



Evaluation of physicochemical, microbial, and antioxidant properties of the set yogurt containing pomegranate peel extract during storage

Reza Esmailzadeh Kenari^{1✉}, Niloofar Zahed², Ghazaleh Shabani³

¹Professor, Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources. Mazandaran, Iran

²PhD Student, Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources. Mazandaran, Iran

MSc Student, Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, University of Sari Agricultural Sciences and Natural Resources. Mazandaran, Iran

✉ Corresponding author: Reza_kenari@yahoo.com

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2024-11-27

Revised: 2025-08-10

Accepted: 2025-08-16

Keywords:

Yogurt, Pomegranate peel extract, Syneresis, Acidity, Antioxidant properties, Phenolic compounds

ABSTRACT

Background: Pomegranate peel extract in yogurt increases the shelf life of the product due to its antimicrobial and antioxidant properties. This extract improves the taste and color of yogurt and, as a natural additive, can enhance the health properties of the product. Also, the use of peel extract is considered a suitable alternative to synthetic preservatives.

Aims: The aim of this research is to extract phenol and anthocyanin from pomegranate peel powder and select the optimal concentration of pomegranate peel extract to produce yogurt containing natural food coloring with antioxidant and antimicrobial properties during the yogurt storage period.

Methods: First, an extract containing phenol and anthocyanin was extracted from pomegranate peel, and then the optimal concentration of pomegranate peel extract was determined and used in the formulation of molded yogurt. The physicochemical and microbial properties of molded yogurt containing pomegranate peel extract were compared with those of control yogurt during the storage period (8 days).

Results: The extraction efficiency of pomegranate peel anthocyanin extract was $23.80 \pm 0.30\%$. The measured amount of anthocyanin and total phenol was recorded as 57.59 mg of cyanidin 3-glucoside per hundred grams of pomegranate peel powder extract and 1973.02 mg of gallic acid per 100 grams of extract. During storage (8 days) of yogurt containing pomegranate peel extract, parameters such as acidity, water content, and antioxidant activity (beta-carotene: linoleic acid bleaching) increased significantly ($p < 0.05$). The antimicrobial activity of yogurt containing pomegranate peel extract was appropriate.

Conclusion: In general, the results showed that yogurt containing pomegranate peel extract, in addition to increasing its shelf life and improving its physicochemical properties, has antioxidant properties, which, in addition to its valuable nutritional properties, play a significant role in the health of consumers.



Extended Abstract

Introduction: Yogurt is considered one of the most widely consumed fermented dairy products, which is rich in nutrients. Yogurt is one of the most popular fermented dairy products produced worldwide. It enjoys high consumer acceptance due to its nutritional value and potential health benefits (Weerathilake *et al.*, 2014). In general, yogurt is considered a nutritionally rich food, rich in protein, calcium, milk fat, potassium, magnesium, vitamins B2, B6, and B12 (Ayar and Gurlin, 2014). Recently, synthetic colors have been used to diversify yogurt, which harms the body. Therefore, it is necessary to use edible color compounds that have antimicrobial and antioxidant properties and can also cause variety in the product's taste. Extracts obtained from waste plants such as pomegranate peel are rich in compounds with antioxidant properties, which, in addition to increasing the shelf life of the product, have a positive effect on the health of the consumer. On the other hand, pomegranate fruit is one of the native products of Iran, and its waste, such as peel, can be used as a valuable compound containing antioxidants and antimicrobials in the formulation of food products, especially fermented dairy products such as yogurt.

pomegranate peel reported the amount of anthocyanin in the extract to be 40.2 mg cyanidin 3-glucoside, which is consistent with the results of this study (Azarpazhooh *et al.*, 2019). It was also shown in other studies that the extract of pomegranate peel extracted with ethanol solvent has a higher amount of phenolic compounds than ethanol-water and water solvents (Zahed *et al.*, 2023). The highest antioxidant activity in the beta-carotene: linoleic acid bleaching test, minimum bacterial inhibitory concentration (MIC), and minimum bactericidal concentration (MBC) were related to the concentration of 600 ppm, 300 ppm, and 400 ppm of pomegranate peel extract, respectively. Therefore, a concentration of 600 ppm of pomegranate peel extract was used in yogurt formulation. By increasing the concentration of extract in pomegranate peel, the antioxidant and antimicrobial properties also increased. During storage (8 days) of yogurt containing pomegranate peel extract, parameters such as acidity and antioxidant activity (Bleaching of beta-carotene: linoleic acid) increased ($p < 0.05$). Phenolic compounds have greater antioxidant activity in acidic solution (El-Said *et al.*, 2014) because pH affects the ionization state of bioactive phenolic compounds (Kharchoufi *et al.*, 2017). The

Materials and Methods: First, an extract was obtained from pomegranate peel with the help of ethanol solvent, and then the amount of phenolic and anthocyanin compounds was measured. Also, its antioxidant properties were measured in different concentrations through the Bleaching of beta-carotene: linoleic acid. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum microbicidal concentration (MBC) of anthocyanin extract were evaluated. Then the best concentration to add to the yogurt formulation was determined. After the preparation of yogurt containing extract, the characteristics of yogurt, such as pH, acidity, antioxidant properties, and antimicrobial properties, were investigated during the storage period (8 days).

Results and discussion: The extraction efficiency of pomegranate peel extract was $23.80 \pm 0.30\%$. The amount of anthocyanin and total phenol measured was equal to 59.57 mg of cyanidin3-glucoside per hundred grams of pomegranate peel powder extract and 1973.02 mg of gallic acid per 100 grams of extract. Ethanol solvent has a higher performance in extracting phenolic compounds than anthocyanins, which is related to the polarity and ionicity of phenolic compounds and anthocyanins (Zahed *et al.*, 2023). Researchers in a study on lowest and highest syneresis were for the control sample on day 1 (28.95%) and yogurt containing the extract on day 8 (47.18%), respectively ($p < 0.05$). Jani *et al.* (2024) reported syneresis of control yogurt and yogurt mixed with pomegranate peel extract as 68% and 59%, respectively, which is higher than the syneresis of yogurt in this study (Jani *et al.*, 2024). Factors such as dry matter percentage (protein), starter bacteria strain, and yogurt acidity play a key role in reducing syneresis (Zahed and Esmaeilzadeh Kenari, 2025). The antimicrobial activity of yogurt extract containing extract of pomegranate peel was suitable so that *Staphylococcus aureus* bacteria were not observed during the storage period (8 days). The effect of the antimicrobial activity of yogurt extract containing pomegranate peel extract was different against *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. So this bacterium was not observed on the first day, but it was observed on the 8th day of storage. The effect of yogurt containing extract had greater effect on inhibiting the activity of *Staphylococcus aureus* bacteria. Because this bacterium is gram-positive and its wall does not have a peptidoglycan layer, it was more sensitive to the extract. (Dufay *et al.* 2001). In a study by Alirezaloo *et al.* (2015) on functional colored yogurt enriched with blackberry

and carrot extracts, they stated that during the storage period of 21 days, the pathogenic bacteria *Staphylococcus* could not grow, which they attributed to acidic conditions and control of sanitary conditions in the production process, as well as the antimicrobial activity of the extracts in the yogurt (Alirezaloo et al., 2015).

