تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک

Production of Probiotic Fermented Beverage Based on Mixture of Sweet Cherry, Red

مهدیه سادات آذرفام[۱]، مهناز هاشمی روان[۲*]، سیمین اسدالهی[۲]

دریافت: ۹۹/۱۲/۱۲ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۲۵

چکیده

در حال حاضر اغلب فرآورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک تشکیل می‌دهند، اما در سال‌های اخیر، تقاضا برای محصولات پروبیوتیکی بر پایه محصولات غیر لبنی افزایش‌یافته است. هدف از این مطالعه تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک با غلظت‌های ۲/۵، ۳/۷۵، ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد و باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* با غلظت 10^8 *cfu/mL* و 10^7 طی ۲۸ روز نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس بود. ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نمونه‌ها در زمان تولید، هفته اول، دوم، سوم و هفته چهارم مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل نتایج از آزمون‌های واریانس (ANOVA) و چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری pH، بریکس، قند احیاء و زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک کاهش و اسیدیته نوشیدنی طی دوره نگهداری افزایش معنی‌داری یافت ($p\leq 0/05$). بیشترین زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک پس از 28 روز نگهداری متعلق به تیمار B_1A_2 (حاوی ۱۰ درصد آب گیلاس، پنج درصد آب انگور و پنج درصد آب زرشک با غلظت 10^8 *cfu/mL*) بود. نتایج ارزیابی حسی در تمامی دوره‌های نگهداری با افزایش زمان کاهش یافت همچنین پس از ۲۸ روز نگهداری بیشترین امتیاز پذیرش کلی متعلق به تیمار B_1A_2 (حاوی ۱۰ درصد آب گیلاس، پنج درصد آب انگور و پنج درصد آب زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) بود و با توجه به بیشترین جمعیت باکتری پروبیوتیک به‌عنوان تیمار برتر معرفی گردید.

کلمات کلیدی: گیلاس، انگور قرمززرشک، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس کازئی*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، ایران

۲– استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات : m_hashemiravan@yahoo.com

مقدمه

غذاهایی که سبب بهبود سلامتی شده و مواد مغذی ضروری بدن را تأمین می‌کنند غذاهای فراسودمند نامیده می‌شوند (Ferrari, 2007). بر اساس تعریف، پروبیوتیک‌ها به‌صورت میکروارگانیسم‌های زنده‌ای تعریف می‌شوند که وقتی در مقادیر مناسب در دستگاه گوارش وجود داشته باشند تأثیرات سودمندی بر میزبان برجای می‌گذارند (لطفی و همکاران، ۱۳۸۸). غذاهای پروبیوتیک صنعتی فعلی اساساً محصولات لبنی است اما عدم تحمل لاکتوز و میزان کلسترول این نوع فرآورده دو عیب عمده آن به شمار می‌آیند که این موضوع سبب محدودیت مصرف آن‌ها توسط بخشی از مردم شده است. درنتیجه در سال‌های اخیر تقاضای مصرف‌کنندگان برای محصولات غیر لبنی پروبیوتیک افزایش‌یافته است (Moraru *et al*., 2007). *لاکتوباسیلوس کازئی* یکی از انواع پروبیوتیک‌ها است و زنده‌مانی این باکتری بیشتر از سایر گونه‌ها است. *لاکتوباسیلوس کازئی* یک باکتری گرم مثبت، مزوفیل تخمیرگر غیریکسان اختیاری، میکرو آئروفیل، کاتالاز منفی و فاقد اسپور بوده و ظرفیت بالایی در تولید اسید دارد. در مطالعات متعدد اثرات سودمند آن ازجمله مقاومت به اسید معده و نمک‌های صفراوی، قدرت چسبندگی به سلول‌های مخاط روده، مهار فعالیت باکتری‌ها و تولید مواد ضد میکروبی به اثبات رسیده است. مصرف گونه‌های لاکتوباسیلوس نظیر *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای اثرات سلامتی بخشی نظیر کمک به هضم لاکتوز، کنترل کلسترول سرم خون، کنترل سرطان و یا بیماری‌های عفونی دستگاه گوارش است (Goktepe *et al*., 2005).

آب‌میوه‌ها سوبسترای مناسبی جهت پروبیوتیک‌ها بوده، ضمن اینکه غنی از مواد مغذی هستند. آب‌میوه‌ها حاوی مقادیر زیادی قند هستند که رشد پروبیوتیک‌ها را تشدید می‌کنند و به دلیل وجود داشتن اسیدها در میوه‌ها مسیر تولید می‌تواند بی‌هوازی باشند (Bolognani and Rowland, 1997; Gomes and Malcata, 1999).

گیلاس با نام علمی *Prunus avium L* ازجمله گیاهانی است که کشت آن از قدیم در ایران متداول بوده است. این میوه متعلق به جنس آلوسانان (*Prunus*) و تیره گلسرخیان (*Rosaceae*) می‌باشد. گیلاس یکی از منابع سرشار از آنتوسیانین‌ها(Anthocyanin) می‌باشد و از خطر ابتلا به عوارض قلبی و چاقی مفرط جلوگیری کند (تحسینی و همکاران، ۱۳۷۸). انگور گیاهی از خانواده Vitaceae است که منشأ آن در شمال غربی ایران است. دانه انگور منبع غنی از بیوفلاوونوئیدها و پروآنتوسیانیدین بوده که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی تا چندین برابر ویتامین C و E است. ترکیبات مختلف موجود در عصاره هسته انگور نظیر پلی فنول‌های موجود در عصاره هسته انگور که شامل فلاوونوئیدها، اسید گالیک، مونومریک فلاوان-3 کاتچین، اپی کاتچین 3-گالیت و دی مریک و پلی مریک پرو آنتروسیانیدین از عوامل مؤثر در بالا بردن دفاع آنتی اکسیدانی بوده که مؤثرترین ترکیب آنتی اکسیدانی آن می‌باشد (Kalin *et al.,* 2002).

زرشک‌ها گروه بزرگی از درختچه‌های خاردار همیشه سبز هستند که قسمت‌های مختلف آن‌ها شامل ریشه، برگ، پوست و میوه از گذشته‌های دور در ایران به‌عنوان دارو استفاده می‌شده است. زرشک دارای ترکیبات زیست فعال با اثرات درمانی می‌باشد و می‌توان از آن‌ها به‌طور گسترده‌ای در صنایع غذایی و دارویی استفاده کرد. میوه زرشک دارای حدود چهار درصد مواد قندی، ۶۵ درصد اسید مالیک و اسید تارتاریک و مقداری صمغ می‌باشد. زرشک تازه به رنگ قرمز روشن، گوشتی، بیضوی شکل و دارای طعمی ترش است (Kim and Toledo, 1987).

