

## تولید آب هویج پروبیوتیک با استفاده از باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس

علی ایاسه<sup>۱\*</sup> حامد تابان<sup>۲</sup> و احمد یاری خسروشاهی<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۵/۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲۵

<sup>۱</sup> استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

<sup>۲</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد مهندسی کشاورزی علوم و صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان

<sup>۳</sup> استادیار گروه داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

\*مسئول مکاتبات: Email: ayaseh@Tabrizu.ac.ir

### چکیده

مواد غذایی پروبیوتیک دارای مزایای بسیاری برای سلامتی انسان هستند. از آن جایی که عمده مواد غذایی پروبیوتیک جزء محصولات لبنی بوده و این محصولات توسط افراد دارای حساسیت به پروتئین شیر یا مبتلا به عدم تحمل لاکتوز قابل مصرف نیستند، بنابراین نیاز به یک سری مواد غذایی جایگزین احساس می‌شود. در این پژوهش تولید آب هویج پروبیوتیک به عنوان یک محصول غذایی با ارزش با استفاده از سویه لاکتوکوکوس لاکتیس زیرگونه لاکتیس جداسازی شده از پنیر محلی بررسی گردید. جهت غیر فعال نمودن آنزیم‌ها بویژه آنزیم پراکسیداز و فلور میکروبی طبیعی موجود در آب هویج، پاستوریزاسیون ملایمی در دمای  $85^{\circ}\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه روی آب هویج اولیه قبل از تلقیح سویه انجام شد. غلظت سویه لاکتوکوکوس لاکتیس اولیه تلقیح شده  $10^9 \text{ cfu} / \text{ml}$  در آب هویج بود که زنده ماندی خود را تا آخر تخمیر حفظ کرد (۳۰ روز). سوش مورد آزمایش قادر به رشد در آب هویج خالص بدون افزودن مکمل و مواد مغذی بود و به علت متابولیسم شدید توانست pH آب هویج را تا زیر pH ۴ کاهش دهد. در طول تخمیر، محتوای قندی به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) کاهش یافت به طوری که پس از ۲۴ ساعت بیش از ۵۰٪ از قند آب هویج مصرف شد. تخریب کاروتنوئیدها در پایان آزمون کمتر از ۲٪ بود و در خصوص ترکیبات فنلی نتایج نشان داد که کاهش این ترکیبات بسیار ناچیز بود به گونه‌ای که بیش از ۸۰٪ محتوای فنلی آب هویج اولیه در محصول تولید شده در آب هویج حاوی لاکتوکوکوس لاکتیس (پس از ۳۰ روز) حفظ شد.

واژگان کلیدی: آب هویج، لاکتوکوکوس لاکتیس، پروبیوتیک

### مقدمه

بر آن تغذیه نامناسب نیز می‌تواند باعث تأثیرات منفی بر سیستم ایمنی بدن و مشکلات روده بزرگ گردد، یک راه امیدوار کننده برای پیشگیری و یا حذف این بیماری‌ها مصرف غذاهای حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک

استرس و زندگی پر مشغله انسان‌های امروزی ممکن است موجب القاء بیماری‌های به اصطلاح تمدنی مانند حمله قلبی، فشار خون بالا و انواع سرطان شود. علاوه

گلوتامات و والین نیاز دارند و می‌تواند از کربوهیدرات‌ها به عنوان منابع کربن استفاده کند (مولر ۲۰۰۹).

چون بسیاری از محصولات پروبیوتیک موجود بر پایه شیر هستند لذا افراد مبتلا به عدم تحمل لاکتوز و نیز کسانی که به پروتئین‌های شیر حساسیت دارند نمی‌توانند از این محصولات استفاده نمایند بنابراین تقاضا مصرف کنندگان برای محصولات پروبیوتیک غیر لبنی افزایش یافته است (لاکوف و همکاران ۲۰۰۴).