Conclusion: In this study, after extracting pomegranate peel extract, it was used in the formulation of molded yogurt, and then the various properties of yogurt were examined during storage. The results showed that ethanol solvent caused good extraction of anthocyanin and phenolic compounds from pomegranate peel. Pomegranate peel extract showed good antioxidant and antimicrobial properties. Pomegranate peel extract in yogurt during storage increased acidity, water retention, and decreased pH of yogurt. It also increased antioxidant and antimicrobial properties in molded yogurt. So that at the end of the eighth day, unlike the control yogurt, no *Staphylococcus aureus* bacteria were observed. Considering that plant waste (such as pomegranate peel) has potential antimicrobial and antioxidant properties, and pomegranate fruit is one of the native fruits in our country, it is a suitable alternative to synthetic additives, including pigments, antioxidants, flavors, and antimicrobials in various food products, including widely consumed fermented dairy products such as yogurt. In addition to increasing antioxidant and antimicrobial properties that play a positive role in consumer health, it can also be considered as a compound to diversify the product in terms of color and flavor.

ارزیابی خواص فیزیکی شیمیایی، میکروبی و آنتی اکسیدانی ماست قالبی حاوی عصاره پوست انار در مدت نگهداری

رضا اسماعیل زاده کناری^۱، نیلوفر زاهد^۲، غزاله شبانی^۳

^۱استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
^۲دانشجوی دکتری، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران
^۳دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، مازندران، ایران

✉ مسئول مکاتبه: Reza_kenari@yahoo.com

چکیده

مشخصات مقاله

زمینه مطالعاتی: عصاره پوست انار در ماست باعث افزایش ماندگاری محصول به دلیل خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن است. این عصاره باعث بهبود طعم و رنگ ماست می‌شود و به عنوان یک افزودنی طبیعی می‌تواند خواص سلامت بخش محصول را ارتقا دهد. همچنین، استفاده از عصاره پوست جایگزین مناسبی برای نگهدارنده های سنتزی محسوب می‌شود.

هدف: لذا هدف از این پژوهش، استخراج عصاره فنول و آنتوسیانین از پودر پوست انار و انتخاب غلظت بهینه عصاره پوست انار، جهت تولید ماست حاوی رنگ خوراکی طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی در طول دوره‌ی نگهداری ماست می‌باشد.

روش کار: عصاره حاوی فنول و آنتوسیانین از پوست انار استخراج شد و سپس غلظت بهینه عصاره پوست انار تعیین شد و در فرمولاسیون ماست قالبی استفاده شد. ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و میکروبی ماست قالبی حاوی عصاره پوست انار در مدت زمان نگهداری (۸ روز) با ماست شاهد مقایسه شد.

نتایج: بازده استخراج عصاره آنتوسیانین پوست انار $23/80 \pm 3/30$ % شد. میزان آنتوسیانین و فنول کل اندازه گیری شده معادل $59/57$ میلی گرم سیانیدین 3 - گلوکوزید در صد گرم عصاره پودر پوست انار و $1973/02$ میلی گرم اسید گالیک در 100 گرم عصاره ثبت شد. در طی نگهداری (۸ روز) ماست حاوی عصاره پوست انار پارامترهایی مانند اسیدیته، آب اندازی و فعالیت آنتی اکسیدانی (بی رنگ شدن بتاکاروتن-اسیدلینولئیک) به طور معنی داری افزایش یافت. اما مقدار pH کاهش یافت ($p < 0.05$). فعالیت ضد میکروبی ماست حاوی عصاره پوست انار مناسب بود.

نتیجه گیری کلی: به طور کلی نتایج نشان داد ماست حاوی عصاره پوست انار علاوه بر افزایش ماندگاری و نیز بهبود ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی آن، دارای خواص آنتی اکسیدانی می‌باشد که علاوه بر خواص ارزشمند تغذیه‌ای، نقش بسزایی در سلامتی مصرف کننده‌ها دارد.

نوع مقاله:

علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:

دریافت: ۱۴۰۳/۹/۷

بازنگری: ۱۴۰۴/۵/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۴/۵/۲۵

کلید واژه:

ماست، عصاره پوست انار، آب اندازی، اسیدیته، خواص آنتی اکسیدانی، ترکیبات فنولی

مقدمه

اخیرا علاقه به توسعه رنگ‌های خوراکی از منابع طبیعی به عنوان جایگزین رنگ‌های سنتزی به دلیل اقدامات قانونی و نگرانی مصرف‌کننده رو به افزایش است. از سویی علاقه به آنتوسیانین‌ها نه تنها از رنگ‌آمیزی آن‌ها بلکه از خواص مطلوب آن‌ها، از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی بالای آن است. آنتوسیانین‌ها در جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها در منابع مختلف چربی، نقش دارند. استفاده از آنتوسیانین‌ها به عنوان جایگزین رنگ‌های سنتزی به طور گسترده‌ای در صنعت مواد غذایی کاربرد دارد (ایسوس و همکاران، ۲۰۱۴).

از سویی توجه روز افزون به جایگزینی آنتی اکسیدان‌ها و رنگدانه‌های سنتزی با ترکیبات طبیعی، بسیاری از تحقیقات را به سوی مواد خام مشتق از گیاهان کشانیده است. یکی از منابع طبیعی رنگ‌آمیزی مواد غذایی، رنگدانه آنتوسیانین از پوست انار است. انار یکی از قدیمی‌ترین میوه‌های خوراکی شناخته شده است که حاوی بالاترین غلظت کل پلی فنل‌ها نسبت به سایر میوه‌های مورد مطالعه است. اخیرا تعدادی از مطالعات پوست انار را به عنوان یک منبع غنی از آنتی اکسیدان‌ها و مواد فنلی معرفی کردند. که باعث ایجاد خواص آنتی بیوتیک، ضد ویروسی، ضد میکروبی و فعالیت آنتی اکسیدانی می‌شوند (کادریدز و همکاران، ۲۰۱۵). برای مثال جوینده و یدملت (۱۳۹۷) گزارش کردند که افزودن عصاره پوست انار به همبرگر با کاهش شمارش کلی باکتری‌های هوازی همراه بود (جوینده و یدملت، ۱۳۹۷).

آنتوسیانین‌ها می‌توانند به عنوان رنگ‌های غذایی در بسیاری از سیستم‌های غذایی مانند نوشابه، مربا، مارمالاد، شیرینی، محصولات لبنی (ماست و شیر)، پودر نوشیدنی، و همچنین محصولات یخ زده (بستنی) استفاده شوند (ساحت و همکاران، ۲۰۱۴).

ماست یکی از محبوب‌ترین محصولات لبنی تخمیری است که در سراسر جهان تولید می‌شود. به دلیل ارزش غذایی و مزایای بالقوه برای سلامتی از مقبولیت بالای مصرف‌کننده برخوردار است (ورسیلیک و همکاران، ۲۰۱۴). به طور کلی، ماست از نظر

تغذیه‌ای غنی محسوب می‌شود و سرشار از پروتئین، کلسیم، چربی شیر، پتاسیم، منیزیم، ویتامین B₂، B₆ و B₁₂ است (آیار و گویلی، ۲۰۱۴). ماست‌های پروبیوتیک مقادیر قابل توجهی از باکتری‌های پروبیوتیک را در بدن منتقل کند و می‌تواند فواید سلامتی خاصی را پس از مصرف به ارمغان آورد (کاسترو و همکاران، ۲۰۱۵). افزودن عصاره گیاهی منجر به حفظ بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک در طول مدت نگهداری ماست می‌شود (جوینده و بهبهانی، ۲۰۲۴) و به عنوان ماست‌های زیستی به بازار عرضه می‌شوند. علاوه بر این، گزارش شده است که ماست ویژگی بهبود دهندگی عدم تحمل لاکتوز، تقویت سیستم ایمنی و پیشگیری از اختلالات گوارشی است (ندیف و همکاران، ۲۰۱۴). به دلیل این فواید شناخته شده برای سلامتی، تقاضای مصرف‌کنندگان برای ماست افزایش یافته و به سرعت ترین گروه لبنیات در حال رشد در بازار جهانی محصولات شیر تخمیر شده تبدیل شده است (ورسیلیک و همکاران، ۲۰۱۴).