در زمینه تولید آبمیوه پروبیوتیک تحقیقات زیادی انجام‌شده است به‌عنوان نمونه رئیسی و همکاران (۱۳۹۰)، در مطالعه‌ای به تولید نوشیدنی انگور فراسودمند با استفاده از عصاره سبوس برنج پرداختند نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش میزان عصاره در فرمولاسیون ویژگی‌هایی چون خاکستر کل، ماده خشک، بریکس، اسیدیته، درصد رطوبت و میزان کدورت افزایش می‌یابد و ویسکوزیته و pH نمونه‌ها کاهش می‌یابد. شیشه و همکاران (۱۳۹۳)، تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب زرشک و آلبالو با استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک شامل *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* را مورد بررسی قرار داد. نتایج این پژوهش نشان داد که مخلوط آب زرشک و آلبالو به همراه ۲ /۰درصد پودر آب‌پنیر محیط مناسبی برای رشد باکتری‌های اسیدلاکتیک و تولید نوشیدنی فراسودمند می‌باشد. نظریان و همکاران (۱۳۹۲)، به بررسی خصوصیات تغذیه‌ای و ارگانولپتیکی نوشیدنی گیاهی شیر سویا محتوی آبمیوه‌ی آلبالو-زرشک پرداختند. نتایج نشان داد افزودن آبمیوه‌ی آلبالو زرشک به نوشیدنی شیر سویا باعث افزایش چشمگیر در خواص تغذیه‌ای آن در مقایسه با تیمار شاهد می‌شود. همچنین ارزیابی حسی به روش هدونیک پنج نقطه حاکی از آن بود که افزودن آبمیوه‌ی آلبالو- زرشک به شیر سویا علی‌رغم افزایش خواص تغذیه‌ای اثر چشمگیری بر روی بهبود طعم، بو، بافت، آروما و پذیرش کلی فرمولاسیون‌ها دارد.

موسوی و همکاران (۱۳۹۰) تولید آب انار پروبیوتیکی با استفاده از چهار گونه باکتری *اسیدلاکتیک* را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که دو گونه *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* باعث تغییرات بیشتری در مقایسه با دو گونه دیگر شده‌اند. همچنین اسیدسیتریک به‌عنوان اسید آلی در آب انار محیط مناسبی برای تولید یک نوشیدنی پروبیوتیکی تخمیری بود (Mousavi *et al*., 2011).

زندی و همکاران (۱۳۹۵) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج و چغندر قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که مخلوط آب سیب، هویج و چغندر قرمز محیط مناسبی برای زنده‌مانی باکتری‌های اسیدلاکتیک و تولید نوشیدنی فراسودمند می‌باشد (Zandi *et al*., 2016).

در این پژوهش هدف تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بود.

مواد و روش کار

تهیه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک

آبمیوه‌های انگور قرمز و زرشک از شرکت خوشه سرخ شرق تهیه گردید و برای تهیه آبمیوه گیلاس: ابتدا گیلاس تهیه‌شده به‌صورت کامل شسته شد و پس از جدا کردن هسته گیلاس، به‌وسیله دستگاه آبمیوه گیری طی دو مرحله آبگیری و سپس توسط تنظیف صاف شد. همچنین قبل از تلقیح باکتری به آبمیوه پاستوریزاسیون در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد و پس از سرد شدن به‌منظور جهت انجام آزمون‌ها در فریزر در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شدند (علوی لواسانی، ۱۳۹۱).

لیست تیمارهای تحقیق در جدول زیر نمایش داده‌شده است:

جدول ۱- لیست تیمارهای تحقیق

Table 1. Treatment rsearch List

تراکم باکتری (*Cfu/ml*) Bacterial density (Cfu / ml)	غلظت آب زرشک (درصد) Barberry water concentration (percentage)	غلظت آب انگور قرمز (درصد) Red grape juice concentration (percentage)	غلظت آب گیلاس (درصد) Cherry juice concentration (percent)	تیمارها Treatments
10^7	5	5	10	A_1B_1
10^8	5	5	10	A_1B_2
10^7	2/5	2/5	15	A_2B_1
10^8	2/5	2/5	15	A_2B_2
-	3/75	3/75	12/5	A_1B_1

آزمون‌ها

جهت اندازه‌گیری pH از روش پتانسیومتری و دستگاه pH متر استفاده شد. جهت اندازه‌گیری اسیدیته از تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد همچنین برای اندازه‌گیری بریکس از دستگاه رفراکتومتر دیجیتالی استفاده شد برای اندازه‌گیری قند احیاء از محلول فهلینگ و رابطه یک استفاده شد :

$$M=\frac{F\times100\times100}{V\times25}$$

رابطه (1)

M= مقدار قندهای احیاء کننده (قند قبل از هیدرولیز) گرم درصد میلی‌لیتر

F= فاکتور فهلینگ

V= حجم مصرفی محلول الف خنثی‌شده (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

جهت شمارش سلول‌های میکروبی زنده از روش رقت سازی دهگانی و پورپلیت طبق روش SPC[1] استفاده و تعداد کلنی‌ها از رابطه (2) محاسبه شد (Vinderola and Reinheimer, 2000) :

تعداد کلنی * عکس فاکتور رقت = تعداد کلنی در هر میلی‌لیتر (*cfu/ml*)

رابطه (2)

درنهایت جهت ارزیابی حسی در هفته‌های اول، دوم، سوم و چهارم نگهداری از ۱۰ ارزیاب آموزش‌دیده شاخص‌های طعم و مزه، عطر و بو، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت و پذیرش کلی به روش هدونیک ۱۰ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت همچنین نمونه‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد در بسته‌بندی‌های شیشه‌ای نگهداری شدند (Luckow *et al*., 2004).

آنالیز آماری

آزمایش بر مبنای یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این تحقیق چهار تیمار به همراه یک تیمار شاهد و در سه تکرار اندازه‌گیری مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی داده‌ها از نرم‌افزار SPSS و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون‌های واریانس (ANOVA) و چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۹۵ درصد استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

[1] Standard Plate Count

نتایج

pH و اسیدیته

با توجه به جداول دو و سه نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا هفته چهارم نگهداری، pH نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش و اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت ($p\leq0/05$).

جدول ۲- مقایسه میانگین pH نمونه‌های نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک طی ۲۸ روز نگهداری

Table 2. Comparison of mean pH of probiotic fermented beverage samples based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice during 28 days of storage

روز ۲۸ Day28	روز ۲۱ Day21	روز ۱۴ Day14	روز ۷ Day7	روز ۱ Day1	تیمار Retreatment
3/17±0/06Cd	3/19±0/02Cd	3/36±0/09Bd	3/71±0/22Ad	3/81±0/08Ad	A_1B_1
3/12±0/23Ce	3/15±0/16Ce	3/32±0/11Be	3/66±0/04Ae	3/76±0/14Ae	A_1B_2
3/33±0/11Ca	3/44±0/72Ca	3/52±0/51Ba	4/54±0/10Ab	4/62±0/05Ab	A_2B_1
3/27±0/32Cc	3/39±0/14Cb	3/47±0/03Bb	4/88±0/22Aa	4/93±0/03Aa	A_2B_2
3/30±0/05Cb	3/37±0/07Cc	3/46±0/31Bc	3/91±0/03Ac	4/08±0/11Ac	C(شاهد) control

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین تیمارهاست

حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین زمان‌هاست

Lowercase letters in each row indicate significance between treatments
Capital letters in each column indicate a significant interval between times

جدول ۳- مقایسه میانگین اسیدیته نمونه‌های نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک طی ۲۸ روز نگهداری.

