بررسی اثر pH و غلظت‌های مختلف آبمیوه توت فرنگی بر قابلیت زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*

طاهره بریموندی[1]، وجیهه فدائی نوغانی[2*]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *vn.fadaei@gmail.com*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۸/۱۶

چکیده

در این پژوهش، آب توت‌فرنگی پروبیوتیک با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* تولید شد و ۴ عامل بریکس (۹، ۱۱ و ۱۳)،pH (۳ و ۴)، زمان (۰، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ روز) و باکتری (*لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد مطالعه قرار گرفت و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (pH، اسیدیته، ویتامین ث، مواد جامد محلول و جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک) آبمیوه توت‌فرنگی پروبیوتیک اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که در طول زمان نگه‌داری،pH، ویتامین ث، مواد جامد محلول و جمعیت میکروبی کاهش ($p<۰/۰۵$) و اسیدیته افزایش ($p<۰/۰۵$) یافت. با افزایش بریکس، اسیدیته، مواد جامد محلول و جمعیت میکروبی افزایش ($p<۰/۰۵$) و ویتامین ث کاهش ($p<۰/۰۵$) نشان داد. با افزایش pH، ویتامین ث و جمعیت میکروبی افزایش ($p<۰/۰۵$) و اسیدیته کاهش ($p<۰/۰۵$) یافت. نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود، همچنین بالاترین زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در pH=4، بریکس ۱۳ و زمان نگه‌داری صفر مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: توت‌فرنگی، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، آبمیوه پروبیوتیک.

مقدمه

امروزه، مصرف‌کنندگان به‌سلامت فردی توجه ویژه‌ای دارند و تمایل به مصرف روزانه فرآورده‌هایی دارند که به‌سلامت آن‌ها کمک نموده و باعث پیشگیری از بروز برخی بیماری‌ها از جمله انواع دیابت، سرطان، فشار خون و بیماری‌های دیگر شوند (Jian et al., 2007). شواهد علمی متعددی دال بر تأثیرات مثبت این غذا-های موجود است. این فرآورده‌ها با ترکیبات فعالی از جمله پروبیوتیک[1]، پری‌بیوتیک[2] و سین‌بیوتیک[3] غنی-شده و به‌عنوان غذاهای فراسودمند یا سلامتی بخش[4] معرفی می‌گردند. از جمله محصولات فراسودمند که امروزه استفاده فراوانی پیدا کرده‌اند، محصولات پروبیوتیک می‌باشند. پروبیوتیک به معنای حیات‌بخش و زنده است. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و یا سایر باکتری‌ها و مخمرهایی هستند که به‌صورت سلول‌های خشک و یا در محصولات تخمیری استفاده می‌شوند که از طریق مصرف خوراکی باعث بهبود خصوصیات فلور میکروبی طبیعی روده شده و اثرات مفیدی برای مصرف‌کنندگان دارند. این میکروارگانیسم‌ها باید شرایط تولید و نگه-داری را تحمل کرده و در محیط بدن میزبان نیز نسبت به شرایط اسیدی معده و نمک‌های صفراوی مقاوم باشند (Mattila et al., 2002). از میان پروبیوتیک‌ها، باکتری‌های اسیدلاکتیک و بیفیدوباکتریوم[5]، این خصوصیت را دارا هستند؛ از جمله عوامل مؤثر بر ایفای نقش در پروبیوتیک‌ها، دریافت مرتب و روزانه آن‌ها است (Mattila et al., 2002). میکروارگانیسم‌های اضافه شده برای تخمیر می‌توانند جزء میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی باشند، مثل گونه‌های مختلف باکتری‌های اسیدلاکتیک که این

1 Probiotics
2 Prebiotics
3 Synbiotics
4 Functional food
5 Bifidobacterium

میکروارگانیسم‌ها تأثیرات مثبتی روی فلور میکروبی روده دارند. باکتری‌های اسیدلاکتیک از زمان‌های قدیم در فراورده‌های شیری تخمیر شده به کار رفته‌اند. گزارش‌های متعددی مبنی بر اثرات سودمند این دسته از میکروارگانیسم‌ها بر عفونت‌های مربوط به معده و روده وجود دارد؛ همچنین، فعالیت‌های ضد باکتریایی و بهبود متابولیسم لاکتوز، کاهش کلسترول سرم، تحریک سیستم ایمنی، خصوصیات ضد جهش‌زایی، ضد سرطانی، ضد اسهال، جلوگیری از رشد *هلیکوباکتر* (Rivera-Espinoza and Gallardo-Navarro, 2010; Mishra and Prasad, 2005)، افزایش ارزش تغذیه‌ای، بهبود قابلیت هضم، افزایش جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی، تنظیم حرکت دودی معده و جلوگیری از پوکی استخوان (Ouwehand et al., 2003) در اثر افزودن این میکروارگانیسم‌ها به محصولات غذایی مشاهده شده است.

سوبستراهای غیر فراورده‌های شیری که اغلب برای تخمیر باکتری‌های لاکتیکی استفاده شده‌اند شامل پروتئین سویا و غلات هستند. در سال‌های اخیر، مطالعات متعددی نیز در استفاده از آبمیوه‌ها و سبزی‌ها به‌عنوان محیط پایه برای تخمیر لاکتیکی انجام شده که با توجه به پتانسیل زیستی و تغذیه‌ای عصاره سبزی‌ها و میوه‌ها و با توجه به این‌که اغلب آبمیوه‌ها و سبزی‌ها فاقد ترکیبات آلرژی‌زا می‌باشند، به نظر می‌رسد که استفاده از عصاره آن‌ها بسیار مفید و سودمند باشد؛ از طرفی، این محصولات توسط بخش وسیعی از مردم مصرف می‌گردند. در سال‌های اخیر، جذابیت رژیم‌های سلامتی بخش افزایش یافته است که این مسئله به جلوگیری از بیماری‌ها کمک می‌کند (Rivera-Espinoza and Gallardo-Navarro, 2010).

تاکنون، آب هندوانه پروبیوتیک (Vidal Fonteles et al., 2012; Fazeli et al., 2007)، آب هویج پروبیوتیک (Kun et al., 2008; Tammineh et al., 2013)، آب roselle پروبیوتیک (Tantipakbulvut et al., 2008)، آب انار پروبیوتیک (Mousavi et al., 2011)، آب سیب پروبیوتیک (Pereira et al., 2011)، آبمیوه‌های پرتقال، گریپ فروت، انگور سیاه، آناناس و توت‌فرنگی پروبیوتیک (Nualkoaekul et al., 2011)، آب طالبی پروبیوتیک (Vidal Fonteles et al., 2012)، نوشیدنی پروبیوتیک حاوی سیب و کنسانتره پرتقال (Marhamatizadeh et al., 2012)، آب بادام هندی پروبیوتیک (Giang et al., 2013; Pereira et al., 2012)، آب آناناس پروبیوتیک (Shukla et al., 2013; Costa et al., 2013)، نکتار-Acerola پروبیوتیک (Antunes et al., 2013)، آب کلم پروبیوتیک (Jaiswal et al., 2013) و مخلوط آب هویج و شیر پروبیوتیک (Daneshi et al., 2013) تولید شده‌اند و زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در این آبمیوه‌ها مورد بررسی قرار گرفته است. Zheng و همکاران (۲۰۱۴) ضمن مطالعه بر روی نوشیدنی‌های پروبیوتیک با استفاده از آب هسته میوه جات گزارش کردند که بعد از ۴ هفته ذخیره‌سازی در ۴ درجه سلسیوس، آب-هسته‌میوه‌ها حاوی ۸ log CFU/ ml *لاکتوباسیلوس کازئی* بود. برخی از پژوهش‌ها بر اثر سلامتی بخش آبمیوه‌های پروبیوتیک تأکید دارند (Ankolekar et al., 2012; Koh et al., 2012; Fazeli et al., 2007) و پژوهش‌هایی نیز پیرامون افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک با افزایش pH (Dave and Shah, 1996)، در صورت ریزکپسول‌سازی شده در قیاس با حالت آزاد در آب سیب و آب‌پرتقال (Ding et al., 2008) و با استفاده از ویتامین‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها در آبمیوه‌های حاوی ویتامین‌ث، عصاره انگور و عصاره چای سبز (Shah, 2001) شده است.