انواع متداول ماست عبارتند از: ماست قالبی، هم زده و نوشیدنی ماست که در برخی کشورها در صورت مجاز بودن قند، تثبیت‌کننده، طعم‌دهنده و رنگ اضافه می‌شود. در میان افزودنی‌های مختلف، تثبیت‌کننده‌ها، رنگ‌ها و آگزوپلی ساکاریدها اهمیت ویژه‌ای دارند. در مورد رنگ‌ها، گرایش به سرعت به سمت رنگ‌های طبیعی به جای رنگ‌های مصنوعی در حال افزایش است (گاوا و همکاران، ۲۰۱۷). طعم‌ها و رنگ‌های تایید شده معمولاً برای بهبود جذابیت بصری و طعم بهتر به ماست‌ها اضافه می‌شوند (اورال و چاندان، ۲۰۱۳). رنگ‌های طبیعی که در حال حاضر برای رنگ‌های قرمز استفاده می‌شوند آنتوسیانین‌ها و کارمین هستند. با این حال، برخی از این رنگ‌ها هنگام فرآیند در دمای بالا یا در مقادیر مختلف pH ناپایدار هستند (گاوا و همکاران، ۲۰۱۷).

ماست یک محصول تخمیری است که به دلیل تخمیری بودنش مصرف‌کنندگان زیادی دارد. اما تنوع در طعم و رنگ ماست عمدتاً به دلیل استفاده از ترکیبات سنتزی است که ممکن باعث بروز مشکلاتی مانند بیش فعالی و افزایش احتمال ابتلا به سرطان در کودکان شود. استفاده از رنگ‌ها و طعم‌دهنده‌های طبیعی (ضایعات مواد غذایی) که خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی

(pH=۶/۶) از فروشگاه پارسی پودر (همدان، ایران) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی و غیر شیمیایی از شرکت مرک و سیگما آلد ریچ تهیه گردید.

تهیه پوست انار

پوست از میوه انار (شسته شده با آب مقطر) جدا شد. پوست تحت حرارت و نور خورشید خشک شد. توسط آسیاب خرد شد و پودر پوست انار توسط الک (مش ۴۰) جدا شد و برای استفاده در یخچال نگهداری شد.

استخراج عصاره آنتوسیانین و فنول از پودر پوست انار

استخراج با استفاده از روش زاهد و همکاران (۲۰۲۳) با کمی تغییر انجام شد. ۵۰ گرم پودر پوست انار با اتانول ۹۵٪ به حجم ۵۰۰ میلی لیتر توسط همزن برقی ۳۰ دقیقه مخلوط شد. عصاره توسط سانتریفیوژ یخچال دار (۱۰°C: ۱۰ دقیقه: ۸۰۰۰rpm) سانتریفیوژ شد. سپس سوپرناتانت جمع آوری شد و داخل آون با دمای ۴۵°C قرار داده شد. تا اتانول ۹۵٪ تبخیر شود. سپس عصاره آنتوسیانین پوست انار در فریزر ۱۸°C- نگهداری شد (زاهد و همکاران، ۲۰۲۳).

محتوی آنتوسیانین کل (TAC)

محتوی آنتوسیانین کل عصاره پوست انار از روش pH افتراقی مطابق روش کایرسا و سمرگلو (۲۰۰۳) با کمی تغییر انجام شد. ۹۹ میلی لیتر آب مقطر به عصاره پوست انار (۱ میلی لیتر) اضافه شد. سپس محلول بافر (۱ pH=KCl و ۴/۵ pH=C₂H₃NaO₂) با نسبت ۱ به ۴ به عصاره پوست انار اضافه شد. جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (nm ۷۰۰، ۵۲۰λ) بعد ۲۰ دقیقه قرائت شد و با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (کایرسا و سمرگلو، ۲۰۰۳)

$$A = (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1 - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 4.5$$

$$\text{TAC} = \frac{A \times \text{MW} \times \text{DF} \times 1000 \times V}{\epsilon \times L \times M}$$

تعیین ترکیبات فنولی کل

سنجش ترکیبات فنولی عصاره پوست انار از روش فولین سیوالتو مطابق روش سینگ و همکاران (۲۰۲۲) انجام شد. ابتدا محلول های مورد نیاز شامل معرف فولین فنول ۱۰ برابر رقیق شده و محلول سدیم کربنات ۷/۵٪ تهیه شد. سپس ۰/۵

میکروبی بالایی دارند جایگزین مناسبی است. زیرا علاوه بر این که اثرات سوء ندارند بخاطر خاصیت آنتی اکسیدانی برای جلوگیری از بسیاری از بیماری ها از جمله بیماری قلبی عروقی، سرطان، دیابت مفید هستند. از سویی تا کنون پژوهشی در زمینه افزودن عصاره پوست انار در ماست انجام نشده است. لذا هدف از این پژوهش، استخراج عصاره فنول و آنتوسیانین از پودر پوست انار و انتخاب غلظت بهینه عصاره پوست انار، جهت تولید ماست حاوی رنگ خوراکی طبیعی با خواص آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی در طول دوره نگهداری ماست می باشد. تهیه ماست غنی شده با عصاره پوست انار، مزایای متعددی دارد. این محصول حاوی مقادیر قابل توجهی از آنتوسیانین و ترکیبات فنولی است که به واسطه خواص آنتی اکسیدانی قوی، در کاهش استرس اکسیداتیو موثر بوده و نقش مهمی در پیشگیری از بیماری های مزمنی همچون بیماری های قلبی و عروقی، سرطان و دیابت ایفا می کند. همچنین، افزودن رنگ ها و طعم دهنده های طبیعی به این ماست، علاوه بر ارتقای ویژگی های حسی محصول، به حفظ سلامت مصرف کننده کمک کرده و باعث افزایش تنوع و جذابیت حسی ماست می گردد. از دیگر مزایای آن استفاده از ضایعات مواد غذایی می باشد. در این پژوهش خواص فیزیکی شیمیایی، خواص آنتی اکسیدانی، و نیز فعالیت ضد میکروبی ماست از زمان تولید تا مدت زمان نگهداری (۸ روز) ارزیابی شد (بعد رویت میکرو ارگانیسم در نمونه ماست حاوی عصاره دوره نگهداری متوقف شد).

مواد و روش ها

استاندارد سوش های باکتری های *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeruginosa* از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم های صنعتی ایران تهیه شدند. در این پژوهش پوست انار رقم ساوه پوست قرمز از باغات شهرستان کردکوی (ایران) خریداری شد. استارتر هانسن (استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس) از کشور دانمارک و شیر خشک اسکیم پاک (لاکتوز ۵۵ درصد، پروتئین ۳۴ درصد، رطوبت ۴ درصد، چربی ۰/۵ درصد،