Table 3. Comparison of the average acidity of probiotic fermented beverage samples based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice during 28 days of storage.

روز ۲۸ Day28	روز ۲۱ Day21	روز ۱۴ Day14	روز ۷ Day7	روز ۱ Day1	تیمار Retreatment
0/81±0/01^{Aa}	0/75±0/02^{Ba}	0/69±0/03^{Ca}	0/59±0/07Da	0/49±0/02^{Ea}	A_1B_1
0/78±0/02^{Ab}	0/74±0/01^{Ab}	0/68±0/02^{Bb}	0/58±0/06^{Cb}	0/48±0/01^{Db}	A_1B_2
0/54±0/04^{Ae}	0/51±0/03^{Ae}	0/49±0/01^{Ad}	0/39±0/04^{Be}	0/30±0/03^{Cd}	A_2B_1
0/71±0/05^{Ac}	0/59±0/09^{Bd}	0/57±0/06^{Bc}	0/54±0/01^{Bc}	0/47±0/05^{Cb}	A_2B_2
0/67±0/06^{Ad}	0/62±0/03^{Ac}	0/58±0/05^{Bc}	0/53±0/08^{Bd}	0/43±0/07^{Cc}	C(شاهد)

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین تیمارهاست

حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین زمان‌هاست

Lowercase letters in each row indicate significance between treatments
Capital letters in each column indicate a significant interval between times

بریکس

مطابق با نتایج ارائه‌شده در جدول چهار نوع تیمار و زمان نگهداری اثر کاملاً معنی‌داری بر بریکس نوشیدنی داشت ($p<0/01$). به‌عبارت‌دیگر با افزایش زمان نگهداری بریکس نمونه‌ها از روز اول تا هفته چهارم نگهداری، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p\leq0/05$).

جدول ۴- مقایسه میانگین بریکس نمونه‌های نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک طی ۲۸ روز نگهداری.

Table 4. Comparison of the average brix of probiotic fermented beverage samples based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice during 28 days of storage.

روز ۲۸ Day28	روز۲۱ Day21	روز ۱۴ Day14	روز۷ Day7	روز۱ Day1	تیمار Retreatment
$6/75\pm0/22^{Db}$	$7/50\pm0/13^{Cb}$	$7/75\pm0/76^{Cb}$	$9/50\pm0/12^{Bb}$	$10/50\pm0/43^{Aa}$	A_1B_1
$7/16\pm0/10^{Da}$	$7/89\pm0/09^{Ca}$	$8/00\pm0/32^{Ca}$	$9/76\pm0/71^{Ba}$	$10/51\pm0/25^{Aa}$	A_1B_2
$4/01\pm0/07^{De}$	$4/29\pm0/16^{Ce}$	$4/75\pm0/64^{Ce}$	$5/55\pm0/33^{Be}$	$6/12\pm0/08^{Ad}$	A_2B_1
$5/05\pm0/11^{Cd}$	$5/18\pm0/33^{Cd}$	$5/75\pm0/40^{Cd}$	$6/00\pm0/05^{Bd}$	$7/03\pm0/31^{Ac}$	A_2B_2
$6/00\pm0/18^{Dc}$	$6/75\pm0/09^{Cc}$	$6/90\pm0/53^{Cc}$	$7/29\pm0/44^{Bc}$	$8/75\pm0/49^{Ab}$	C(شاهد)

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین تیمارهاست

حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین زمان‌هاست

Lowercase letters in each row indicate significance between treatments
Capital letters in each column indicate a significant interval between times

قند احیاء کننده

بر اساس نتایج جدول پنج غلظت آبمیوه‌های گیلاس، انگور قرمز و زرشک، تراکم باکتری و زمان نگهداری تأثیر کاملاً معنی‌داری بر قند احیاء کننده نوشیدنی داشتند ($p<0/01$). با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا هفته چهارم نگهداری،

قند احیاء کننده نوشیدنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p\leq0/05$).

شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

مطابق با نتایج ارائه‌شده در جدول شش غلظت آبمیوه‌های گیلاس، انگور قرمز و زرشک، غلظت باکتری و زمان نگهداری تأثیر کاملاً معنی‌داری بر شمارش باکتری نوشیدنی داشتند ($p<0/01$). با افزایش زمان نگهداری از روز اول تا هفته چهارم نگهداری، شمارش باکتری نوشیدنی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p\leq0/05$).

ارزیابی حسی

با توجه به نتایج ارائه‌شده در نمودارهای یک، دو، سه، چهار و پنج میانگین مجذورات ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک، غلظت آبمیوه‌های گیلاس، انگور قرمز و زرشک بر ارزیابی حسی مزه، بو،

شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت و پذیرش کلی در لحظه تولید، هفته‌های اول، دوم، سوم و چهارم نگهداری تأثیر کاملاً معنی‌داری داشت ($p<0/01$).

نتایج نشان دادند که غلظت باکتری بر ارزیابی حسی مزه، بو، غلظت، شیرینی، طبیعی بودن و پذیرش کلی تأثیر کاملاً معنی‌داری داشت ($p<0/01$) اما غلظت باکتری بر ارزیابی حسی ترشی، رنگ و ظاهر اثر معنی‌دار نداشت($p>0/05$).

جدول ۵- مقایسه میانگین قند احیاء کننده نمونه‌های نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک طی ۲۸ روز نگهداری

Table 6. Comparison of mean reducing sugar of probiotic fermented beverage samples based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice during 28 days of storage

روز ۲۸ Day28	روز۲۱ Day21	روز ۱۴ Day14	روز۷ Day7	روز۱ Day1	تیمار Retreatment
$25/04\pm0/07^{Ce}$	$26/87\pm0/11^{Ce}$	$27/96\pm0/06^{Ce}$	$43/46\pm0/76^{Be}$	$53/56\pm0/12^{Ad}$	A_1B_1
$27/46\pm0/32^{Cc}$	$29/72\pm0/76^{Cd}$	$30/81\pm0/22^{Cd}$	$53/50\pm0/13^{Bb}$	$63/60\pm0/24^{Ab}$	A_1B_2
$34/36\pm0/65^{Db}$	$39/38\pm0/34^{Ca}$	$40/34\pm0/18^{Ca}$	$51/16\pm0/08^{Bc}$	$61/06\pm0/17^{Ac}$	A_2B_1
$27/00\pm0/45^{Cd}$	$30/87\pm0/30^{Cc}$	$31/99\pm0/36^{Cc}$	$58/62\pm0/15^{Ba}$	$68/82\pm0/65^{Aa}$	A_2B_2
$35/44\pm0/20^{Ca}$	$36/15\pm0/09^{Cb}$	$37/28\pm0/12^{Cb}$	$43/79\pm0/38^{Bd}$	$52/89\pm0/32^{Ae}$	C(شاهد)