هویج سرشار از اجزای عملگری مانند ویتامین‌ها (A، B، C، E، K) و مواد معدنی (کلسیم، پتاسیم، فسفر، سدیم و آهن) بوده و گزارش شده که ۱۰۰ گرم هویج حاوی حدود ۶ تا ۱۵ میلی‌گرم کاروتنوئید است (هرمان ۲۰۱۰). بنابراین، افزایش مصرف هویج ممکن است منجر به سنتز گسترده ویتامین A شود. علاوه بر این، کاروتنوئیدها و سایر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در هویج می‌توانند نقش مهمی در کاهش یا توقف فرآیندهای اکسیداسیون و موازنه فعالیت رادیکال‌های آزاد بازی کنند (کریسنکی و همکاران ۲۰۰۵). هم چنین دارای اثر آلرژی‌زایی کم یا فاقد آن است. پس هویج و فرآورده‌های حاصل از آن می‌تواند توسط افرادی که از حساسیت به پروتئین شیر و عدم تحمل لاکتوز رنج می‌برند مصرف شوند (دمیر و همکاران ۲۰۰۶ و برکوئیست و همکاران ۲۰۰۵).

اثر جایگزینی ارگانسیم‌های طبیعی موجود در آب هویج با باکتری بیفیدوباکتر نشان داد که این باکتری توانایی فعالیت بیوشیمیایی در آب هویج را داشته و می‌تواند جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک مورد استفاده قرار گیرد (زیلارد کان و همکاران، ۲۰۰۸). استفاده از باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک جدا شده از شیر که در تخمیر آب میوه‌هایی مثل هندوانه، انگور و پرتقال استفاده شد منجر به تولید نوشیدنی پروبیوتیک با پایه غیر لبنی گردید (گاناپریا موهان و همکاران، ۲۰۱۲). هدف از این پژوهش، تولید آب هویج پروبیوتیک با

زنده می‌باشد (سارلا و همکاران ۲۰۰۲). این میکروارگانسیم‌ها دارای اثرات سودمندی مانند کاهش عدم تحمل به لاکتوز (جیانگ و همکاران ۱۹۹۶)، پیشگیری از عفونت‌های دستگاه گوارش و سرطان روده بزرگ (مرسینیر و همکاران ۲۰۰۲)، تقویت سیستم ایمنی بدن (شیفرین و همکاران ۱۹۹۵)، کاهش سطح کلسترول سرم (اس تی اوانگ و همکاران ۲۰۰۰)، تحریک جذب کلسیم، سنتز ویتامین‌ها (ویتامین B، اسید نیکوتینیک و اسید فولیک) و افزایش قابلیت هضم پروتئین می‌باشند (تامین و همکاران ۱۹۹۵). آنها هم چنین در برابر عوامل بیماری‌زای با منشأ غذایی اثر آنتاگونیستی اعمال می‌نمایند (گیبسون و همکاران ۱۹۹۴).

نتایج پژوهش‌های انجام شده نشان می‌دهد غذاهای پروبیوتیک به حفظ و یا بهبود تعادل میکروبی روده انسان کمک می‌نمایند (فولر ۱۹۸۹). اگر چه اکثر غذاهای پروبیوتیک شامل لاکتوباکتری‌ها و یا بیفیدوباکتری‌ها هستند، اما برخی از محصولات پروبیوتیک نیز حاوی گونه‌های *انتروکوکوس* و یا مخمرها مانند *ساکارومایسس بولاردی* می‌باشند (هولزافل و شلینگر ۲۰۰۲).

لاکتوکوکوس لاکتیس باکتری کروی شکل و گرم مثبت است که در گروه‌های جفت شده و زنجیر کوتاه یافت می‌شود. این باکتری غیر اسپورزا، غیر متحرک و مزوفیل بوده و معمولاً در سطوح گیاهی و حیوانی به صورت اسپور بوده و پس از مصرف، به شدت در دستگاه گوارش فعال می‌شود. از نظر فعالیت، بی‌هوازی اختیاری است و توسط تخمیر لاکتیکی، کربوهیدرات‌ها را به اسید لاکتیک تبدیل می‌کند، علاوه بر تولید فرآورده های لبنی در تولید محصولات از قبیل نوشیدنی‌ها، سرکه، سوسیس و... نیز به کار می‌رود.

لاکتوکوکوس لاکتیس دارای دو زیرگونه لاکتیس و کرموریس است. برای رشد به آرژنین، متیونین،

لاکتوکوکوس لاکتیس و مطالعه برخی ویژگی‌های آن به عنوان یک نوشیدنی تخمیری غیر لبنی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### مواد شیمیایی و محیط‌های کشت میکروبی

محیط کشت‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل MRS Broth و MRS Agar و مواد شیمیایی شامل متانول، اتانول مطلق، کربنات سدیم، سود و بتا کاروتن که همگی ساخت کارخانه مرک آلمان بودند. علاوه بر این معرف فولین سیو کالتیو استفاده شده ساخت کارخانه سیگما آلدوریچ بود.