با توجه به ارزش تغذیه‌ای توت‌فرنگی، فراوانی آن در کشور و جایگاه ویژه آن نزد مردم، فرآوری این میوه به-صورت یک نوشیدنی تخمیری، در افزایش ارزش تغذیه‌ای، کاهش ضایعات و ارزش افزوده‌ی آن بسیار

مؤثر است. لذا، هدف از انجام این پژوهش، ارزیابی اثر pH (۳ و ۴) و غلظت‌های مختلف آبمیوه‌توت‌فرنگی (بریکس‌های ۹، ۱۱ و ۱۳) بر قابلیت زنده‌مانی باکتری-های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، اسیدیته، pH، ویتامین‌ث و مواد جامد محلول در این آبمیوه است.

مواد و روش کار

مواد اولیه

توت‌فرنگی از سطح بازار استان کردستان تهیه گردید؛ در هنگام تهیه توجه شد که نمونه‌ها سالم و عاری از فساد به لحاظ ظاهری باشند. نمونه‌ها به‌صورت منجمد تا روز آزمایش در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگه‌داری گردید. باکتری‌های پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس کازئی* (PTCC=1608) و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC =1058) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران و شکر خالص (با نام تجاری رنکس) از شرکت دالین مهر کرج خریداری گردیدند. کلیه مواد مورد استفاده برای انجام آزمون‌های شیمیایی و میکروبی از شرکت مرک آلمان تهیه شد؛ به‌استثناء معرف نشاسته (محلول ۵/. درصد وزنی- حجمی) که از شرکت سیگما آلدریچ (آلمان) و سرم فیزیولوژی که از شرکت رازی (ایران) خریداری گردید.

روش تولید نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک

در ابتدا، توت‌فرنگی‌های نگه‌داری شده در فریزر ۱۸- درجه سلسیوس برای یخ‌زدایی در دمای یخچال (۱±۴°C) قرار داده شدند. سپس، با مخلوط‌کن ضربه‌ای، آب توت‌فرنگی استخراج گردید و به دنبال آن، صاف شد. آب‌توت‌فرنگی در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه سالم‌سازی گردید و با استفاده از شکر، به بریکس‌های ۹، ۱۱ و ۱۳ رسانیده شد. سپس، از اسید سیتریک و سود جهت تنظیم pH (۴ و ۳=pH) استفاده گردید. پس از رسیدن pH و بریکس به حد مورد نظر، آب‌توت‌فرنگی با سویه‌های *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* به میزان log / ml ۸CFU تلقیح شد و سپس، نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک تولید شده (جدول ۱) جهت انجام آزمون‌ها در یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگه‌داری شدند.

جدول ۱- معرفی تیمارهای آب توت‌فرنگی پروبیوتیک

تیمار	*باکتری*	pH	بریکس
T1	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۳	۹
T2	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۳	۱۱
T3	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۳	۱۳
T4	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۴	۹
T5	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۴	۱۱
T6	*لاکتوباسیلوس کازئی*	۴	۱۳
T7	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۳	۹
T8	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۳	۱۱
T9	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۳	۱۳
T10	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۴	۹
T11	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۴	۱۱
T12	*لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	۴	۱۳

روش آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی

برای آماده‌سازی سوسپانسیون میکروبی، سویه‌های لاکتوباسیلوس (کازئی و پلانتاروم) در محیط MRS[1] مایع در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و به مدت ۲۴ ساعت فعال شدند. این عمل دو مرتبه انجام گرفت. از این سوسپانسیون فعال شده برای کشت سطحی بر روی محیط کشت MRS جامد استفاده شد. به این صورت که با استفاده از لوپ سترون بر روی محیط کشت جامد کشت سطحی داده شد و در شرایط بی‌هوازی به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری انجام گرفت. از پرگنه‌های تشکیل یافته بر روی محیط کشت برای آماده‌سازی رقت‌های مورد نظر باکتری استفاده گردید. به این صورت که پرگنه به لوله حاوی MRS مایع انتقال داده شد و به‌خوبی مخلوط گردید. کدورت سوسپانسیون حاصل به میزانی بود که جذب نوری آن در طول موج ۶۰۰ نانومتر، ۰/۰۸ تا ۰/۱ قرائت شد. این کدورت معادل تقریباً 1×10^{8} باکتری در هر میلی‌لیتر بود (امیدی و همکاران، ۱۳۹۰).

آزمون‌ها

برای انجام آزمون pH از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۴۴۰۴ استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۶). اسیدیته با استفاده از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۳۷۳ اندازه گیری گردید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۰). برای تعیین میزان ویتامین‌ث از روش استاندارد ملی ایران به شماره ۵۶۰۹ استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۹). تعیین میزان کل مواد جامد محلول (بریکس) مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۷۹۹۴ انجام پذیرفت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۳). برای شمارش باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه، از روش رقیق‌سازی و کشت مخلوط استفاده شد؛ این آزمون مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۴۷۲۱ انجام پذیرفت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۷۷).

روش آماری

در این پژوهش، چهار عامل شامل: باکتری‌های پروبیوتیک (*لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*)، آب‌توت‌فرنگی با بریکس‌های مختلف (شامل سه بریکس ۹،۱۱ و ۱۳)، pH آب‌توت‌فرنگی (۳ و ۴) و زمان انبارمانی (در پنج سطح صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین تیمارها، از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. آزمون‌ها در زمان‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ هفته در سه تکرار انجام شدند. پس از انجام آزمایش در قالب روش تحقیق و جمع آوری داده‌ها، آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۳ انجام پذیرفت.

نتایج

نتایج pH و اسیدیته نمونه‌های آب‌توت فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

بر اساس نتایج به‌دست آمده، میان اسیدیته نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در طی ۲۸ روز نگه‌داری با فواصل ۷ روز (نمودار ۱)، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ($p<0/05$). اسیدیته در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با باکتری‌های پروبیوتیک متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد ($p<0/05$). هم‌چنین، اسیدیته در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد ($p<0/05$). نمونه‌های آب‌توت-فرنگی با بریکس ۱۳ (درصد ساکارز) دارای اسیدیته بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب-توت‌فرنگی با بریکس‌های ۹ و ۱۱ دارند؛ و نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس ۱۱ دارای اسیدیته بالاتری نسبت به نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس ۹ می‌باشند.

