(مقاله پژوهشی)

تولید و بررسی برخی از ویژگی های فیزیکی، شیمیایی و حسی آب هویج سین‌بیوتیک تخمیری با *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و بررسی میزان ماندگاری آن‌ها

میرهاشم سید احمدی ممقانی[۱]، آیناز علیزاده[۲*]،سیده هما فصیح نیا[۳]

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران.

۲-استادیار،گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاداسلامی، تبریز، ایران.

۳-دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۱/۲۰

چکیده

طی سال‌های اخیر روند تحقیق در زمینه خصوصیات و تأیید فواید بالقوه استفاده از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک در محصولات لبنی و انواع نوشیدنی‌ها افزایش قابل توجهی داشته است. ترکیب حاصل از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌ها را که اثر هم‌افزایی خواهند داشت، ترکیب سین‌بیوتیکمی‌نامند. در همین راستا، با هدف تولید آب هویج سین‌بیوتیک، نمونه‌های آب هویج حاوی ۲٪ اینولین به عنوان ماده پری‌بیوتیک، در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه پاستوریزه و با افزودن دو باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به‌صورت تکی و ترکیبی، طی گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۰ درجه سلسیوس، تخمیر شدند. آزمایش‌های شمارش باکتری‌های پروبیوتیک، pH، اسیدیته، بریکس، ویسکوزیته در دوره ۴۵ روزه و ارزیابی حسی تنها در روز هفتم انجام گردید. نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار نوع باکتری و زمان بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک، pH، اسیدیته و بریکس نمونه‌ها بود (P<۰/۰۵). به‌طوریکه نمونه‌های حاوی ترکیب دو نوع باکتری پروبیوتیک دارای تعداد باکتری بیشتری (۰/۳۸±۱۴/۴۹ لگاریتم تعداد کلونی در میلی‌لیتر) بودند و با گذشت زمان تعداد باکتری‌های پروبیوتیک شمارش شده کاهش یافت. در تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان، pH کاهش یافت که در نمونه‌های دارای لاکتوباسیلوس کازئی این کاهش، شدت بیشتری داشت ولی اسیدیته افزایش یافت (P<۰/۰۵) . البته بریکس نمونه‌ی ترکیب دو باکتری نسبت به انواع دیگر پایین تر بود ولی تأثیر نوع باکتری بر ویسکوزیته نمونه‌ها معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). با گذشت زمان بریکس و ویسکوزیته روند کاهشی نشان داد. تأثیر نوع باکتری و نحوه کاربرد آن ها بر خصوصیات حسی معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). به طور کلی، آب هویج سین‌بیوتیک حاوی ترکیبی از دو باکتری پروبیوتیک ذکر شده با حداکثر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک (≤۱۰۷) و با حفظ سایر ویژگی‌های شیمیایی، فیزیکی و حسی به‌عنوان یک محصول فراسودمند برای بهره‌گیری در رژیم‌های غذایی پیشنهاد شد.

واژه های کلیدی: آب هویج، اینولین، سین‌بیوتیک، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کاز.

*مسؤول مکاتبات: A.Alizadeh@iaut.ac.ir

۱- مقدمه

غذاهای فراسودمند، غذاهایی با منشأ طبیعی دارای ظاهری مشابه با غذاهای متداول هستند و در برنامه غذایی روزانه مصرف می‌شوند. شواهد علمی معتبر موجود، موید اثرهای مفید فیزیولوژیک آنها برای ارتقا سلامتی و یا کاهش خطر ابتلا به بیماری‌ها است و حامل غذایی[1]، ماده غذایی است که ماده موثر به آن افزوده می‌شود. ترکیبات فراسودمند اغلب شامل پری‌بیوتیک‌ها، پروبیوتیک‌ها، اسیدهای چرب چند غیر اشباع امگا ۳، لینولئیک اسید مزدوج، آنتی اکسیدان‌های گیاهی، ویتامین‌ها و مواد معدنی، برخی پروتیئن‌ها، پپتیدها و اسید آمینه‌ها می‌باشند (۳۳). در سال‌های اخیر افزایش قابل توجهی در تحقیق بر روی خصوصیات و تأیید فواید بالقوه استفاده از پروبیوتیک و پری‌بیوتیک وجود دارد (۲۳). حفظ میکروفلور طبیعی روده، تقویت سیستم ایمنی بدن، کاهش سطح کلسترول خون و خواص ضدجهش زایی و ضدسرطانی پروبیوتیک از جمله اثرات سلامتی بخشی این میکروارگانیسم‌ها می‌باشد (۱۱، ۲۵). *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* دو گونه از باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده در محصولات غذایی هستند. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* باکتری هتروفرمنتاتیو اختیاری است که قادر به تخمیر پلی‌ساکارید رافینوز نیز می‌باشد (۷ و۳۴). همچنین، تحمل بالایی نسبت به pH پایین دارد، بنابراین زنده‌مانی و قدرت فعالیت پروبیوتیکی این باکتری نسبت به سایر گونه‌های لاکتوباسیلوس بالاتر است که یک ویژگی مهم در طی فرآیند تخمیر می‌باشد (۲۱). از طرفی *لاکتوباسیلوس کازئی* یکی از انواع پرکاربرد پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های لبنی است و زنده‌مانی آن بیشتر از سایر گونه‌هاست. *لاکتوباسیلوس کازئی* ظرفیت بالایی در تولید اسید دارد (۲۰)، همچنین حضور ۵ درصد دی‌اکسیدکربن تأثیر بسزایی بر رشد آنها دارد (۲۰). خاصیت آنتی اکسیدانی (۱۷)، فعالیت بر ضد باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *سالمونلا تیفی‌موریوم*، مقاومت بالا به آنتی بیوتیک ونکومایسین و آمپی‌سیلین، رشد و فعالیت در تمام محیط‌های بر پایه قند (۴۰)، مقاومت بالا در فرآورده‌های شیری تخمیری نظیر ماست در طول نگهداری (۱۵) از مهم‌ترین ویژگی‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* می‌باشد. پری‌بیوتیک ماده انتخابی تخمیری است که اجازه می‌دهد تغییرات خاصی در ترکیب و یا فعالیت فلور دستگاه گوارش اتفاق افتد که مزایای سلامت میزبان را به همراه دارد (۲۶، ۳۲). الیگوساکاریدها به طور فزاینده توسط صنایع غذایی (نوشابه، شیرینی) برای اصلاح ویسکوزیته، ظرفیت امولسیون، تشکیل ژل، نقطه انجماد، و رنگ مواد غذایی استفاده می‌شوند (۳۲). اینولین پلی‌ساکاریدی خطی با پیوندهای بتا (۱-۲) فروکتوز و دارای یک مولکول گلوکز در انتهای زنجیر بوده که با یک پیوند آلفا (۱-۲) به آخرین فروکتوز متصل شده‌است (۳۱). اینولین کوتاه‌زنجیر (۲ تا ۷ واحد) در شرایط pH پایین و دمای بالا (۱۲۰ درجه سلسیوس) و به ویژه در ترکیب این دو عامل، پایداری کمتری دارد و ممکن است بخشی از آن تجزیه شود، در حالی که نوع بلند زنجیر (۲۲ تا ۲۵ واحد) آن در این شرایط مقاومت بیشتری دارد (۱۹). محصولات لبنی به عنوان مهمترین حامل برای باکتری‌های پروبیوتیک تعیین گردیده اند. محدودیت در مصرف این مواد مانند آلرژی‌زایی، محتوای لاکتوز و کلسترول بالا و نیاز به نگهداری در دمای پایین و همچنین افزایش مشتریان گیاه‌خوار در جوامع پیشرفته باعث شده است تا در مورد محصولات پروبیوتیک غیرلبنی نیز بررسی فراوانی انجام شود (۳۹). بنابراین تولید انواع فرآورده‌های پروبیوتیک غیرلبنی مانند آب‌میوه و سبزی، شربت، نوشیدنی‌های غیرلبنی، محصولات بر پایه غلات، محصولات بر پایه شکلات، گوشت و ... در دو دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته‌است (۳۷). هویج با نام علمی *Daucus carota L.* از خانواده *Umbelliferae* قدمتی بیش از ۲۰۰۰ سال دارد (۳، ۳۸) که به دلیل دارا بودن سطوح قابل ملاحظه‌ای از مواد شیمیایی مختلف گیاهی، مخصوصا فنل‌ها، پلی‌استیلن‌ها و ترکیبات کاروتنوئید و با