میلی لیتر محلول معرف فولین فنول و ۲ میلی لیتر محلول سدیم کربنات به عصاره با غلظت ۱۰۰۰ppm افزوده شد. ترکیب نهایی حاوی عصاره به مدت ۳۰ دقیقه با دمای $^{\circ}\text{C} 25$ گرمخانه گذاری شد. جذب توسط اسپکتروفتومتر (nm $760 = \lambda$) اعلام گردید. نتایج نهایی بر حسب میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره از معادله زیر محاسبه شد (سینگ و همکاران، ۲۰۲۲)

$$Y = 0.0085X + 0.0418 \quad R^2 = 0.990$$

$Y = \text{جذب}$ ، $X = \text{غلظت نمونه}$ ، $R = \text{ضریب همبستگی}$

آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن-اسید لینولئیک

فعالیت بی رنگ کردن بتاکاروتن عصاره با استفاده از سیستم بتاکاروتن-اسیدلینولئیک مورد ارزیابی قرار گرفت. برای انجام این آزمایش ابتدا ۰/۵ میلی گرم بتاکاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل شد. سپس ۲۵ میکرولیتر اسید لینولئیک و ۲۰۰ میکرولیتر توئین ۴۰ به آن اضافه شد و کاملاً مخلوط شد سپس با روش تبخیر در خلا، کلروفرم تبخیر شد و ۵۰ میلی لیتر پراکسید هیدروژن به آن اضافه شد و محلول برای اختلاط بیشتر تکان داده شد. سپس ۱۶۰ میکرولیتر از محلول فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۴۰ میکرولیتر عصاره با غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ ppm) به لوله آزمایش اضافه گردید. نمونه‌ها در یک حمام آب ($^{\circ}\text{C} 120$ دقیقه در $^{\circ}\text{C} 50$ درجه سانتیگراد) قرار گرفت. در نهایت جذب نمونه‌ها در ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در زمان صفر قرائت شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بر طبق معادله زیر محاسبه شد (رضوی و کناری، ۲۰۲۱).

$$\text{درصد بازدارندگی} = \frac{Ac - Ad}{Ac} \times 100$$

آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و آزمون

حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

سنجش با استفاده از باکتری گرم منفی سودوموناس آئروزیینوزا ATCC ۲۷۸۵۳ و باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۳۳۵۹۱ انجام شد. برای ارزیابی حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت باکتری کشی، ۰/۵ مک فارلند (10^8 CFU/ml) از سوسپانسیون‌های دو باکتری ذکر شده در

لوله‌های استریل حاوی آب پیتون تهیه شد و با محیط محلول استوک اولیه براث مولر-هیئتون در غلظت ۲۰ میلی گرم در لیتر مخلوط شدند. رقت‌های مختلف عصاره پوست به دست آمده (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ ppm) به لوله‌ها اضافه شد. همه لوله‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای $^{\circ}\text{C} 37$ درجه سانتیگراد انکوبه شدند و پس از آن، هر نمونه مجدداً در آگار مولر-هیئتون کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای $^{\circ}\text{C} 37$ درجه سانتیگراد انکوبه شد. در نهایت رشد یا عدم رشد باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف برای عصاره پوست انار مشاهده شد و MIC و MBC تعیین شد (کناری و رضوی، ۲۰۲۲).

انتخاب غلظت بهینه عصاره پودر پوست انار

ابتدا آزمون آنتی اکسیدانی بی رنگ شدن بتاکاروتن-اسید لینولئیک همچنین آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری و حداقل غلظت باکتری کشی بر روی عصاره پوست انار انجام شد. سپس غلظت بهینه انتخاب شد. غلظتی که بالاترین خاصیت آنتی اکسیدانی و همچنین خاصیت مهارکنندگی و کشندگی علیه باکتری‌ها داشت به عنوان غلظت بهینه انتخاب شد.

تهیه ماست حاوی عصاره آنتوسیانین و فنول

ابتدا شیرخشک اسکیم با آب مقطر جهت تهیه شیر (با ماده خشک ۱۰ درصد) مخلوط شد. در یخچال به مدت ۱ ساعت به منظور هیدراتاسیون نگهداری شد. سپس به مدت ۵ دقیقه در دمای $^{\circ}\text{C} 90$ پاستوریزه شد. پس از کاهش دما تا $^{\circ}\text{C} 43$ عصاره (غلظت ۶۰۰ ppm) به شیر اضافه شد. سپس استارتر ماست (۳٪) به شیر حاوی عصاره (دمای $^{\circ}\text{C} 43$) اضافه شد. سپس در انکوباتور به مدت ۳ الی ۵ ساعت در دمای $^{\circ}\text{C} 43$ جهت تشکیل شبکه ژلی ماست (با $p = 4.6$) قرار داده شد. ماست تشکیل شده ($p = 4/5$) در دمای یخچال نگهداری شد (گلمکانی و همکاران، ۲۰۲۱).

آزمون‌های ماست

سنجش pH

pH ماست حاوی عصاره با pH متر (SARTORIUS) کشور آلمان) اندازه‌گیری شد (کاراسلان و همکاران، ۲۰۱۱).

آزمون اسیدیته

اسیدیته کل قابل تیتراسیون بر اساس روش گلمکانی و همکاران (۲۰۲۱) اندازه گیری شد.

آزمون میزان آب اندازی

آب اندازی با روشی که توسط وانگ و همکاران (۲۰۲۰) ارائه شده است، تجزیه و تحلیل شد. ۴۰ گرم از هر نمونه در یک لوله قرار داده شد و به مدت ۳ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی گراد با دور ۴۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. مایع رویی شفاف جدا شد، وزن شد و در نهایت به عنوان وزن (٪) نسبت به وزن اولیه ماست بیان شد (وانگ و همکاران، ۲۰۲۰). در این آزمون ماست حاوی عصاره به مدت ۸ روز در دمای یخچال نگهداری شد.

آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن- اسید لینولئیک

فعالیت بی رنگ شدن بتاکاروتن- اسید لینولئیک نمونه ماست حاوی عصاره آنتوسیانین به روش رضوی و کناری (۲۰۲۱) تعیین شد. برای انجام این آزمایش ۰/۵ میلی گرم بتاکاروتن در ۱ میلی لیتر کلروفرم حل شد. سپس ۲۵ میکرولیتر اسید لینولئیک و ۲۰۰ میکرولیتر توئین ۴۰ به محلول اضافه شد و به طور کامل مخلوط شد. سپس، تبخیر کلروفرم انجام شد و پراکسید هیدروژن (۵۰ میلی لیتر) به آن اضافه شد. محلول تهیه شده برای اختلاط بیشتر تکان داده شد. سپس ۱۶۰ میکرولیتر محلول فوق به لوله آزمایش منتقل شد. ۴۰ میکرولیتر ماست حاوی عصاره با غلظت ۶۰۰ ppm به آن اضافه گردید. نمونه‌ها مورد بررسی در یک حمام آب (۱۲۰ دقیقه - ۵۰ درجه سانتیگراد) قرار داده شد. جذب نمونه‌های آماده شده توسط اسپکتروفتومتر ($\lambda = 470\text{ nm}$) قرائت شد. ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه ماست حاوی عصاره به صورت درصد بازدارندگی طبق معادله زیر بدست آمد (رضوی و کناری، ۲۰۲۱).

$$\text{Inhibition \%} = \frac{Ac - Ad}{Ac} \times 100$$

آزمون میکروبی

محیط‌های کشت مربوط به باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سودوموناس آئروزیینوزا* طبق دستور العمل شرکت سازنده محیط کشت آماده شد. رقیق سازی (10^{-6}) ماست حاوی

عصاره انجام شد. محیط کشت MSA و PAB به ترتیب برای *استافیلوکوکوس* و *سودوموناس* در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد (موتاوون و نون، ۲۰۱۶). تعداد کلنی‌ها در واحدهای تشکیل دهنده کلنی $\log_{10}$ (CFU/mL) بیان شد (ویجیسکارا و همکاران، ۲۰۲۲). در این آزمون ماست حاوی عصاره به مدت ۸ روز در دمای یخچال نگهداری شد و در روز اول، چهارم و هشتم ماست نمونه برداری صورت گرفت و کشت *استافیلوکوکوس اورئوس* *سودوموناس آئروزیینوزا* آن انجام شد. در تمامی آزمون‌های مربوط به ماست نمونه به مدت ۸ روز در دمای یخچال نگهداری شد و در روز اول، چهارم و هشتم نمونه برداری جهت انجام آزمایش مربوطه صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه روش‌های آماری در این پژوهش با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۶ به روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه تحلیل شد و برای نشان دادن حداقل تفاوت معنی داری در سطح اطمینان بالاتر از ۹۵ درصد ($P \text{ Value} \leq 0/05$) از آزمون دانکن استفاده شد. نتایج در قالب میانگین با انحراف استاندارد نشان داده شد. همه آزمایشات ۳ مرتبه انجام شد. نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ برای رسم نمودار به کار گرفته شد.

