تاثیر کپسوله کردن بر زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط

**شهره شیخ قاسمی[a]، شهین زمردی[b]*

[a] *دانش‌آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات آیت الله آملی، گروه علوم و صنایع غذایی، آمل، ایران*
[b] *استادیار بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، ارومیه، ایران*

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۷/۲۸ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۲۰

چکیده

مقدمه: آب سیب پروبیوتیک، یکی از جدیدترین فرصت های نوآوری در تجارت انواع نوشیدنی های سالم در سراسر جهان می باشد. لذا هدف از این تحقیق، بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10 DSL) به دو صورت آزاد و کپسوله شده و تاثیر آنها بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب سیب در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد است.

مواد و روش‌ها: در این بررسی ۴ تیمار شامل شاهد، آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد و به صورت کپسوله شده به روش اکستروژن و آب سیب که pH آن توسط پودر آب‌پنیر به ۴/۴ تنظیم شده همراه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تهیه شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد *که در طول نگهداری تعداد پروبیوتیک‌ها در تیمارهای* آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد و کپسوله شده *به ترتیب دو و یک سیکل لگاریتمی کاهش و در تیماری* که pH آن توسط پودر آب‌پنیر به ۴/۴ تنظیم شده همراه با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، حدود ۰/۵ سیکل لگاریتمی افزایش یافت.* تعداد نهایی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در پایان دوره نگهداری در تیمارهای حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد، کپسوله شده و *حاوی* پودر آب‌پنیر به ترتیب ۶/۶ ۷/۶ و ۹/۰۴ سیکل لگاریتمی بود. تیمار حاوی پودر آب پنیر دارای کمترین میزان شفافیت و رنگ و نمونه حاوی پروبیوتیک کپسوله شده بیشترین میزان شفافیت و رنگ و کمترین میزان کدورت را داشتند. نمونه حاوی پروبیوتیک آزاد و کپسوله شده از لحاظ خواص حسی با آب سیب شاهد اختلاف معنی داری نداشت. اما تیمار حاوی پودر آب‌پنیر کمترین امتیاز خواص حسی را داشت.

نتیجه‌گیری: لذا می‌توان از کپسوله کردن در تولید آب سیب پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: *پروبیوتیک، زنده‌مانی، شفافیت، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

* نویسنده مسئول مکاتبات email: shahinzomorodi@gmail.com

jftn.srbiau.ac.ir

مقدمه

در دو دهه اخیر به دلیل اثرات مفید پروبیوتیک‌ها در سلامتی انسان، این میکروارگانیسم ها در انواع مختلفی از محصولات غذایی به کار برده شده‌اند. در حال حاضر اغلب فرآورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فرآورده‌های لبنی پروبیوتیک تشکیل می‌دهد. عدم تحمل لاکتوز و حضور کلسترول دو عامل عمده در کاهش مصرف فرآورده های لبنی می‌باشد. لذا اگر جایگزین مناسبی برای محصولات پروبیوتیک بر پایه لبنی برای افراد گیاه‌خوار وجود نداشته باشد به تدریج پروبیوتیک‌ها با خواص دارویی بسیار بالا جایگاه خود را در بین قشر وسیعی از افراد جامعه از دست خواهند داد. گزارش شده که آب میوه می‌تواند محیط خوبی برای پروبیوتیک‌ها باشد (Sandholm *et al*., 2002). زیرا میوه ها و سبزیجات غذاهای سالمی هستند، زیرا غنی از آنتی اکسیدان‌ها، ویتامین‌ها، فیبرهای رژیمی و مواد معدنی می باشند. به علاوه میوه‌ها و سبزیجات فاقد هر گونه آلرژن‌های لبنی هستند که ممکن است استفاده از آنها، را توسط قشر خاصی از جمعیت جلوگیری کند (Luckow & Delahunty, 2004). از طرفی باید تعداد پروبیوتیک زنده باقی مانده در ماده غذایی حداقل 10^6–10^7 کلنی در گرم یا در میلی لیتر باشد تا در تامین سلامتی مفید واقع شود (Shah, 2001). معمولا pH آب میوه‌ها پایین تر از ۴ است، که این pH برای اغلب کشتهای پروبیوتیکی زیان‌آور می‌باشد. بنابراین قابلیت زنده ماندن و پایداری پروبیوتیک در آب میوه کاهش می‌یابد (Saarela *et al*, 2011). لذا لازم است به طریقی زنده مانی پروبیوتیک‌ها را در این محصولات افزایش داد. یکی از این روش‌ها، بالا بردن pH آب‌میوه‌ها با استفاده از اجزای شیر همچون پروتئین آب‌پنیر تغلیظ شده، می‌باشد. پروتئین آب پنیر جزء مواد غذایی ایمن (GRAS)[1] بوده که حاوی مواد مغذی بالا و توانایی کاربردی بالایی دارد، در ضمن این ترکیبات طی دوره نگهداری ماندگاری پروبیوتیک‌ها را افزایش می‌دهند (Claude *et al*, 2008). اما ممکن است در خواص حسی محصول اثر نامطلوبی داشته باشد. صنعت غذا زمانی موفق است که رضایت مصرف‌کننده را جلب کند. لذا علاوه بر عوامل تکنولوژیکی فاکتورهای ارگانولپتیکی نیز اهمیت پیدا می‌کند (Vinderola *et al*, 2002).

