تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه ای، کرفس و گشنیز

مریم بابایی [۱]، مهناز هاشمی روان [۲*]، رضوان پوراحمد [۳]

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

(تاریخ دریافت: ۹۵ /۰٤/۲۸ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰٦/۲۹)

چکیده

از مزایای استفاده از میوه و سبزی به عنوان محیط پایه برای تولید نوشیدنی‌های پروبیوتیک، می‌توان به عدم محدودیت مصرف توسط افراد خاص به دلیل فقدان لاکتوز و کلسترول و همچنین غنی بودن از مواد مغذی (از جمله ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان ها و مواد معدنی) اشاره کرد. در این پژوهش از مخلوط آب سبزیجات که شامل آب گوجه فرنگی ۸۵ ٪، آب فلفل دلمه ای سبز ۵ ٪ ، آب کرفس۵ ٪ و آب گشنیز۵ ٪ (درصد غلظتها ثابت است) استفاده گردید. تلقیح میکروبی توسط روش مک فارلند در دو سطح 10^{7}cfu.ml و 10^{6} و در پنج نسبت ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ ٪ از لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس انجام گردید. کلیه آزمون های فیزیکوشیمیایی از قبیل pH، اسیدیته، بریکس و شمارش میکروبی در زمان قبل از تخمیر، بعداز ۷۲ ساعت تخمیر در دمای ۳۷°C و طی چهار هفته نگهداری در دمای ٤°C مورد بررسی قرار گرفت. جهت تجزیه و تحلیل نتایج از نرم افزار SPSS 22 و روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد و جهت رسم نمودارها از نرم افزارExcel استفاده گردید. در طی تخمیر و نگهداری، با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری، pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به ترتیب ۸/۱٤ ٪ و ۰/۲۳ ٪ بطور معنی دار کاهش و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک ۲۱/٤۲ ٪ بطور معنی دار افزایش یافت. میزان باکتری های پروبیوتیک در طی تخمیر افزایش یافت ($p \leq ۰/۰۵$) و در طی چهار هفته نگهداری در دمای٤°C میزان باکتری های پروبیوتیک کاهش یافت ($p \leq ۰/۰۵$)، بطوریکه حداکثر زنده مانی باکتری ها در دامنه توصیه شده از سوی سازمان غذا و دارو چهار هفته نگهداری یخچالی بود.

کلید واژگان: آب سبزیجات، نوشیدنی پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

* مسئول مکاتبات: m_hashemiravan @yahoo.com

۱- مقدمه

پروبیوتیک‌ها به عنوان یکی از نوظهورترین و محبوب‌ترین فرآورده‌های فراسودمند هستند که از اهمیت خاصی در این ارتباط برخوردارند[۱].

مهمترین اثر پروبیوتیک‌ها جایگزینی آن‌ها در روده کوچک بوده که باعث تحریک روده و پاکسازی آن شده و به این صورت مانع چسبیدن پاتوژن ها و مهار اثر سمی توکسین‌ها می‌شود [۲و ۳].

پتانسیل تغذیه‌ای و بیولوژیک آب‌میوه و سبزی‌ها سبب شده است که این موادغذایی به فرآورده‌هایی با خواص چندگانه در حفظ تعادل ریززنده ها تبدیل شود. اثرات سودمند میوه و سبزی با یک فرآیند بیولوژیکی مانند تخمیر لاکتیکی قابل بهبود است. به علاوه برخی از میوه‌ها و سبزی‌ها حاوی پری‌بیوتیک‌هایی هستند که رشد پروبیوتیک‌های خاصی را تحریک می‌کنند[٤].

همچنین از جمله مزایای استفاده از میوه و سبزی به عنوان محیط پایه برای تولید نوشیدنی‌های پروبیوتیک می‌توان به عدم محدودیت مصرف توسط افراد خاص به دلیل فقدان لاکتوز و کلسترول و غنی از موادمغذی از جمله اینکه حاوی ویتامین‌ها، آنتی‌اکسیدان ها و مواد معدنی می‌باشند[۵].

تعداد باکتری‌های زنده مورد نیاز در زمان مصرف برای اثربخش بودن غذا بر سلامتی فرد مصرف‌کننده باید حداقل 10^6 cfu.ml باشد[٦].

آب سبزیجات مورد مطالعه مخلوطی از گوجه فرنگی، فلفل دلمه سبز، کرفس و گشنیز می باشد که سرشار از مقادیر قابل توجهی ویتامین های A, C, E و فولات، منگنز، لیکوپن، پتاسیم و فلاونوئید ها است[۷و ۸]. همچنین عصاره سبزیجات فوق حاوی فیبر های غذایی[1] بوده که سبب بهبود عملکرد دستگاه گوارش و جلوگیری از یبوست می شوند [۹].

تاکنون تحقیقات زیادی در ارتباط با فرآیند تولید و خواص شیمیایی، میکروبی و حسی آبمیوه و سبزیجات پروبیوتیک انجام‌گرفته است که ازجمله آن‌ها می‌توان به تحقیق مورارو[2] و همکاران (۲۰۰۷) تولید "آب سبزیجات پروبیوتیک" با استفاده ،از آب کرفس وچغندر (پالپ دار و بدون پالپ) و استارتر کالچر بیفیدوباکتریوم، کرباسی و ایزدی (۲۰۱۳) تولید نوشیدنی پروبیوتیک توسط لاکتوباسیلوس رامنوسوس، پاراکازئی و اسیدوفیلوس و مخلوط آب کلم و گوجه فرنگی، وما[3] و همکاران (۲۰۱۳) بررسی تولید آب هویج پروبیوتیک با استفاده از گونه های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، بیفیدوباکتریوم لانگوم، ساکارومایسس بولاردی، نصرتی[4] و همکاران (۲۰۱٤) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه آب سبزیجات با استفاده از پروبیوتیک های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم، ا مینی نیا و همکاران (۲۰۱٦) تولید نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتری های اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی، زندی[5] و همکاران (۲۰۱٦) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی اشاره کرد. اما هیچ گزارش علمی مبنی بر انجام تحقیق درباره خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک مخلوط آب گوجه فرنگی، فلفل دلمه ای سبز، کرفس و گشنیز انتشار نیافته است. با یک تیمار بیولوژیک مثل تخمیر لاکتیکی و استفاده از باکتری های پروبیوتیک در این عصاره ارزشمند، محصولی فراسودمند با خواص مطلوب در دسترس مصرف کنندگان قرار خواهد گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