نتایج و بحث

بازده استخراج

نتایج این پژوهش نشان داد که بازده استخراج عصاره پوست انار $23/80 \pm 0/30$ ٪ شد و در پژوهشی توسط زاهد و همکاران (۲۰۲۱) بازده استخراج پوست انار با اتانول اسیدی شده $25/73$ و مخلوط آب / اتانول اسیدی شده $76/35$ ٪ بود که نشان دهنده تاثیر نوع حلال بر روی بازده استخراج است که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد (زاهد و همکاران، ۲۰۲۱)، در پژوهشی دیگر توسط کناس و چییان (۲۰۱۹) که درباره اثر نوع حلال بر روی استخراج ترکیبات فنول پوست انار انجام شد و از حلال-هایی مانند اتانول، استون، آب، متانول استفاده شد. نتایج نشان

پژوهش رضوی و کناری (۲۰۲۱) همخوانی دارد. در مطالعه دیگر توسط جعفری و همکاران (۲۰۲۲) نتایج نشان داد که

TPC (mgGAE/100 g E)	TAC (mgC3G/100g E)
1973/02±10/03 ^a	59/57±1/21 ^b

عصاره با غلظت بالا قابل رقابت (از نظر قدرت و فعالیت آنتی اکسیدانی) با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ می‌باشد که با نتایج این پژوهش نیز مطابقت دارد.

Table 1: Total phenol content and total anthocyanin content of pomegranate peel anthocyanin extract

Values are presented as mean±SD, n=3. Different letters in the row indicate significant differences (P<0.05). TAC: Total anthocyanin content, TPC: Total phenol content, GAE: Gallic acid equivalent, C3G: Cyanidin-3 glucoside, E: Extract.

آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و آزمون حداقل غلظت باکتری کشی (MBC)

در این پژوهش فعالیت ضد میکروبی عصاره‌ی پوست انار بر باکتری‌های پاتوژن و عامل فساد مواد غذایی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به صورت MIC و MBC در جدول ۳ نشان داده شد. عصاره‌ی پوست انار در غلظت‌های مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ ppm) برای دو باکتری (سودوموناس آئروزیینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس) مورد بررسی اثرات بازدارندگی و کشندگی داشت، که پاسخی یکسان برای دو باکتری داشت. عوامل ضد میکروبی با فعالیت کم در برابر یک ارگانیزم دارای MIC و MBC بالا هستند در حالی که یک عامل ضد میکروبی بسیار فعال MIC و MBC پایینی می‌دهد (بانسو، ۲۰۰۹) که نشان دهنده خاصیت آنتی میکروبی بالا عصاره پوست انار است.

انتخاب غلظت بهینه عصاره پودر پوست انار بر اساس نتایج بدست آمده از آزمون‌های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی غلظت بهینه جهت استفاده در فرمولاسیون ماست استفاده شد.

داد که انتخاب حلال به طور معنی داری عملکرد استخراج را تحت تأثیر قرار داد. همچنین نتایج نشان داد که متانول بازده استخراج بالاتری نسبت به دیگر حلال‌ها داشت. از سویی متانول ایمن نیست در نتیجه حلال اتانول گزینه مناسب تری است (کناس و چیبان، ۲۰۱۹). در پژوهشی دیگر توسط زاهد و همکاران (۲۰۲۴) بر روی پوست انار بیان کردند که استفاده از اتانول باعث افزایش بازده عصاره انتوسیانین از پوست انار به روش سیال فوق بحرانی شد.

محتوی آنتوسیانین کل و فنول کل

نتایج این آزمون در جدول ۱ نشان داده شد که ترکیبات فنولی (۱۹۷۳/۰۲ میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره) پوست انار بیشتر از محتوای آنتوسیانین عصاره (۵۹/۵۷ میلی گرم سیانیدین ۳- گلوکوزید در صد گرم عصاره) بود و در سطح ۹۵ درصد اختلاف معنی داری باهم داشتند. حلال اتانول عملکرد بالاتری در استخراج ترکیبات فنولی نسبت به آنتوسیانین دارد که به قطبیت و یونی بودن ترکیبات فنولی و آنتوسیانین مربوط می‌شود (زاهد و همکاران، ۲۰۲۳). محققان پژوهشی بر روی پوست انار میزان آنتوسیانین در عصاره را ۴۰/۲ میلی گرم سیانیدین ۳- گلوکوزید گزارش دادند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (آذرپژوه و همکاران، ۲۰۱۹). همچنین در پژوهشات دیگر نشان داده شد که عصاره استخراجی پوست انار با حلال اتانول میزان ترکیبات فنولی بیشتری را نسبت به مخلوط اتانول - آب و آب دارد (زاهد و همکاران، ۲۰۲۳).

آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن - اسید لینولئیک

نتایج در جدول ۲ نشان داده شده است. بالاترین درصد بی رنگ شدن بتاکاروتن - اسید لینولئیک عصاره پوست انار در غلظت‌های ۶۰۰ ppm (۸۳/۱۸) و ۸۰۰ ppm (۸۴/۱۶) بود که اختلاف معنی داری با هم و همچنین با آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ با غلظت ۱۰۰ ppm (۸۴/۵۰) نداشتند (p<0.05). نتایج نشان داد که عصاره پوست انار به دلیل داشتن مقدار بالایی از ترکیبات فنولی و آنتوسیانین از قدرت آنتی اکسیدانی بالایی برخوردار است. نتایج نشان داد با افزایش غلظت عصاره درصد بی رنگ شدن بتاکاروتن افزایش یافت که نتایج این بررسی با

Table 2: Bleaching of β -carotene: linoleic acid by pomegranate peel extract in different concentrations and synthetic antioxidant TBHQ (100 ppm).

Concentration	100 ppm	200 ppm	400 ppm	600 ppm	800 ppm	100 ppm TBHQ
Bleaching of β -carotene: linoleic acid	18.23±2.41 ^d	33.55±3.72 ^c	61.48±3.31 ^b	83.18±3.59 ^a	84.16±3.39 ^a	84.50±4.31 ^a

Values are presented as mean±SD, n=3. Different letters in the row indicate significant differences ($P<0.05$).

بود ($p<0.05$). حضور اسیدهای آلی در عصاره در طول نگهداری منجر به کاهش pH ماست شد (جوینده و عزیزاده بهبهانی، ۲۰۲۴). در یک مطالعه مشابه مطالعه حاضر، مقادیر pH اولیه ماست تازه تهیه شده حاوی عصاره پوست انار و کنترل در روز اول ۴/۶۴-۴/۴۸ بود. در آخرین روز ذخیره (۲۱) pH به ترتیب ۴/۱۵ و ۳/۴ بود (باختی و همکاران ۲۰۲۵). در مطالعه‌ای توسط علیرضالو و همکاران (۱۳۹۴) بر روی ماست رنگی فراسودمند غنی شده با عصاره‌های شاه توت و هویج، بیان کردند که در طول مدت نگهداری به مدت ۲۱ روز pH برای نمونه کنترل و هم نمونه‌های حاوی عصاره‌های شاه توت و هویج کاهش یافت (علیرضالو و همکاران، ۱۳۹۴). گلمکانی و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بر روی تاثیر غلظت‌های مختلف آب میوه انار در ماست‌های قالبی و هم زده بیان کردند که زمانی که آب میوه انار به ماست اضافه شد، بر روی pH ماست به صورت چشمگیر اثر گذار بود. از سویی افزودن آب میوه انار به ماست به دلیل آسیب ناشی از اسیدها، اثرات منفی بر تعداد کشت استارتر داشت (گلمکانی و همکاران، ۲۰۲۱) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. زیرا مدت زمان بیشتری ماست حاوی عصاره گرم خانه گذاری شد تا به pH استاندارد برسد.