### آماده سازی سوش میکروبی مورد استفاده

باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس که از پنیر محلی جداسازی شده بود (بابک حقیقت‌شناس و همکاران ۲۰۱۵) به عنوان میکروارگانیسم پروبیوتیک انتخاب شد. جهت آماده سازی ابتدا آن را روی محیط کشت MRS Agar کشت سطحی داده و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شد، سپس برای کلون‌گیری از نمونه کشت داده شده، پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS Agar تهیه گردید.

نمونه در پلیت آگاردار به صورت کشت چهار منطقه‌ای کشت داده شد و مجدداً به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شد، بعد از آن کلونی‌های رشد کرده به فالكون‌های حاوی Broth محیط کشت MRS منتقل گردید و در دمای ۳۷°C به مدت ۴۸ الی ۷۲ ساعت رشد داده شدند. سپس آنها به ارلن حاوی محیط کشت مایع گلوکز- پروتئین منتقل و برای کمک به رشد باکتری‌ها از شیکر و پمپ اکسیژن استفاده شد، نهایتاً باکتری‌های تکثیر یافته بوسیله سانتریفوژ (سیگما- ساخت آلمان- مدل 6-16k، روتور ۱۲۵۰۰) در دمای ۱۰°C به مدت ۱۰ دقیقه و با سرعت ۳۵۰۰ RPM /RCF ۲۲۶۰ جدا و توده‌های سلولی حاصل آماده تلقیح به آب هویج شدند.

### آماده سازی آب هویج

هویج‌ها از فروشگاه محلی خریداری و با آب شهری شسته شده پس از سر و ته زنی و پوست گیری قطعه قطعه شدند بعد از آبکشی مجدد، توسط آبمیوه‌گیر خانگی آب آنها استخراج گردید. آبمیوه بدست آمده با پارچه کتان ۴ لایه، جهت جداسازی مواد جامد معلق فیلتر شد. در نهایت جهت غیر فعال کردن آنزیم‌ها بویژه آنزیم پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و فلور میکروبی طبیعی آب هویج، پاستوریزاسیون ملایمی در ۸۵°C به مدت ۵ دقیقه روی آن انجام شد و تا دمای ۳۷°C سرد گردید تا عصاره حاصل آماده تلقیح با باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس گردید.

### تلقیح آب هویج پاستوریزه با سویه میکروبی

#### پروبیوتیک

باکتری جداسازی شده از پنیر محلی که در بالا عملیات آماده سازی آن توضیح داده شد به آب هویج پاستوریزه (در ۸۵°C) تلقیح گردید (تعداد باکتری ۵/۱ cfu/ml<sup>۱۰۹</sup> آب هویج بود). به منظور بررسی تاثیر تیمار اعمال شده روی خصوصیات فیزیکیوشیمیایی، محصول به ۱۵ ظرف سترون با شرایط کاملاً یکسان منتقل و پس از دربندی به گرمخانه با دمای ۳۷°C (دمای مناسب فعالیت سویه میکروبی) منتقل شد و در بازه‌های زمانی ۱، ۲، ۳، ۷ و ۳۰ روزه، ۳ نمونه از آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.

### آزمایش‌های انجام شده

#### آزمون pH

اندازه گیری pH طبق استاندارد ملی آب میوه‌ها به شماره ۲۶۸۵ انجام شد.

#### اندازه گیری مقدار کاروتنوئید کل

استخراج کاروتنوئیدها به روش السون و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. برای این منظور مقدار ۱ میلی‌لیتر آب هویج در یک فالكون مدرج ریخته و وزن آن یاد داشت شد سپس با محلول ۹ به ۱ هگزان - اتانول حجم آن به

اسید گالیک رسم و نتایج بر اساس میلی‌گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد.