1 -Food Vehicle

ویژگی‌های سلامت‌بخش و ضد سرطانی، بعنوان یکی از سبزیجات مهم چند منظوره، کاربردهای زیادی در صنایع غذایی دارد (۲۹). آب هویج منبع مناسبی از ریز مغذی‌ها (پتاسیم، کلسیم، منیزیم، سدیم، آهن)، فیبر خام (از جمله پکتین)، قندها، مواد جامد محلول، مقادیر محسوسی از ویتامین‌های B_1، B_2، B_6 و B_{12}، ویتامین C و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی است، که در تقویت سیستم ایمنی، محافظت از پوست، ریه و دستگاه گوارش نقش موثری دارد و به علت داشتن انرژی پایین، به عنوان یک نوشیدنی رژیمی به حساب می‌آید (۹، ۴۵).

Yoon و همکاران (۲۰۰۶) با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* آب کلم پروبیوتیک تولید کردند (۴۳). Sheehan و همکاران (۲۰۰۷) با بررسی بقای *لاکتوباسیلوس‌ها* و *بیفیدوباکتریوم‌ها* در زمینه تحمل اسیدی گونه‌های مختلف پروبیوتیک‌ها دریافتند *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس رامنوس* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* بقای زیادی در شرایط اسیدی آب پرتقال و آب آناناس طی۱۲ هفته داشتند (۳۶). Moussavi و Adams (۲۰۰۸) نشان دادند *لاکتوباسیلوس رامنوسوس GG* و *لاکتوباسیلوس کازئی* در آب پرتقال و آب گوجه‌فرنگی در دمای ۴، ۲۳ و ۳۷ درجه سلسیوس، به مدت ۴ هفته پایدار هستند (۲۲). نتایج Champagne و Gardner (۲۰۰۸) نشان داد، قابلیت ماندگاری ۹ گونه لاکتوباسیلوس پروبیوتیک در ۱۰ نوع آب میوه مخلوط با اجزای شیر، با افزایش pH از ۳/۸ به ۴/۲ در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۸۰ روز افزایش یافت (۴). Shah و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند تعداد پروبیوتیک‌ها در آب میوه‌های حاوی ویتامین C، عصاره انگور و عصاره چای سبز در پایان ۶ هفته نگهداری در مقایسه با دیگر افزودنی‌ها (عصاره دانه انگور سفید، ویتامین B_2، B_3، B_6 و E) بیشتر بود (۳۵). Pereira و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* در آب سیب تخمیری پروبیوتیکی نشان دادند که در طول ۴۲ روز نگهداری در ۴ درجه سلسیوس تعداد سلول‌های زنده بیشتر از ۸ log cfu/ml بود (۲۷). Ankolekar و همکاران (۲۰۱۲) نیز زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب هلو را مطلوب گزارش کردند (۲). همچنین kum و همکاران (۲۰۰۷) امکان استفاده از آب هویج به‌عنوان محیط پایه تولید غذاهای پوربیوتیک با استفاده از گونه‌های بیفیدوباکتریوم را بررسی کردند و گزارش کردند که گونه‌های بیفیدوباکتریوم مورد بررسی در آب هویج خالص قادر به رشد بودند (۱۸). هدف از این پژوهش، بررسی امکان تولید آب هویج سین‌بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به همراه اینولین و بررسی میزان زنده‌مانی باکتری‌ها و سایر خصوصیات شیمیایی و ارگانولپتیکی محصول بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی نمونه‌های آب هویج

در این پژوهش، هویج خریداری شده از بازار محلی (تبریز، ایران) به نام علمی *Daucus Carota* L. به عنوان ماده اولیه مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه نمونه‌های آب هویج، ابتدا برگ و ریشچه از هویج جدا شد، سپس هویج با آب شسته شد و پس از پوست‌گیری و خرد کردن دستی، آب هویج بوسیله آبمیوه‌گیری آزمایشگاهی تهیه شد. نمونه‌ها مطابق جدول ۱ تهیه شدند. برای این منظور پس از جداسازی آب هویج‌ها، اینولین در سطح مشخص ۲٪ (وزنی/وزنی) اضافه شدند. سپس پاستوریزاسیون نمونه‌های آب هویج تهیه شده با حرارت دهی در بن‌ماری (Memmert, Germany) در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ دقیقه انجام شد (۱، ۴۲). با توجه به اینکه سویه‌های مورد نظر نمی توانند شرایط پاستوریزاسیون را تحمل کنند، تلقیح بعد از پاستوریزاسیون انجام شد (۱۲). برای تهیه سوسپاسیون میکروبی ابتدا قسمت بیرونی ویال سوش لیوفیلیزه تهیه شده از سازمان پژوهش‌های علمی را کاملا با پنبه الکل ضد عفونی شد، سپس زیر هود با تیغه‌ای از محل میانی پنبه داخل ویال برش داده و سپس از محیط کشت مغذی عمومی (BHI.B[1]) که قبلا تهیه شده بود، حدود ۰/۵