آزمون اسیدیته

نتایج در جدول ۴ نشان داد که اسیدیته نمونه ماست حاوی عصاره در طول نگهداری افزایش یافتند. کمترین و بیشترین مقدار اسیدیته بر حسب درجه دورنیک به ترتیب مربوط به نمونه ماست حاوی عصاره در روز اول (۷۲/۱۱) و نمونه شاهد در روز ۸ (۱۳۲/۱۸) بود ($p<0.05$). در مطالعه‌ای توسط شولتیسیک و همکاران (۲۰۲۱)، ماست غنی شده با عصاره پلی فنولی خشک توت انگور و تهیه نشاسته مقاوم جدید را تجزیه و تحلیل کردند که نتایج حاکی بر آن بود که تغییرات اساسی

استفاده شد. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی برای آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن - اسیدلینولئیک ۶۰۰ ppm و ۸۰۰ ppm بود (جدول ۲) که با هم اختلاف معنی داری نداشتند ($p<0.05$). از سویی حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و آزمون حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) برای عصاره پوست انار برای دو باکتری استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا ۳۰۰ ppm و ۴۰۰ ppm بود. در نتیجه غلظت ۶۰۰ ppm عصاره به عنوان غلظت بهینه (کمترین غلظتی از عصاره که از نظر قدرت آنتی اکسیدانی قابل رقابت با آنتیاکسیدانی بود و حداقل غلظت مهارکنندگی باکتری (MIC) و آزمون حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) مناسبی دارد) جهت افزوده شدن در فرمولاسیون ماست قالبی انتخاب شد.

Table 3: Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of extract of pomegranate peel on twotypes of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* types of bacteria *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*

Bacteria	MIC	MBC
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	300	400
<i>Staphylococcus aureus</i>	300	400

سنجش pH

pH ماست حاوی عصاره با pH متر اندازه‌گیری شد. ماست حاوی عصاره و نمونه شاهد به مدت ۸ روز در دمای یخچال نگهداری شد. نتایج در جدول ۴ نشان داد که pH نمونه ماست حاوی عصاره پوست انار در طول نگهداری کاهش یافت. بالاترین و پایین ترین مقدار pH به ترتیب مربوط به نمونه ماست حاوی عصاره در روز اول و هشتم

در خواص فیزیکوشیمیایی آن‌ها (اسیدیته و پارامترهای رئولوژیکی) مشاهده نشد (شولتیسیک و همکاران، ۲۰۲۱). در مطالعه‌ای توسط علیرضالو و همکاران (۱۳۹۴) بر روی ماست رنگی فراسودمند غنی شده با عصاره‌های شاه توت و هویج، بیان کردند که در طول مدت نگهداری به مدت ۲۱ روز اسیدیته نمونه کنترل و هم نمونه‌های حاوی عصاره‌های شاه توت و هویج افزایش یافت (علیرضالو و همکاران ۱۳۹۴) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. احمد همکاران (۲۰۲۵) گزارش

دادند که اسیدیته ماست حاوی ۱.۵٪ پوست انار (۱۱۲) کمتر از ماست شاهد (۱۶۱) بود. با این حال، آنها افزایش قابل توجهی در اسیدیته در طول نگهداری گزارش کردند. به طوری که در روز بیست و یکم نگهداری، اسیدیته ماست حاوی پوست انار و شاهد را به ترتیب ۲۱۲ و ۱۹۲ گزارش کردند. مقدار بالای عصاره پوست انار در فرمولاسیون ماست منجر به اسیدی شدن ماست شد که نارضایتی مصرف کنندگان را در پی داشت.

Table 4: pH, acidity, and syneresis of control yogurt and yogurt containing pomegranate peel extract during storage (8 days)

Day	pH		Acidity		Syneresis (%)	
	Control	Yogurt with extract	Control	Yogurt with extract	Control	Yogurt with extract
1	4/11±0.04 ^b	4.53±0.02 ^a	105/39±1.65 ^a	72.11±0.34 ^b	28/95±0.63 ^b	41.12±0.72 ^a
4	3.92±0.04 ^b	4.39±0.02 ^a	116.72±0.28 ^a	80.51±0.90 ^b	36/49±1.03 ^b	44.55±0.80 ^a
8	3.94±0.04 ^b	4.35±0.01 ^a	132.18±0.28 ^a	91.31±0.82 ^b	38.35±1.03 ^b	47.18±1.05 ^a

Values are presented as mean±SD, n=3. Different letters in the row indicate significant differences (P<0.05).

آزمون میزان آب اندازی

نتایج (جدول ۴) نشان داد آب اندازی با گذشت زمان نگهداری نمونه ماست حاوی عصاره افزایش یافت. کمترین و بیشترین مقدار آب اندازی به ترتیب مربوط به نمونه شاهد در روز اول (۲۸٪/۹۵) و ماست حاوی عصاره در روز ۸ (۴۷٪/۱۸) بود (p<0.05). در مطالعه‌ای توسط علیرضالو و همکاران (۱۳۹۴) بر روی ماست رنگی فراسودمند (مدت نگهداری به مدت ۲۱ روز)، آب اندازی نمونه ماست شاهد، ماست حاوی عصاره شاه توت و ماست حاوی عصاره هویج افزایش یافت (علیرضالو و همکاران، ۱۳۹۴). گلمکانی و همکاران (۲۰۲۰) نیز در مطالعه‌ای بر روی تاثیر غلظت‌های مختلف میوه انار در ماست‌های قالبی و هم زده بیان کردند که ماست‌ها تحت اسیدی شدن قرار گرفتند که منجر به کاهش pH شد که در نهایت باعث افزایش آب اندازی ماست شد (گلمکانی و همکاران، ۲۰۲۰) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. جانی و همکاران (۲۰۲۴) میزان آب اندازی ماست کنترل و ماست مخلوط با عصاره پوست انار را به ترتیب ۶۸ و ۵۹ درصد گزارش کردند که بیشتر از آب اندازی ماست در این پژوهش است (جانی و

همکاران، ۲۰۲۴). عواملی مانند درصد ماده خشک (پروتئین)، سویه باکتری‌های آغازگر و اسیدیته ماست نقش کلیدی در کاهش سینریسیس دارند (زاهد و اسماعیل زاده کناری، ۲۰۲۵).