۲-۱-۱-مخلوط آب سبزیجات شامل گوجه فرنگی، فلفل دلمه ای سبز، کرفس، گشنیز و سویه های باکتریهای پروبیوتیک

جهت تولید فرآورده پروبیوتیک، گوجه فرنگی، فلفل دلمه ای، کرفس، گشنیز از بازار میوه و سبزی تهیه گردید. پس از شستشو، توسط دستگاه آبمیوه گیری خانگی، به صورت تازه آبگیری گردید و در دمای C °٤- نگهداری گردید. تهیه مخلوط آب سبزیجات شامل گوجه فرنگی، فلفل دلمه ای سبز، کرفس، گشنیز شامل: آب گوجه فرنگی ۸۵ ٪، آب فلفل دلمه ای سبز ۵ ٪ ، آب کرفس۵ ٪ وآب گشنیز۵ ٪ (درصد غلظتها ثابت است). *لاکتوباسیلوس کازئی*- 01، *لاکتوباسیلوس*

1. Dietary fiber
2. Moraru
3. Vema
4. Nosrati
5. Zandi

اسیدوفیلوس- LA5 از شرکت کریستین هانسن دانمارک به صورت پودر گرانول تهیه شد.

۲-۲-روش ها

۲-۲-۱-تلقیح میکروارگانیسم به نمونه ها

باکتریهای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* از شرکت کریستین هانسن دانمارک خریداری گردید. بسته های حاوی باکتری با دقت در شرایط استریل باز و پس از فعالسازی، در کرایوتیوپ های مخصوص در دمای ۱۸- درجه سانتیگراد نگهداری گردید. در هر محله، یک گرانول از باکتری در ۱۰۰ میلی لیتر محیط MRS براث، به صورت یکنواخت مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه گذاری شد. سپس یک میلی لیتراز کشت حاصل دوباره به ۹ میلی لیتر محیط کشت تازه اضافه و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شد. در نهایت سوسپانسون باکتری توسط روش سانتریفوژ در ٤۵۰۰ دور در دقیقه، به مدت۵ دقیقه سانتریفوژ شد، رسوب حاصله از سانتریفوژ جداسازی و در دو مرحله با محلول ۰/۱ درصد پپتون واتر شسته و رسوب باکتری در آب پپتونه ۰/۱ درصد حل گردید، سپس جذب نوری باکتری با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر تعیین شد. همزمان با تعیین میزان جذب نوری با دستگاه اسپکتروفتومتر، شمارش باکتریایی به روش شمارش صفحه ای سطحی انجام گردید(۱۰). از کدورت ایجاد شده که معادل ٦×١٠^{٨}cfu.ml ازسویه باکتری مورد نظر می باشد توسط پی پت استریل ۱ cc برداشته و به لوله حاوی ۹ cc آب مقطر استریل اضافه شد تا رقت ٦×١٠^{٧}cfu.ml به دست آید (سوسپانسیون میکروبی۱). رقت میکروبی ٦×١٠^{٦}cfu.ml نیز به همین ترتیب بدست آمد (سوسپانسیون میکروبی ۲).

تلقیح کشت های مذکور در پنج نسبت:

۱- ۵۰ ٪ *لاکتوباسیلوس کازئی* و ۵۰ ٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

۲- ۲۵ ٪ *لاکتوباسیلوس کازئی* و ۷۵ ٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

۳- ۷۵ ٪ *لاکتوباسیلوس کازئی* و ۲۵ ٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

٤- ۱۰۰ ٪ *لاکتوباسیلوس کازئی*

۵- ۱۰۰ ٪ *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

Table 1 Treatments of research

Density of bacterias (C)	Precent of bacterias (A)	Treatments
10^6 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 50% + *Lactobacillus acidophilus* 50 %	A_1C_1
10^6 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 25% + *Lactobacillus acidophilus* 75 %	A_2C_1
10^6 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 75% + *Lactobacillus acidophilus* 25 %	A_3C_1
10^6 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 100%	A_4C_1
10^6 cfu.ml	*Lactobacillus acidophilus* 100 %	A_5C_1
10^7 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 50% + *Lactobacillus acidophilus* 50 %	A_1C_2
10^7 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 25% + *Lactobacillus acidophilus* 75 %	A_2C_2
10^7 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 75% + *Lactobacillus acidophilus* 25 %	A_3C_2
10^7 cfu.ml	*Lactobacillus casei* 100%	A_4C_2
10^7 cfu.ml	*Lactobacillus acidophilus* 100 %	A_5C_2

۲-۲-۲-پاستوریزاسیون قبل از تلقیح باکتری

نمونه ها درون شیشه درپیچ دار پیرکس آزمایشگاهی ریخته شد. به منظور پاستوریزاسیون، مخلوط آب سبزیجات درون بن ماری با دمای ۸۰°C به مدت۵ دقیقه قرار گرفتند. بعد از اینکه نمونه ها به دمای مورد نظر رسید و مدت زمان لازم را سپری نمود، بلافاصله نمونه ها با آب سرد خنک شده تا عمل پاستوریزاسیون کامل گردد [۱۱].

۲-۲-۳-تخمیر نمونه‌ها

تیمارها را برای انجام عملیات تخمیر به انکوباتور Memmert- آلمان، با دمای۳۷°C به مدت ۷۲ ساعت (دمای بهینه دو سویه مورد استفاده ۳۷°C می باشد) منقل شدند. پس از تخمیر تیمارها برای بررسی فاکتورهای مورد نظر در طول ٤ هفته به یخچال با دمای٤°C منتقل شدند [۱۲و ۱۳].