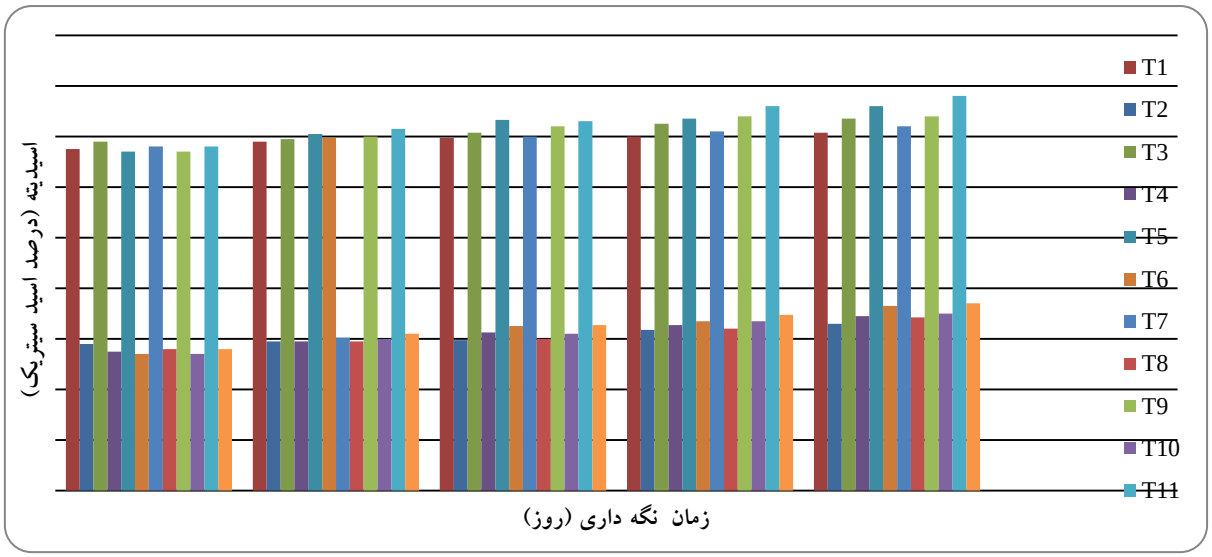
اسیدیته در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pHهای متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد ($p<0/05$)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=3 دارای اسیدیته

1Man, Rogosa and Sharpe

بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب-توت‌فرنگی با pH=۴ دارند.

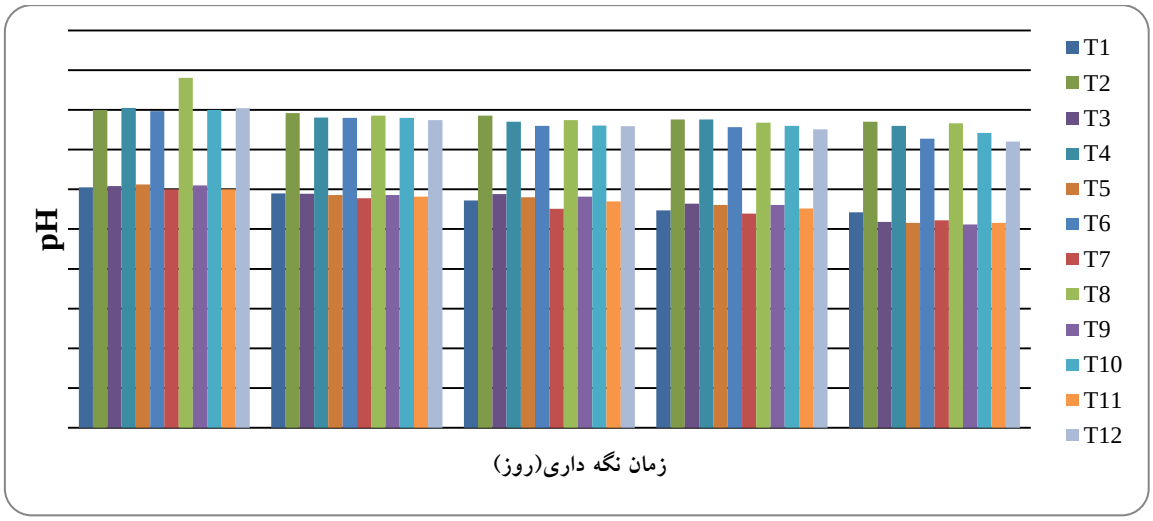
اثر متقابل بریکس در زمان نگه‌داری بر اسیدیته نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p <۰/۰۵)؛ اثر متقابل بریکس ۱۳ در روز بیست‌وهشتم نگه‌داری دارای اسیدیته بالاتری است و تفاوت معنی‌داری با بقیه تیمارها دارد؛ با افزایش زمان نگه‌داری، مقدار اسیدیته در تمام بریکس‌ها افزایش یافت و این افزایش در بریکس ۱۳ مشهودتر و در بریکس ۹ ملایم‌تر است. اثر متقابل بریکس در pH بر اسیدیته نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p <۰/۰۵)؛ اثر متقابل بریکس ۱۳ در pH=3 دارای اسیدیته بالاتری است و تفاوت معنی‌داری با بقیه تیمارها دارد.

میان pH نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در طی ۲۸ روز نگه‌داری با فواصل ۷ روز (نمودار ۲)، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (p <۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب-توت‌فرنگی پروبیوتیک در روز هفتم نگه‌داری دارای pH بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب-توت‌فرنگی پروبیوتیک در زمان‌های نگه‌داری بیست‌و-هشت و بیست‌ویک روزه دارند. pH در روز هفتم با pH در زمان تولید و روز چهاردهم تفاوت معنی‌داری ندارد و همچنین، pH در روز چهاردهم و بیست‌ویکم با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.



نمودار ۱- تغییرات اسیدیته در نمونه‌های آب توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

بریکس:BX؛ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*:Lp؛ *لاکتوباسیلوس کازئی*:Lc، T_1: Lc, BX=9, pH= 3; T2: Lc, BX=11, pH=3; T3: Lc, BX=13, pH=3; T4: Lc, BX=9, pH=4; T5: Lc, BX=11, pH=4; T6: Lc, BX=13, pH=4; T7: Lp, BX=9, pH=3; T8:Lp, BX=11, pH=3; T9: Lp, BX=13, pH=3; T10: Lp, BX=9, pH=4, T11: Lp, BX=11, pH=4; T12: Lp, BX=13, pH=4



نمودار ۲- تغییرات pH در نمونه‌های آب توت فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

بریکس:BX ؛ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*:Lp؛ *لاکتوباسیلوس کازئی*:Lc، T_1: Lc, BX=9, pH=3; T2: Lc, BX=11, pH=3; T3: Lc, BX=13, pH=3; T4: Lc, BX=9, pH=4; T5: Lc, BX=11, pH=4; T6: Lc, BX=13, pH=4; T7: Lp, BX=9, pH=3; T8: Lp, BX=11, pH=3; T9:Lp, BX=13, pH=3; T10:Lp, BX=9, pH=4,T11: Lp, BX=11, pH=4; T12: Lp, BX=13, pH=4

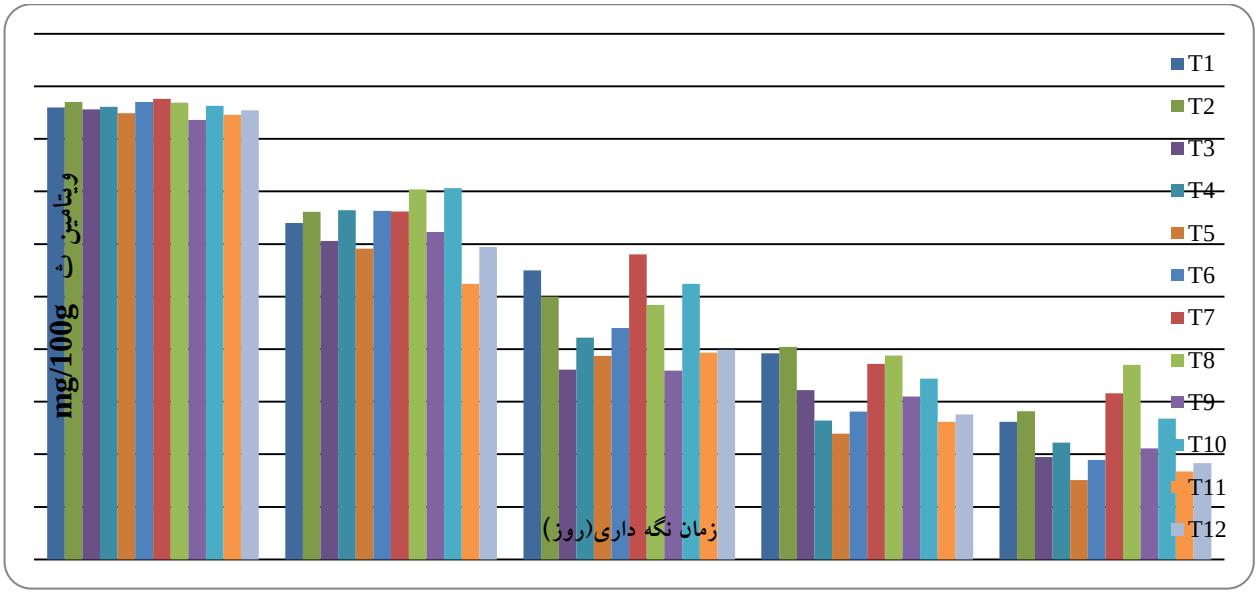
نتایج ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