#### اندازه‌گیری قندهای احیاء کننده

اندازه‌گیری قندهای احیاء کننده طبق استاندارد ملی آب میوه‌ها به شماره ۲۶۸۵ انجام شد. برای این منظور ۵ میلی‌لیتر آب هویج داخل بالن ژوژه با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده به بورت منتقل شد. سپس مقدار ۵ میلی‌لیتر فهلینگ A و ۵ میلی‌لیتر فهلینگ B را داخل ارلن مایر ریخته و در حضور معرف متیلن بلو در حال جوش تیترا شد. در پایان برای محاسبه درصد قندهای احیاء کننده از فرمول زیر استفاده شد. به جای V در فرمول حجم مصرفی بورت و به جای v حجم آب هویج اولیه قرار داده شد.

$$\% \text{ قند احیاء ( برحسب گلوکز) } = \frac{49.5 \times 100}{V \times v \times 10}$$

#### آنالیز آماری

تمام آزمایشات در ۳ تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار SPSS16.0 با تست تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های تکراری به روش گرین هاوس-جیسر صورت گرفت. معنی‌داری داده‌ها با آزمون LSD دو به دو مقایسه شدند، در این خصوص ارزش احتمال کمتر ( $P < 0.05$ ) نشان دهنده تغییر معنی‌دار پارامتر مورد نظر در بازه زمانی خاص است.

#### نتایج و بحث

##### تاثیر باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس روی pH

نتایج تغییرات خصوصیات آب هویج پروبیوتیک حاوی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس طی نگهداری در بازه‌های زمانی مختلف در دمای  $37^\circ\text{C}$  در جدول ۱ نشان داده شده است. لازم به ذکر است که سطر اول جدول یاد شده همان ویژگی‌های آب هویج معمولی (فاقد سویه پروبیوتیک) می‌باشد.

۲۵ میلی‌لیتر رسانده و به مدت ۳ دقیقه ورتکس گردید در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. فاز رویی را جدا کرده و حدود ۱ میلی‌لیتر از آن در داخل سل اسپکتروفتومتر ریخته و جذب آن در طول موج ۴۴۹ نانومتر خوانده شد. منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظت ۴-۰/۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با بتا کاروتن تولیدی شرکت سیگما رسم و نتایج بر اساس میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد.

#### اندازه‌گیری فنل کل

اندازه‌گیری مواد فنلی با استفاده از روش فولین سیو کالتیو صورت گرفت. (مدا و همکاران ۲۰۰۵) ابتدا مقدار ۵ میلی‌لیتر از محلول اتانول ۸۰٪ داخل فالکون ریخته شد، بعد از صفر کردن ترازو مقدار ۵ میلی‌لیتر از آب هویج به آن اضافه کرده و وزن آن یادداشت گردید پس از بستن درب فالکون به مدت ۲ دقیقه ورتکس شد، مخلوط حاصل ۲۰ دقیقه در  $4^\circ\text{C}$  با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ سپس فاز رویی با کاغذ صافی فیلتر شد. جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد، برای این منظور مقدار ۱۲۳۰۱ از فاز رویی آماده شده به یک فالکون منتقل و ۵ میلی‌لیتر محلول (۱ به ۱۰ حجمی/حجمی) معرف فولین سیو کالتیو تهیه شده با آب مقطر دیونیزه و ۴ میلی‌لیتر محلول ۷/۵ درصد  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  به آن اضافه شد حجم مخلوط حاصل با افزودن ۱۷۰۰۱  $\mu\text{l}$  آب مقطر دیونیزه به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد، سپس مخلوط حاصل به مدت ۱/۵ ساعت تا ظهور رنگ آبی در محیط کاملاً تاریک قرار گرفت. برای صفر کردن اسپکتروفتومتر از نمونه بلانک استفاده شد که به جای آب هویج آب دیونیزه استفاده شد و در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. منحنی کالیبراسیون در محدوده غلظت ۰/۳۲۲-۸/۰۶۴۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر با

جدول ۱- نتایج آنالیز واریانس تغییرات خصوصیات آب هویج پروبیوتیک حاوی باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس

زمان کشت	pH	قند احیاء (درصد)	کارتونئید کل (mg/100g)	فنل کل (mg/100g)
زمان صفر	۶/۶۳±/۰۳۰	۳/۶۰±/۰۱۲۵	۷/۵۱±/۰۰۷	۲۱/۰۹±/۰۴۳۹
روز ۱	۳/۶۲±/۰۰۴۵***	۱/۶۶±/۰۰۷۵**	۷/۴۷±/۰۰۷۷ <sup>ns</sup>	۲۰/۷۳±/۰۳۵۶ <sup>ns</sup>
روز ۲	۳/۴۵±/۰۰۶۰***	۱/۷۱±/۰۰۵۷*	۷/۴۲±/۰۰۸۱ <sup>ns</sup>	۱۹/۶۲±/۰۹۱۱ <sup>ns</sup>
روز ۳	۳/۵۱±/۰۰۱۵***	۱/۷۱±/۰۰۸۵**	۷/۳۹±/۰۰۱۸*	۱۹/۰۲±/۰۵۸۱*
روز ۷	۳/۴۵±/۰۰۴۰***	۱/۸۷±/۰۱۱۴**	۷/۳۵±/۰۱۱۱ <sup>ns</sup>	۱۹/۳۱±/۰۵۲۳*
روز ۳۰	۳/۴۷±/۰۰۳۲***	۱/۸۸±/۰۰۲۶**	۷/۳۲±/۰۰۳۰**	۱۷/۶۰±/۰۳۲۸***

ns, P<0.05\*, P<0.01\*\*, P<0.001\*\*\* غیر معنی دار

### تاثیر باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس روی مقادیر

#### قندهای احیاء کننده

نتایج حاصل از آزمون قندهای احیاء کننده در آب هویج پروبیوتیک در بازه‌های زمانی مختلف نشان داد که میزان قندهای احیاء کننده در طی ۲۴ ساعت اول به دلیل فعالیت زیاد باکتری‌ها با افت شدیدی مواجه شد ولی در بازه‌های زمانی ۴۸ و ۷۲ ساعت تغییر زیادی نداشت با این حال در زمان‌های تخمیر یک هفته و یک ماهه میزان این قندها افزایش جزئی نشان داد که احتمالاً دلیل آن عدم فعالیت یا فعالیت ناچیز باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل تولید متابولیت‌هایی با اثر ممانعت کننده و در مقابل آن شکسته شدن ساکارز در اثر شرایط اسیدی و پدیدهٔ اینورسیون به گلوکز و فروکتوز باشد.

و ننگ و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که رشد و فعالیت لاکتوباسیلوس پاراکازئی وابستگی زیادی به مصرف قندها دارد که این میزان برای گلوکز، فروکتوز و ساکارز به ترتیب ۴۵/۲، ۳۸ و ۲۱/۶٪ است. کیونگ و یونگ یون و همکاران (۲۰۰۶) طی دو مطالعه جداگانه در مورد تخمیر آب کلم و چغندر با استفاده از چند سویه از باکتری‌های اسید لاکتیک، فونلس (۲۰۱۲) در ارتباط با آب خربزه-طالبی پروبیوتیک، کان و همکاران (۲۰۰۸) در خصوص آب هویج پروبیوتیک و موسوی و همکاران (۲۰۱۱) در ارتباط با تخمیر آب انار توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتو باسیلوس

با توجه به جدول ۱ مشاهده می‌شود که از نظر pH تفاوت معنی‌داری ( $P<0.01$ ) بین زمان صفر (آب هویج قبل از تیمار) با سایر بازه‌های زمانی وجود دارد به گونه‌ای که در ۲۴ ساعت اول کاهش pH با سرعت زیادی اتفاق افتاد که این نتایج مطابق با نتایج بدست آمده توسط تانتی پایبولوت و همکاران (۲۰۰۸) در آب راسل تخمیر شده با باکتری‌های اسید لاکتیک (لاکتو باسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی) بود.

کیونگ یونگ یون و همکاران (۲۰۰۴) در مورد آب چغندر تخمیر شده با لاکتوباسیلوس‌ها (اسیدوفیلوس، کازئی، دلبروکی و پلانتاروم) گزارش کردند که لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانتاروم به دلیل این که توانایی بیشتری نسبت به لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس دلبروکی در تولید اسید دارند می‌توانند در طی ۴۸ ساعت pH محصول را از مقدار اولیه ۶/۳ به پایین تر از ۴/۵ برسانند.