۲-۲-٤-آزمون‌ها

اندازه‌گیری pH با دستگاه pH متر(Metler toledo، آلمان) [١٤]، بریکس با دستگاه رفراکتومتر (اوپتک آلمان) (۱۵)، اسیدیته با تیتراسیون سود ۰/۱ نرمال طبق روش ذکرشده در

استاندارد ملی ایران بـه شـماره ۲۱٤ انجـام گردیـد [۱۷و ۱٦]. جهت شمارش سلول های میکروبی زنده از روش رقت سازی دهگانی و پروپلیت طبق روش استفادهSPC شد. تعـداد کلنـی ها طبق رابطه ۱ در عکس رقت ضرب و عدد نهایی به صورت تعـداد کلنـی در هـر میلـی لیتـر (cfu.ml) بیـان شـد [۱۸]. رابطه (۱):

تعداد کلنی در هر میلی لیتر(cfu.ml) = تعداد کلنی × عکـس فاکتور رقت

پس از تخمیر نوشیدنی جهت انجام تست پانل، ارزیابی حسی در هفته اول و چهارم نگهداری و توسط پنج نفراز افراد ثابت و متخصص در زمینه صنایع غذایی، در کارخانه آبمیـوه القمـیس واقع در شهرک صنعتی ایـوانکی شـهر گرمـسار- ایـران انجـام گردید[۱۲].

ویژگی های مورد بررسی نمونه هـا شـامل مـزه، بـو، شـیرینی، ترشی، طبیعی بودن و رنگ ظاهری و غلظت مورد بررسی قرار گرفتند. فاکتورهای حسی نوشـیدنی تخمیـری براسـاس روش هدونیک ۹ نقطه ای توسـط ارزیـاب هـای متخـصص بررسـی گردید و برای هر سطح میانگینی در نظر گرفتـه شـد کـه از ۹ برای بالاترین سطح تا ۱ برای کمترین سطح می باشد [۱۲].

۲-۲-۵-تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایشات در قالب طـرح کـاملا تـصادفی انجـام گردیـد. آزمایش به صـورت فاکتوریـل اسـت کـه فـاکتور A نـسبت باکتری ها در ۵ سطح و فـاکتور C (تـراکم بـاکتری هـا) در ۲ سطح 10^6cfu.ml و10^7 بود. ۱۰ تیمـار بـا ۳ بـار تکـرار مـورد آنـالیز قـرار گرفتنـد. جهـت تحلیـل واریـانس نتـایج از نـرم افزار SPSS 22 استفاده شد. میانگین ها به روش آزمون چنـد دامنه ای دانکن در سطح ۵ ٪ مورد مقایسه قرار گرفـت. بـرای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳-نتایج

۳-۱- نتایج زنده مانی پروبیوتیـک هـا قبـل از تخمیر، پـس از ۷۲ سـاعت تخمیـر در دمـای ۳۷°C و طی ٤ هفته نگهداری در دمای ٤°C

با توجه به جدول (۲) نتایج شمارش بـاکتری *لاکتوباسـیلوس اسیدوفیلوس* مشخص گردید که نوع و نسبت بـاکتری هـا اثـر کاملا" معنی داری بر مقدار شـمارش بـاکتری *لاکتوباسـیلوس اسیدوفیلوس* نوشـیدنی پروبیوتیـک داشـتند (p<۰/۰۱). بـا افزایش تراکم باکتری و همچنین با افزایش زمان نگهـداری (تـا دو هفتـه پـس از تخمیـر) شـمارش بـاکتری *لاکتوباسـیلوس اسیدوفیلوس* نوشیدنی پروبیوتیک بـهطـور معنـی دار افـزایش یافت (p ≤۰/۰۵). در هفته سوم و چهـارم نگهـداری شـمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کاهش معنی دار به نـسبت زنده مانی بـاکتری لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس در هفتـه دوم نگهداری داشت (p ≤۰/۰۵). بـا توجـه بـه جـدول (۳) نتـایج شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* مشخص گردید که نـوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا" معنـی داری بـر مقـدار شـمارش بـاکتری *لاکتوباسـیلوس کـازئی* نوشـیدنی پروبیوتیـک داشـتند (p<۰/۰۱). بـا افـزایش تـراکم بـاکتری، شـمارش بـاکتری *لاکتوباسیلوس کـازئی* نوشـیدنی پروبیوتیـک بطـور معنـی دار افزایش یافت (p ≤۰/۰۵). با افزایش تراکم باکتری و همچنـین با افزایش زمان نگهداری (تا دو هفته پس از تخمیـر) شـمارش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* نوشیدنی پروبیوتیک بهطور معنـی دار افزایش یافت (p ≤۰/۰۵). در هفته سوم و چهارم نگهداری شمارش باکتری *لاکتوباسـیلوس کـازئی* کـاهش معنـی دار بـه نسبت زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* در هفته دوم نگهداری داشت (p ≤۰/۰۵).

حداکثر زنده مانی بـاکتری هـای پروبیوتیـک توصـیه شـده از سـوی سـازمان غـذا و دارو کـه 10^6 cfu.ml مـی باشـد، در تیمارها تا چهار هفته نگهداری بود.

امیدی و همکاران، (۱۳۹۰) به بررسی اثر ضد دیابتی آب هویج زرد ایرانـی پروبیوتیـک حـاوی لاکتوباسـیلوس اسـیدوفیلوس پرداختند و آب هویج در دمای ۱۱۰ درجـه سـانتیگراد اسـتریل شد. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به میـزان 10^4cfu.ml بـه آب میوه تلقیح شد. نتایج نشان داد که ل. اسیدوفیلوس توانایی رشد در آب هویج زرد ایرانی را به خوبی داشته و مانـدگاری آن در آب هویج در ٤ درجه سانتیگراد بهترین نتیجه را نـشان داد کـه با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر که بیانگر توانایی رشـد و زنده مانی لاکتوباسیلوس در مدت ٤ هفته نگهداری در دمای ٤ درجه سانتیگراد بود، مطابقت داشت [۱۹].

نتایج مشابهی با یافته های شارمر و میشر[1] (۲۰۱۳) کـه بیـانگر امکان تولید نوشیدنی مخلوط آب هویج و کدوی پروبیوتیک با نژادهای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پلانتـاروم*

1. Sharma and Misher

و پدیوکوکوس پنتوسوس بود، بدست آمد. در این تحقیق تخمیر در دمای ۳۰°C برای ۷۲ ساعت انجام شد و در دمای ٤ °C به مدت ٤ هفته ذخیره سازی شد. نتایج نشان داد که میزان زنده مانی باکتری ها بعد از ٤ هفته نگهداری log ۸ cfu.ml بوده که بیانگر امکان تولید نوشیدنی پروبیوتیک می باشد[۲۰].