یکی دیگر از روش‌های حفظ پروبیوتیک‌ها، استفاده از فرآیند کپسوله کردن است. کپسوله کردن یا ریزپوشانی یک فرایند مکانیکی یا فیزیکوشیمیایی است که در آن ذرات محتوی اجزای فعال توسط سایر مواد پوشش داده می‌شود. کنترل واکنش اکسیداتیو، پنهان کردن طعم، رنگ و بو، بهبود نگهداری و کنترل آزادسازی، افزایش عمر نگهداری و محافظت سلول‌ها در برابر محیط زیان‌آور از مزایای ریزپوشانی کردن پروبیوتیک‌ها می‌باشند. انواع مختلفی از روش‌های کپسوله کردن وجود دارد که در این بین اکستروژن، روشی آسان و ارزان بوده و آسیبی به پروبیوتیک‌ها وارد نمی‌کند و قابلیت زیستی آنها را افزایش می‌دهد. این تکنولوژی حاوی محلول‌های زیان آور نمی‌باشد و می‌تواند در شرایط هوازی و بی‌هوازی انجام شود (Burgain *et al*., 2011). یوون و همکاران (Yoon *et al*., 2005) در تهیه آب چغندر از دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* استفاده کردند و نشان دادند که در مدت ۴ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، تعداد *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* درحدود 10^8–10^6 کلنی در میلی‌لیتر بود، اما تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کمتر از این مقدار بود. موسوی و آدامز (Moussavi & Adams, 2008) زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس فرمانتوم* را در آب پرتقال و آب گوجه فرنگی در دمای ۴، ۲۳ و ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به مدت ۴ هفته بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد که گونه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* در هر دو آبمیوه پایدار بودند. کلاودی و همکاران (Claude *et al*., 2008) زنده‌مانی ۹ گونه از *لاکتوباسیلوس‌ها* را در ۱۰ نوع آب میوه مخلوط با اجزای شیر، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸۰ روز مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نسبت به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* ثبات بیشتری داشت. با افزایش pH از ۳/۸ به ۴/۲ قابلیت ماندگاری پروبیوتیک‌ها افزایش یافت.

در این تحقیق هدف بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به دو صورت آزاد و کپسوله شده در آب سیب

[1] *Generally Recognized As Safe* (GRAS)

ifrn.srbiau.ac.ir

و مطالعه نقش آنها در خواص فیزیکوشیمیایی، شفافیت و ارگانولپتیکی محصول نهایی و همچنین مقایسه آن با آب سیب پروبیوتیکی که pH آن با استفاده از پروتئین پودر آب پنیر به ۴/۴ تنظیم شده، می باشد.

مواد و روش‌ها

آب سیب از کارخانه شادلی ارومیه (با بریکس ۱۲/۲، اسیدیته برحسب اسید مالیک ۰/۲۴ ٪، pH ۳/۸۳، رنگ، شفافیت و کدورت به ترتیب ۵۴/۷، ۹۹/۳ و ۷/۷۵)، باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10 DSL) از شرکت DSM استرالیا، پودر آب پنیر از شرکت سهند تیهو تبریز (رطوبت ۲٪، پروتئین ۱۲/۵٪، لاکتوز ۸۳٪، کلسیم ۸۰۰ppm و pH ۶/۶)، محیط‌کشت MRS[1] و گاز پک بی هوازی از شرکت مرک آلمان تهیه شد.

- کپسوله کردن

کپسوله کردن پروبیوتیک‌ها به روش اکستروژن انجام گرفت. پودر خشک شده انجمادی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، در ۵ میلی‌لیتر آب پپتون ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) استریل بصورت سوسپانسیون در آورده شد و با ۲۰ میلی‌لیتر از محلول سدیم آلژینات ۲ درصد (وزنی/حجمی) استریل (در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه) مخلوط گردید. سوسپانسیون سلولی توسط سرنگ استریل با قطر ۰/۲ میلی‌متر به ظرف حاوی محلول ۰/۰۵ مولار کلرید کلسیم استریل تزریق شد. کپسول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه برای سفت شدن در محلول فوق نگهداشته شدند. سپس آبکشی گردیدند و تا زمان مصرف در آب پپتون ۰/۱ درصد استریل در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Zomorodi *et al*., 2012).

- تهیه تیمارها

برای تیمار شاهد (CAP)[2]، آب سیب بدون افزودن پروبیوتیک استفاده شد. برای تهیه تیمار آب سیب حاوی پروبیوتیک آزاد (FPAJ)[3]، مقدار لازم از باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقداری آب سیب استریل حل و در شرایط استریل به آب سیب اضافه گردید. پس از درب بندی، کاملا مخلوط شد. برای تهیه تیمار آب سیب با پروبیوتیک کپسوله (EPAJ)[4]، کپسول‌هایی که قبلا تهیه شده بودند در وزن مشخص در شرایط استریل به آب سیب اضافه شدند. برای تهیه تیمار WPAJ[5] ابتدا pH آب سیب با استفاده از پودر آب پنیر به ۴/۴ تنظیم شد. پس از استریل کردن مقدار لازم *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در مقداری از آب سیب استریل حل و در شرایط استریل به آب سیب افزوده شد. تیمارها در ۲ تکرار تهیه شدند. نمونه‌ها در دمای ۵± ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ روز نگهداری شدند. در طول نگهداری هر ۱۰ روز یکبار از آزمایشات لازم انجام گرفت.