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین تیمارهاست

حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین زمان‌هاست

Lowercase letters in each row indicate significance between treatments
Capital letters in each column indicate a significant interval between times

جدول ۶- میانگین شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* (cfu/mL) طی ۲۸ روز نگهداری در دمای۱۸- درجه سانتی‌گراد

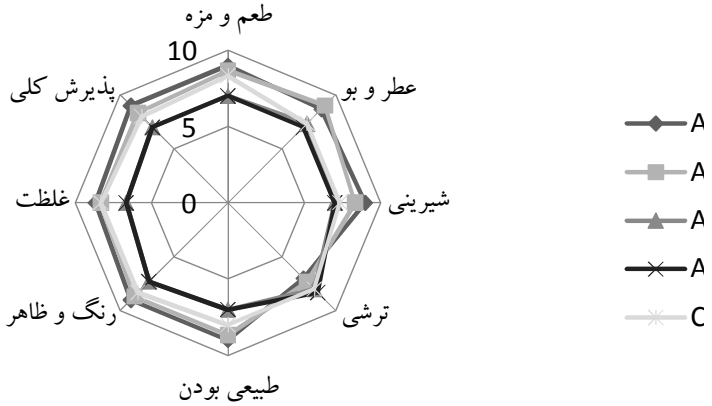
Table 6. Mean count of Lactobacillus casei (cfu / mL) during 28 days of storage at -18 ° C

روز ۲۸ Day28	روز۲۱ Day21	روز ۱۴ Day14	روز۷ Day7	روز۱ Day1	تیمار Retreatment
$5/67\pm0/02^{Ed}$	$5/77\pm0/01^{Dd}$	$6/71\pm0/09^{Cc}$	$7/12\pm0/02^{Bc}$	$8/02\pm0/04^{Ac}$	A_1B_1
$6/15\pm0/03^{Ea}$	$7/54\pm0/06^{Da}$	$7/64\pm0/04^{Ca}$	$7/75\pm0/03^{Bb}$	$8/95\pm0/01^{Ab}$	A_1B_2
$5/97\pm0/09^{Eb}$	$6/07\pm0/08^{Dc}$	$6/37\pm0/02^{Cd}$	$6/86\pm0/01^{Bd}$	$7/96\pm0/09^{Ad}$	A_2B_1
$5/90\pm0/12^{Ec}$	$6/83\pm0/02^{Db}$	$6/93\pm0/03^{Cb}$	$8/21\pm0/05^{Ba}$	$9/11\pm0/07^{Aa}$	A_2B_2

حروف کوچک در هر ردیف نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین تیمارهاست

حروف بزرگ در هر ستون نشان‌دهنده‌ی معنی‌داری بین زمان‌هاست

Lowercase letters in each row indicate significance between treatments
Capital letters in each column indicate a significant interval between times



نمودار ۱- ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک روز اول نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد

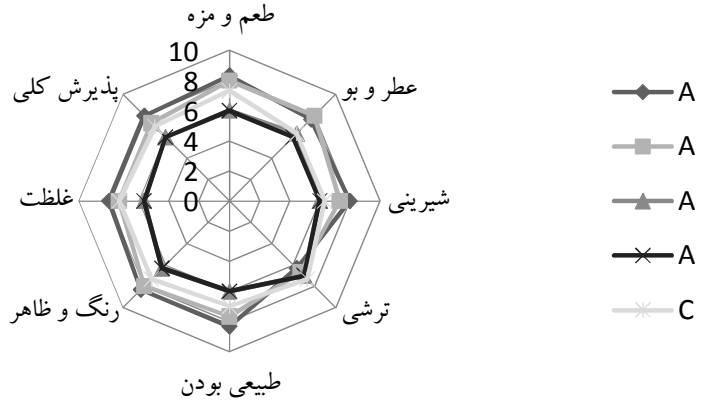
A_1B_1: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵ درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، A_1B_2: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس کازئی; A_2B_1 ۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، A_2B_2: ۱۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، C ۱۲/۵ درصد گیلاس، ۳/۷۵ درصد انگور، ۳/۷۵ درصد زرشک، بدون تلقیح باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

Fig.1. Sensory evaluation of probiotic fermented beverage based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice on the first day of storage at -18 °

A1B1: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A1B2: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 108 Lactobacillus casei;

A2B1: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A2B2: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 108 Lactobacillus casei;

C: 12.5% cherries, 3.75% grapes, 3.75% barberry, without inoculation of Lactobacillus casei



نمودار ۲- ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک روز هفتم نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد

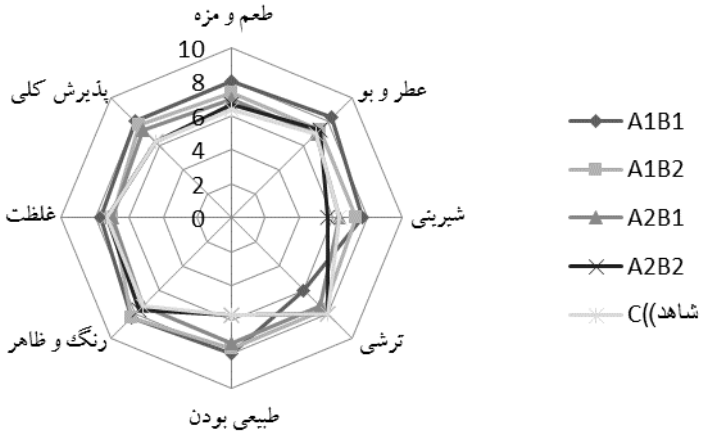
A_1B_1: ۱۰درصد گیلاس،۵درصدانگور، ۵درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_1B_2: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*،

A_2B_1: ۱۵درصد گیلاس، ۲/۵درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک،10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_2B_2: ۱۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*،

C: ۱۲/۵ درصد گیلاس، ۳/۷۵ درصد انگور، ۳/۷۵ درصد زرشک، بدون تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

Fig. 2. Sensory evaluation of probiotic fermented beverage based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice on the seventh day of storage at -18 ° C;A1B1: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 107

Lactobacillus casei; A1B2: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 108 Lactobacillus casei;A2B1: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A2B2: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 108 Lactobacillus casei;C: 12.5% cherries, 3.75% grapes, 3.75% barberry, without inoculation of Lactobacillus casei