میان ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در طی ۲۸ روز نگه‌داری با فواصل ۷ روز (نمودار ۳)، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (p <۰/۰۵). در ضمن، نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در زمان صفر دارای ویتامین‌ث بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در زمان‌های نگه‌داری هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بیست‌وهشتم دارند. اثر متقابل بریکس در زمان نگه‌داری بر ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p <۰/۰۵)؛ اثرهای متقابل دارای زمان صفر، ویتامین‌ث بالاتری دارند و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ با گذشت زمان، مقدار ویتامین‌ث کاهش می‌یابد؛ مقدار ویتامین‌ث در بریکس ۱۳ با سرعت بیشتری نسبت به بریکس ۱۱ و در بریکس ۱۱ با سرعت بیشتری نسبت به بریکس ۹ کاهش یافت.

ویتامین‌ث در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pHهای متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد (p<۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=4 دارای ویتامین‌ث بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=3 دارند.

ویتامین‌ث در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس متفاوت، اختلاف آماری بسیار معنی‌دار دارد (p<۰/۰۱)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس ۹ دارای ویتامین‌ث بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس‌های ۱۳ و ۱۱ دارند؛ با افزایش بریکس، ویتامین‌ث کاهش می‌یابد. اثر متقابل بریکس در باکتری بر ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵)؛ اثر‌های متقابل حاوی بریکس ۹ دارای ویتامین‌ث بالاتری بوده و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ با افزایش بریکس، ویتامین‌ث کاهش یافت؛ در بریکس ۱۱، بیشترین ویتامین‌ث مربوط به باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود و در بریکس ۹ و۱۳، تفاوت معنی‌داری بین باکتری‌ها وجود نداشت. اثر متقابل بریکس در pH بر ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p ۰/۰۵ >)؛ اثرهای متقابل حاوی بریکس ۹ دارای ویتامین‌ث بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ همچنین، تیمارهای حاوی pH=4 دارای ویتامین‌ث بالاتری هستند؛ در بریکس ۹، تفاوت

معنی‌داری بین pHها از نظر ویتامین‌ث مشاهده نشد اما در بریکس‌های ۱۱ و ۱۳، تفاوت معنی‌داری بین pHها از نظر ویتامین‌ث ملاحظه گردید؛ زیرا نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی دارای بریکس بالاتر، اسیدیته بالاتری دارند و ویتامین ث در محیط اسیدی ناپایدار است و اکسیده می‌شود؛ در نتیجه، غلظت ویتامین‌ث در بریکس ۹ زیاد است ولی در بریکس ۱۱ و ۱۳ کم است. اثر متقابل بریکس در pH در زمان نگه‌داری بر ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵)؛ اثرهای متقابل دارای زمان صفر، ویتامین‌ث بالاتری دارند و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ در روز بیست‌وهشتم، اثر متقابل بریکس ۹ در pH=4 دارای بالاترین ویتامین‌ث و اثر متقابل بریکس ۱۳ در pH=3 دارای کمترین ویتامین‌ث است. اثر متقابل بریکس در pH در باکتری بر ویتامین‌ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵)؛ اثرهای متقابل حاوی بریکس ۹ دارای ویتامین‌ث بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان داد.



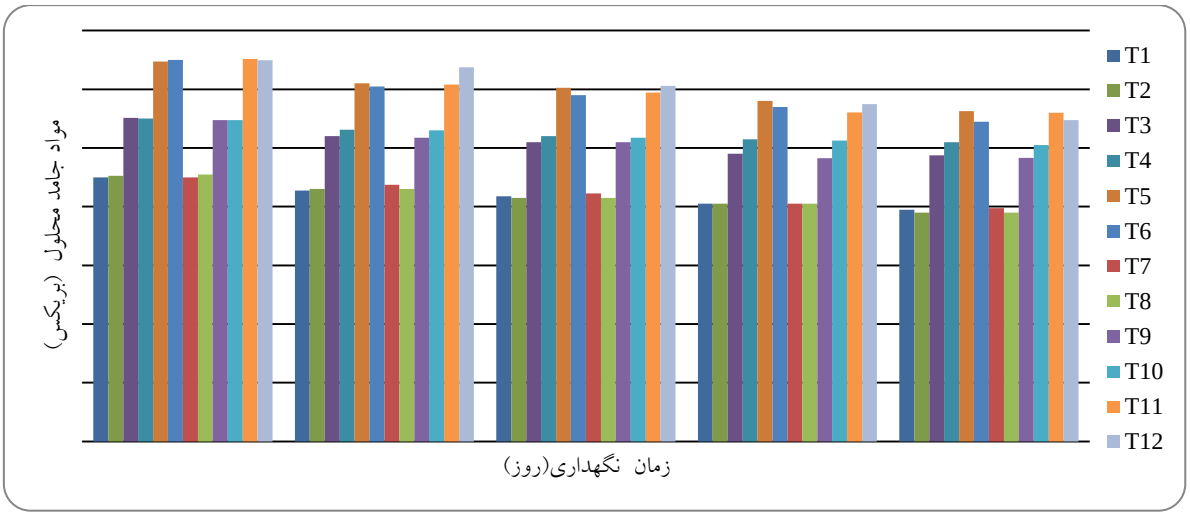
نمودار ۳- تغییرات ویتامین‌ث در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

بریکس:BX؛ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*:Lp؛ *لاکتوباسیلوس کازئی*:Lc، T_1: Lc, BX=9, pH=3; T2: Lc, BX=11, pH=3; T3: Lc, BX=13, pH= 3; T4: Lc, BX=9, pH=4; T5: Lc, BX=11,pH=4; T6: Lc, BX=13, pH=4; T7: Lp, BX=9, pH=3; T8: Lp, BX=11, pH=3; T9: Lp, BX=13, pH=3; T10: Lp, BX=9, pH=4, T11: Lp, BX=11, pH=4; T12: Lp, BX=13,pH=4

نتایج مواد جامد محلول نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

میان مواد جامد محلول نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در طی ۲۸ روز نگه‌داری با فواصل ۷ روز (نمودار ۴)، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در زمان صفر دارای مواد جامد محلول بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت فرنگی پروبیوتیک در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بیست‌وهشتم دارند.

مواد جامد محلول در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارند (p<۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس ۱۳ دارای مواد جامد محلول بالاتری بوده و تفاوت معنی‌داری را با بریکس‌های ۱۱ و ۹ نشان دادند.