- شمارش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

جهت متلاشی شدن کپسول‌ها و آزاد شدن محتویات آن، رقت اول از نمونه‌ها در محلول ۲ درصد تری سدیم سیترات تهیه شد. برای تهیه آن، مقدار ۱۰ گرم نمونه همگن شده در کیسه‌های زیپ دار استریل حاوی۹۰ میلی‌لیتر تری سدیم سیترات ۲ درصد استریل توزین شد و مدت ۵ دقیقه توسط استومیچر با دور۲۶۰ در دقیقه همگن گردید تا کپسول‌ها کاملا باز شوند. برای یکنواخت بودن شرایط، رقت ۰/۱ در نمونه‌های بدون کپسوله نیز از سیترات سدیم استفاده شد. سری رقت‌های بعدی با افزایش یک میلی‌لیتر از هر رقت به ۹ میلی‌لیتر آب پپتون ۰/۱ درصد استریل تهیه شد. شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در محیط کشت MRS آگار حاوی سوربیتول (۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد سوربیتول، استریل شده توسط فیلتر سر سرنگی، به ۹۰ میلی‌لیتر محیط‌کشت قبل از ریختن در پلیت‌ها اضافه شد) تحت شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت (Krasaekoopt *et al*., 2003; Dave & Shah, 1997).

- روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی آب سیب

pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر مدل

[1] De Man, Rogosa and Sharpe (MRS)
[2] آب سیب کنترل، بدون پروبیوتیک (CAJ)
[3] آب سیب حاوی پروبیوتیک به فرم آزاد (FPAJ)
[4] آب سیب حاوی پروبیوتیک به فرم کپسوله شده (EPAJ)
[5] آب سیب حاوی پودر آب پنیر با پروبیوتیک به صورت آزاد(WPAJ)

jfn.srbiau.ac.ir

(691-Methrohm، ساخت سویس)، برای تعیین درصد اسیدیته (بر حسب اسید مالیک)، مقدار ۲۵ میلی لیتر آب مقطر به ۵ گرم از نمونه افزوده شد و با محلول سود ۰/۱ نرمال در حضور شناساگر فنل فتالئین تا ایجاد رنگ صورتی کم رنگ تیتر گردید. بریکس با استفاده از رفراکتومتر دستی (Garlzeiss Jena، ساخت آلمان) و رطوبت به روش خشک کردن در آون معمولی در دمای ۲±۱۰۳ درجه سانتی‌گراد تعیین شد (موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران،۲۶۸۵).

- **تعیین رنگ، شفافیت و کدورت:**

برای تعیین رنگ نمونه ها مقدار عبور نور در طول موج ۴۴۰ نانومتر و برای تعیین شفافیت مقدار عبور نور در طول موج ۶۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Pharmacia، ساخت انگلیس) تعیین گردید. برای استاندارد کردن دستگاه آب مقطر مورد استفاده قرار گرفت. و کدورت (NTU)[1]، با استفاده از دستگاه 210 AN turbidimeter (ساخت کمپانی HACH امریکا) موجود در شرکت سیب تاک ارومیه تهیه شد (زمردی و همکاران، ۱۳۸۱).

- **ارزیابی حسی**

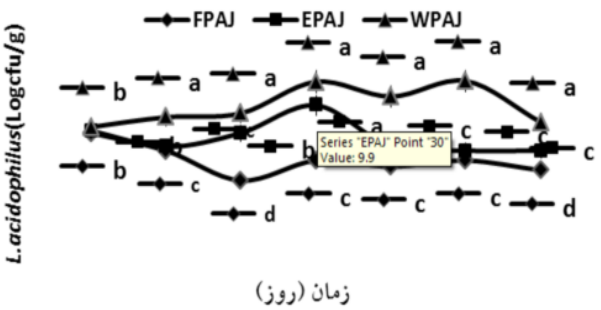
خواص حسی (رنگ، عطر و طعم و پذیرش کلی) در روزهای ۱، ۳۰ و ۶۰ توسط ۱۵ نفر گروه ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف کننده و روش هدونیک ۵ نقطه ای تعیین شد. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت مطلوب و امتیاز یک برای کیفیت نامطلوب اختصاص داده شد (زمردی و همکاران، ۱۳۸۱).

- **تجزیه و تحلیل آماری**

نتایج با استفاده از آزمایشات فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو فاکتور و دو تکرار تجزیه شد. نتایج با استفاده از نرم افزار Minitab تجزیه و تحلیل گردید و برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

یافته‌ها

- **تغییرات *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طول نگهداری**



نمودار ۱-تغییرات تعداد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه-های آب سیب در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای ۵±۲۵°C

FPAJ (آب سیب حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به صورت آزاد).

در نمودار ۱ تغییرات تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تیمارهای FPAJ (آب سیب حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد) در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد آورده شده است.