زندی[1] و همکاران (۲۰۱٦) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بررسی نمودند. زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در زمان های بعد از تخمیر (فرآیند تخمیر به مدت ٤۸ ساعت در دمای ۳۷ °C) و در طی ۲۸ روز نگهداری و در دمای ٤ °C مورد بررسی قرار گرفت. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها تعداد باکتری پروبیوتیک بدلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در آب میوه جات افزایش یافت که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت[۲۱].

۳-۲- نتایج pH و اسیدیته قبل از تخمیر، پس از ۷۲ ساعت تخمیر در دمای ۳۷°C و طی ٤ هفته نگهداری در دمای ٤°C

با توجه به نتایج ذکر شده در جدول (٤) مشخص گردید که نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا" معنی داری بر مقدار pH نوشیدنی پروبیوتیک داشتند (p<۰/۰۱). با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری، pH نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار کاهش یافت (p ≤۰/۰۵).

با توجه به نتایج ذکر شده در جدول (۵) مشخص شد که نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا معنی داری بر مقدار اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک داشت (p<۰/۰۱). با افزایش تراکم باکتری، و زمان نگهداری، اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت (p ≤۰/۰۵).

طبق نتایج بدست آمده مشخص گردید رشد باکتری ها، کاهش pH و افزایش اسیدیته را در طی تخمیر و نگهداری به دنبال داشته است. علت اصلی این امر، مربوط به مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی می باشد.

شیرپور، (۱۳۹٤) تولید مارمالاد لیموی پروبیوتیک با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی* را مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند در کلیه تیمارها پس از تخمیر میزان pH کاهش و میزان اسیدیته افزایش یافت که نتایج مشابه با تحقیق حاضر بدست آمد [۲۲].

امینی نیا و همکاران، (۱۳۹۵) تولید نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتری های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی* را بررسی نمودند. نتایج نشان داد که بیشترین تاثیر در کاهش pH و افزایش اسیدیته و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده گردید که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر که بیانگر بیشترین کاهش pH و بیشترین افزایش اسیدیته توسط باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود، مطابقت داشت [۲۳].

کومار[2] و همکاران (۲۰۱۳) در یک بررسی از انگور، انبه و طالبی به عنوان یک سوبسترای مناسب برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی* به مطالعه پرداختند. نتایج نشان داد که اسیدیته افزایش، pH کاهش یافت و قند به دلیل استفاده از آن برای رشد باکتری کاهش یافت که با نتایج بدست تحقیق حاضر مطابقت داشت[۲٤].

هاشمی روان[3] و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی تولید نوشیدنی پروبیوتیک تخمیری بر پایه مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب میوه جات قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*، pH و اسیدیته در زمان های قبل و بعد از تخمیر و در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ٤°C مورد بررسی قرار گرفت. در طی تخمیر و چهار هفته نگهداری، در کلیه تیمارها میزان pH کاهش و میزان اسیدیته افزایش یافته که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (۲۵).

۳-۳- نتایج بریکس قبل از تخمیر، پس از ۷۲ ساعت تخمیر در دمای ۳۷°C و طی ٤ هفته نگهداری در دمای ٤°C

با توجه به نتایج ذکر شده در جدول (٦) مشخص گردید که نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا" معنی داری بر مقدار بریکس نوشیدنی پروبیوتیک داشتند (p<۰/۰۱). با افزایش تراکم باکتری، بریکس نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار کاهش یافت (p ≤۰/۰۵). با افزایش زمان نگهداری از لحظه تولید تا پس از تخمیر بریکس بطور معنی دار کاهش یافت و پس از یک هفته نگهداری بریکس نوشیدنی بطور معنی دار افزایش

1. Zandi

2. Kumar
3. Hashemiravan

یافت ($p\leq ۰/۰۵$). از هفته سوم تا هفته چهارم نگهداری کاهش معنی دار در مقدار بریکس نوشیدنی رخ داد ($p \leq ۰/۰۵$).

طبق نتایج بدست آمده مشخص شد که رشد باکتری ها کاهش بریکس را در طی تخمیر به دنبال داشته است علت اصلی این امر، مربوط به مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی می باشد.

یحیایی[1] و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی امکان تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب میوه جات قرمز با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*، فاکتور بریکس در زمانهای بعد از تخمیر و در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای $٤^{\circ}C$ بررسی گردید. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها تعداد باکتریهای پروبیوتیک بدلیل مصرف قند و مواد مغذیی موجود در عصاره مالت و آب میوه جات قرمز افزایش یافت، این در حالی بود که میزان قندهای احیا کننده و بریکس کاهش یافت که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر که در طی تخمیر و نگهداری، مقدار بریکس کاهش یافت، مطابقت داشت [۲٦].

مشایخ[2] و همکاران (۲۰۱٦) تغییرات شیمیایی و حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب آناناس، سیب و انبه را بررسی نمودند. بیان نمودند در طی تخمیر، بریکس(مواد جامد محلول در آب) نوشیدنی پروبیوتیک کاهش یافت که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت [۲۷].

۳-٤-نتایج ارزیابی حسی در هفته اول و چهارم نگهداری

با توجه به نتایج ذکر شده در نمودار (۱) مشخص گردید که نوع و نسبت باکتری ها و زمان نگهداری اثر کاملا" معنی داری بر امتیاز ارزیابی حسی طعم و مزه، عطر و بو، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر و غلظت نوشیدنی پروبیوتیک تولیدی داشت ($p<۰/۰۱$). تراکم باکتری تاثیر کاملا" معنی داری بر ارزیابی حسی طعم و مزه، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر نوشیدنی پروبیوتیک تولیدی داشت ($p<۰/۰۱$) و تاثیر معنی داری بر امتیاز ارزیابی حسی عطر و بو و غلظت داشت ($۰/۰۵<p<۰/۰۱$).

طبق نتایج بدست آمده مشخص گردید که می توان از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی* به عنوان کشت های میکروبی پروبیوتیک به منظور تولید یک نوشیدنی سلامت زا برای گیاه خوران استفاده نمود ولی نوشیدنی حاصل از نظر ارزیابی حسی نیاز به اصلاح طعم توسط سایر آب میوه ها و یا آب سبزیجات دارند.