1 -Brain Heart Infution Broth

میلی‌لیتر بوسیله سرنگ استریل به داخل ویال تزریق شد و صبر نموده تا جرم لیوفیزه شده حل شود. محلول حاصله به محیط کشت مغزی عمومی و آگار همزمان انتقال داده شد و بمدت ۲۴ الی ۴۸ ساعت داخل انکوباتور ۳۷ درجه سلسیوس باقی‌ماند تا کاملا رشد نماید. عمل کشت ۳ بار تکرار شد تا خصوصیات باکتری کاملا مهیا شود. از آخرین کشت ۲۴ ساعته برای اضافه کردن به نمونه های مورد نیاز استفاده شدکه از آن سوسپانسیون باکتری نیم مک فارلند تهیه شد که معادل $۱۰^{۸}$ کلونی در هر میلی‌لیتر می‌باشد. پس از پاستوریزاسیون و خنک شدن تا دمای محیط، سویه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم *زیرگونه پلانتاروم*[1] (PTCC 1745) و *لاکتوباسیلوس کازئی* زیرگونه کازئی[2] (PTCC 1608) (سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، ایران) در شرایط اسپتیک به میزان $۱۰^{۷}$ واحد کلنی در هر میلی‌لیتر به نمونه‌های آب‌هویج تزریق شد (۲۴). آب میوه‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس گرمخانه‌گذاری شده و بعد از پایان انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ روز نگهداری شدند.

جدول ۱- تیمارهای تهیه شده آب هویج سین‌بیوتیک

تیمارها	مقدار اینولین (٪)	باکتری پروبیوتیک
T_1	۲	*L. casei*
T_2	۲	*L. plantarum*
T_3	۲	*L. plantarum+ L. casei*

۲-۲-آزمون‌های انجام شده بر روی نمونه‌های آب‌میوه هویج سین‌بیوتیک

۲-۲-۱-آزمون میکروبی

برای شمارش پروبیوتیک‌ها، مقدار ۱ میلی لیتر از محلول‌های $۱۰^{-۱}$ تا $۱۰^{-۷}$، به پلیت سترون انتقال یافته و حدود ۱۵ تا۲۰ میلی‌لیتر از محیط کشت MRS آگار (Merck، آلمان) به آن اضافه شد (روش پورپلیت) و پس از پخش کامل، گرمخانه‌گذاری در انکوباتور (Memmert، آلمان) در دمای ۳۰ درجه‌ی سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت انجام شد (۱۳). برای بررسی نوع باکتری‌های پروبیوتیک شمارش شده، با توجه به این که باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* قادر به تخمیر قند رافینوز می‌باشد، از کلونی‌های رشد کرده ۶ عدد جدا کرده و به محیط کشت دارای رافینوز منتقل شد. برای تخمیر قند، از محلول غلیظ استریل شده رافینوز به هر یک از لوله‌های حاوی محیط پایه قندی (MRS براث) اضافه شد تا غلظت آنها به ۰/۵ تا ۱ درصد برسد. سپس محیط کشت مایع تلقیح شده با باکتری (کلونی‌های جدا شده) در ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۵-۳ روز گرمخانه‌گذاری شد. تبدیل رنگ ارغوانی به زرد نشانه تخمیر قند در نظر گرفته شد و تعداد لوله‌های تغییر رنگ داده شده به صورت کسری از کل لوله‌های مورد بررسی (۶ عدد) بیان شد (۳۴).

۲-۲-۲-آزمون‌های شیمیایی و فیزیکی

برای اندازه‌گیری pH از دستگاه pH متر (Mettler toledo، سوئیس)، جهت اندازه‌گیری مواد جامد محلول از دستگاه رفراکتومتر (Atago، ژاپن) در دمای ۲۰ درجه سلسیوس (طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵) و برای ارزیابی اسیدیته بر حسب اسید سیتریک از روش تیتراسیون با فنول فتالئین استفاده شد (۱۴). ویسکوزیته نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد (DV-II، آمریکا) با اسپیندل شماره ۱ با سرعت برشی ۱۰۰ دور بر دقیقه اندازه‌گیری شد (۱۰).

۲-۲-۳- ارزیابی حسی

ارزیابی خواص حسی از لحاظ مقبولیت کلی (رنگ، طعم و ظاهر) میان ۹ نمونه آب هویج سین بیوتیک تخمیری حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به صورت تکی و ترکیبی با استفاده از طرح هدونیک ۵ نقطه‌ای (خیلی خوب=۵، خوب=۴، متوسط=۳، بد=۲ و خیلی بد=۱) توسط ۲۵ ارزیاب غیرحرفه‌ای در روز هفتم نگهداری انجام پذیرفت. یک اتاق ساکت دارای نور و تهویه مناسب و چند صندلی برای ارزیابی حسی آماده شد. قبل از انجام هر

1 -Lactobacillus plantarum subsp.plantarum
2 -Lactobacillus Casei subsp.casei

آزمون به هر ارزیاب راهنمایی‌های لازم در مورد نحوه انجام آزمون و مصرف بیسکوئیت ترد و آب ولرم بعد از صرف هر نمونه ارائه شد. در هنگام ارزیابی تنها یک ارزیاب وارد اتاق ارزیابی حسی شده و هیچگونه ارتباطی با سایر ارزیاب‌ها نداشت (۴۶).

۲-۳-تجزیه و تحلیل آماری

طرح آماری مورد استفاده، آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی بود. آزمون‌های فیزیکی و میکروبی در روز ۰ (روز تولید)، روز ۱۵، روز ۳۰ و روز ۴۵ (۳×۴×۳) و آزمون ویسکوزیته در دو روز اول و روز ۴۵ (۳×۲×۳) و ارزیابی حسی در هفته اول توسط ۲۵ ارزیاب انجام شد. برای تأیید وجود اختلاف بین میانگین‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه (One Way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی در سطح احتمال ۵٪ ($p<۰/۰۵$) استفاده شد. برای تجزیه وتحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری MINITAB 16 و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL 2010 استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

به منظور تأثیر باکتری‌های پروبیوتیک بر سلامت انسان جهت ایجاد اثرات سلامت‌بخش، این باکتری‌ها باید به تعداد لازم تا زمان مصرف در محصول وجود داشته باشند؛ که بنابر نظر اکثر دانشمندان حداقل این تعداد $۱۰^{۷}$ سلول در هر گرم محصول در زمان مصرف می‌باشد (۵). از این رو زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* طی دوره نگهداری ۴۵ روزه در دمای ۴ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع باکتری، زمان و اثرات متقابل آنها بر روی زنده‌مانی باکتری‌ها معنی-دار بود ($p<۰/۰۵$). نتایج به دست آمده در جدول ۲ قابل ملاحظه است. در تمامی زمان‌ها در بین نمونه‌های آب هویج تهیه شده، نمونه حاوی ترکیب دو نوع باکتری پروبیوتیک به طور معنی‌دار دارای تعداد باکتری بیشتری بودند ($p<۰/۰۵$). با گذشت زمان تعداد باکتری‌های شمارش شده کاهش یافت که کمترین تغییرات در مقایسه روز اول و روز ۴۵ مربوط به نمونه آب هویج حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* و بیشترین تغییرات مربوط به نمونه آب هویج حاوی دو باکتری بود؛ گرچه نمونه حاوی دو باکتری تغییرات بیشتری در طول زمان نشان داد ولی همچنان دارای مقدار باکتری پروبیوتیک بیشتری نسبت به نمونه‌های آب هویج دارای یک باکتری پروبیوتیک بود. کاهش تعداد باکتری با افزایش زمان نگهداری توسط یافته‌های Ding و Shah (۲۰۰۸) در آب پرتقال (۵) و Yoon و همکاران (۲۰۰۶) در آب چغندر (۴۳) پروبیوتیک حاوی دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* همخوانی داشت. با توجه به یافته‌های Espinoza و Navarro (۲۰۱۰) (۸) میزان اسید لاکتیک، دی‌استیل و استالدئید تولید شده در اثر رشد تصاعدی پروبیوتیک‌ها کاهش می‌یابد که این پدیده نشان دهنده فعالیت بیشتر باکتری های تولید کننده این مواد و در واقع باکتری های اسید لاکتیک می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین بررسی تأثیر تیمارها بر شمارش باکتری‌های پروبیوتیک (Log cfu/ml) آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