- **ترکیبات شیمیایی**

در جدول ۱ تغییرات pH، درصد بریکس، اسیدیته و رطوبت نمونه‌های آب سیب در طول نگهداری آورده شده است.

- **تغییرات شدت رنگ، شفافیت و کدورت (NTU)**

در جدول ۲ تغییرات شدت رنگ آب سیب و در نمودارهای ۲ و ۳ به ترتیب اثر متقابل نوع تیمار بر میزان شفافیت و اثر تیمارها بر NTU آب سیب در طول زمان نگهداری در دمای ۵±۲۵درجه سانتی‌گراد آورده شده است.

- **خواص حسی**

در جدول ۳ اثر تیمارها بر خواص حسی آب سیب در طول نگهداری در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان داده شده است.

[1] Nephelometric Turbidity Units (NTU)

jftn.srbiau.ac.ir

جدول ۱- میانگین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آب سیب در طول نگهداری در دمای ۲۵±۵ °C

آزمایش	نوع تیمار	زمان نگهداری (روز) ۱	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰
pH	CAJ	۳/۸۳^{b}	۳/۸۱^{b}	۳/۸۴^{b}	۳/۸۹^{b}	۳/۹۴^{b}	۳/۹۶^{b}	۳/۹۱^{b}
	WPAJ	۴/۴۲^{a}	۳/۶۸^{c}	۳/۵۳^{c}	۳/۵۹^{c}	۳/۵۳^{c}	۳/۶۷^{c}	۳/۵۷^{c}
	FPAJ	۳/۸۴^{b}	۳/۸۰^{b}	۳/۹^{b}	۳/۸۲^{b}	۳/۹۵^{b}	۳/۹۰^{b}	۳/۷۲^{c}
	EPAJ	۳/۸۳^{b}	۳/۸۸^{b}	۳/۹۸^{b}	۳/۹۷^{b}	۴/۰۵^{b}	۳/۹۲^{b}	۳/۸۶^{b}
بریکس (٪)	CAJ	۱۲/۲^{c}	۱۲/۰۵^{c}	۱۲^{c}	۱۲/۲^{c}	۱۲^{c}	۱۲/۳^{c}	۱۱/۹^{c}
	WPAJ	۲۰/۴^{a}	۱۸/۳^{a}	۱۷/۴^{b}	۱۶^{b}	۱۶/۵^{b}	۱۶/۴^{b}	۱۵/۸۸^{b}
	FPAJ	۱۲/۳^{c}	۱۲/۲^{c}	۱۲^{c}	۱۱/۹۳^{c}	۱۱/۹^{c}	۱۱/۸۵^{c}	۱۱/۵۵^{d}
	EPAJ	۱۲/۱^{c}	۱۲^{c}	۱۲^{c}	۱۲^{c}	۱۱/۸^{c}	۱۲/۱^{c}	۱۱/۹^{c}
اسیدیته (٪ برحسب اسیدمالیک)	CAJ	۰/۲۴۰^{c}	۰/۲۳۵^{c}	۰/۲۵۰^{c}	۰/۲۳۰^{c}	۰/۲۴۵^{c}	۰/۲۵۰^{c}	۰/۲۵۵^{c}
	WPAJ	۰/۲۹۰^{b}	۰/۸۷۰^{a}	۱/۰۶^{a}	۱/۰۹۵^{a}	۱/۱۷۵^{a}	۱/۱۹۰^{a}	۰/۹۸^{a}
	FPAJ	۰/۲۴۸^{c}	۰/۲۵۰^{c}	۰/۲۵۵^{c}	۰/۲۵۵^{c}	۰/۲۹۰^{b}	۰/۳۲۰^{b}	۰/۳۹۵^{b}
	EPAJ	۰/۲۳۵^{c}	۰/۲۴۰^{c}	۰/۲۴۶^{c}	۰/۲۱۰^{c}	۰/۲۳۰^{c}	۰/۲۶۰^{c}	۰/۲۷۵^{c}
رطوبت (٪)	CAJ	۸۶/۶۵^{a}	۸۷/۹^{a}	۸۷/۷۵^{a}	۸۷/۹^{a}	۸۸/۲۵^{a}	۸۸/۳۵^{a}	۸۸/۰^{a}
	WPAJ	۸۱/۶^{c}	۸۲/۸۵^{c}	۸۳/۵۰^{c}	۸۷/۳^{a}	۸۴/۷۵^{b}	۸۴/۹۵^{b}	۸۴/۸^{b}
	FPAJ	۸۸/۰۵^{a}	۸۸/۹^{a}	۸۸/۷۰^{a}	۸۸/۰۵^{a}	۸۷/۹۵^{a}	۸۸/۲۵^{a}	۸۸/۱۵^{a}
	EPAJ	۸۷/۹^{a}	۸۹/۴۲^{a}	۸۷/۸۵^{a}	۸۸/۲۵^{a}	۸۸/۱۵^{a}	۸۸/۲۰^{a}	۸۷/۱۱^{a}