کرباسی و ایزدی، (۱۳۹۲) امکان استفاده از مخلوط آب کلم و گوجه فرنگی را به عنوان ماده خام به منظور تولید نوشیدنی پروبیوتیک توسط *لاکتوباسیلوس رامنوسوس، پاراکازئی و اسیدوفیلوس* بررسی نمودند. بیان نمودند که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس و پاراکازئی* می توانند به عنوان کشت های میکروبی پروبیوتیک به منظور تولید یک نوشیدنی سلامت زا برای گیاه خوران استفاده شوند. با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت[۲۸].

نصرتی[3] و همکاران (۲۰۱٤) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه آب سبزیجات با استفاده از پروبیوتیک های *لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را بررسی کردند. از نظر ارزیابی حسی بیشترین امتیاز مربوط به تیمار شاهد با بریکس ٤ ٪ بود و تیمار با بریکس ٤ ٪ و سطح تلقیح $۱۰^{۷}$ cfu.ml در مرتبه دوم قرار گرفت. در کل این نوشیدنی مورد پذیرش قرار نگرفت و به اصلاح طعم نیاز داشت. با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت [۲۹].

دوگاهه[4] و همکاران (۲۰۱۵) به بررسی تأثیر متغیرهای فرآیند بر روی زنده مانی باکتری ها در آب انار پروبیوتیک غنی شده پرداختند. از دو گونه *لاکتوباسیلوس دلبروکی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم* استفاده شد و سپس آب انار غنی شده با ۱۰ درصد آب انگور، ۵ درصد آب گوجه فرنگی، ۰/۱ درصد عصاره پوست انار، ۰/۲ درصد گلوکز در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شد و برای ۲ هفته در درجه حرارت محیط نگه داشته شد. ارزیابی حسی نشان داد که تفاوت معنی داری از نظر طعم، بو و پذیرش با نمونه شاهد وجود ندارد [۵].

1. Yahyaei
2. Mashayekh
3. Nosrati
4. Dogahe

Table 2 Compares the average count of *Lactobacillus acidophilus* during the storage period (mean ± SD)

4 st week	3 st week	2 st week	1 st week	After 72 hours fermentation	Before fermentation	treatment
7.52±0.00^{Ee}	7.56±0.00^{De}	7.66±0.00^{Af}	7.64±0.00^{Bf}	7.62±0.00^{Ce}	6.47±0.00^{Fg}	A1C1
7.63±0.00^{Ed}	7.65±0.00^{Dd}	7.75±0.00^{Ad}	7.74±0.00^{Bd}	7.72±0.00^{Cd}	6.65±0.00^{Ff}	A2C1
7.10±0.02^{Eg}	7.22±0.01^{Dh}	7.42±0.00^{Ah}	7.38±0.01^{Bh}	7.32±0.01^{Ch}	6.17±0.00^{Fh}	A3C1
0.00±0.00^{Ah}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	A4C1
7.84±0.00^{Da}	7.86±0.00^{Ca}	7.93±0.00^{Aa}	7.91±0.00^{Ba}	7.91±0.00^{Ba}	6.77±0.00^{Ee}	A5C1
7.51±0.00^{Ee}	7.53±0.00^{Df}	7.67±0.00^{Ae}	7.64±0.00^{Be}	7.61±0.00^{Cf}	7.47±0.00^{Fc}	A1C2
7.71±0.00^{Dc}	7.74±0.00^{Cc}	7.83±0.00^{Ac}	7.82±0.00^{Ac}	7.80±0.00^{Bc}	7.65±0.00^{Eb}	A2C2
7.35±0.01^{Ef}	7.40±0.00^{Dg}	7.57±0.00^{Ag}	7.53±0.00^{Bg}	7.49±0.00^{Cg}	7.17±0.00^{Fd}	A3C2
0.00±0.00^{Ah}	0.000±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	A4C2
7.83±0.00^{Db}	7.84±0.00^{Cb}	7.91±0.00^{Ab}	7.90±0.00^{ABb}	7.89±0.00^{Bb}	7.77±0.00^{Ea}	A5C2

The small values in each column has the same letters were not statistically different.((p >0.05).
The large values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).

Table 3 Compares the average count of *Lactobacillus casei* bacteria during the storage period (mean ± SD)

4 st week	3 st week	2 st week	1 st week	After 72 hours fermentation	Before fermentation	treatment
6.50±0.00^{Eg}	6.53±0.00^{Dg}	6.65±0.00^{Ag}	6.63±0.00^{Bg}	6.61±0.00^{Cg}	6.47±0.00^{Fg}	A1C1
6.13±0.01^{Fh}	6.24±0.01^{Dh}	6.46±0.00^{Ah}	6.43±0.00^{Bh}	6.38±0.01^{Ch}	6.17±0.00^{Eh}	A2C1
6.70±0.00^{Ef}	6.72±0.00^{Df}	6.81±0.00^{Af}	6.80±0.00^{Bf}	6.78±0.00^{Cf}	6.65±0.00^{Ff}	A3C1
6.79±0.00^{Ee}	6.81±0.00^{De}	6.88±0.00^{Ae}	6.87±0.00^{Be}	6.85±0.00^{Ce}	6.77±0.00^{Fe}	A4C1
0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	A5C1
7.45±0.00^{Fc}	7.51±0.00^{Dc}	7.60±0.00^{Ac}	7.59±0.00^{Bc}	7.58±0.00^{Cc}	7.47±0.00^{Ec}	A1C2
7.22±0.01^{Ed}	7.27±0.01^{Dd}	7.45±0.00^{Ad}	7.40±0.00^{Bd}	7.36±0.01^{Cd}	7.17±0.00^{Fd}	A2C2
7.71±0.00^{Eb}	7.74±0.00^{Db}	7.82±0.00^{Ab}	7.81±0.00^{Bb}	7.79±0.00^{Cb}	7.65±0.00^{Fb}	A3C2
7.79±0.00^{Ea}	7.81±0.00^{Da}	7.88±0.00^{Aa}	7.86±0.00^{Ba}	7.85±0.00^{Ca}	7.77±0.00^{Fa}	A4C2
0.00±0.00^{Ai}	0.000±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	0.00±0.00^{Ai}	A5C2

The small values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).
The large values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).