نمودار ۴- تغییرات مواد جامد محلول در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

بریکس:BX؛ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*:Lp؛ *لاکتوباسیلوس کازئی*:Lc، T_1: Lc, BX=9, pH=3; T2: Lc, BX=11, pH=3; T3: Lc, BX=13, pH=3; T4: Lc, BX=9, pH=4; T5: Lc, BX=11, pH=4; T6: Lc, BX=13, pH=4; T7: Lp, BX=9, pH=3; T8: Lp, BX=11, pH=3; T9: Lp, BX=13,pH=3;T10: Lp, BX=9, pH=4,T11: Lp, BX=11, pH=4; T12: Lp, BX=13, pH=4

نتایج به دست آمده از زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

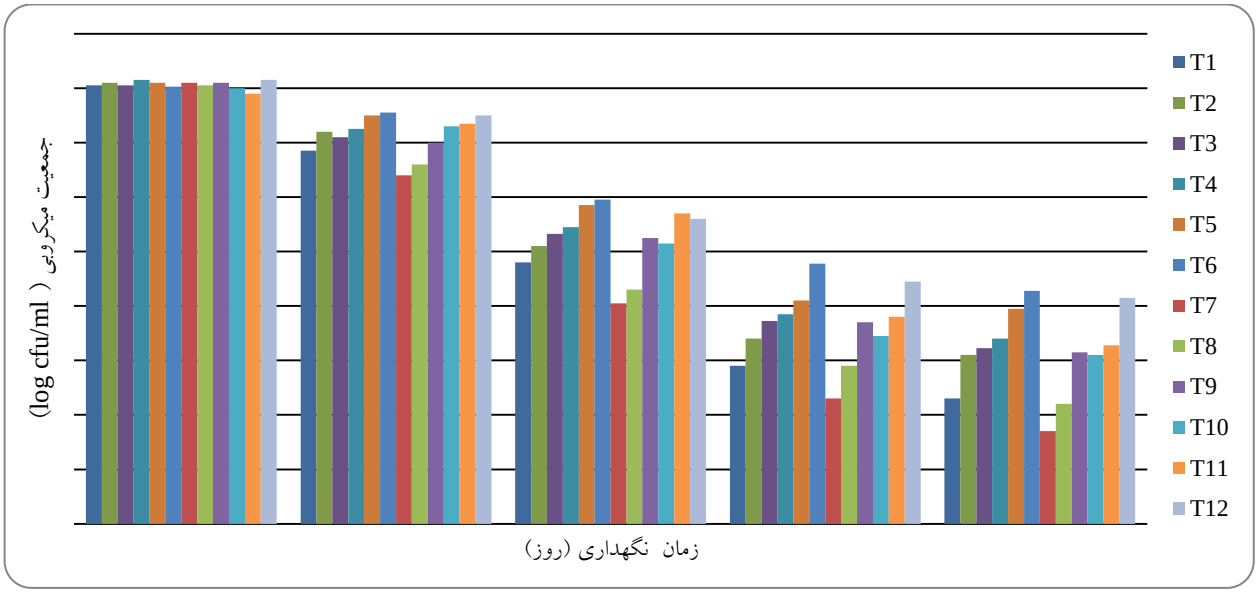
میان جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در نمونه‌های آب-توت‌فرنگی پروبیوتیک در طی ۲۸ روز نگه‌داری با فواصل ۷ روز (نمودار ۵)، اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (p<۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در زمان صفر دارای جمعیت میکروبی بالاتری بودند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در روزهای هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بیست‌و-هشتم دارند. اثر متقابل بریکس در زمان نگه‌داری بر جمعیت میکروبی نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵)؛ اثرهای متقابل زمان صفر دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ یعنی زمان صفر دارای بیشترین جمعیت میکروبی است؛ با گذشت زمان، جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک کاهش می‌یابد؛ در بین بریکس‌ها، بریکس ۹ با سرعت بیشتری نسبت به بقیه بریکس‌ها جمعیت میکروبی آن کاهش یافت.

جمعیت میکروبی در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با باکتری‌های پروبیوتیک متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد (p<۰/۰۵). باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نشان داد.

جمعیت میکروبی (*لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*) در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد (p<۰/۰۵)؛ نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس ۱۳ دارای جمعیت میکروبی بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با بریکس‌های ۹ و ۱۱ دارند. اثر متقابل بریکس در باکتری بر جمعیت میکروبی نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک از نظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵). اثر متقابل باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در بریکس ۱۳ دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با سایر تیمارها نشان داد. نتایج حاکی از این است که زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در بریکس‌های مختلف بالاتر از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود؛ و همچنین، با افزایش مقدار بریکس، زنده‌مانی باکتری‌ها افزایش می‌یابد.

جمعیت میکروبی در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH-های متفاوت، اختلاف آماری معنی‌دار دارد (p<۰/۰۵). نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=4 دارای جمعیت میکروبی (*لاکتوباسیلوس کازئی*) بالاتری می‌باشند و

تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=3 دارند. اثر متقابل بریکس در pH بر جمعیت میکروبی نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک ازنظر آماری معنی‌دار است (p<۰/۰۵)؛ اثرهای متقابل بریکس ۱۳ در pH=۴ دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان دادند؛ تمامی تیمار-های حاوی pH=4 دارای جمعیت میکروبی بالاتری هستند و از طرفی، با افزایش بریکس، جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد.



نمودار ۵- تغییرات جمعیت میکروبی (باکتری‌های پروبیوتیک) در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس
بریکس:BX؛ *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*:Lp؛ *لاکتوباسیلوس کازئی*:Lc، T_1:Lc,BX=9,pH=3;T2:Lc,BX=11,pH=3;T3:Lc,BX=13,pH=3;T4:Lc, BX=9,pH=4;T5:Lc,BX=11,pH=4;T6:Lc,BX=13,pH=4;T7:Lp,BX=9,pH=3;T8:Lp,BX=11,pH=3;T9:Lp, BX=13,pH=3;T10:Lp,BX=9,pH=4,T11:Lp,BX=11,pH=4;T12:Lp,BX=13,pH=4

بحث

بررسی نتایج pH و اسیدیته نمونه‌های آب توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

اسیدیته نمونه‌ها در روز بیست‌وهشتم به‌طور معنی‌داری بالاتر از روزهای هفتم، چهاردهم، بیست‌ویکم و بلافاصله پس از تولید است. تفاوت مشاهده شده به این دلیل است که در طول زمان، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* فرصت بیشتری برای تبدیل قند به اسید لاکتیک دارند (Limsowtin et al., 2003)؛ لذا، در طول زمان نگه‌داری، قند موجود در آبمیوه توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک به اسید تبدیل شده و در نتیجه، اسیدیته افزایش و pH کاهش می‌یابد. این نتیجه با نتایج Shukla و همکاران (۲۰۱۳) که توسعه نوشیدنی پروبیوتیک از آب‌پنیر و آب‌میوه‌آناناس را مورد مطالعه قرار دادند؛ Yoon و همکاران (۲۰۰۵) که به مطالعه بر روی تخمیر آب چغندر توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک مفید پرداختند؛ Tantipakbulvut و همکاران (۲۰۰۸) که بر روی تخمیر آبroselle به‌وسیله باکتری‌های اسیدلاکتیک مطالعه کردند؛ و Tammineh و همکاران (۲۰۱۳) که به مطالعه بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آب هویج پرداختند، مطابقت دارد؛ تمامی این پژوهشگران بر این مطلب تأکید داشتند که افزایش زمان نگه‌داری موجب افزایش اسیدیته و کاهش pH محیط می‌شود.

باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ایجاد اسیدیته مؤثرتر است و تفاوت معنی‌داری را در قیاس با باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* نشان داد که با نتایج Yoon و

همکاران (۲۰۰۵) مطابقت دارد؛ آن‌ها به مطالعه بر روی تخمیر آب چغندر با باکتری‌های اسیدلاکتیک مانند *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پرداختند و گزارش نمودند که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، مقدار بیشتری اسیدلاکتیک نسبت به لاکتوباسیل‌های دیگر تولید کردند.

رابطه معکوس بین pH و اسیدیته در کلیه نمونه‌ها وجود دارد به این معنی که با افزایش اسیدیته، pH کاهش یافته است که این نتایج با نتایج Yoon و همکاران (۲۰۰۵) که به مطالعه بر روی پروبیوتیک کردن آب چغندر با استفاده از ۴ گونه لاکتوباسیلوس پرداختند و هم‌چنین، با نتیجه Shukla و همکاران (۲۰۱۳) مبنی بر این‌که افزایش اسیدیته منجر به کاهش pH می‌شود، مطابقت دارد.

با کاهش بریکس، اسیدیته کاهش می‌یابد. تفاوت مشاهده شده به این دلیل است که وقتی بریکس بالا باشد، نمونه حاوی قند فراوانی است که *لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، قند موجود در آبمیوه را به اسیدلاکتیک تبدیل کرده؛ در نتیجه، اسیدیته در بریکس ۱۳ بیشتر است. این نتیجه با نتیجه پژوهش Marhamatizadeh و همکاران (۲۰۱۲) مبنی بر این‌که بالا بودن بریکس منجر به افزایش اسیدیته می‌شود (در نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از سیب و کنسانتره پرتقال با بریکس‌های ۱۵ و ۱۱) مطابقت دارد.

بررسی نتایج ویتامین ث نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

با گذشت زمان، ویتامین‌ث کاهش می‌یابد؛ و در هفته اول با سرعت بیشتری نسبت به هفته‌های دیگر افت می‌کند. اثر متقابل بریکس در زمان نگه‌داری نشان داد که اثرهای متقابل دارای زمان صفر، ویتامین‌ث بالاتری دارند و تفاوت معنی‌داری را با بقیه تیمارها نشان داد؛ طی نگه‌داری، مقدار ویتامین‌ث در بریکس ۱۳ با سرعت بیشتری نسبت به بریکس ۱۱ و در بریکس ۱۱ با سرعت بیشتری نسبت به بریکس ۹ کاهش می‌یابد. هنگامی‌که آبمیوه‌ها تهیه و ۲۴ ساعت در یخچال نگهداری شدند، ۴۵ درصد ویتامین‌ث خود را از دست دادند؛ زیرا این ویتامین، حساس‌ترین ماده آلی موجود در طبیعت است و هر عاملی آن را تخریب می‌کند. غشای لاکتوباسیل‌ها در محیط اسیدی، یون هیدروژن را از درون سلول به بیرون آن جابه‌جا می‌کند؛ در نتیجه، در اثر افزایش غلظت H^+، ویتامین‌ث اکسید می‌شود (مرتضویان و سهراب وندی، ۱۳۸۵). این نتایج با نتایج Nualkoackul و همکاران (۲۰۱۱) که به مطالعه بر روی بقای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پرداختند و Pereira و همکاران (۲۰۱۱) که به مطالعه بر روی بهینه سازی شرایط کشت *لاکتوباسیلوس کازئی* در آب-سیب، تعیین میزان تلقیح و زمان تخمیر پرداختند مبنی بر این‌که با گذشت زمان، ویتامین‌ث کاهش می-یابد، مطابقت دارد.

نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=4 دارای ویتامین‌ث بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب-توت‌فرنگی با pH=3 دارند. علت، این است که در محیط اسیدی (pH=3)، غلظت یون H^+ زیاد است که مولکول ویتامین‌ث را اکسید می‌کند؛ در نتیجه، ویتامین‌ث در pH=4، بیشترین مقدار است (مرتضویان و سهراب وندی، ۱۳۸۵). این نتایج با نتایج Nualkoackul و همکاران (۲۰۱۱) که به مطالعه بر روی بقای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* پرداختند و Soccol و همکاران (۲۰۱۰) که به مطالعه بر روی پتانسیل پروبیوتیک ها پرداختند مبنی بر این‌که با افزایش pH، ویتامین‌ث افزایش می‌یابد، مطابقت دارد.

بررسی نتایج مواد جامد محلول نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس

با گذشت زمان، مواد جامد محلول کاهش می‌یابد. در زمان صفر، نمونه‌ها دارای بالاترین قند هستند؛ علت کاهش مواد جامد محلول با گذشت زمان این است که در زمان نگه‌داری، قند موجود در آبمیوه به‌وسیله باکتری‌های اسیدلاکتیک مصرف شده و به اسیدلاکتیک تبدیل می‌شود؛ و در نتیجه‌ی کاهش قند، مواد جامد محلول هم کاهش می‌یابد. این نتایج با نتایج Tantipakbulvut و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی تخمیر آبroselle به‌وسیله باکتری‌های اسید-لاکتیک پرداختند و همچنین، Ding و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک آزاد و ریزکپسوله شده در آب‌سیب و پرتقال پرداختند و امیدی و همکاران (۱۳۹۰) که اثر ضد-دیابتی آب هویج زرد ایرانی پروبیوتیک شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* را بررسی کردند، مبنی بر این‌که با گذشت زمان، مواد جامد محلول کاهش می-یابد، مطابقت دارد.

با افزایش بریکس، مواد جامد محلول افزایش می‌یابد؛ زیرا بریکس ۱۳ دارای قند بیشتری است و باعث بالا رفتن مواد جامد محلول می‌شود. این نتایج با نتایج Tantipakbulvut و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی تخمیر آبroselle به‌وسیله باکتری‌های اسید-لاکتیک پرداختند و همچنین، Ding و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک آزاد و ریزکپسوله شده در آب‌سیب و پرتقال پرداختند و امیدی و همکاران (۱۳۹۰) که به بررسی اثر ضددیابتی آب هویج زرد ایرانی پروبیوتیک شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* پرداختند مبنی بر این‌که با افزایش بریکس، مواد جامد محلول افزایش می‌یابد، مطابقت دارد.

بررسی نتایج به دست آمده از جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی پروبیوتیک طی نگه‌داری در ۴ درجه سلسیوس با گذشت زمان، جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد. علت آن، شرایط نامناسب ازجمله کاهش pH و مواد غذایی با گذشت زمان است (Nancib et al., 2010). در بین بریکس‌ها، بریکس ۹ با سرعت بیشتری نسبت به بقیه بریکس‌ها جمعیت میکروبی آن کاهش یافت؛ علت، این است که بریکس ۹ دارای قند کمتری است و مواد لازم برای رشد باکتری‌ها کم است؛ در نتیجه، جمعیت میکروبی با سرعت بیشتری کاهش می‌یابد. از طرفی، با گذشت زمان قند موجود در آبمیوه به اسیدلاکتیک تبدیل شده و pH کاهش می‌یابد، شرایط برای رشد میکروب‌ها نامساعد می‌شود و مواد غذایی باکتری‌ها کاهش می‌یابد. این نتایج با نتایج Buruleanu و همکاران (۲۰۰۹) که به مطالعه بر روی بقای باکتری‌های پروبیوتیک طی تخمیر لاکتیکی آب سبزیجات پرداختند؛ Vidal Fonteles و همکاران (۲۰۱۲) که پارامترهای کیفی و پایداری آب-طالبی و آب هندوانه تولید شده به‌وسیله اولتراسوند را مطالعه کردند؛ Ding و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک آزاد و ریز-کپسوله شده در آب‌سیب و آب‌پرتقال پرداختند وTantipakbulvut و همکاران (۲۰۰۸) که تخمیر آب-roselle به‌وسیله باکتری‌های اسیدلاکتیک را مورد بررسی قرار دادند، مبنی بر این‌که با گذشت زمان، جمعیت میکروبی به‌طور چشمگیری کاهش می‌یابد، مطابقت دارد.

باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای جمعیت میکروبی بالاتری بود و تفاوت معنی‌داری را با باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نشان داد. دلیل آن، pH بهینه *لاکتو باسیلوس کازئی* (۵/۵) است که به pHهای آزمایش نزدیک‌تر است. این نتیجه با نتایج Musavi و همکاران (۲۰۱۱) که بر روی زنده‌مانی باکتری‌های اسیدلاکتیک در آبمیوه انار تحقیق کردند و مشاهده نمودند که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در طول دو هفته اول در دمای ۴ درجه

سلسیوس حفظ شده بودند و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتو باسیلوس پاراکازئی* زنده‌مانی خود را از دست داده بودند مغایرت دارد.

زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در بریکس‌های مختلف بالاتر از باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود؛ با افزایش بریکس، جمعیت میکروبی افزایش می‌یابد؛ علت، این است که بریکس ۱۳ به دلیل داشتن مقدار زیادی شکر می‌تواند زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک را در طول زمان نگه‌داری افزایش دهد (Musavi et al., 2011). بریکس بالا، مواد غذایی مورد نیاز باکتری‌ها را در اختیار آن‌ها قرار می‌دهد (مرتضویان و سهراب وندی، ۱۳۸۵). این نتایج با نتایج Costa و همکاران (۲۰۱۳) که به مطالعه بر روی بهینه سازی فرآیند آب-آناناس (که تحت تیمار اولتراسونیک قرار گرفته بود) به‌عنوان سوبسترا برای کشت *لاکتوباسیلوس کازئی* پرداختند، مطابقت دارد؛ در این تحقیق، گزارش شد که این باکتری در نمونه‌های شیرین‌شده، زنده‌مانی بالاتری در مقابل نمونه‌های شیرین‌نشده دارد. همچنین، این نتایج با نتایج Tantipakbulvut و همکاران (۲۰۰۸) که به مطالعه بر روی تخمیر آبroselle به‌وسیله باکتری‌های اسیدلاکتیک پرداختند، مطابقت دارد؛ در این آزمایش، باکتری‌ها در نمونه‌های دارای شکر بیشتر، زنده‌مانی بالاتری داشتند.

نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=4 دارای جمعیت میکروبی (*لاکتوباسیلوس کازئی*) بالاتری می‌باشند و تفاوت معنی‌داری با نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=3 دارند؛ علت، این است که pH بهینه برای رشد لاکتو باسیل‌ها ۵ تا ۶/۵ است و این pH به ۴ نزدیک‌تر است؛ به همین دلیل، باکتری‌ها در pH=4 بیشتر رشد می-کنند. این نتایج با نتایج Dave و Shah (۱۹۹۶) که به مطالعه بر روی انتخاب محیط کشت مناسب برای رشد *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و بیفیدوباکتریوم پرداختند و Nualkoackul و همکاران (۲۰۱۱) که بقای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را مورد مطالعه قرار دادند، مبنی بر این‌که pH بهینه باعث رشد بیشتر میکروارگانیسم‌ها می‌شود و هم‌چنین، افزایش pH تا ۵، افزایش جمعیت میکروبی لاکتو باسیل‌ها را در پی دارد، مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

در طول زمان نگه‌داری در چهار درجه سلسیوس، کمترین مقدار اسیدیته و بالاترین مقادیر ویتامین‌ث، مواد جامد محلول و جمعیت میکروبی بلافاصله پس از تولید (زمان صفر) مشاهده شد. باکتری *لاکتوباسیلوس* کازئی دارای بیشترین جمعیت میکروبی و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای کمترین جمعیت میکروبی بود؛ باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در ایجاد اسیدیته مؤثرتر بود و اسید بیشتری را نسبت به باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* تولید کرد. با کاهش بریکس، اسیدیته، مواد جامد محلول و جمعیت میکروبی کاهش ولی ویتامین‌ث افزایش یافت. بیشترین میزان ویتامین-ث و جمعیت میکروبی (*لاکتوباسیلوس کازئی*) در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=۴ و کمترین، در نمونه‌های آب‌توت‌فرنگی با pH=۳ مشاهده شد. به‌طور کلی، زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک فقط هفت روز پس از نگهداری آبمیوه‌توت‌فرنگی پروبیوتیک در محدوده قابل‌پذیرش بود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات آقای حمید محمدی در سازمان استاندارد استان کردستان نهایت سپاس خود را اعلام می‌داریم.

منابع

۱. امیدی، بهین.، فاضلی، محمد رضا.، آموزگار، محمد علی و مرتضوی، پژمان. (۱۳۹۰). بررسی اثر ضد دیابتی آب هویج زرد ایرانی پروبیوتیکه شده توسط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس. پاتوبیولوژی مقایسه‌ای ایران، سال هشتم، شماره ۱، صفحه ۳۹۵-۴۰۲.

۲. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۶). فرآورده‌های میوه و سبزی- اندازه گیری pH، روش پتانسیومتری. استاندارد شماره ۴۴۰۴.

۳. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۷). شمارش باکتری‌های اسید لاکتیک مزوفیل به روش شمارش پرگنه در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد در مواد غذایی. استاندارد شماره ۴۷۲۱.

۴. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۷۹). فرآورده‌های میوه و سبزی - اندازه گیری اسید آسکوربیک (ویتامین ث)- روش متداول. استاندارد شماره ۵۶۰۹.

۵. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۰). فرآورده‌های میوه و سبزی- تعیین اسیدیته - روش پتانسیومتری. استاندارد شماره ۳۷۳.

۶. سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۳). فرآورده‌های میوه و سبزی - اندازه گیری مواد جامد محلول - روش رفراکتومتری. استاندارد شماره ۷۹۹۴.

۷. مرتضویان، امیر محمد و سهراب وندی، سارا. (۱۳۸۵). مروری بر پروبیوتیک ها و فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک (با تأکید بر فرآورده‌های لبنی). انتشارات اتا، چاپ اول.

8.Ankolekar, C., Johnson, K.C., Pinto, M.D.S., Johnson, D.A., Labbe, R.G., Greene, D. and Shetty, K. 2012. Fermentation of whole apple juice using *Lactobacillus acidophilus* for potential dietary management of hyperglycemia, hypertension, and modulation of beneficial bacterial responses. J Food Biochem. 718–738.

9. Antunes, AE., Liserre, A., Coelho, Al., Menezes, CR., Moreno, I., Yotsuyanagi, K. and Azambuja, NC.2013. Acerola nectar with added microencapsulated probiotic. J Food Sci and Technol. 54:125-131.

10. Buruleanu, L., Nicolescu, CL., Avram, D., Bratu, MG. and Manea, I. 2009. Survival of probiotic bacteria during lactic acid fermentation of vegetable juices. J Agroaliment Proc Technol. 15 (1): 132-139.

11. Costa,M.G., Fonteles,T.V., Jesus,A.L. and Rodrigues,S. 2013. Sonicated pineapple juice as substrate for L. casei cultivation for probioticbeverage development: Process optimisation and product stability. J Food Chem. 139; 261–266.

12. Daneshi, M., Ehsani, MR., Razavi, SH. and Labbap, M. 2013. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. J Elect Biotechnol. 16:5.

13. Dave, RI. and Shah, NP. 1996. Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts. J Australia. 49 (4):164-168.

14. Ding, W. K. and Shah, N. P. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteriain orange and apple juices. Int Food Res J. 15(2): 219-232.