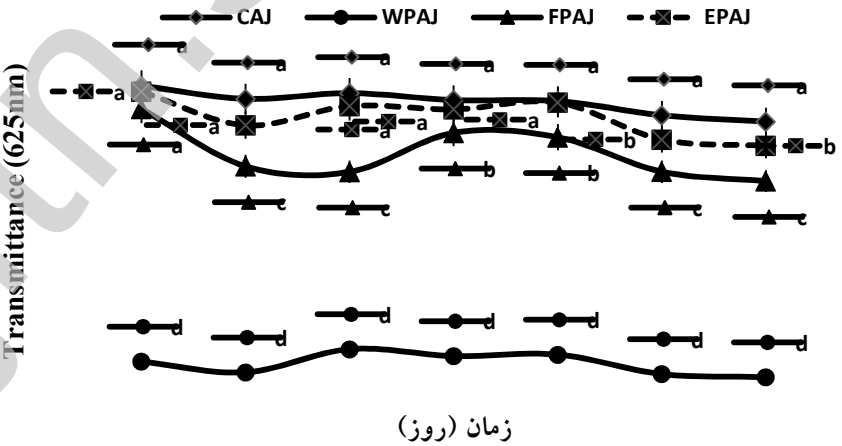
اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند ($p<0.05$)

CAJ (آب سیب شاهد)، FPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد)

جدول ۲ – تاثیر زمان نگهداری بر تغییرات شدت رنگ نمونه‌های آب سیب در دمای ۲۵±۵ °C

زمان نگهداری (روز) ۱	۱۰	۲۰	۳۰	۴۰	۵۰	۶۰
۴۰/۸۱^{a}	۳۷/۴۳^{a}	۳۰/۸۸^{a}	۲۵/۸۸^{b}	۲۱/۵۱^{b}	۱۹/۳۳^{b}	۱۷/۶۷^{c}

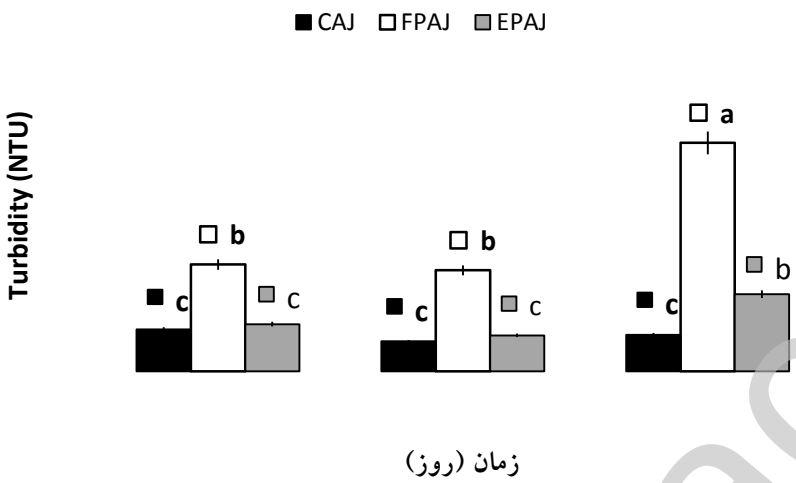
اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند ($p<0.05$)



نمودار ۲- تاثیر نوع تیمار در شفافیت آب سیب در طول نگهداری در دمای ۲۵±۵ °C

CAJ (آب سیب شاهد)، FPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد).

jftn.srbiau.ac.ir



نمودار ۳- اثر تیمارها بر کدورت آب سیب نگهداری شده در دمای ۲۵±۵ °C

CAJ (آب سیب شاهد)، FPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد).

جدول ۳- اثر تیمارها در خواص حسی تیمارهای آب سیب

نوع تیمار	میانگین‌ها		
	رنگ	طعم	پذیرش کلی
CAJ	۴/۸[a]	۴/۴[a]	۴/۶۶[a]
WPAJ	۲/۰۶[b]	۱/۸۶[b]	۲/۰۱[b]
FPAJ	۴/۰۴[a]	۳/۹۳[a]	۳/۹۳[a]
EPAJ	۴[a]	۳/۳۸[a]	۳/۷۳[a]

اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند ($p<0.05$)

CAJ (آب سیب شاهد)، FPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد) و EPAJ (آب سیب حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت کپسوله شده) و WPAJ (آب سیب حاوی پودر آب پنیر و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد).

بحث

- تغییرات *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طول نگهداری

همانطوریکه از نمودار ۱ مشاهده می‌شود تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در طول نگهداری در دو تیمار FPAJ و EPAJ بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$) اما کاهش پروبیوتیک‌ها در تیمارهای کپسوله شده کمتر بود ($p<0.05$). وقتی که سلولها در محیطی با pH پایین قرار می‌گیرند، برای حفظ pH درون سلولی خود، نیاز به مصرف انرژی بالایی دارند. لذا سایر وظایف اصلی سلولی تحت تاثیر استرس کمبود ATP قرار گرفته و سلول‌ها نمی‌توانند زنده بمانند(Shabala *et al*., 2006).

تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در پایان دوره نگهداری در آب سیب حاوی پروبیوتیک کپسوله شده، به میزان یک سیکل لگاریتمی بالاتر از نمونه حاوی پروبیوتیک آزاد بود (در تیمار EPAJ، ۷/۶ و در تیمار FPAJ، ۶/۶ سیکل لگاریتمی بود). این نتایج نشان دهنده اثر حفاظتی کپسول‌ها بر پروبیوتیک‌ها در برابر شرایط محیط از جمله پایین بودن pH می‌باشد. کپسوله کردن از استرس کمبود ATP در سلول جلوگیری کرده و موجب افزایش رشد پروبیوتیک‌ها گردیده است. همچنین وجود شرایط بی‌هوازی در داخل کپسول‌ها، موجب رشد بیشتر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شده است (Poncelet *et al*., 2007). همچنین دلیل کاهش تعداد پروبیوتیک‌ها در

jfn.srbiau.ac.ir

فرم کپسوله را نیز می‌توان به علت عدم خروج متابولیت-های تولیدی توسط فعالیت پروبیوتیک‌ها از درون کپسول دانست که اثر باز دارنده برروی رشد باکتری‌ها داشته و سبب کاهش تعداد آنها شده است (Ding & Shah, 2008).

این نتایج با نتایج سایر تحقیقات مطابقت دارد (Groboillot *et al*., 1993; Lee & Heo, 2000). آنها نیز نشان دادند که در اثر کپسوله کردن، قابلیت زنده-مانی پروبیوتیک ها در آب میوه‌های اسیدی به مدت چندین هفته افزایش یافت. دینگ و شه (Ding & Shah, 2008) نیز نشان دادند که قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌های کپسوله شده در مقایسه با پروبیوتیک آزاد بیشتر بود.

تعداد پروبیوتیک‌ها در تیمار WPAJ که حاوی پودر آب پنیر بود در طول نگهداری حدود ۰/۵ سیکل لگاریتمی افزایش یافت. علت آن می‌تواند مربوط به بالا بودن pH این تیمار و وجود پروتئین‌های آب پنیر و لاکتوز باشد که موجب افزایش قابلیت زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* شده است.

در پایان دوره نگهداری (بعد از ۶۰ روز) تعداد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تیمارهای FPAJ، EPAJ و WPAJ به ترتیب حدود ۶/۶، ۷/۶ و ۹/۰۴ سیکل لگاریتمی بود که این تعداد برای تامین سلامتی کافی بود.

- ترکیبات شیمیایی

همانطور که از جدول ۱ ملاحظه می‌گردد در تیمارهای FPAJ و WPAJ در طول نگهداری به طور معنی‌داری درصد اسیدیته افزایش و pH کاهش یافت ($p<0.05$). در بین تیمارها اسیدیته نمونه‌های آب سیب حاوی پودر آب پنیر (WPAJ)، بالاترین مقدار بود. با وجود بقای بالای پروبیوتیک‌ها در تیمار EPAJ، کپسول‌ها مانع از افزایش چشمگیر اسیدیته و کاهش pH شدند. زیرا اسید تولیدی توسط پروبیوتیک‌ها در داخل کپسوله باقی مانده و در نتیجه اسیدیته این تیمار افزایش زیادی نداشت.

نتایج مشابهی در آب پرتقال با پروبیوتیک آزاد و کپسوله شده توسط دینگ و شه (Ding & Shah, 2008) گزارش شده است. با فعالیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و تولید اسید لاکتیک و در ضمن وقوع تخمیر در نمونه آب سیب حاوی پودر آب پنیر در دمای محیط، pH کاهش یافته است. یوون و هانگ (Yoon & Hang, 2006) نیز در آب چغندر قرمز تخمیری حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* نشان دادند که pH نمونه‌ها در طول ۴۰ روز نگهداری از ۴/۲۸ به ۳/۷۹ کاهش یافت که نتایج این بررسی را تایید می‌کند.

با توجه به جدول ۱ درصد رطوبت در تیمار WPAJ بطور معنی‌داری کمتر و مقدار بریکس بالاتر از سایر تیمارها بود. علت آن، افزودن پودر آب پنیر به این تیمار بود که موجب کاهش رطوبت و افزایش میزان ماده خشک و بریکس گردید ($p<0.05$). همچنین در طول نگهداری بریکس تیمار FPAJ بطور معنی‌داری کاهش یافت ($p<0.05$)، که این کاهش در تیمارهای کپسوله شده معنی دار نبود ($p>0.05$). دلیل آن می‌تواند به علت مصرف قند توسط پروبیوتیک‌ها در تیمار FPAJ درحالیکه در تیمار EPAJ کپسول‌ها مانع دسترسی آسان پروبیوتیک‌ها به قند می‌شوند. دینگ و شه (Ding & Shah, 2008) گزارش کردند که بریکس نهایی آب سیب با پروبیوتیک کپسوله شده در پایان ۶ هفته نگهداری بالاتر از آب سیب با پروبیوتیک آزاد بود که نتایج این بررسی را تایید می‌کند.

- تغییرات شدت رنگ

با توجه به جدول ۲ شدت رنگ نمونه‌ها در طول نگهداری بطور معنی‌داری کاهش یافت. کارتنوئیدها اصلی ترین پیگمان‌های مسئول در رنگ آب سیب هستند که اصلی ترین آنها بتاکاروتن در سیب‌های زرد می باشد. به طور طبیعی اغلب کارتنوئیدهای موجود در آب میوها به شکل ترانس بوده و شدت رنگ بالاتری دارند. بعضی کاروتنوئیدها در pH اسیدی و قلیایی بالا پایدار نیستند و ممکن است ایزومرهای سیس و ترانس و باندهای دوگانه تشکیل گردد. تغییرات در فرایند تولید و نگهداری می تواند سبب ایزومراسیون مولکول‌های کارتنوئید و تغییر در رنگ محصولات گردد. فعالیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب سیب نیز می‌تواند منجر به تبدیل ایزومرهای ترانس کاروتنوئیدها به سیس شده و موجب کاهش رنگ گردد (Pereira *et al*., 2011).