Table 4 compares the average pH during the storage period (mean ± SD)

4 st week	3 st week	2 st week	1 st week	After 72 hours fermentation	Before fermentation	treatment
3.38±0.00^{Fb}	3.43±0.00^{Eb}	3.47±0.01^{Da}	3.57±0.00^{Ca}	3.63±0.00^{Be}	4.31±0.00^{Aa}	A1C1
3.50±0.00^{Ca}	3.57±0.00^{Ba}	3.41±0.01^{Db}	3.50±0.00^{Cb}	3.57±0.00^{Bg}	4.31±0.00^{Aa}	A2C1
2.80±0.00^{Fe}	2.86±0.00^{Ee}	2.90±0.00^{De}	3.00±0.00^{Cf}	3.62±0.00^{Bf}	4.30±0.00^{Aab}	A3C1
2.92±0.00^{Fc}	2.98±0.00^{Ec}	3.03±0.00^{Dc}	3.15±0.00^{Cc}	3.85±0.00^{Ba}	4.31±0.00^{Aa}	A4C1
2.86±0.00^{Fd}	2.94±0.00^{Ed}	2.99±0.01^{Dd}	3.08±0.00^{Cd}	3.72±0.00^{Bb}	4.30±0.00^{Aab}	A5C1
2.77±0.00^{Ff}	2.82±0.00^{Ef}	2.88±0.01^{Df}	3.00±0.00^{Ce}	3.68±0.00^{Bc}	4.29±0.01^{Ab}	A1C2
2.73±0.00^{Fg}	2.80±0.00^{Eg}	2.85±0.00^{Dh}	2.98±0.00^{Cg}	3.54±0.00^{Bh}	4.30±0.00^{Aab}	A2C2
2.59±0.00^{Fi}	2.66±0.00^{Ei}	2.73±0.01^{Di}	2.85±0.00^{Ci}	3.42±0.00^{Bi}	4.30±0.00^{Aa}	A3C2
2.53±0.00^{Fj}	2.61±0.00^{Ej}	2.67±0.01^{Dj}	2.80±0.00^{Cj}	3.38±0.00^{Bj}	4.31±0.00^{Aa}	A4C2
2.71±0.00^{Fh}	2.78±0.00^{Eh}	2.85±0.00^{Dg}	2.97±0.00^{Ch}	3.66±0.00^{Bd}	4.28±0.00^{Ac}	A5C2

The small values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).
The large values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05)

Table 5 Compares the average acidity in terms of lactic acid (100cc.g) during the storage period (mean ± SD)

4 st week	3 st week	2 st week	1 st week	After 72 hours fermentation	Before fermentation	treatment
1.09±0.00^{Ad}	1.08±0.00^{Bd}	0.99±0.00^{Cd}	0.95±0.00^{Dd}	0.92±0.00^{Ed}	0.02±0.00^{Fab}	A1C1
0.92±0.00^{Af}	0.91±0.00^{Bf}	0.83±0.00^{Cf}	0.79±0.00^{Df}	0.74±0.00^{Ef}	0.01±0.00^{Fb}	A2C1
0.91±0.00^{Ag}	0.89±0.00^{Bg}	0.82±0.00^{Cg}	0.78±0.00^{Dg}	0.73±0.00^{Eg}	0.02±0.00^{Fa}	A3C1
0.81±0.00^{Aj}	0.79±0.00^{Bj}	0.73±0.00^{Cj}	0.68±0.00^{Dj}	0.64±0.00^{Ej}	0.01±0.00^{Fab}	A4C1
0.87±0.00^{Ah}	0.86±0.00^{Bh}	0.78±0.00^{Ch}	0.74±0.00^{Dh}	0.69±0.00^{Eh}	0.01±0.00^{Fab}	A5C1
1.07±0.00^{Ae}	1.05±0.00^{Be}	0.96±0.00^{Ce}	0.90±0.00^{De}	0.85±0.00^{Ee}	0.01±0.00^{Fab}	A1C2
1.17±0.00^{Ac}	1.16±0.00^{Bc}	1.08±0.00^{Cc}	1.01±0.00^{Dc}	0.95±0.00^{Ec}	0.01±0.00^{Fab}	A2C2
1.24±0.00^{Aa}	1.23±0.00^{Ba}	1.15±0.00^{Ca}	1.10±0.00^{Da}	1.07±0.00^{Ea}	0.01±0.00^{Fab}	A3C2
1.20±0.00^{Ab}	1.19±0.00^{Bb}	1.11±0.00^{Cb}	1.07±0.00^{Db}	1.03±0.00^{Eb}	0.01±0.00^{Fb}	A4C2
0.87±0.00^{Ai}	0.85±0.00^{Bi}	0.76±0.00^{Ci}	0.71±0.00^{Di}	0.67±0.00^{Ei}	0.01±0.00^{Fb}	A5C2

The small values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).
The large values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).

Table 6 Compares the average Brix (100cc.cc) during the storage period (mean ± SD)

4 st week	3 st week	2 st week	1 st week	After 72 hours fermentation	Before fermentation	treatment
3.98±0.00^{Fc}	4.18±0.01^{Ebcd}	4.58±0.00^{Cb}	4.72±0.01^{Bd}	4.38±0.00^{Df}	4.91±0.00^{Ad}	A1C1
4.04±0.00^{Fa}	4.22±0.01^{Ea}	4.62±0.00^{Ca}	4.82±0.01^{Bab}	4.41±0.00^{Dbc}	4.97±0.00^{Aab}	A2C1
4.02±0.00^{Fb}	4.20±0.01^{Eb}	4.63±0.01^{Ca}	4.84±0.01^{Ba}	4.42±0.00^{Db}	4.98±0.00^{Aa}	A3C1
4.01±0.00^{Fb}	4.17±0.01^{Ecd}	4.51±0.01^{Cd}	4.74±0.01^{Bd}	4.39±0.01^{Dde}	4.96±0.00^{Ab}	A4C1
3.97±0.00^{Fcd}	4.18±0.01^{Ebcd}	4.57±0.01^{Cb}	4.82±0.01^{Bab}	4.38±0.00^{Df}	4.94±0.01^{Ac}	A5C1
3.96±0.00^{Fd}	4.17±0.01^{Ecd}	4.52±0.01^{Cd}	4.74±0.01^{Bd}	4.40±0.00^{Dcd}	4.97±0.00^{Aab}	A1C2
3.94±0.01^{Fe}	4.16±0.01^{Ed}	4.58±0.00^{Cb}	4.77±0.01^{Bc}	4.41±0.00^{Dbc}	4.98±0.00^{Aa}	A2C2
3.97±0.00^{Fcd}	4.19±0.01^{Ebc}	4.54±0.01^{Cc}	4.79±0.01^{Bc}	4.38±0.00^{Df}	4.97±0.00^{Aab}	A3C2
3.96±0.01^{Fd}	4.18±0.01^{Ebcd}	4.58±0.01^{Cb}	4.78±0.01^{Bc}	4.42±0.00^{Da}	4.98±0.00^{Aa}	A4C2
3.94±0.00^{Fe}	4.14±0.01^{Ee}	4.61±0.01^{Ca}	4.81±0.01^{Bb}	4.39±0.00^{Def}	4.98±0.00^{Aa}	A5C2

The small values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).
The large values in each column has the same letters were not statistically different (p >0.05).