روز / تیمارها	۰	۱۵	۳۰	٤٥
T_1 (L. کازئی)	۱۰/٤۲± ۰/۳۳ ^{Bb}	۱۳/٤۸± ۰/۱۸ ^{Ab}	۱۰/۳۳± ۰/۰۹ ^{BCb}	۹/۸۲± ۰/۱٤ ^{Cb}
T_2 (L. پلانتاروم)	۱۰/٤۲± ۰/۳۱ ^{Bb}	۱۳/٤۰± ۰/۳۱ ^{Ab}	۱۰/۷۲± ۰/۱٤ ^{Bb}	۹/٦٤± ۰/۲۹ ^{Cb}
T_3 (L. کازئی+L. پلانتاروم)	۱٤/٤۹± ۰/۳۸ ^{Aa}	۱٤/٦۸± ۰/۳۳ ^{Aa}	۱۱/٦۹± ۰/۰۸ ^{Ba}	۱۰/۸٦± ۰/۰۹ ^{Ca}

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بسته به زمان (حروف بزرگ) و بسته به تیمارها (حروف کوچک) می‌باشد.
نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده است.

آب هویج به طور طبیعی یک محصول با pH نزدیک خنثی می‌باشد، ولی با افزودن باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید اسیدهای آلی، pH نمونه‌های تولیدی کاهش یافته و در محدوده اسیدی قرار گرفته است (۱۸). در نمونه‌های آب هویج سین‌بیوتیک، زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک بسته به نوع باکتری به کار رفته متغیر بود، به گونه ای که استفاده هم زمان هر دو باکتری با یکدیگر سبب افزایش زنده‌مانی باکتری‌های اسید لاکتیک در طول مدت زمان ۴۵ روز گردید. لازم به ذکر است که همه نمونه‌ها در زمان‌های مورد آزمون دارای حداقل $۱۰^{۷}$ کلنی در هر میلی لیتر محصول بودند که میزان باکتری موجود در محصول مطابق با استاندارد مورد قبول جهت تأیید یک محصول پروبیوتیک برای ایجاد اثرات سلامت‌بخشی خود بود (۵).

۳-۲- بررسی تغییرات pH و اسیدیته آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

PH و اسیدیته دو اصطلاح بسیار نزدیک و مرتبط می‌باشند. ارتباط معکوسی بین روند افزایش و کاهش pH و اسیدیته وجود دارد به طوریکه با افزایش یکی، مقدار دیگری کاهش می‌یابد و برعکس (۱۴). بررسی نتایج تحلیل شده نشان داد افزودن باکتری‌های پروبیوتیک به صورت تکی و ترکیبی، زمان و همچنین تاثیر توأم این عوامل بر میزان pH و اسیدیته نمونه‌های آب هویج در طی مدت ۴۵ روز معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). مقایسه میانگین‌های مقدار pH اندازه‌گیری شده در آب هویج نشان داد که در روز اول تولید، نمونه آب هویج تلقیح شده با باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای بیشترین pH بود ($p<۰/۰۵$) ولی با افزایش زمان نگهداری همین نمونه کمترین pH را نسبت به دیگر نمونه‌ها در هر زمان مورد آزمایش نشان داد. در تمامی‌نمونه‌ها با گذشت زمان مقدار pH به طور معنی‌دار کاهش یافت ($p<۰/۰۵$). در طول زمان نگهداری کاهش pH در نمونه‌های دارای *لاکتوباسیلوس کازئی* با شدت بیشتری نسبت به نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* ملاحظه شد. در واقع لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نمونه‌های آب هویج حاوی آن مانع از تغییرات شدید pH در طول نگهداری شدند. افزودن دو باکتری یاد شده به صورت ترکیبی با تعدیل عملکرد هر دو باکتری، باعث کاهش pH با شیب کندتری شد (جدول ۳). بررسی نتایج حاصل از مقادیر اسیدیته (جدول ۴) نشان داد، نمونه‌های آب هویج حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای بیشترین اسیدیته قابل اندازه‌گیری نسبت به دیگر نمونه‌ها بودند ($p<۰/۰۵$). در تمامی‌نمونه‌ها با گذشت زمان مقدار اسیدیته اندازه‌گیری شده در آب هویج به طور معنی‌دار افزایش یافت ($p<۰/۰۵$). این نتایج با نتایج مربوط به pH نمونه‌های آب‌میوه نیز همخوانی داشت و همانطور که انتظار می‌رفت با کاهش pH، اسیدیته قابل اندازه‌گیری در نمونه افزایش یافت. تنها تفاوت مشاهده شده در بین نتایج مربوط به نمونه

T2 در روز ۱۵ ام است که برخلاف انتظار، دارای اسیدیته کمتری نسبت به نمونه‌های دیگر با توجه به pH متناظر خود داشت. در طول ۴۵ روز نگهداری افزایش میزان اسیدیته در نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشتر بود ($p<0/05$). این نتایج با یافته‌های Reiter و همکاران (۲۰۰۳) تطابق خوبی داشت (۲۸).

جدول ۳- مقایسه میانگین بررسی تأثیر تیمارها بر pH آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

تیمارها / روز	۰	۱۵	۳۰	٤٥
T_1 (L. کازئی)	$۳/۹٦\pm ۰/۰۳^{Aa}$	$۳/٦۷\pm ۰/۰۲^{Bb}$	$۳/٦۰\pm ۰/۰۱^{Cb}$	$۳/۵۰\pm ۰/۰۱^{Dc}$
T_2 (L. پلانتاروم)	$۳/۸۳\pm ۰/۰۱^{Ab}$	$۳/۷۸\pm ۰/۰۱^{Ba}$	$۳/۷۷\pm ۰/۰۱^{Ba}$	$۳/۷۵\pm ۰/۰۲^{Ba}$
T_3 (L. کازئی+L. پلانتاروم)	$۳/۸٦\pm ۰/۰۳^{Ab}$	$۳/۷۵\pm ۰/۰۱^{Bab}$	$۳/۷٤\pm ۰/۰۵^{Ba}$	$۳/٦۹\pm ۰/۰۱^{Bb}$

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بسته به زمان (حروف بزرگ) و بسته به تیمارها (حروف کوچک) می‌باشد.
نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده‌است.