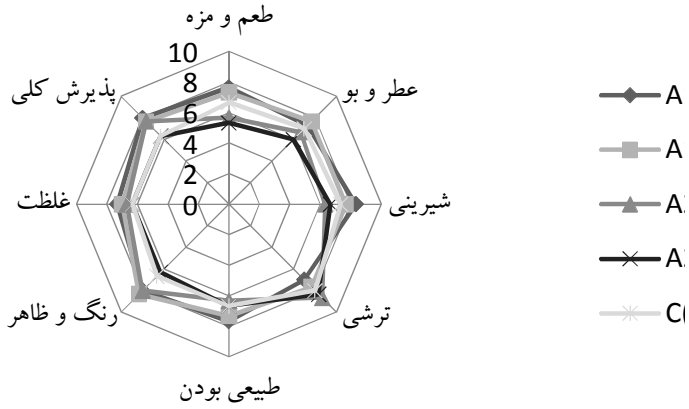
نمودار ۳- ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک روز چهاردهم نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد

A_1B_1: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_1B_2: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصدانگور، ۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*؛

A_2B_1: ۱۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور،۲/۵ درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_2B_2:۱۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*؛

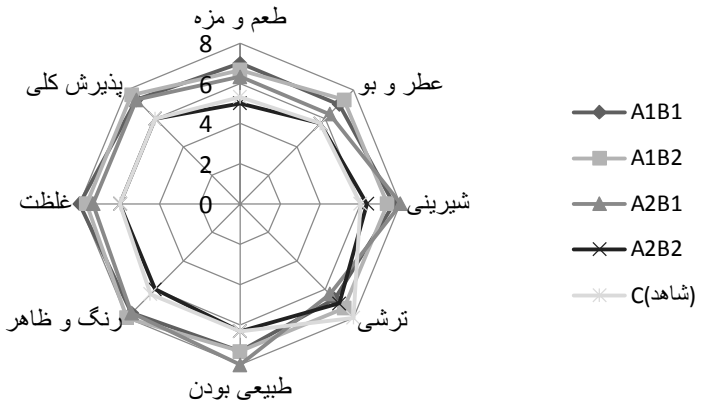
C: ۱۲/۵ درصد گیلاس، ۳/۷۵ درصد انگور، ۳/۷۵ درصد زرشک، بدون تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

Fig. 3. Sensory evaluation of probiotic fermented beverage based on a mixture of cherry, red grape and barberry juice on the seventh day of storage at A1B1: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 107 Lactobacillus 18C A2B1: 15% cherry, 2.5% ;casei; A1B2: 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 108 Lactobacillus casei grapefruit, 2.5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A2B2: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 108 C: 12.5% cherries, 3.75% grapes, 3.75% barberry, without inoculation of Lactobacillus casei;Lactobacillus casei



نمودار ۴- ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک روز بیست و یکم نگهداری در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد

Fig.4. Sensory evaluation of probiotic fermented beverage based on a mixture of cherry juice, red grapes and barberry on the 21st day of storage at -18 ° C



نمودار ۵- ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب گیلاس، انگور قرمز و زرشک روز بیست و هشتم نگهداری در دمای 18 درجه سانتی‌گراد.A_1B_1: ۱۰ درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵ درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_1B_2: ۱۰درصد گیلاس، ۵ درصد انگور، ۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، A_2B_1 ۱۵درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^7 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*؛A_2B_2: ۱۵ درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور، ۲/۵ درصد زرشک، 10^8 تراکم باکتری لاکتوباسیلوس *کازئی*، C ۱۲/۵ درصد گیلاس، ۳/۷۵ درصد انگور، ۳/۷۵ درصد زرشک، بدون تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

Fig.5. Sensory evaluation of probiotic fermented beverage based on a mixture of cherry juice, red grapes and barberry on the 28th day of storage at 18 ° C. A1B1 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A1B2: without inoculation of Lactobacillus casei 10% cherries, 5% grapes, 5% barberry, 108 Lactobacillus casei; A2B1 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 107 Lactobacillus casei; A2B2: 15% cherry, 2.5% grapefruit, 2.5% barberry, 108 Lactobacillus casei; C 12.5% cherries, 3.75% grapes, 3.75% barberry,

بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات pH و اسیدیته

مطابق با نتایج نسبت باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار pH و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک داشت ($p<0/05$) به‌طوری‌که با افزایش غلظت باکتری و زمان نگهداری، pH نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌دار کاهش و اسیدیته آن افزایش یافت ($p\leq0/05$). دلیل این امر می‌تواند مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری *لاکتوباسیوس کازئی* باشد (Kun *et al.*, 2008).

مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۳۷ (نوشیدنی‌های میوه‌ای (بدون گاز)) محدوده مجاز تعریف‌شده برای شاخص pH بین ۴-۲ و برای اسیدیته بین ۰/۸-۰/۲۸ می‌باشد و با توجه به نتایج این تحقیق مقدار pH تمامی نمونه‌ها پس از ۲۸ روز نگهداری در محدوده تعیین‌شده در استاندارد قرار داشت و برای شاخص اسیدیته به غیر از تیمار A_1B_1 (۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور قرمز، پنج درصد زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) سایر تیمارها در محدوده مجاز قرار داشت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۴).

بابایی و همکاران (۱۳۹۷)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه‌فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه‌ای، کرفس و گشنیز را با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش تراکم باکتری‌ها و زمان نگهداری pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش و اسیدیته نوشیدنی افزایش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت.

قضاوی و همکاران (۱۳۹۵)، تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب زرد و قرمز و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را در دمای چهار درجه سلسیوس برای 22 روز نگهداری را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش زمان نگهداری pH نوشیدنی پروبیوتیک کاهش و اسیدیته آن افزایش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت.

اکسیری و همکاران (۲۰۱۷)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره‌های بیدمشک و گل گاوزبان را مورد بررسی قرار دادند. پروبیوتیک‌های مورداستفاده در این تحقیق *لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بودند. نتایج اندازه‌گیری ویژگی pH با نتایج این تحقیق یکسان بوده و نشان داد با افزایش زمان نگهداری شاخص pH برای تمامی نمونه‌ها روند کاهشی داشت. شیشه و همکاران (۲۰۱۴)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب زرشک و گیلاس را با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی* طی ۲۸ روز نگهداری در چهار درجه سلسیوس بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد مقدار pH نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری کاهش و اسیدیته نمونه‌ها افزایش معنی‌داری یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

بریکس

مطابق با نتایج با افزایش تراکم باکتری و نسبت‌های مختلف مخلوط آبمیوه‌ها، بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌دار کاهش یافت ($p\leq0/05$). طبق نتایج به‌دست‌آمده مشخص شد که رشد باکتری کاهش بریکس را طی تخمیر و طی دوره نگهداری به دنبال داشته است علت اصلی این امر، مربوط به مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی می‌باشد.

مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۸۳۷ (نوشیدنی‌های میوه‌ای(بدون گاز)) محدوده مجاز تعریف‌شده برای شاخص بریکس کمتر از ۱۰ می‌باشد و با توجه به نتایج این تحقیق مقدار بریکس تمامی نمونه‌ها پس از ۲۸ روز نگهداری در محدوده تعیین‌شده در استاندارد قرار داشت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۴).

بابایی و همکاران (۱۳۹۷)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب سبزیجات را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش غلظت باکتری‌ها و زمان نگهداری، pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

یحیی و همکاران (۲۰۱۵)، در بررسی امکان تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب‌میوه‌جات قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*، فاکتور بریکس در زمان‌های بعد از تخمیر و در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس بررسی گردید. نتایج نشان داد میزان قندهای احیاء کننده و بریکس همانند نتایج این مطالعه کاهش یافت.

زندی و همکاران (۲۰۱۶)، تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز را با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی بررسی نمودند. فاکتور بریکس در زمان‌های بعد از تخمیر (فرآیند تخمیر به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس) و در طی 28 روز نگهداری و در دمای چهار درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت و مقدار بریکس کاهش یافت.

قند احیاء

طبق نتایج تراکم، زمان نگهداری و نسبت‌های مختلف آبمیوه اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار قند احیاء نوشیدنی پروبیوتیک داشت. به‌عبارت‌دیگر با افزایش زمان نگهداری مقدار قند احیاء نوشیدنی کاهش یافت.

بیشترین کاهش قند احیاء (25/04 *gr/100gr*) پس از ۲۸ روز نگهداری متعلق به تیمار A_1B_1 (حاوی ۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور و پنج درصد زرشک با تراکم 10^7 *cfu/mL*) بود و بالاترین مقدار قند احیاء (*gr/100gr* 36/34) بعد از نمونه شاهد متعلق به تیمار A_2B_1 (حاوی 15 درصد گیلاس، ۲/۵ درصد انگور و ۲/۵ درصد زرشک با تراکم 10^7*cfu/mL*) بود.

دلیل کاهش قند در تیمار A_1B_1 پس از ۲۸ روز نگهداری می‌تواند به دلیل مقدار کم قند در این تیمار به دلیل کمتر بودن مخلوط آبمیوه و همچنین مصرف آن توسط باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* طی دوره نگهداری باشد.

توتونچی و همکاران (۱۳۹۴)، امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی* 431 و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* La-5 را طی چهار هفته نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل با افزایش زمان نگهداری کاهش پیدا کرد. سهراب وندی و همکاران (۱۳۹۴)، اثر برخی پری‌بیوتیک‌ها را بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب‌پرتقال رژیمی را بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل نمونه‌ها طی نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. اکسیری و همکاران (۲۰۱۷)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره‌های بیدمشک و گل گاوزبان مورد بررسی قرار دادند. نتایج اندازه‌گیری گلوکز نشان داد طی ۲۸ روز نگهداری مقدار این ماده در تمامی تیمارها کاهش یافت و دلیل این امر مصرف این قند توسط باکتری‌های پروبیوتیک ارزیابی شد.

زندی و همکاران (۱۳۹۵)، در مطالعه‌ای تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و ترکیبی از آب‌میوه‌های سیب، چغندر و هویج را طی 28 روز نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس بررسی کردند. نتایج نشان داد بریکس و قند نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری به دلیل رشد و مصرف قندها توسط باکتری‌ها کاهش یافت و با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

یحیی و همکاران (۱۳۹۴)، در مطالعه‌ای تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آبمیوه‌جات قرمز و عصاره مالت را بررسی کردند. در این مطالعه از آب‌میوه‌های سیب، انار، انگور قرمز، زغال‌اخته، تمشک و انگور فرنگی سیاه با استفاده از باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی استفاده شد. نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری مقدار pH و قندهای احیاء کاهش یافت. شیشه و همکاران (۱۳۹۳)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب زرشک و گیلاس را با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد مقدار قند احیاء در تمامی نمونه‌ها پس از ۷۲ ساعت تخمیر کاهش یافت. دلیل این کاهش رشد باکتری و تولید اسیدهای آلی بود. نتایج مطالعات فوق با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

تغییرات رشد باکتری‌های پروبیوتیک

مطابق با نتایج با افزایش زمان نگهداری از لحظه تولید تا ۲۸ روز نگهداری شمارش باکتری‌های پروبیوتیک کاهش معنی‌داری یافت. بنابراین زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک از لحظه تولید تا ۲۸ روز نگهداری روند کاهشی داشته است. یکی از دلایلی که می‌تواند باعث عدم زنده‌مانی باکتری شده باشد اسیدیته بالای مخلوط آب‌میوه باشد لذا با توجه به مقدار کمتر مخلوط آبمیوه‌ها در تیمار A_1B_2 (حاوی ۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور و پنج درصد زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) و تراکم بیشتر آن نسبت به سایر تیمارها و مخصوصاً تیمار A_1B_1 بیشترین زنده‌مانی در این تیمار مشاهده شد همچنین باگذشت زمان نگهداری تولید متابولیت‌هایی چون اسیدهای آلی و کمبود مواد قندی می‌تواند باعث افزایش مرگ باکتری‌ها شود.

طبق گزارش سازمان جهانی غذا و کشاورزی (FAO[1]) محصول پروبیوتیک محصولی است که در لحظه مصرف دارای حداقل 10^6 *cfu/mL* میکروارگانیسم زنده پروبیوتیک باشد و مطابق با نتایج این تحقیق تنها تیمار A_1B_2 (حاوی ۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور و پنج درصد زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) دارای جمعیت میکروبی پروبیوتیک بالاتر از حد استاندارد تعریف‌شده بود.

بابایی و همکاران (۱۳۹۷) تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب سبزیجات را بررسی کردند. نتایج نشان داد نوع و نسبت باکتری‌ها اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار شمارش باکتری‌های پروبیوتیک داشت و تا دو هفته پس از نگهداری شاهد افزایش تعداد باکتری و پس‌ازآن تعداد باکتری‌ها کاهش یافت نتایج این مطالعه در هفته‌های سوم و چهارم با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

حسینی، (۱۳۹۴) در تحقیقی تولید صنعتی آبمیوه‌هایی مانند آب آلبالو و آب سیب سین‌بیوتیک را با استفاده از تلقیح باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* و اینولین را مورد بررسی قرار دادند. از نتایج آنالیز حسی و ویژگی های فیزیکوشیمیایی مشخص شد که حداکثر زمان نگهداری این محصولات یک ماه می‌باشد و نمونه‌هایی را که حاوی میکروارگانیسم‌های انکپسوله می‌باشند زمان نگهداری و خواص ارگانولپتیکی بهتری نسبت به بقیه دارا بودند. همچنین در میوه های اسیدی این زمان کمتر می‌شود که از روز بیست و یکم به بعد آنالیز فیزیکوشیمیایی و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آبمیوه تغییرات محسوسی می‌یابد.