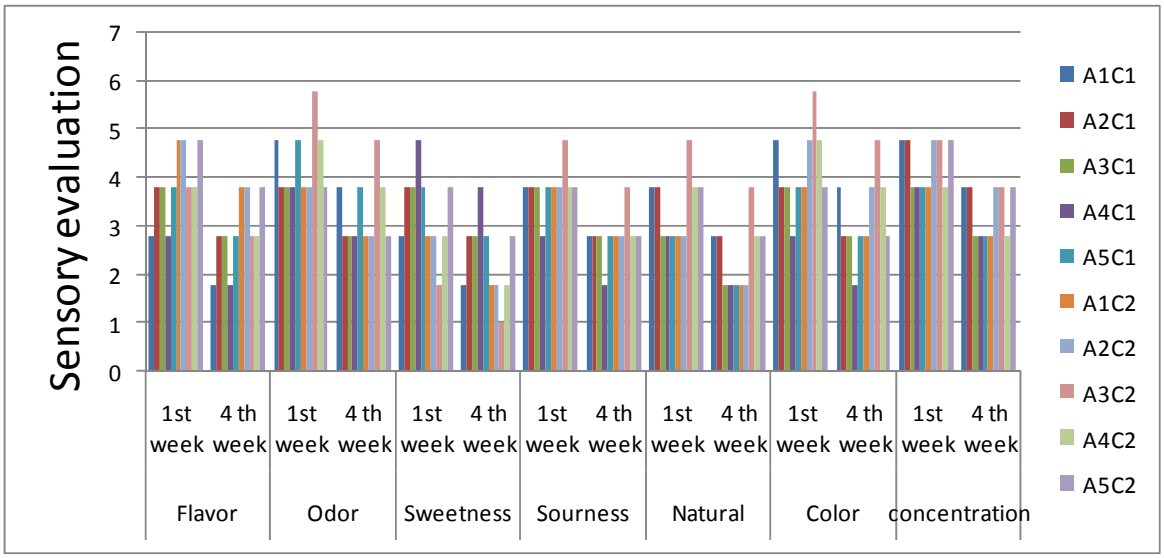

Fig1 Sensory evaluation of probiotic drinks during the first and forth week storage

۵- نتیجه گیری کلی

۱-نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا" معنی داری بر مقدار pH، اسیدیته، بریکس نوشیدنی پروبیوتیک داشتند (p<۰/۰۱). با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری، pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار کاهش (p≤۰/۰۵) و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت (p ≤۰/۰۵).

۲-نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا" معنی داری بر مقدار شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی* نوشیدنی پروبیوتیک داشتند (p<۰/۰۱). با افزایش تراکم باکتری، شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی* نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت (p≤۰/۰۵). با افزایش زمان نگهداری از لحظه تولید تا پس از تخمیر و دو هفته نگهداری، شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی* نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت (p ≤۰/۰۵). در هفته سوم و چهارم نگهداری شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی* کاهش معنی دار به نسبت زنده مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و کازئی* در هفته دوم نگهداری داشت (p ≤۰/۰۵).

۳-نوع و نسبت باکتری ها و زمان نگهداری اثر کاملا" معنی داری بر امتیاز ارزیابی حسی طعم و مزه، عطر و بو، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر و غلظت نوشیدنی پروبیوتیک تولیدی داشت (p<۰/۰۱). تراکم باکتری تاثیر کاملا" معنی داری بر ارزیابی حسی طعم و مزه، شیرینی، ترشی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر نوشیدنی پروبیوتیک تولیدی داشت (p<۰/۰۱) و تاثیر معنی داری بر امتیاز ارزیابی حسی عطر و بو و غلظت داشت (۰/۰۵<p<۰/۰۱).

٤-*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی* می توانند به عنوان کشت های میکروبی پروبیوتیک به منظور تولید یک نوشیدنی سلامت زا برای گیاه خوران استفاده شوند ولی نوشیدنی حاصل از نظر ارزیابی حسی نیاز به اصلاح طعم توسط سایر آب میوه ها و یا آب سبزیجات دارند.

۵- در طول زمان نگهداری بالاترین تعداد شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* (۷/۸٦ log cfu.ml) مربوط به تیمار A5C2 (حاوی ۱۰۰ درصد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با تراکم 10^{7} cfu.ml) و بالاترین تعداد شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*(۷/۸۳ log cfu.ml) مربوط به تیمار A4C2 (حاوی ۱۰۰ درصد *لاکتوباسیلوس کازئی* با تراکم 10^{7} cfu.ml) بود که با توجه به تعداد شمارش باکتری و ارزیابی حسی، باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*(حاوی ۱۰۰ درصد *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با تراکم 10^{7} cfu.ml) به عنوان تیمار برتر معرفی گردید.

٦- منابع

[1] Saarela M, Virkajarvi I, Alakomi HL, Sigvart- Mattila P, Matto J. (2006). Stability and functionality of freeze-dried probiotic Bifidobacterium cells during storage in juice and milk. Int Dairy J. 16: 1477–1482.

[2] Tsen j , Huang Y, Lin Y, King V. (2007). Freezing Resistance Improvement of Lactobacillus Reuteri By Using Cell Immobilization. Journal Mimet. 70: 561-564.

[3] Farnworth E.R, Mainville I. M. P, Desjardins N, Gadner I, Fliss C. (2007). Champagne. Growth Of Probiotic Bacteria And Bifidobacteria in a Soy yogurt Formulation. journal Food Micro. 116: 174-181.