جدول ٤- مقایسه میانگین بررسی تأثیر تیمارها بر اسیدیته (اسید سیتریک/۱۰۰ گرم) آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

تیمارها / روز	۰	۱۵	۳۰	٤٥
T_1 (L. کازئی)	$۰/٦۳\pm ۰/۰۱^{Ba}$	$۰/٦٤\pm ۰/۰۱^{Ba}$	$۰/۸۹\pm ۰/۰۱^{Aa}$	$۰/۹۳\pm ۰/۰٦^{Aa}$
T_2 (L. پلانتاروم)	$۰/۵۸\pm ۰/۰۱^{Cb}$	$۰/٦٤\pm ۰/۰۱^{Ba}$	$۰/٦۵\pm ۰/۰۱^{Bb}$	$۰/۷٤\pm ۰/۰۵^{Ab}$
T_3 (L. کازئی+L. پلانتاروم)	$۰/۵۸\pm ۰/۰۲^{Cb}$	$۰/٦۲\pm ۰/۰۲^{Ba}$	$۰/۸۸\pm ۰/۰۱^{Aa}$	$۰/۹۰\pm ۰/۰۱^{Aa}$

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بسته به زمان (حروف بزرگ) و بسته به تیمارها (حروف کوچک) می‌باشد.
نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده است.

به دلیل بالا بودن pH (در حدود ۶) آب هویج، این محصول نیاز به فراوری داشته و در صورت عدم فرآوری موجب رشد میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شود (۱۸). بنابراین، نگه‌داری آب هویج خام و تیمار نشده مشکلات میکروبی و ایمنی ایجاد می‌کند. از طرفی در طول نگهداری با فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک، غلظت اسید لاکتیک و اسید استیک با مصرف قندها در آب میوه‌ها افزایش یافته و میزان اسیدیته افزایش و pH کاهش می‌یابد که این عمل در حضور مواد پری‌بیوتیک تشدید می‌شود. به طوریکه این یافته‌ها با نتایج Nualkaekul و همکاران (۲۰۱۱) و Nualkaekul و Charalampopoulos (۲۰۱۱) برای آب میوه‌های پرتقال، گریپ فروت، آناناس، انار و لیمو حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (۲۳، ۲۴)، Yoon و همکاران (۲۰۰۶) برای آب چغندر قرمز تخمیری حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* (۴۳)، Renuka و همکاران (۲۰۰۹) در زمینه تأثیر فروکتوالیگوساکاریدهای مختلف بر خصوصیات نوشیدنی آب میوه‌ها (۳۰) مطابقت داشت. این یافته‌ها با نتایج Yoon و همکاران (۲۰۰۶) (۴۳) مغایرت داشت، چرا که در مطالعه آنها pH نمونه‌های آب گوجه‌فرنگی و آب کلم پروبیوتیک

در حضور *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نسبت به *لاکتوباسیلوس کازئی* کمتر و اسیدیته بیشتری گزارش شده بود که این مساله را می توان به تفاوت محیط آب گوجه فرنگی و آب کلم با آب هویج نسبت داد. با توجه به نتایج pH و اسیدیته به دست آمده، مشخص است که قابلیت باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در کاهش pH و افزایش اسیدیته نمونه‌های آب هویج نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشتر بوده‌است ($p<۰/۰۵$). این مساله در وحله اول به ماهیت خود باکتری‌ها نسبت داده می‌شود چرا که لاکتوباسیلوس کازئی یک باکتری هموفرمانتاتیو اجباری است و محصول حاصل از تخمیر قند آن تنها اسید لاکتیک می‌باشد، در حالی که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یک باکتری هتروفرمانتاتیو اختیاری است که بسته به شرایط علاوه بر اسید لاکتیک متابولیت‌های دیگری نیز تولید می‌کند که در واقع از مقدار اسید تولیدی کاسته می‌شود (۷، ۲۰). علاوه بر این، با توجه به داده‌های مربوط به شمارش باکتری‌ها (جدول ۲)، تغییرات مشاهده شده در مقادیر pH و اسیدیته اندازه‌گیری شده احتمالا به دلیل تعداد بالای باکتری‌های شمارش شده در برخی نمونه‌ها و فعالیت بیش از حد آن‌ها در تولید اسید بیشتر،کاهش شدیدتر pH در نمونه‌های متناظر مشاهده می‌شود. با توجه به این که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* یک باکتری هتروفرمانتاتیو است و در طول فعالیت خود علاوه بر اسیدهای آلی مقدار کمی CO_2 نیز تولید می‌کند، روند کاهشی pH شیب کمتری دارد. در حالیکه *لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان یک باکتری هموفرمانتاتیو، از CO_2 تولید شده برای افزایش فعالیت خود استفاده کرده و با مصرف آن و تولید بیشتر اسید لاکتیک با شدت بیشتری pH محصول را کاهش و باعث افزایش اسیدیته آن می‌شود (۲۰). علت کاهش بیشتر pH و افزایش اسیدیته نمونه‌های آب هویج سین‌بیوتیک حاوی ترکیب دو باکتری را می‌توان به همین اثر سینرژیستی بین آنها نسبت داد.

۳-۳- بررسی تغییرات بریکس نمونه‌های آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