آزمون بی رنگ شدن بتاکاروتن: اسیدلینولیک

نمونه ماست حاوی عصاره خاصیت آنتی اکسیدانی بالایی در این آزمون از خود نشان داد که نشان دهنده‌ی خاصیت آنتی اکسیدانی ماست حاوی عصاره پوست انار است. همچنین نتایج نشان داد در طول نگهداری تا روز ۸م خاصیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته است (شکل ۱) (p<0.05). ترکیبات فنولی در محلول اسیدی فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری دارند (ال-سعید و همکاران، ۲۰۱۴) زیرا pH بر حالت یونیزاسیون ترکیبات فنلی زیست فعال تاثیر می‌گذارد (خارچوفی و همکاران، ۲۰۱۷). این امر افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی در طول نگهداری را توضیح می‌دهد. در بررسی انجام شده توسط سهنگیل و همکاران (۲۰۲۲) بر روی غنی سازی ماست غنی شده (۵-۲۰٪) با گل رز، افزودن گل رز به ماست باعث افزایش متناسبی در مقدار فنول کل شد. همچنین مشاهده کردند که فعالیت آنتی اکسیدانی ماست کمک کند و آن را

ام حاوی سودوموناس آئروژینوزا بود. عصاره موجود در ماست باعث مشاهده نشدن باکتری سودوموناس آئروژینوزا در روز اول و چهارم، استافیلوکوکوس اورئوس در اول، چهارم و هشتم شد ($p < 0.05$). نگهداری ماست در دمای یخچال باعث فعالیت بیشتر سودوموناس آئروژینوزا شد. زیرا باکتری سرمادوست می‌باشد. اما باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به سرما حساسیت دارد در نتیجه فعالیت نداشت. اما در نمونه ماست شاهد در روز ۸ام مشاهده شد. به همین دلیل تاثیر ماست حاوی عصاره بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشتر بود. تحقیقات نشان داده است باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی نسبت به این ترکیبات حساسیت بیشتری دارند. باکتری‌های گرم منفی دارای یک لایه پپتیدوگلیکان و یک غشای خارجی در دیواره سلولی خود می‌باشند (دوفای و همکاران ۲۰۰۱). سودوموناس گرم منفی است و استافیلوکوکوس اورئوس گرم مثبت است. در نتیجه باکتری سودوموناس نسبت به فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره پوست انار مقاوم‌تر باشد. پنافیل و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی استفاده از دو روش استخراج رنگ طبیعی (آنتوسیانین) از شاه‌توت و کاربرد آن در ماست را بررسی کردند نتایج نشان داد که در آن آنالیزهای میکروبیولوژیکی مانند کلی فرم، قارچ و مخمر نیز در مقدار مجاز قرار داشتند. در مطالعه‌ای توسط علیرضالو و همکاران (۱۳۹۴) بر روی ماست رنگی فراسودمند غنی شده با عصاره‌های شاه‌توت و هویج، بیان کردند که در طول مدت نگهداری به مدت ۲۱ روز، باکتری بیماری‌زای استافیلوکوکوس نتوانست رشد کند که علت آن را شرایط اسیدی و کنترل شرایط بهداشتی در فرایند تولید و نیز فعالیت ضد میکروبی عصاره‌های موجود در ماست عنوان کردند (علیرضالو و همکاران، ۱۳۹۴).

افزایش دهد (سهنگیل و همکاران، ۲۰۲۲) مطالعه‌ای توسط ساندیا و همکاران (۲۰۱۸) برای تهیه پودر پوست عصاره انار و ارزیابی اثر آن بر خواص عملکردی و پایداری کشک انجام شد. فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره پوست انار افزایش یافت. مدت ماندگاری کشک حاوی عصاره پوست انار در مقایسه با نمونه شاهد (در دمای ۵ درجه سانتی گراد) به مدت ۶ روز افزایش یافت (ساندیا و همکاران، ۲۰۱۸).

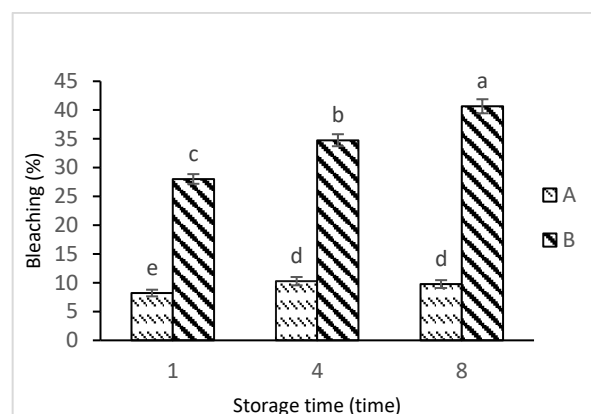


Fig 1: Bleaching of β -carotene: linoleic acid percentage in of control yogurt and yogurt containing pomegranate peel extract during storage (8 days). Different letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

آزمون میکروبی

فعالیت ضد میکروبی ماست حاوی عصاره پوست انار بر روی باکتری سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس اورئوس بررسی شد. طبق نتایج (جدول ۵) بدست آمده ماست حاوی عصاره پوست انار فعالیت ضد میکروبی بسیار بالایی دارد. زیرا نمونه ماست حاوی عصاره پوست انار باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در مدت نگهداری ۸ روز مشاهده نشد. اما در روز ۸

Table 5: Antimicrobial activity of of control yogurt and yogurt containing pomegranate peel extract during storage (8 days) on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* during storage (8 days)

Day	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	Control	Yogurt with extract	Control	Yogurt with extract
1	0.66±0.47 _a	0.0±0.00 _b	0.0±0.00 _a	0.0±0.00 _a
4	1.0±0.81 _a	0.0±0.00 _b	0.0±0.00 _a	0.0±0.00 _a
8	1.66±0.94 _a	0.33±0.47 _b	2.0±0.81 _a	0.0±0.00 _b

Values are presented as mean±SD, n=3. Different letters in the row indicate significant differences ($P < 0.05$).

نتیجه گیری

در این پژوهش پس از استخراج عصاره پوست انار، از آن در فرمولاسیون ماست قالبی استفاده شد و سپس ویژگی‌های مختلف ماست در مدت نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد حلال اتانول باعث استخراج خوب آنتوسیانین و ترکیبات فنولی از پوست انار شد. عصاره پوست انار خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی مناسبی را از خود نشان داد. عصاره پوست انار در ماست

در طول مدت نگهداری باعث افزایش اسیدیته، آب اندازی و کاهش pH ماست شد. همچنین باعث افزایش خواص آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی در ماست قالبی شد. به طوری که در پایان روز هشتم بر خلاف ماست شاهد باکتری/ستافیلوکوکوس/اورئوس مشاهده نگردید. با توجه به اینکه ضایعات گیاهی (مانند پوست انار) دارای خواص آنتی میکروبی و آنتی

اکسیدانی بالقوه‌ای هستند و میوه انار جزو میوه‌های بومی در کشورمان است، جایگزین مناسبی برای افزودنی‌های سنتزی شامل رنگدانه، آنتی اکسیدان، طعم دهنده، آنتی میکروبی در محصولات مختلف غذایی از جمله محصولات لبنی تخمیر شده پرمصرف مانند ماست باشد. زیرا علاوه بر افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی که در سلامتی مصرف کننده نقش مثبتی دارد، می‌تواند به عنوان یک ترکیب جهت تنوع محصول از نظر رنگ و طعم نیز در نظر گرفته شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله با حمایت مالی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری در قالب طرح پژوهشی کاربردی با کد ۰۲-۱۴۰۲-۰۲ طی سال ۱۴۰۲-۱۴۰۳ انجام شده است. به همین جهت از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تشکر به عمل می‌آید.