- تغییرات شفافیت و کدورت (NTU)

jfn.srbiau.ac.ir

همانطوریکه از نمودارهای ۲ و۳ مشخص است در طول نگهداری در تیمارهای شاهد (CAJ) و حاوی آب پنیر (WPAJ) تغییرات در میزان شفافیت معنی‌دار نبود ($p>0.05$). اما در تیمار حاوی پروبیوتیک به صورت آزاد (FAPJ) شفافیت و کدورت به ترتیب بطور معنی‌داری کاهش و افزایش نشان دادند ($p<0.05$). در تیمار کپسوله شده (EPAJ) نیز شفافیت و کدورت تا روز۴۰ تغییرات معنی‌داری نشان نداد اما سپس بطور معنی داری شفافیت کاهش و کدورت افزایش یافت ($P<0.05$). لذا می‌توان نتیجه گرفت که فعالیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به صورت آزاد سبب کاهش معنی‌دار میزان شفافیت و افزایش کدورت در آب سیب شده است. در حالیکه استفاده از فرم کپسوله پروبیوتیک فقط در انتهای دوره نگهداری تغییرات معنی‌داری را در شفافیت و کدورت ایجاد کرد. علت آن می تواند به دلیل کاهش پایداری کپسول‌ها در انتهای دوره نگهداری باشد که موجب افزایش کدورت شده است. شه و همکاران (Shah *et al*., 2010) نیز گزارش کردند که کدورت آب میوه‌های مدل حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیفیدوباکتریوم لاکتیس و لاکتوباسیلوس پاراکازئی* بعد از ۶ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به طور معنی داری کاهش پیدا کرد که نتایج بررسی حاضر را تایید می‌کند. همچنین در بین تیمارهای حاوی پروبیوتیک، نمونه حاوی پودر آب پنیر دارای کمترین میزان شفافیت، نمونه حاوی پروبیوتیک کپسوله بیشترین میزان شفافیت و کمترین میزان کدورت را داشتند.

- خواص حسی

با توجه به مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳)، تیمارهای آب سیب با پروبیوتیک آزاد و کپسوله شده از لحاظ خواص حسی (رنگ، طعم و پذیرش کلی) با آب سیب شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند ($p>0.05$).

لذا افزودن *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب سیب بر خواص حسی آن تاثیر منفی نداشت و افراد مایل به استفاده از آب سیب پروبیوتیک به شکل آزاد و کپسوله شده، بودند. آگاهی مصرف‌کننده از مزایای سلامت بخشی پروبیوتیک‌ها و عرضه آنها در بازار سبب افزایش ترجیح مصرف کننده به این محصول می‌شود. نتایج مشابهی نیز توسط لوکو و دلاهانتی (Luckow & Delahunti, 2004) گزارش شده است. آنها نیز بیان کردند که آگاهی از مزایای سلامتی پروبیوتیک‌ها موجب افزایش ترجیح مصرف کنندگان نسبت به آب پرتقال معمولی گردید که نتایج ما را تایید می کند. فقط در بین تیمارها، نمونه حاوی پودر آب پنیر از لحاظ رنگ، طعم و پذیرش کلی مورد تایید گروه ارزیاب نبود.

نتیجه‌گیری

آب سیب پروبیوتیک می تواند یک جایگزین مناسب برای افرادی که مایل به مصرف محصولات لبنی پروبیوتیک نیستند، باشد. اما قابلیت زنده ماندن و ثبات پروبیوتیک‌ها هم در بازار و هم در طول فرایند چالش بزرگی برای تولید کنندگان صنعتی محصولات پروبیوتیک می‌باشد. لذا در این تحقیق زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (LAFTI-L10 DSL) به صورت آزاد و کپسوله شده و نیز همراه با پودر آب پنیر در آب سیب و تاثیر آن بر خواص شیمیایی و ارگانولپتیکی نمونه‌ها در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای ۵±۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی گردید.

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که در پایان دوره نگهداری (به مدت۶۰ روز) جمعیت *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در تیمار آب سیب حاوی پروبیوتیک آزاد، کپسوله شده و حاوی آب پنیر به ترتیب ۶/۶، ۷/۶ و ۹/۰۴ سیکل لگاریتمی بود. لذا کپسوله کردن یک سیکل لگاریتمی و بالابردن pH آب سیب توسط پودرآب پنیر نیز ۳ سیکل لگاریتمی زنده مانی پروبیوتیک‌ها را نسبت به فرم آزاد افزایش داد. همچنین نتایج حاصل از ارزیابی حسی نیز حاکی است که تیمار حاوی پودرآب پنیر بطور معنی‌داری کمترین امتیاز خواص حسی را کسب نمود. اما تیمارهای حاوی پروبیوتیک آزاد و کپسوله شده از لحاظ خواص حسی (رنگ، طعم و پذیرش کلی) با آب سیب شاهد تفاوت معنی‌داری نداشتند.