اکسیری و همکاران (۱۳۹۶)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره‌های بیدمشک و گل گاوزبان را مورد بررسی قرار دادند. نتایج شمارش باکتری‌های پروبیوتیک نشان داد تیمار حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای بیشترین جمعیت پروبیوتیک بود و دلیل این امر مقاومت بیشتر باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* نسبت به گونه دیگر بود.

گیلهرمی و همکاران (۱۳۹۶)، تأثیر الیگوفروکتوز و اسید آسکوربیک را بر زنده‌مانی و خواص فیزیکوشیمیایی و پذیرش آب‌پرتقال پروبیوتیک در دمای چهار درجه سلسیوس طی ۲۸ روز نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد زنده‌مانی باکتری‌ها در طول ۲۸ روز نگهداری در دمای چهار درجه سلسیوس بیشتر از 10^6 *cfu/mL* بود که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

زندی و همکاران (۱۳۹۵)، تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی نمودند. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک به دلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در آب‌میوه‌جات افزایش یافت اما در این تحقیق زنده‌مانی باکتری‌ها باگذشت زمان کاهش یافت.

شیشه و همکاران (۱۳۹۳)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب زرشک و گیلاس را با استفاده از باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی طی ۲۸ روز نگهداری در چهار درجه سلسیوس بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک تا دو هفته پس از نگهداری افزایش یافت و در هفته‌های سوم و چهارم نگهداری برای تمامی تیمارها در دمای چهار درجه سلسیوس کاهش یافت و دلیل کاهش زنده‌مانی باکتری‌ها را اسیدیته بالای مخلوط آبمیوه، افزایش اسیدیته و کاهش pH می‌دانستند. نتایج این مطالعه در هفته‌های سوم و چهارم نگهداری با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

[1] Food & Agriculture organization

ارزیابی حسی

طبق نتایج نسبت مخلوط آبمیوه‌ها، زمان نگهداری و تراکم باکتری اثر کاملاً معنی‌داری بر امتیاز ارزیابی حسی رنگ، مزه، بو، ظاهر، بافت و پذیرش کلی داشت ($p<0/05$). به‌طورکلی نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری امتیاز ارزیابی حسی روند کاهشی خواهد داشت. نتایج ارزیابی حسی پذیرش کلی در روزهای هفت، ۱۴ و ۲۱ نگهداری نشان داد بیشترین امتیاز متعلق به تیمار A_1B_1 بوده است و پس از گذشت ۲۸روز نگهداری، بیشترین امتیاز پذیرش کلی متعلق به تیمار A_1B_2 (حاوی ۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور و پنج درصد زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) بود.

دلیل کاهش امتیاز ارزیابی حسی در همه تیمارها می‌تواند وجود باکتری‌ها، متابولیت و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها باشد. اکسیری و همکاران (۱۳۹۶)، تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره‌های بیدمشک و گل گاوزبان مورد بررسی قرار دادند. نتایج ارزیابی حسی نشان داد تیمار حاوی ۳۰ درصد آب سیب به همراه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و عصاره‌های بیدمشک و گل گاوزبان دارای بالاترین امتیاز ارزیابی حسی بود.

نعمت الهی و همکاران (۱۳۹۵)، در مطالعه‌ای زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و بررسی برخی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آن‌ها در آب گیلاس را با استفاده از سویه لاکتوباسیلوس کازئی در دمای چهار درجه سلسیوس و طی ۲۸ روز نگهداری بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد امتیاز ارزیابی حسی تمامی نمونه‌ها طی دوره نگهداری روند کاهشی داشت و در نمونه‌های حاوی پروبیوتیک‌ها بوی تندی و طعم نامطلوب گزارش شد که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

زندی و همکاران (۱۳۹۵)، تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی نمودند. نتایج حاصل از ارزیابی حسی در هفته اول و چهارم نگهداری نشان داد تیمار حاوی ۴۰ درصد کنسانتره آب‌میوه‌جات با تراکم باکتری 10^6 *cfu/mL* دارای کمترین امتیاز و به‌عنوان تیمار برتر با توجه به زنده‌مانی باکتری و نمونه شاهد دارای بیشترین امتیاز ارزیابی حسی بود.

نتیجه‌گیری کلی

نسبت باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و زمان نگهداری اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار pH، اسیدیته، بریکس و قند احیاء نوشیدنی پروبیوتیک داشت($p<0/05$). با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری، pH، قند احیاء و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌دار کاهش ($p\leq0/05$) و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک به‌طور معنی‌دار افزایش یافت ($p\leq0/05$). نسبت باکتری و زمان نگهداری اثر کاملاً معنی‌داری بر امتیاز ارزیابی حسی نوشیدنی پروبیوتیک داشت ($p<0/01$). به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهداری از امتیاز ارزیابی حسی در همه تیمارهای تحقیق کاسته شد. با توجه به بیشترین تعداد باکتری و ارزیابی حسی در هفته چهارم نگهداری، ازنظر جمعیت باکتری، تیمار A_1B_2 (حاوی ۱۰ درصد گیلاس، پنج درصد انگور و پنج درصد زرشک با تراکم 10^8 *cfu/mL*) به‌عنوان تیمار برتر معرفی گردید.

منابع **References**

بابایی،م.، هاشمی‌روان،م و پوراحمد،ر. ۱۳۹۷. تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه‌فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه‌ای، کرفس و گشنیز، مجله علوم و صنایع غذایی، (۷۴) ۳۳۱-۳۴۱.۱۵

تحسینی، ل؛ حیدری، ر؛ ایلخانی پور، م؛ زارع، ص و نجاتی،و. ۱۳۸۷. بررسی عصاره اتانولی گیلاس در کاهش چربی‌های پلاسما در رت های دیابتی، فصلنامه گیاهان دارویی،(۳۳) ۴۱-۴۸.۹

توتونچی،پ.، حصاری، ج.، مرادی، م و فتحی آچاچلویی، ب. ۱۳۹۴. ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. (۴) ۲۵. ۶۵۵- ۶۶۶

حسینی، م. ۱۳۹۴. بررسی تولید آب سیب و آب البالو سین بیوتیک صنعتی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. وزارت علوم، تحقیقات و فناوری- دانشگاه ارومیه- دانشکده کشاورزی.

رئیسی، ف؛ رضوی،س.ه و حجت الاسلامی،م. ۱۳۹۰. تولید نوشیدنی انگور فراسودمند با استفاده از عصاره سبوس برنج، بیستمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، تهران، دانشگاه صنعتی شریف.

سازمان ملی استاندارد ایران.۱۳۸۶. آب‌میوه‌ها-روش‌های آزمون، استاندارد شماره ۲۶۸۵.

سازمان ملی استاندارد ایران. ۱۳۹۴. نوشیدنی‌های میوه‌ای (بدون گاز)، استاندارد شماره ۲۸۳۷.