فونتلس و همکاران (۲۰۱۲) در خصوص مخلوط آب خربزه-طالبی پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی گزارش کردند که بعد از ۱۲ ساعت تخمیر، pH محصول به دلیل تولید اسید لاکتیک شدیداً کاهش یافت و به حدود  $0.01 \pm 3/9$  رسید که مطابق با یافته‌های حاصل از این پژوهش بود.

پروبیوتیک ویژگی مطلوبی است که باعث ارتقاء فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب هویج پروبیوتیک می‌شود.

چاندرا کانت و همکاران (۲۰۱۱) در پژوهش خود روی آب چند گونه گلابی پروبیوتیک تولید شده گزارش کردند که در گروهی که تخمیر آنها در شرایط pH تنظیم شده صورت گرفته بود محتوای فنلی تمام نمونه‌ها کاهش یافت ولی این کاهش معنی‌دار نبود که مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر است و گروه دوم که تخمیر خود به خودی در شرایط pH اسیدی صورت گرفته بود در ۲۴ ساعت اول کاهش محتوای فنلی معنی‌دار بود ولی در ۴۸ ساعت کاهش معنی‌داری نشان نداد. آنها هم چنین کاهش مشابهی در محتوای فنل کل در تخمیر آب سیب و آب گیلاس مشاهده کردند.

علاوه بر این آمیت کومار و نیسرین (۲۰۱۳) گزارش کردند که محتوای فنل کل در آب کلم سفید پس از ۲۴ ساعت تخمیر با لاکتوباسیلوس پلاننتاروم و لاکتوباسیلوس برویس حدود ۱۵٪ کاهش یافت، آنها معتقدند که باکتری‌های اسید لاکتیک می‌توانند طیفی از آنزیم‌هایی نظیر  $\beta$  گالاکتوزیداز و اسید پیکوماریک دکربوکسیلاز تولید کنند که ممکن است به تخریب ترکیبات فنلی کمک نمایند.

### نتیجه گیری

در این مطالعه با توجه به نتایج آزمون‌های انجام شده مشاهده گردید که باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس جدا شده از پنیر محلی قابلیت رشد و زنده مانی خوبی در آب هویج، بدون نیاز به هیچ گونه مواد افزودنی مکمل را دارد. علاوه بر آن اثرات مثبت قابل توجهی نیز بر پایداری آب هویج گذاشت به گونه‌ای که در پایان مطالعه رنگ آب هویج کاملاً به حالت طبیعی باقی ماند و اجزاء عملگری مثل کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی نیز کاهش معنی‌داری نشان ندادند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کشت لاکتوکوکوس لاکتیس در آب هویج علاوه بر داشتن فواید تعریف شده محصولات

پلاننتاروم، لاکتوباسیلوس دلبروکی و لاکتوباسیلوس پاراکازئی نشان دادند که باکتری‌ها قادر به متابولیزه کردن قندهایی مثل گلوکز و فروکتوز هستند با این که وابستگی آنها به مصرف قندها یکسان نیست.

**تاثیر باکتری لاکتوکوکوس روی مقادیر کاروتنوئید کل**  
هر چند نتایج حاصل از آزمون تغییرات کاروتنوئیدی در آب هویج پروبیوتیک حاوی لاکتوکوکوس لاکتیس نشانگر یک کاهش جزئی در میزان کاروتنوئید در بازه‌های زمانی مختلف است ولی این کاهش بسیار اندک بوده و تا حدودی این کاهش اندک یک ویژگی مطلوب نیز تلقی می‌شود.

زیلارد کان و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند هنگامی که سویه‌های بیفیدو باکتریوم لاکتیس و بیفیدو باکتریوم بیفیدوم در آب هویج کشت داده شدند یک کاهش ۴۵ درصدی در محتوای کاروتنوئیدها ایجاد گردید که عکس نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر بود. هرمان (۲۰۰۱) و پاندا و همکاران (۲۰۰۷) طی مطالعاتی به این نتیجه رسیدند که ممکن است تخریب کاروتنوئیدها بدلیل سوخت و ساز سلولی باکتری‌ها باشد و از سوی دیگر می‌توان آن را تحت تاثیر شرایط حاکم بر تخمیر، مثل دما و pH دانست.