گرچه تعداد تعداد نهایی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پایان دوره نگهداری (به مدت۶۰ روز) در هر سه تیمار بالاتر از حداقل مقدار توصیه شده لازم برای ایجاد اثرات درمانی در سلامتی انسان ($۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$کلنی در گرم) بود، اما استفاده از کپسوله کردن موجب افزایش زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* گردید. تیمار حاوی پودر آب‌پنیر دارای کمترین میزان شفافیت و رنگ و بیشترین

jftn.srbiau.ac.ir

میزان کدورت بود. در ضمن از نظر خواص حسی نیز مورد تایید گروه ارزیاب نبود. اما نمونه حاوی پروبیوتیک کپسوله شده دارای بیشترین میزان شفافیت و رنگ و کمترین میزان کدورت بود. در ضمن از لحاظ خواص حسی (رنگ، طعم و پذیرش کلی) با آب سیب شاهد نیز اختلاف معنی‌داری نداشت. لذا از کپسوله کردن *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می توان در تهیه آب سیب استفاده نمود زیرا نه تنها در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی تاثیر نامطلوبی نداشته بلکه در ایجاد طعم مطلوب نیز موثر بود.

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله از همکاری آزمایشگاه صنایع غذایی بخش فنی و مهندسی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی به دلیل قرار دادن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

زمردی، ش.، خسروشاهی اصل، ا. و عزیزی، ا. (۱۳۸۱). تاثیر مواد زلال کننده بر کیفیت شیره انگور. *تحقیقات مهندسی کشاورزی*، جلد ۳ شماره ۱۲، ۶۵-۷۸.

بی نام. (۱۳۸۷). آب میوه- ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. *استاندارد ملی ایران، شماره ۲۶۸۵*. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

Burgain. G., Gaiani, C., Linder, M. & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial Applications. *Journal of Food Engineering,* 104: 467–483.

Claude, P. & Gardner, J. (2008). Effect of Storage in a Fruit Drink on Subsequent Survival of probiotic lactobacilli to gastro, international stresses. *Food Research International*, 41: 539-543.

Dave, R. I. & Shah, N. P. (1997). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7: 31-41.

Ding, W. K. & Shah, N. P. (2008). Survival of Free and Microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal, 219-232.*

Groboillot, A. F., Champagne, C. P., Darling, G. F. & Poncelet, D. (1993). Membrane formation by interfacial cross-linking of chitosan for microencapsulation of *Lactococcus lactis*. *Biotechnology and bioengineering*, 42: 1157–1163.

Krasaekoopt, W., Bhandari, B. & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13: 3–13 .

Lee, K. Y. & Heo, T. R. (2000). Survival of *Bifidobacterium longum* immobilized in calcium alginate beads in simulated gastric juices and bile salt solution. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 869–873.

Luckow, T. & Delahunty, C. (2004). Which juice is Healthier a Consumer Study of probiotic non dairy juice drink*, Food Guilty and Preference*, 15: 751-759.

Moussavi, M. Ph. & Ho Adams, M. C. (2008). A Study on the Survival of Probiotic Lactobacilli in Tomato and Orange Juice. *Asia Pac Journa Nutrition*, 17: 141-142.

Pereira, A. F, Maciel, T. C. & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei, Food Research International*. 44, 1276–1283.

Poncelet, D., Dreffier, C., Subra-Paternault, P. & Vandamme, T. F. (2007). *Introduction aux techniques de microencapsulation.* In: Vandamme, T., Poncelet, D., Subra-Paternault, P. (Eds.), \. Ed. Tec & doc, Paris. 3–7.

Saarela, M., Alakomi, H. L., Mättö, J., Ahonen, A. M. & Tynkkynen, S. (2011). Acid tolerant mutants of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* with improved stability in fruit juice*, LWT - Food Science and Technology*, 44: 1012-1018.

Sandholm, T., Myllrinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondn, R. & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy Journal,* 12: 173-182

Shabala, L., McMeekin, T., Budde, B. B. & Siegumfeldt, H. (2006). Listeria innocua and *Lactobacillus delbrueckii* subsp bulgaricus employ different strategies to cope with acid stress. *International Journal of Food Microbiology*, 110: 1–7.

Shah, N. P. (2001). Functional Foods from probiotics and prebiotics. *Food Technology,* 55: 46-53.

ifrnshau.ac.ir

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*, 75:78-82.

Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhard, S. & Reinheimer, J. A. (2002). Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. *International Dairy Journal*, 12:579–589.

Yoon, K. Y., Woodams, E. E. & Hang, Y. D. (2005). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 38: 73–75.

Yoon, K. Y., Woodams, E. E. & Hang, Y. D. (2006). Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97: 1427–1430.

Zomorodi, Sh., Khosrowshahi Asl, A., Razavi Rohani, S. M. & Miraghaei, S. (2011). Survival of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium bifidum* in free and microencapsulated forms on Iranian white cheese produced by ultrafiltration. *International Journal of Dairy Technology*, 64: 84-91.

jftn.srbiau.ac.ir