15. Fazeli, M., Amirmozafari, N., Golbooi nejad, R. and Jamalifar, H. 2007. Antagonistic action of watermelon juice probioticated using different strains of lactobacilli against Salmonella typ Himurium. Iranian J Publ Health. 36 (4): 70-73.

16. Giang, NT. and Kieu, NT. 2013. Cashew Apple Juice Anacardium Occidentale L Probiotic Fermented from *Lactobacillus Acidophilus*. Eur J Sustain Dev. 2(3):99-108.

17. Jaiswal, A. and Abu-Ghannam, N. 2013. Kinetic studies for the preparation of probiotic cabbage juice: Impact on pHytochemicals and bioactivity. Ind Crops Prod. 50: 212– 218.

18. Jian, L., Lee, A.H. and Binnes, C.B. 2007. Tea and lycopene protect against prostate cancer. Asia Pac J Clin Nutr. 16 (1):453-457.

19. Koh, J. H., Kim, N., Hwang, D. and Lim, Y. H. 2012. Effect of water-soluble fraction of cherry tomatoes on the adhesion of probiotics and Salmonella to intestinal epithelial cells. J Sci Food Agric. 93: 3897–3900.

20. Kun, S., Rezessy-Szabo, JM., Nguyen, QD. and Hoschke, A. 2008.Changes of microbal population and some components

in carrot juice during fermentation with selected bifidobacterium strains. Process Biochem. 43 (6): 816-821.

21. Limsowtin, G.K.Y., Broome, M.C. and Powell, I.B. 2003. Lactic acid bacteria, taxonomy. In Roginski, H. Fuquay, JW. and Fox, PF. (Eds). Encyclopedia of Dairy Sciences. London: Academic Press. 3: 2739-2751.

22. Marhamatizadeh, M. H., Rezazadeh, S., Kazemeini, F., and Kazemi, M. R. 2012. The Study of Probiotic Juice Product Conditions Supplemented by Culture of Lactobacillus acidop Hilus and Bifidobacteriumbifidum. Middle-East J Sci Res. 11 (3): 287-295.

23. Mattila, T., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R. and Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. Int Dairy J. 12: 173-182.

24. Mishra, V. and Prasad, D.N. 2005. Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. Intl J Food Microb. 103: 109-115.

25. Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z. and Kiani, H. 2011. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bactéria. World J Microb and Biotechnol. 27: 123–128.

26. Nancib, A., Nabil, N., Meziane-cherlf, D., Boubendir, A., Fick, M. and Boudrant, J. 2010. Joint effect of nitrogen sources and B vitamin supplementation of date juice on lactic acidproduction by *lactobacillus casei* subsp Rhamnosus. Bioresource Technol. 96: 63-67.

27. Nualkaekul, S., Salmeron, I. and Charalampopoulos, D. 2011. Survival of Bifidobacterium longum in model solutions and fruit juices. Int J Food Microb. 146: 111–117.

28. Ouwehand, AC., Bianchi Salvadori, B., Fonden, R., Mogensen, G., Salminen, S. and Sellars, R. 2003. Health effects of probiotics and culture-containing dairy productsin humans. Bulletin the Int Dairy Fed. 380: 4-19.

29. Pereira, A.F., Maciel, T.C. and Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. J Food Res Int. 44: 1276–1283.

30. Pereira, A.F., Almeida, F.D, Jesus, A.L., Costa, J.M. and Rodrigues, S. 2012. Storage Stability and Acceptance of Probiotic Beverage from Cashew Apple Juice. Food Bioprocess Technol. DOI 10.1007/s11947-012-1032-1.

31. Rivera-Espinoza, Y. and Gallardo-Navarro, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. Food Microb. 27(1): 1-11.

32. Shah, N.P. 2001. Functional food from probiotics and prebiotics.J food Technol. 55:46-53.

33. Shukla, M., Jha,Y.K. and Admassu, S. 2013. Development of probiotic beverage from whey and pineapple juice. J Food Process Technol. 4:2.

34. Soccol, CR., Vandenberghe, LPd., Spier, MR., Medeiros, ABP., Yamaguishi, CT., Lindner, JDD., Pandeyand, D. and Thomaz-Soccol, V. 2010. The potential of probiotics..J Food Technol. Biotechnol. 48 (4): 413–434.

35. n, M., Salminen, S. and Ouwehand, AC. 2013. Fermentation of carrot juice by probiotics: viability and preservation of adhesion. Int J Biotechnol for Wellness Industries. 2: 10-15.

36. Tantipaibulvut,S., SoontornsopHan, C. and LuangvipHusavanich, S. 2008. Fermentation of roselle juice by lactic acid bacteria. Asian J Food and Agro-Industry. 1(4): 213-222.

37. Vidal Fonteles, T., Costa, MG., Tiberio de Jesus, AL., Fontes, CP., Narciso Fernandes FA. and Rodrigues, S. 2012. Stability and quality parameters of probiotic cantaloupe melon juice produced with sonicated juice. J Food Bioprocess Technol.

38. Yoon, K.Y., Woodams, E.E., Yong, D. and Hang,Y.D. 2005. Fermentation of beet

using litchi juice treated by high hydrostatic pressure and heat as substrates. J Innovative Food Sci and Emerg Technol. (23): 61-67.

juice by beneficial lactic acid bacteria. J the Lebensm.-Wiss. u.-Technol. 38: 73–75.

39. Zheng, X., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., Wu, J., Tang, D. and Zhang, Y. 2014. Comparing product stability of probiotic beverages

Investigation of effect of pH and concentration of strawberry juice on the viability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*

Berimavandi T[1], Fadaei Noghani F[2*]

1. MSc Graduated from Department of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2. Department of Food Science & Technology, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

***Corresponding author**: *vn.fadaei@gmail.com*

Received: 7 September 2017 Accepted: 7 November 2017

Abstract

In this research, probiotic strawberry juice was produced using probiotic bacteria *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* and four factors brix (9, 11, 13), pH (3, 4), time (0, 7, 14, 21, 28) and bacteria (*L. casei* and *L. plantarum*) were studied using factorial design in a completely randomized factorial design. Some physicochemical properties (pH, acidity, vitamin C and soluble solids) and probiotic bacterial population of probiotic strawberry juice were measured. The result showed that during storage time, pH, vitamin C, total soluble solids and bacterial population decreased ($p<0.05$) and acidity increased ($p<0.05$). With increasing the brix, acidity, soluble solids and bacterial population increased ($p<0.05$) and vitamin C decreased ($p<0.05$). With increasing pH, Vitamin C and bacterial population increased ($p<0.05$) and acidity decreased ($p<0.05$). The results showed *L. casei* was higher; also, the highest viability of probiotic bacteria in pH = 4, brix= 13 and storage time zero was observed. In this study, probiotic strawberry juice was produced using *L. casei* and *L. plantarum* and four factors including brix (9, 11 and 13), pH (3 and 4), time (0, 7, 14, 21 and 28 days) and bacteria (*L. casei* and *L. plantarum*) were studied using factorial design in a completely randomized factorial design; and some physicochemical properties (pH, acidity, vitamin C, soluble solids and probiotic bacteria population) of probiotic strawberry juice were measured. The results showed that over time, pH, vitamin C, soluble solids and microbial population decreased ($p<0.05$) and acidity increased ($p<0.05$). With increasing the brix, acidity, soluble solids and microbial population increased ($p<0.05$) and vitamin C decreased ($p<0.05$). With increasing pH, vitamin C and microbial population increased ($p<0.05$) and acidity decreased ($p<0.05$). *L. casei* was higher. The highest viability of probiotic bacteria in pH = 4, brix= 13 and storage time zero was observed.

Keywords: Strawberry, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, probiotic juice