نتایج حاصل از تجزیه آماری مقادیر به دست آمده برای بریکس نمونه‌های آب هویج در طول مدت زمان نگهداری ۴۵ روزه نشان داد نوع باکتری پروبیوتیک و استفاده به صورت تکی و ترکیبی به عنوان تیماربندی باعث تغییر معنی‌دار بریکس نمونه‌ها شد. تغییرات بریکس با زمان و همچنین دو عامل به طور همزمان نیز معنی‌دار بوده‌است ($p<۰/۰۵$). در روز اول تولید نمونه T_3 که حاوی دو باکتری بود کمترین مقدار بریکس را نشان داد. با گذشت زمان بریکس در بیشتر نمونه‌ها روند کاهشی نشان داد. در نمونه‌های T_1 و T_3 در طول ۱۵ روز اول بریکس افزایش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$)، اما نگهداری بیشتر باعث کاهش دوباره مقدار مواد جامد محلول در آب‌میوه‌ها شد. در روز ۴۵ام، بریکس نمونه‌های آب هویج تهیه شده با اختلاط هر یک از میکروارگانیسم‌ها به صورت تکی با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشت ولی مقدار بریکس نمونه حاوی ترکیب دو باکتری همانند روز تولید از بریکس دو تیمار دیگربه طور معنی‌داری کمتر بود ($p<۰/۰۵$). با توجه به نتایج تحقیق ایاسه و همکاران (۱۳۹۴) مقدار مواد جامد محلول نمونه‌های آب هویج تولید شده بیشتر از مقدار متناظر نمونه شاهد آنها (آب هویج ساده) با مقدار ۸/۵ گرم درصد گرم نمونه بود که این مساله را می‌توان به حضور مقدار ۲ درصد اینولین و همچنین افزودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک نسبت داد (۱). کاهش بریکس در طول زمان نگهداری با نتایج Krasaekoopt و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی آب میوه سین‌بیوتیک حاوی اینولین مطابقت داشت (۱۶). با گذشت زمان میکروارگانیسم‌ها از قندها استفاده می‌کنند و باعث کاهش بریکس می‌شوند، ولی حضوراینولین در نمونه‌ها در روزهای اولیه نگهداری که هنوز توسط میکروارگانیسم‌ها مصرف نشده است احتمالا سبب شده که بریکس بالاتری ملاحظه شود (۱۶). افزایش بریکس در نمونه T_1 در روز ۱۵ام آزمایش احتمالا به دلیل تغییرات حرارتی ایجاد شده بر اینولین افزوده شده و توانایی کمتر *لاکتوباسیلوس کازئی* برای تجزیه آن نسبت به *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و بنابراین جذب و حبس بخشی از آب توسط فیبر موجود و افزایش بریکس تا ۱۵ روز بوده‌است. اما با گذشت زمان و فعالیت بیشتر باکتری و تجزیه اینولین، بریکس دوباره تا انتهای زمان نگهداری کاهش یافته‌است.

جدول ۵- مقایسه میانگین بررسی تأثیر تیمارها بر بریکس آب هویج برحسب گرم درصد گرم نمونه در طول مدت زمان نگهداری

روز / تیمارها	۰	۱۵	۳۰	٤٥
T_1 (L. کازئی)	۹/۸۳± ۰/ ۲۹ ^{BCa}	۱۱/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Aa}	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Ba}	۹/۵۰± ۰/ ۰۰ ^{Ca}
T_2 (L. پلانتاروم)	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Aa}	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Ab}	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Aa}	۹/٤۳± ۰/ ۰٦ ^{Ba}
T_3 (L. کازئی+L. پلانتاروم)	۹/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Cb}	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Ab}	۱۰/۰۰± ۰/ ۰۰ ^{Aa}	۹/۲۰± ۰/ ۰۰ ^{Bb}

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بسته به زمان (حروف بزرگ) و بسته به تیمارها (حروف کوچک) می‌باشد. نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده است.

۳-٤-بررسی تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های آب هویج در طول مدت زمان نگهداری

تأثیر افزودن باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بر ویسکوزیته نمونه‌های آب هویج سین‌بیوتیک حاوی اینولین، در زمان ۱۰ دقیقه در روز اول و روز ۴۵ نگهداری بررسی شد. با توجه به تجزیه داده‌ها مشاهده شد تغییرات ویسکوزیته در نمونه‌های T_2 و T_3 به طور معنی‌داری تحت تأثیر زمان بود ($p<۰/۰۵$)، ولی تاثیر تیمارهای مختلف تکی و ترکیبی و همچنین اثر متقابل آنها بر ویسکوزیته محصول در زمان ۱۰ دقیقه معنی‌دار نبود ($p>۰/۰۵$). مقایسه میانگین‌های ویسکوزیته آب هویج (جدول ۶)، نشان داد ویسکوزیته نمونه‌ها هم در روز اول و هم در روز ۴۵ با یکدیگر تفاوت قابل ملاحظه‌ای نداشتند ($p>۰/۰۵$). در طول ۴۵ روز ویسکوزیته نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی (T_1) تغییر معنی‌داری نداشت ($p>۰/۰۵$)، در حالیکه ویسکوزیته در نمونه‌های آب هویج حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (T_2) و نمونه حاوی دو باکتری به صورت ترکیبی (T_3) با گذشت زمان ۴۵ روزه کاهش معنی‌داری نشان داد ($p<۰/۰۵$) که این کاهش به ترتیب برابر ۱۶/۵ و ۱۴/۸ درصد بود. این نتایج با یافته‌های ایاسه و همکاران (۱۳۹۴) و Vandresen و همکاران (۲۰۰۹) مغایرت داشت (۱، ۴۱). این محققان مقادیر بالای ویسکوزیته بعد از تیمار حرارتی را به متورم شدن و نفوذ آب بین زنجیره سلولز در مدت حرارت دادن ذرات نسبت دادند که دلیل آن را ناشی از افزایش حلالیت پکتین دیواره سلول‌ها عنوان کردند. در تحقیقات پیشین، در نمونه‌های تهیه شده با مواد پری‌بیوتیک مانند اینولین به دلیل ماهیت فیبری و جذب آب محصول مقدار ویسکوزیته در ابتدا زیاد بوده است، ولی در طول زمان جذب آب بیشتر و درگیر کردن و محصور کردن قسمت بیشتری از آب موجود در محصول باعث افزایش ویسکوزیته می‌شوند. این روند در تحقیق حاضر به گونه عکس بود، که این مساله را می‌توان به تجزیه و هضم ماده پری‌بیوتیک توسط باکتری‌های پروبیوتیک افزوده شده برای زنده‌مانی و کاهش ویسکوزیته با رهایی آب به دام افتاده در شبکه فیبری اینولین و کاهش ویسکوزیته نسبت داد. این مهم در حضور دو باکتری به دلیل فعالیت مضاعف دو باکتری با شدت و همچنین در نمونه T_2 (حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم با کمترین تغییر در زنده مانی) به دلیل قابلیت تخمیر بیشتر پلی‌ساکارید (اینولین) و فعالیت بهتر در دمای پایین نسبت به لاکتوباسیلوس کازئی، بیشتر بوده است (۶، ۷، ۲۰).

جدول ٦- مقایسه میانگین بررسی تأثیر تیمارها بر مقدار ویسکوزیته (نیوتن بر ثانیه) و پذیرش کلی آب هویج سین‌بیوتیک

تیمارها	ویسکوزیته (N/s) زمان		ارزیابی حسی
	روز ۰	روز ٤٥	روز ۷
T_1 (L. کازئی)	۲٤/٦۷± ۰/۹٥ ^{Aa}	۲۳/۲۰± ۱/۱۱ ^{Aa}	۳/۲۰± ۰/٥۸ ^{a}
T_2 (L. پلانتاروم)	۲٦/٤۷± ۰/٤٦ ^{Aa}	۲۲/٤۷± ۰/۳۱ ^{Ba}	۳/۲٤± ۰/٦۰ ^{a}
T_3 (L. کازئی+L. پلانتاروم)	۲٥/۷۳± ۱/۹۰ ^{Aa}	۲۱/۹۳± ۰/۳۱ ^{Ba}	۳/۱٦± ۰/٤۷ ^{a}

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بسته به زمان (حروف بزرگ) و بسته به تیمارها (حروف کوچک) می‌باشد.
نتایج به صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده‌است.