References

- Ahmed, E. O., and M. A. Abd Elhafez. 2025. Reinforcement of Yoghurt Characteristics with Different Pomegranate Peel Powder. *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 1-10.
- Alizadeh Behbahani, B. 2024. Evaluation of the physicochemical and color characteristics of functional set yogurt containing yellow, red and orange bell pepper extract. *Food Research Journal*, 34(2), 81-100
- Alirezalu K, Hesari J, Sadeghi M H and Bak-Mohammadpour, M. 2016. Production of functional colored yoghurts incorporating with blackberry and carrot extracts. *Innovative Food Technologies*, 3(2), 53-64
- Assous M T M, Abdel-Hady M M and Medany GM. 2014. Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(1), 1-7.
- Ayar A and Gurlin E. 2014. Production and sensory, textural, physicochemical properties of flavored spreadable yogurt. *Life Science Journal*, 11(4), pp.58-65.
- Azarpazhooh E, Sharayei P, Zomorodi S and Ramaswamy HS. 2019. Physicochemical and phytochemical characterization and storage stability of freeze-dried encapsulated pomegranate peel anthocyanin and in vitro evaluation of its antioxidant activity. *Food and Bioprocess Technology*, 12(2). 199-210.
- Bakhti, S., A. Bekada, M. Bouzouina, and D. Benabdelmoumene. 2025. Pomegranate Peel Extract Fortified Yogurt: Effect on Physicochemical, Microbiological and Sensory Quality of Functional Dairy Product. *Asian Journal of Dairy and Food Research*, volume 44 (1): 08-15.
- Banso A. 2009. Phytochemical and antibacterial investigation of bark extracts of *Acacia nilotica* J. *Med. Plants Res*, 3(2), pp.082-085.
- Castro J M, Tornadijo ME, Fresno, J M and Sandoval H. 2015. Biocheese: a food probiotic carrier. *BioMed research international*, 2015(1), p.723056.
- Duffy J E and Harvilicz A M. 2001. Species-specific impacts of grazing amphipods in an eelgrass-bed community. *Marine Ecology Progress Series*, 223, pp.201-211.
- El-Said, M. M., H. F. Haggag, H. M. F. El-Din, A. S. Gad and A. M. Farahat. 2014. Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Annals of Agricultural Sciences*, 59(2), 207-212.

- Gawai K M, Mudgal S P and Prajapati J B. 2017. Stabilizers, colorants, and exopolysaccharides in yogurt. In *Yogurt in health and disease prevention* (pp. 49-68). Academic Press.
- Golmakani M T, Eskandari M H, Kooshesh S and Pishan M, 2021. Investigation of the effects of pomegranate juice addition on physicochemical, microbiological, and functional properties of set and stirred yogurts. *Food Science & Nutrition*, 9(12), pp.6662-6671.
- Jafari S Z, Jafarian S, Hojjati M and Najafian L. 2022. Evaluation of antioxidant activity of nano-and microencapsulated rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) leaves extract in cress (*Lepidium sativum*) and basil (*Ocimum basilicum*) seed gums for enhancing oxidative stability of sunflower oil. *Food Science & Nutrition*, 10(6), pp.2111-2119.
- Jany, J. F., A. H. Nupur, S. I. Akash, P. Karmoker, M. A. R. Mazumder, and M. A. Alim. 2024. "Fortification of functional yogurt by the phytochemicals extracted from pomegranate peel." *Applied Food Research*, 4(2), 100479.
- Jooyandeh H and Alizadeh Behbahani B. 2024. Development of a probiotic low-fat set yogurt containing concentrated sweet pepper extract. *Food Science & Nutrition*, 12(7), 4656-4666.
- Jooyandeh, H. and Yadmellat, M. 2018. Antioxidant and antimicrobial effects of pomegranate peel extract on beef burger during chilled storage. *Food Research Journal*, 28(1), 135-144.
- Kırca A and Cemeroğlu B. 2003. Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food chemistry*, 81(4), pp.583-587.
- Kennas A and Amellal-Chibane H, 2019. Comparison of five solvents in the extraction of phenolic antioxidants from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 3(5), pp.140-147.
- Kaderides K, Goula A M and Adamopoulos K G. 2015. A process for turning pomegranate peels into a valuable food ingredient using ultrasound-assisted extraction and encapsulation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31, pp.204-215.
- Kenari R E and Razavi R. 2022. Encapsulation of bougainvillea (*Bougainvillea spectabilis*) flower extract in *Urtica dioica* L. seed gum: Characterization, antioxidant/antimicrobial properties, and in vitro digestion. *Food Science & Nutrition*, 10(10), 3436-3443.
- Karaaslan M, Ozden M, Vardin H and Turkoglu H. 2011. Phenolic fortification of yogurt using grape and callus extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 44(4), pp.1065-1072.
- Motawee M M and Neveen S M. 2016. Effect of starter culture as a source of microbial contamination on the quality and safety of yogurt in Giza, Egypt. *International Journal of Food Science and Nutrition Engineering* 6(5) 103-111.
- Ndife J, Idoko F and Garba R. 2014. Production and quality assessment of functional yoghurt enriched with coconut. *International Journal of Nutrition and Food Sciences*, 3(6), pp.545-550.
- Kharchoufi, S., M. A. A. Mahmoud, S. Loupassaki, and M. Hamdi. 2017. Quality mentoring of Greek yoghurt fortified with pomegranate juice and arils (*Punica granatum* L.) during storage. *Journal of New Sciences*, 44.
- O'Rell K and Chandan R C. 2013. Yogurt: fruit preparations and flavoring materials. *Manufacturing yogurt and fermented milks*, pp.193-215.
- Peñafiel C O M, Morejón I F B, Cruz M E, García A W, Espinoza S L R, Jaramillo M M, del Salto, L V, León, A T, Pacha I M, Gallo C G and Samano M A. 2018. Usage of two extraction methods for natural dyes (anthocyanin) from blackberries of castilla (*Rubus glaucus* Benth) and its application in yogurt. *Journal of Food and Nutrition Research*, 6(11), pp.699-705.
- Razavi R and Kenari R E. 2021. Antioxidant evaluation of *Fumaria parviflora* L. extract loaded nanocapsules obtained by green extraction methods in oxidative stability of sunflower oil. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(3), pp.2448-2457.
- Singh R P, Chidambara Murthy K N and Jayaprakasha GK. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(1), pp.81-86.

- Szołtysik M, Kucharska A Z, Dąbrowska A, Zięba T, Bobak Ł and Chrzanowska J. 2021. Effect of two combined functional additives on yoghurt properties. *Foods*, 10(6), p.1159.
- Sahingil D İ D E M and Hayaloglu A A. 2022. Enrichment of antioxidant activity, phenolic compounds, volatile composition and sensory properties of yogurt with rosehip (*Rosa canina* L.) fortification. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 28, p.100514.
- Sandhya S, Khamrui K, Prasad W and Kumar M C T. 2018. Preparation of pomegranate peel extract powder and evaluation of its effect on functional properties and shelf life of curd. *Lwt*, 92, pp.416-421.
- Sahat N S, Zaidel D N A, Muhamad II and Alam M N H Z, 2014. Stability study of water-in-oil emulsion containing anthocyanins from red cabbage. *Jurnal Teknologi*, 69(4).
- Wijesekara A, Weerasingha V, Jayarathna S and Priyashantha H, 2022. Quality parameters of natural phenolics and its impact on physicochemical, microbiological, and sensory quality attributes of probiotic stirred yogurt during the storage. *Food Chemistry: X*, 14, p.100332.
- Weerathilake W A D V, Rasika D M D, Ruwanmali, J K U and Munasinghe M A D D. 2014. The evolution, processing, varieties and health benefits of yogurt. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 4(4), pp.1-10.
- Zahed N and Esmaeilzadeh Kenari R. 2025 .Effects of Iranian Pomegranate Peel Anthocyanin Extract on Physicochemical, Microbial, Sensory, and Shelf Life Properties of Set Yogurt. *Food Science & Nutrition*, 13(6), e70440.
- Zahed N, Esmaeilzadeh Kenari R and Farahmandfar R. 2023. Effect of different extraction methods on antioxidant properties and encapsulation efficiency of anthocyanin of pomegranate peel. *Food Science & Nutrition*, 11(7), pp.3780-3787.
- Zahed N, Esmaeilzadeh Kenari R and Farahmandfar R. 2024. Evaluation of supercritical CO2 extraction on color stability and antioxidant activity of nanoencapsulated anthocyanin extract of pomegranate peel powder. *Iranian journal of food science and industry*, 21(153).
- Zahed N, Esmaeilzadeh Kenari R and Farahmandfar R. 2021. Evaluation of color efficiency and antioxidant power of anthocyanin extract of pomegranate peel powder obtained by solvent extraction. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(117), 197-206.