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

[5] Dogahe KH. M, Darani K. K. Tofighi A, Dadgar M, Mortazavian A. M. (2015). Effect of Process Variables on Survival of Bacteria in Probiotics Enriched Pomegranate Juice. British Biotechnology Journal. 5(1): 37-50.

[6] Sheehan VM, Ross P, Fitzgerald GF. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. Innova Food Sci Emerg Technol. 8: 279–284.

[7] Di Cagno R, Surico R. F, Paradiso A, Angelis M. De, Christophe Salmon J, Buchin S, Gara L. D and Gobbetti M. (2009). Effect of Autochthonous lactic acid bacteria starters on health_promoting and sensory properties of tomato juices. International Journal of Food Microbiology. 128: 473-483.

[8] Sadatian S. A, Mahyar A, Aslanabadi Y, Aslanabadi N, Emam M. (2008). Natural and therapeutic properties of fruits and vegetables. Sun City Publishing. 39- 127.

[9] Razavi M. (2005). Properties of fruits and vegetables. Tehran. Publishing Talash. 114-155.

[10] Ashrafi F. (2006). Practical microbiology. Publishing Ahsan. First Edition.

[11] Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, Kiani H. (2011). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria.World J Microbiol Biotechnol. 27: 123–128.

[12] Luckow T, Sheehan V, Fitzgerald G, Delahunty C. (2006). Exposure, health information and flavour-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice. Appetite. 47: 315–323.

[13] Yoon KY, Woodams EE, Hang YD. (2004). Probiotication of tomato juice by Lactic Acid Bacteria. J Microbiol. 42(4): 315-318.

[14] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1997). Measure pH in fruit and vegetable products, Iranian National Standard No. 4404.

[15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fruit juice- (2007). Test methods, Iranian National Standard No. 2685.

[16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2001). Fruit and vegetable products- Determination of acidity-Test Method, Iranian National Standard No. 373.

[17] Emanuel V, Adrian V, Ovidiu P and Gheorghe C. (2005). Isolation of a Lactobacillus plantarum strain used for obtaining a product for the preservation of fodders. African Journal of Biotechnology. 4 (5): 403-408.

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

[19] Omidi B, Fazeli M. R, Amozegar, M. A, Mortazavi P. (2011). Antidiabetic effect of probioticated persian yellow carrot juice with Lactobacillus acidophilus. Journal of Comparative Pathobiology Research. 8(1): 395-402.

[20] Sharma V and Misher H. N. (2013). Fermantation of vegtable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. Nutra foods. 12(1): 17-22.

[21] Zandi M. M, Hashemiravan M, Berenjy Sh. (2016). Production of Probiotic Fermented Mixture of Carrot, Beet and Apple Juices. Journal of Paramedical Sciences(JPS). 7(3): ISSN 2008-4978.

[22] Shirpour M. (2015). The Possibility of lemon jelly pulp (Citrus limo num) fermented probiotic, Food Technology master's thesis, Faculty of Agriculture. Islamic Azad University of Varamin.

[23] Amininia H, Razavi S. H, Eyvazzadeh O. (2016). Producing celery juice as functional drink by lactic acid bacteria. 51(13): 103-111.

[24] Kumar B. V, Sreed haramurthy M, sarathireddy O. V. (2013). Physico–Chemical Analysis of Fresh And probioticated Fruit juices With Lactobacilus Casei, International journal of Applied Sciences and Biotechnology. 1(3): 131-137.

[25] Hashemiravan M, Yahyaei Soofyani Z, Pourahmad R. (2015). chemical quality conversion of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. International Journal of Review in Life Sciences. 5(5): 605-611.

[26] Yahyaei Soofyani Z, Hashemiravan M, and Pourahmad R. (2015). production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. Advances inEnvironmental Biology. 9(2): 762-769.

[27] Mashayekh S, Hashemiravan M, and Mokhtari, F. D. (2016). Study on Chemical and Sensory Changes of probiotic fermented beverage based on mixture of pineapple, apple and mango juices. Journal of Current Research in Science. 4(3): 1-5.

[28] Karbasi M, Izadi S. (2013). Probiotic drink produced from fermented cabbage and tomato juice by lactic acid bacteria. Twenty-first National Congress of Food Science and Technology Shiraz.

[29] Nosrati R, Hashemiravan M, and Talebi M. (2014). Fermentation of vegetables juice by probiotic bacteria. International Journal of Biosciences. 4(3): 171- 180.

Production of probiotic beverage based on Tomato juice and mixture of Sweet pepper, Celery and Coriander juices

Babaei, M. [1], Hashemiravan, M. [2*], Pourahmad, R.[3]

1. Food science, Faculty Of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
2. Food Science and Technology, Faculty Of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran (correspond author)*
3. Food Science and Technology, Faculty Of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

(Received: 2016/07/18 Accepted:2016/09/18)

Advantages using fruits and vegetables as a basic medium for manufacturing probiotic drinks include their consumption by certain people due to lack of lactose and cholesterol as well as being rich in nutrients (vitamins, antioxidants and minerals). ln this study a mixture of vegetabes juice including 85% tomato juice, 5% green bell pepper juice, 5% celery juice, and 5% coriander juice (at constant concentrations). lt was inoculated with fire ratios of 50% Lactobacillus casei and 50% Lactobacillus acidophilus, 25% L. casei and 75% L.acidophilus, 75% L. casie and 25% L. acidophilus, 100% L.casie , 100% L.acidophilus at two levels, 10^6 and 10^7 cfu.ml. All physicochemical tests including PH, acidity, brix and microbial count were done before and 72 h after fermentation at 37^0c and over 4-w storage at 4^0c. Also sensory evaluation was performed by five trained panelists at 1 and 4 weekes at 4^0c. Data were analyzed by spss 22 and Duncan multirange test at 5% and Excel software was used for drawing the diagrams. During fermentation and storage as the bacterial Concentration increased and storage time passed, pH(8.14 %) and brix(0.23 %) value of the probiotic beverage Significantly decreased and its acidity(21.42 %) significantly increased. Bacterial count increased over Fermentation ($p \leq 0.05$) and decreased over 4-w storage at 4^0c ($p \leq 0.05$). as the maximum bacterial viability fell into the recommended range by FDA over 4-w refrigerated storage.

Key words: Vegetables juice, Probiotic beverage, *L.casei*, *L.acidophilus.*

* Corresponding Author E-Mail Address: m_hashemiravan @yahoo.com