### تاثیر باکتری لاکتوکوکوس لاکتیس روی مقادیر ترکیبات فنلی

سهم اصلی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مواد غذایی گیاهی مرتبط با محتوای پلی‌فنلی آنها است (آمیت کومار و نیسرین ۲۰۱۳). آب هویج غنی از این ترکیبات است که ماندگاری زیادی هم ندارند بنابراین بررسی محتوای فنلی آب هویج پروبیوتیک اهمیت دوچندان دارد، چنانچه در جدول ۱ مشاهده می‌شود در آب هویج حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوکوکوس لاکتیس کاهش میزان فنل کل در بازه‌های زمانی مختلف معنی‌دار نبود و بیش از ۸۰٪ محتوای فنلی آب هویج اولیه در محصول نهایی حفظ شد، بقاء ترکیبات فنلی در آب هویج

پروبیوتیک، می‌تواند روشی برای نگهداری آن بدون استفاده از هیچ گونه ماده نگهدارنده باشد.

#### منابع مورد استفاده

- Ankolekar Ch, Pinto M, Greene D and Shetty K, 2012. In vitro bioassay based screening of anti hyperglycemia and anti hypertensive activities of *Lactobacillus acidophilus* fermented pear juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 13:221–230.
- Apostolidis E, Kwon YI, Ghaedian R and Shetty K, 2007. Fermentation of milk and soymilk by *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* enhances functionality for potential dietary management of hyperglycemia and hypertension. *Food Biotechnology* 21: 217–236.
- Ashley Muehler. [http://web.mst.edu/~microbio/BIO221\\_2009/L\\_lactis.html](http://web.mst.edu/~microbio/BIO221_2009/L_lactis.html).
- Bergqvist SW, Sandberg AS, Carlsson NG and Lid T, 2005. Improved iron solubility in carrot juice fermented by homo- and hetero-fermentative lactic acid bacteria. *Food Microbiology* 22:53–61.
- Demir N, Bahceci KS and Acar J, 2006. The effects of different initial *Lactobacillus plantarum* concentrations on some properties of fermented carrot juice. *Journal of Food Processing and Preservation* 30:352–63.
- Fuller R, 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology* 66:365–8.
- Gaanappriya M, Guhankumar P, Kiruththica V, Santhiya N and Anita S, 2013. Probiotication of fruit juice by *Lactobacillus acidophilus*. *International Journal of Advanced Biotechnology and Research* Vol 4, Issue 1, pp 935-940.
- Gibson GR and Wang X, 1994. Regulatory effect of Bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. *Journal of Applied Bacteriology* 77:412–20.
- Haghshenas B, Nami Y, Abdullah N and Yari Khosroshahi A, 2015. Anticancer impacts of potentially probiotic acetic acid bacteria isolated from traditional dairy microbiota. *LWT - Food Science and Technology*, 60: 690–697.
- Herrmann K, 2001. *Inhaltstoffe von Obst und Gemüse*. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co: 95–98.
- Holzappel WH and Schillinger U, 2002. Introduction to pre & probiotics. *Food Research International* 35:109–16.
- Hou JW, Yu RC and Chou CC, 2000. Changes in some components of soymilk during fermentation with bifidobacteria. *Food Research International* 33: 393–397.
- Jahandideh F, Mousavi M and Razavi H, 2012. Utilization of *Echium amoenum* Extract as a Growth Medium for the Production of Organic Acids by Selected Lactic Acid Bacteria. *Food and Bioprocess Technology* 5:2275-2279.
- Jaiswal AK and Abu-Ghannam N, 2013. Kinetic studies for the preparation of probiotic cabbage juice: Impact on phytochemicals and bioactivity 50:212–218.
- Jiang T, Mustapha A and Savaiano DA, 1996. Improvement of lactose digestion in humans by ingestion of unfermented milk containing *Bifidobacterium longum*. *Journal of Dairy Science* 79:750–7.
- Krinsky NI and Johnson EJ, 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine* 26:459–516.
- Kun S, Rezessy-Szabo J, Nguyen Q and Hoschke A, 2008. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected *Bifidobacterium* strains. *Process Biochemistry*. 43: 816-821.
- Kwon DY, Jang JS, Lee JE, Kim YS, Shin D.W and Park S, 2006. The isoflavonoid aglycone-rich fractions of chungkookjang, fermented unsalted soybeans, enhance insulin signaling and peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  activity in vitro. *Biofactors* 26:245-258.
- Luckow T and Delahunty C, 2004. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference* 15:751–9.
- Mercenier A, Pavan S and Pot B, 2002. Probiotics as biotherapeutic agents: present knowledge and future prospects. *Current Pharmaceutical Design* 8:99–110.
- Mousavi, ZE, Mousavi SM, Razavi SH and Kiani H, 2011. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 27: 123–128.
- Olsson ME, Andersson S, Werlemark, G, Ugglå M and Gustavsson KE, 2005. Carotenoids and Phenolics in Rose Hips. *Acta Horticulture* 690: 249-252.