۳-۵- بررسی ویژگی‌های حسی نمونه‌های آب هویج

بررسی ویژگی‌های حسی نمونه‌های تولید شده در روز هفتم با در نظر گرفتن ویژگی‌های رنگ، طعم و ظاهر به صورت یک پارامتر کلی با عنوان مقبولیت کلی توسط ۲۵ ارزیاب آموزش ندیده بررسی شد. این نتایج نشان داد نمونه‌های آب هویج سین‌بیوتیک تهیه شده از نظر پذیرش کلی با یکدیگر تفاوت قابل توجهی داشتند ($p<۰/۰۵$). میانگین امتیازات حسی (جدول ۶) نشان داد نوع باکتری پروبیوتیک بر خصوصیات حسی نمونه‌ها تأثیر معنی‌دار نداشت ($p>۰/۰۵$). در پژوهش انجام شده توسط Broomes و همکاران (۲۰۱۰) استفاده از ۲٪ اینولین در نکتار پاپایا موجب افزایش قابلیت پذیرش حسی از طرف ارزیاب‌ها شد که بر همین اساس این مقدار اینولین برای تهیه همه نمونه‌ها استفاده شد.

٤- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد در بین نمونه‌های آب هویج تهیه شده، نمونه حاوی ترکیب دو نوع باکتری پروبیوتیک به طور معنی‌داری دارای تعداد باکتری بیشتری بود. در تمامی نمونه‌ها با گذشت زمان تعداد باکتری‌های پروبیوتیک و pH اندازه گیری شده کاهش و مقدار اسیدیته افزایش یافت، که کاهش pH در نمونه‌های دارای *لاکتوباسیلوس کازئی* با شدت بیشتری نسبت به باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* رخ داد. در نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بریکس بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* مشاهده شد و با گذشت زمان بریکس در نمونه‌ها روند کاهشی نشان داد. نوع باکتری بر ویسکوزیته آب هویج موثر نبود و تنها گذشت زمان باعث کاهش ویسکوزیته محصول شد. بررسی ویژگی‌های حسی نیز نشان داد نوع باکتری پروبیوتیک بر خصوصیات حسی نمونه‌ها تاثیر معنی‌دار نداشت. در نهایت نتایج نشان داد که نمونه حاوی دو نوع باکتری با حفظ حداکثر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و عدم تغییر قابل ملاحظه دیگر ویژگی‌های اندازه‌گیری شده از جمله pH، اسیدیته، بریکس و ویسکوزیته می‌تواند به عنوان آب هویج سین‌بیوتیک حاوی اینولین در نظر گرفته شود و برای بهره‌گیری در رژیم‌های غذایی مصرف‌کنندگان به‌عنوان یک محصول فراسودمند پیشنهاد می‌شود.

٥-منابع

۱. ایاسه، ع.، علیزاده، م.، اسمعیلی، م.، مهرداد، ع. و جوادزاده، ی. ۱۳۹٤. تأثیر تیمار فراصوت بر ویسکوزیته، توزیع اندازه ذرات، کدورت و فنل کل آب هویج. *نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی ایران*. جلد ۲۵، شماره ٤، ٤۰-۲٦..

2. Ankolekar, C., Pinto, M., Greene, D. and Shetty, K. 2012. In vitro bioassay based screening of antihyperglycemia and antihypertensive activities of *Lactobacillus acidophilus* fermented

11. Guarner, F. and Malagelada, J.R. 2003. Gut flora in health and disease. *Lancet*. 361: 512–519.
12. Hedge, L. and Jagadeesh, S.L. 2008. Quality assessment of Stevia rebaudiana incorporated mango and pomegranate RTS beverages. *Journal of Biomedical Central*, 3: 195-201.
13. ISO 15214: 1998. *Microbiology of food and animal feeding stuffs*. Horizontal method for the numeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 degrees C.
14. Jolicoeur, C. 2011. Acidity and pH of apple juice. http://cjoliprsf.awardspace.biz/
15. Khan, S. H. and Ansari, F. A. 2007. Probiotics – the friendly bacteria with market potential in global market. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Scinces*, 20: 71-76.
16. Krasaekoopt, W., Pianjareonlap, R., and Kittisuriyanont, K. 2008. Survival of probiotics in fruit juices during refrigerated storage. *Thai Journal of Biotechnology*, 8: 129–133.
17. Kullisar, T., Zilmer, M., Mikelsaar, M., Vikalemm, T., Annuk, H., Kairane, C., and Kilk, A. 2002. Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 72:215–224.
18. Kum, S., Rezessy-Szabo, J., Nguyen, Q. and Hoschke, A. 2008. Changes of microbial population and some components in carrot juice deuring fermentation with selected Bifidobacterium strains. *Process Biochemistry*, 43: 816-82.
19. Meyer, D., Bayarri, S., Tarrega, A. and Costell, E. 2011. Inulin as texture modifier in dairy products. *Food Hydrocolloids*, 25:1881-1890.
20. Mishra, V. and Prasad, D.N. 2005. Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 103, 109-115.
21. Molin, G. 2001. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to Lactobacillus plantarum 299v. *The* pear juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13:221-230.
3. Benjamin, L.R., McGarry, A. and Gray, D. 1997. The root vegetables: Beet, carrot, parsnip and turnip. The Physiology of Vegetable Crops. Wallingford, UK: CAB International, 553–580.
4. Champagne, C.P. and Gardner, N.J. 2008. Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41: 539-543.
5. Ding, W. K. and Shah, N. P. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal*, 15(2):219-32.
6. Dorothy, M. and Wheater, M. 1955. The characteristics *of Lactobacillus plantarum, L. helveticus and L. casei. Journal of General Microbiology*, 12: 133-139.
7. Duangjitcharoen, Y., Kantachote, D., Ongsakul, M., Poosaran, N. and Chaiyasut, C. 2009. Potential use of probiotic *Lactobacillus plantarum* SS2 isolated from a fermented plant beverage: safety assessment and persistence in the murine gastrointestinal tract. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 25: 315–321.
8. Espinoza, Y. R. and Navarro, Y. G. 2010. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27:1–10.
9. Gabriela, D., Nicoleta, H., Moldovan, C., Diana- Nicoleta, R., Mirela – Viorica, P. and Rădoi, B. 2011. Antioxidant activity of some fresh vegetables and fruit juice. *Journal of Agroalimentry Processes and Technologies*, 17:163-198.
10. Ghafoor, k., Jung, J.E., and Choi, Y. H. 2008. Effects of Gellan, Xanthan, and λ-Carrageenan on Ellagic acid sedimentation, viscosity, and turbidity of Campbell early Grape juice. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 17: 80-84.

