rodrigues S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Research International 2011;8(44): 1276–1283.

5-Furtado Martins E, Mota Ramos A, Silva Lago Vanzela E, César Stringheta P, Lúcia de Oliveira Pinto C, Manoel Martins J. Products of vegetable origin: A new alternative for the consumption of probiotic bacteria. International journal of Food Research 2013; 51(12): 764-770.

6-Rivera-Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. Journal of food microbiology, 2010; 27(3): 1–11.

7-Ding WK, Shah NP. Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. International journal of Food Research 2008; 15(2); 219-232.

8-Sohail A, S. Turner M, Kartika Prabawati E, G.A. Coombes A, Bhandari B. Evaluation of *Lactobacillus rhamnosus GG* and *Lactobacillus acidophilus NCFM* encapsulated using a novel impinging aerosol method in fruit food products. International Journal of Food Microbiology 2012; 157(23): 162-166.

9-Aragon-Alegro LC, Alarcon Alegro JH, Roberta Cardarelli H, Chih Chiu M, Isay Saad SM. Potentially probiotic and synbiotic chocolate mousse. LWT – Food Science and Technology 2007; 40(4): 669-675.

10-Kim S, Yong Cho S, Hun Kim S, Song O, Shin I, Su Cha D, Jin Park H. Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in *Lactobacillus acidophilus ATCC 43121*. LWT 2008; 41(12): 493-500.

11-B. Fritzen-Freire C, S. Prudêncio E, S. Pinto S, B. Muñoz I, D.M.C. Amboni R. Effect of microencapsulation on survival of *Bifidobacterium BB-12* exposed to simulated gastrointestinal conditions and heat treatments. LWT - Food Science and Technology 2013; 50(8): 39-44.

12-Saarela M, Alakomi HL, Mättö J, Ahonen AM, Tynkkynen S. Acid tolerant mutants of Bifidobacterium animalis subsp. lactis with improved stability in fruit juice. Journal of Food Science and Technology 2011; 44(19): 1012-1018.

13-Martin-Dejardin F, Ebel Lemetais B, Nguyen Thi Minh z H, Gervais P, Cachon R, Chambin O. A way tofollow the viability ofencapsulated *Bifidobacterium bifidum* subjected to a freeze-drying process inorder totarget the colon: Interest of flowcytometry. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2013; 49(16):166–174.

14-Yonekura, L, Sun H, Soukoulis C, Fisk I. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus NCIMB 701748* in matrices containing soluble fibre by spray drying: Technological characterization, storage stability and survival

www.SID.ir

Archive of SID

modified with silver particles on the microbial, sensory and appearance of dried barberry. Journal of packaging technology and science. 2013;26(1):39-49.
22-Gomes AMP, Malcata fx. *Bifidobacterium* Spp. and *lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. tJournal of rendin food science and technology 1999; 10(2):139-157.
23-De Vuyst L, Lvandamme J. Bacteriocins of lactic acid bacteria, blackic Academic and professional London, England 2000; 123(16): 423-478.
24-Garcia Maia Costa, M., Vidal Fonteles, T., Tibério de Jesus, A.L., Rodrigues, S. Sonicated pineapple juice as substrate for *L. casei* cultivation for probiotic beverage development: Process optimisation and product stability, Food Chemistry 2013; 139(56): 261–266.
25-Nualkaekul S, Charalampopoulos D. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. International Journal of Food Microbiology 2011; 146(59): 111-117.
26-Nualkaekul ST, Cook MV, Khutoryanskiy V, Charalampopoulos D. Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. Journal of food research international 2013; 53(21): 304-311.
27-Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties, Journal of biotechnology 2000; 84(32): 197-215.
after in vitro digestion, Journal of Functional Foods 2014; 6(100): 205–214.
15-Miquel S, Beaumont1 M, Martín R, Langella P, Braesco V, Thomas M. A proposed framework for an appropriate evaluation scheme for microorganisms as novel foods with a health claim in Europe. Journal of microbial cell factories. 2015; 14(48): 1-11.
16-Govender ME, Choonara Y, Kumar PC, du Toit L, van Vuuren S, Viness Pillay V. A Review of the Advancements in Probiotic Delivery: Conventional vs. Non-conventional Formulations for Intestinal Flora Supplementation. AAPS PharmSciTech 2014; 15(28): 1-15.
17-Furtado DD, Todorov S, Landgraf M, Destro M, Franco B. Bacteriocinogenic *Lactococcus lactis* subsp. lactis DF04Mi isolated from goat milk: Evaluation of the probiotic potential. Brazilian Journal of Microbiology 2015; 45(3): 1047-1054.
18-Luckow T, Sheehan V, Fitzgerald G, Delahunty C, Exposure, health information and flavordmasking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. Apetite 2006; 47(18): 315‑325.
19-2685, ISIRI. Fruit juices - Test methods. 1st. revision.
20-Mokarram RR, Mortazavi SA, Habibi Najafi MB, Shahidi F. The influence of multi stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. Food Research International 2009; 42(8): 1040-1045.
21-Valipoor Motlagh N, Hamed Mosavian MT, Mortazavi SA. Effect of polyethylene packaging

www.SID.ir

Archive of SID

A survey on possibility of using orange/mango nectar as a probiotic carrier

Somayeh Shokrgozar[1], Maryam Ghobadi Dana[2], Maryam Salami[3]

1- Department of Food Sciences & Technology, Faculty of Advanced Sciences & Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran (IAUPS)
2- Microbiology research group, Faculty of food industry and agriculture, Standard Research Institute, Karaj, Iran (correspond author)*
3- Department of Food Science and Engineering, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Received: 1394/11/11
Accepted: 1395/02/15

Abstract

Today dairy products are the most familiar probiotic products in Iran. In recent years because of three factors such as lactose intolerance in some consumers, the present of cholesterol in milk and the present of allergenic protein in milk, consumers prefer to use non-dairy probiotic products instead of dairy probiotic products. The aim of the present study was to investigate the probability of the use of orange/mango nectar as a carrier for the probiotic bacteria. At first, physicochemical properties of orange/mango nectar were evaluated. Then *lactobacillus acidophilus* was used as probiotic strain. Probiotic bacterium was inoculated to the orange/mango nectar, and then it was stored at 4ºC. The pH of probiotic nectar and the viability of probiotic bacteria in orange/mango nectar were evaluated at the end of each week. The results showed that viability of *lactobacillus acidophilus* reached to 10^6 cfu/ml within one week and to 10^5 cfu/ml within two weeks. There was no significant difference in pH. Orange/mango nectar may not be a suitable carrier for probiotics, but because of the benefits of this product and viability of strain for 7 days without pH difference, it is suitable to study more for increasing the shelf life of probiotic orange/mango nectar, it is required to using prebiotics and different technology of microencapsulation for introducing this product to food industries.

Keywords: probiotic, orange/mango nectar, *Lactobacillus acidophilus*, Viability

* dana.m@standard.ac.ir

www.SID.ir