سهراب وندی، س. مال گنجی، ش. ایوانی، م. ج. و خسروی دارانی، ک. ۱۳۹۱. بررسی قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* طی نگهداری یخچالی در ماءالشعیر. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران. (۵)۷. ۸۷- ۹۴.

سهراب وندی، س.، مرتضویان، س.ا.م.، جهانی،ح.، ایوانی، م.ج.، نعمت الهی، آ و کمیلی فنود، ر.۱۳۹۴. بررسی اثر برخی پری‌بیوتیک‌ها بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب‌پرتقال رژیمی. مجله حکیم سید اسماعیل جرجانی، (۳):۱-۱۱.

شیخ قاسمی، ش و زمردی، ش. ۱۳۹۲. تأثیر کپسوله کردن بر زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط، مجله علوم غذایی و تغذیه،(۳)۱۱ .۹۱-۸۱ .

علوی لواسانی، ز. س.، رضوی، س. ه و پوراحمد، ر.۱۳۹۱. تولید آب هندوانه آناناسی (زرد) با باکتری‌های اسیدلاکتیک، همایش ملی پروبیوتیک و غذاهای فراسودمند، دوره ۲.

قضاوی، ن.، مشتاقی، ح.و بنیادیان، م. ۱۳۹۵. تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب قرمز و زرد، مجله میکروب‌شناسی مواد غذایی شهرکرد، (۲)۳: ۱۰-۱.

لطفی، ح.، ملکی زنجانی، ب.، حجازی، م. الف. و برزگری، الف. ۱۳۸۸. جداسازی و شناسایی بیوشیمیایی و مولکولی باکتری‌های پروبیوتیک از محصولات لبنی سنتی مناطق هریس و سراب. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی.

Bolognani,F., Rumney, C. J., Rowland, I. R. 1997. Influence of carcinogen binding by lactic acid-producing bacteria on tissue distribution and in vivo mutagenicity of dietary carcinogens. Food Chem. Toxicol. 35(10):535–545.

Eksiri, M., Nateghi, L., Rahmani, A. 2017. Production of Probiotic Drink Using *Pussy willow* and *Echium amoenum* Extracts. APPLIED FOOD BIOTECHNOLOGY, 4(3): 155-165.

Ferrai, B., Carlos, K., and Faculdades, C. 2007. Functional food and physical activities in health promotion of again people. Maturitas .58: 327-339.

Goktepe, I., V. K. Juneja and M. Ahmedna. 2005. *Probiotics in Food Safety and Human Health*, 1st ed., CRC Taylor & Francis Group, USA

Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X.,1998. Use of Small Rumi-nants Milks Supplemented with Available Nitrogen as Growth Media for Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus. Journal of Applied Microbiology 85:839±848.

Costa. G. M, Silva, J. V, Mingotti. J, Carlos.B, Klososki, S. J, Pimentel, T. C.2017. Effect of ascorbic acid or oligofructose supplementation on L. paracasei viability, physicochemical characteristics and acceptance of probiotic orange juice. *LWT - Food Science and Technology* 75, 195-201.

Kalin. R, Righi. A, Del Rosso. A, Bagchi. D,Generin. S,Cerinic. M. M et al. 2002. Activin, a grape seed-derived proanthocyanidin extract, reduces plasma levels of oxidative stress and adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin) in systemic sclerosis. Free Radic Res.36(8):819-25.

Kim, M. H. and R. T, Toledo. 1987. Effect of osomotic dehydration and hight temperature fluidized bed drying on properties of dehydrated Rabbiteye blueberries. Food Science, 52(4):980-984.

Kun, S., Rezessy_Szabo, J. M. Nguyen, Q. Dand Hoschke. A. 2008. Changes of microbial population and some components in carrot juice during fermentation with selected Bifidobacterium strains.Process Biochemistry. 43: 816-821.

Luckow,T and Delahunty,C. 2004. Which juice is 'healthier' ? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. Food Quality and Preference. 15: 751-759.

Luckow, T. Sheehan, V. Fitzgerald, G and Delahunty, C. 2006. Exposure health information and flavor-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice, Appetite.47: 315-323.

Moraru, D., Bleoanca,I and R.Segal. 2007. Probiotic vegetable juices.Food Technology.(4): 87- 91.

Moussavi, Z. E., Mousavi, S. M, Razavi, S. H, Emam_Djomeh. Z and Kiani,H. 2011. Fermontation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria.world Microbiology & Biotechnol. (27):123-128.

Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A. M. 2016. Viablility of Probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. Electronic Journal of Biotechnology, (21):49-53.

Shishe, M., HashemiRavan, M., Pourahmad, R. 2014. Production of Probioticmixture of Barberry and Black cherry juice by lactic acid bacteria, Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences.(3), 54-61.

Vinderola, C. G and Reinheimer, J. A. 2000. Enumeration of Lactobacillus casei in the presence ofL. acidophilus. Bifidobacteria and lactic starter bacteria in fermented dairy products. International Dairy Journal, 10:(4), 271- 275.

Yahyaei, Z., Hashemiravan, M., Pourahmad, R. 2015. Production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. Advances in Environment Biology.9:(2). 762-769.

Zandi, M., Hashemiravan, M., Berenji, SH. 2016. Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juice. Journal of Paramedical Science. 7(3). 2008-4978.

Production of Probiotic Fermented Beverage Based on Mixture of Sweet Cherry, Red

M. Azarfam[1], M. Hashemiravan[2*] and S. Asadollahi[2]

Received: 2 Mar., 2021 Accepted: 15 May. 2021

ABSTRACT

Currently, probiotic products in the market are often made up of probiotic dairy products, but in recent years, demand for probiotic products has increased on the basis of non-dairy products. The purpose of this study was to produce probiotic fermentation based on a mixture of cherry juice, red grapes and barberry with different percentages of 2.5, 3.75, 5, 10 and 15 percent using *Lactobacillus casei* with 10^8 and 10^7 *cfu/mL* densities. It was kept at 4°C for 28 days. Physiochemical properties, microbial and sensory evaluation. Juice produced at the time of production, the first second third and fourth weeks was evaluated. Data was analyzed using ANOVA and Duncan's multi-domain tests at 95 percent level. The results showed that pH and drink acidity increased significantly during shortage ($p< 0.05$). The most priobotic viable bacteria was treated with A_1B_2 containing 10 percent cherry juice 5 percent grape juice and 5 percent barberry juice with 10^8 *cfu/mL*) after 28 days of storage Sensory evaluation results were reduced at all maintenance times with increasing storage time. After 28 days of storage, the highest total acceptance rating belonged to A_1B_2 treatment containing 10 percent cherry juice. 5 percent grape juice and 5 percent barberry juice with 10^8 *cfu/mL*) and with the highest population of *Lactobacillus casei* this treatment was introduced as the best treatment.

Key words: Sweet Cherry, Red Grape, Barberry, *Lactobacillus casei*

1.Msc. student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

2. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Coresponding author: m_hashemiravan@yahoo.com