beverages: Effect on the quality characteristics. *Food Science and Technology*, 42: 1031–1033.
31. Rubel, I.A., Pérez, E.E., Genovese, D.B. and Manrique, G.D. 2014. In vitro prebiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) tubers at different storage times by Lactobacillus paracasei. *Food Research International*, 62:59–65.
32. Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J.M. and Bressollier, P. 2013. An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Food Science and Technology*, 50: 1-16.
33. Sangwan, V., Tomar, S.K., Singh, R.R., Singh, A.K., and Ali, B. 2011. Galactooligosaccharides: Novel Components of Designer Foods. *Journal of Food Science*, 76: 103-111.
34. Scheirlinck, I., Meulen, R.V., Schoor, A.V., Huys, G., Vandamme, P., Vuyst, L.D. & Vancanneyt, M. 2007. Lactobacillus crustorum sp. nov., isolated from two traditional Belgian wheat sourdoughs. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 1461–1467.
35. Shah, N.P, Ding, W.K., Fallourd, M.J. and Leyer, G. 2010. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. *Journal of Food Science*, 75: 278-282.
36. Sheehan, V., Ross, P. and Fitzgerald, G. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 279-284.
37. Silva, I. 2011. Recombinant Technology and Probiotics. *International Journal of Engineering and Technology*, 3: 288-293.
38. Simon, P.W., Freeman, R.E. Vieira, J.V., Boiteux, L.S., Briard, M., Nothnagel, T., Michalik, B. and Kwon, Y-S. 2008. Carrot. Vegetables II. Handbook of Plant Breeding 2. New York, New York: Springer. 327–357.

American Journal of Clinical Nutrition, 73: 380-385.
22. Moussavi, M.Ph. and Adams, H. 2008. A study on the survival of probiotic Lactobacilli in tomato and orange juice. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 17: 141-142.
23. Nualkaekul, S., Salmeron, I. and Charalampopoulos, D. 2011. Survival of Lactobacillus plantarum in model solutions and fruit juice. *International Journal of Food Microbiology*, 146: 111-117.
24. Nualkaekul, S.S. and Charalampopoulos, D. 2011. Investigation of the factors influencing the survival of Bifidobacterium longum in model acidic solution and fruit juices. *Food Chemistry*, 129: 1037-1044.
25. Ouwehand, A.C. and Vaughan, E.E., 2006. The normal microbiota of the human gastrointestinal tract: history of analysis, succession, and dietary influences. In Gastrointestinal microbiology (pp. 68-90). CRC press.
26. Patel, P.J., Singh, S.K., Panaich, S. and Cardozo, 2014. The aging gut and the role of prebiotics, probiotics, and synbiotics: A review. *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics*, 5:3-6.
27. Pereira, A.L.F., Almeida, F.D.L., Jesus, A.L.T., Costa, J.M.C. and Rodrigues, S. 2013. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. *Food and Bioprocess Technology*, 6: 3155-3165.
28. Reiter, M., Stuparic, M., Neidhart, S., and Carle, R. 2003. The role of process technology of obtaining of carrot juice cloud stability. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 36: 165-172.
29. Renna, M., Pace, B., Cefola, M., Santamaria, P., Serio, F. and Gonnella, M. 2013. Comparison of two jam making methods to preserve the quality of colored carrots. *Journal of Food Science and Technology*, 53: 547-554.
30. Renuka, B., Kulkarni, S.G., Vijayanand, P. and Prapulla, S.G. 2009. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice

39. Takiishi, T., Korf, H., and Van Belle, T.L. 2012. Reversal of autoimmune diabetes by restoration of antigen specific tolerance using genetically modified Lactococcus lactis in mice. *The Journal of clinical investigation*, 122: 1717-1725.
40. Tharmaraj, N. and Shah, N. P. 2003. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and *Propionibacteria*. *Journal of Dairy Science Association*, 86: 2288-2296.
41. Aandresen, S., Quadri, M.G.N., Souzan, J.A.R. and Hotza, D. 2009. Temperature effect on the rheological behavior of carrot juice. *Journal of Food Engineering*, 92: 269-274.
42. Zhou, l., Wang, W., Hu, X., Wu, J., & Liao, X. 2009. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Journal of Innovation Food Science and Emerging Technology*, 1-7.
43. Yoon, K. Y., Woodams, E. E. and Hang, Y. D. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97(12): 1427-1430.
44. Zadernowski, R. 2003. Quality of carrot juice as conditioned by raw material and technology. *Fruit Processing*, 5: 183-191.
45. Zhou, l., Wang, W., Hu, X., Wu, J. and Liao, X. 2009. Effect of high pressure carbon dioxide on the quality of carrot juice. *Journal of Innovation Food Science and Emerging Technology*, 41: 1-7.
46. Watts, B. M., Ylimaki, G. L., Jeffery, L. E., & Elias, L. G. 1989. Basic sensory methods for food evaluation. IDRC, Ottawa, ON, CA.

(Original Research Paper)

Production and Evaluation of Some Physical,chemical and Sensory Properties of Fermented Carrot Juice Using *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* and Their Shelf Life

Mir Hasham Seyyed Ahmadi Mamaghani[1], Ainaz Alizadeh[2*], Seyyedeh Homa Fasih Nia[3]

1-M. Sc. Graduated of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2-Assistant Professor, Department of food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
3-Ph.D student of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tabriz University, Tabriz, Iran.

Received:01/05/2018 Accepted:09/04/2019

Abstract

In recent years, researches have proven to be promising for specifying and confirming the potential benefits of using probiotic and prebiotics in dairy products and beverages. The combination of probiotics and prebiotics which have synergistic effect is called ymbiotic. The aim of this study was to produce ymbiotic carrot juice. To achieve this goal, carrot juice samples containing 2% inulin as a prebiotic substance was pasteurized at 90 °C for 4 minutes and fermented at 30 °C by adding two probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*, both individually and in combination. Probiotic bacterial count, pH, acidity, brix, viscosity tests during 45 days of storage and sensory evaluation on the seventh day were performed. The results showed the significant effect of bacterial type and time on the viability of probiotic bacteria, pH, acidity and brix of the samples ($P < 0.05$). The samples containing the combination of two probiotic bacteria had a higher number of bacteria (14.49 ± 0.38 log cfu/ml) and the number of probiotic bacteria decreased over time. With increasing time, the pH of all samples decreased, which was more evident in *Lactobacillus casei*, but the acidity of them increased ($P < 0.05$). The brix of combined bacteria samples was lower than others while the effect of the bacterial species on the viscosity of samples was not significant ($P > 0.05$). Over time, brix and viscosity showed a decreasing trend. The effect of bacterial type and their application on sensory properties was not significant ($P > 0.05$). In general, ymbiotic carrot juice containing the combination of two mentioned probiotic bacteria with maximum survival of probiotic bacteria ($\geq 10^7$) and maintaining other chemical, physical and sensory properties was proposed as a functional product for use in consumer diets.

Keywords: Carrot juice, Inulin, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, Synbiotic.

*Corresponding Author: A.Alizadeh@iaut.ac.ir