- Panda SH and Ray RC, 2007. Lactic acid fermentation of b-carotene rich sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) into lacto-juice. *Plant Foods for Human Nutrition* 62:65–70.
- Saarela M, Lähteenmäki L, Crittenden R, Salminen S and Mattila-Sandholm T, 2002. Gut bacteria and health foods—the European perspective. *International Journal of Food Microbiology* 78:99–117.
- Schiffrin EJ, Rochat F, Link-Amster H, Aeschlimann JM and Donnet-Hughes A, 1995. Immuno modulation of human blood cells following the ingestion of lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* 78:491–7.
- Shah NP, 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology* 55:46–53.
- St-Onge MP, Farnworth ER and Jones PJH, 2000. Consumption of fermented and non-fermented dairy products: effects on cholesterol concentrations and metabolism. *The American Journal of Clinical Nutrition* 71:674–81.
- Tamine A.Y, Marshall V.M and Robinson R.K, 1995. Microbiological and technological aspects of milks fermented by bifidobacteria. *Journal of Dairy Science* 62:151–87.
- Tantipaibulvut S, Soontornsophan C and Luangviphusavanich S, 2008. Fermentation of roselle juice by lactic acid bacteria. *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 1: 213-222.
- Towo E, Matuschek E and Svanberg U, 2006. Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. *Journal of Food Chemistry* 94: 369–376.
- Vidal Fonteles T, Maia Costa M, Jesus A and Rodrigues S, 2012. Optimization of the Fermentation of Cantaloupe Juice by *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Food and Bioprocess Technology* 5:2819-2826.
- Wang J, Guo Z, Zhang Q, Yan L, Chen W, Liu X-M and Zhang H-P, 2009. Fermentation characteristics and transit tolerance of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang in soymilk and bovine milk during storage. *American Dairy Science Association* 92: 2468–2476.
- Young Yoon K, Woodams E and Hang Y, 2005. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie* 38:73-75.



## Production of probiotic carrot juice with using of *Lactococcus lactis*

A Ayaseh<sup>1\*</sup>, H Taban<sup>2</sup> and A Yari Khosroshahi<sup>3</sup>

Received: October 31, 2016

Accepted: October 17, 2017

<sup>1</sup>Assistant Professor, Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

<sup>2</sup>MSc Student, Department of Food Sciences and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran

<sup>3</sup>Assistant Professor, Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

\*Corresponding author e-mail: ayaseh@Tabrizu.ac.ir

### Abstract

Probiotics have several advantages for human health. Since most of the probiotic foods are dairy products, they cannot be consumed by humans who are allergic to milk proteins or have severe lactose intolerance. While looking for alternative food matrices, the suitability of carrot juice as a raw material for the production of probiotic food with *Lactococcus* strain (*L. lactis*) isolated from local cheese was investigated. Pasteurization of freshly prepared carrot juice at 85°C for 5 min decreased the microbial population and enzymes are disabled (In particular peroxidase). The initial *Lactococcus* strain concentrations was 10<sup>9</sup> cfu/5ml of carrot juice, and were kept viable up to the end of fermentation (30 days). Tested *Lactococcus lactis* strain were capable of growing well on pure carrot juice without nutrient supplementation. Due to intense metabolism of the bacteria strain, carrot juice media were acidified to a pH level of less than 4. During fermentation, the amounts of sugars decreased significantly so that about 50% of which was taken after 24 hours. Degradation of carotenoids was less than 2%. In the case of phenolic compounds the reduction was minimal so that more than 80% of the total phenolic content of Carrot juices was retained in the final product.

**Key words:** Carrot juice, *Lactococcus lactis*, Probiotic