

## بررسی رشد، متابولیسم اسیدهای آلی و قند و زنده مانگی باکتری های پروبیوتیک در عصاره عناب

بهناز محمودی<sup>۱</sup>، زینب السادات ابراهیم زاده موسوی<sup>۲\*</sup>، فرامرز خدایان<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته، آزمایشگاه فرایندهای زیستی و تشخیص سریع-گروه علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲- استادیار، آزمایشگاه فرایندهای زیستی و تشخیص سریع-گروه علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استاد، آزمایشگاه فرایندهای زیستی و تشخیص سریع-گروه علوم و صنایع غذایی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۵/۰۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۴/۲۸)

### چکیده

در این پژوهش تولید نوشیدنی پروبیوتیک سلامت بخش بر پایه عناب از طریق تخمیر بوسیله لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی مورد ارزیابی قرار گرفت. کینتیک رشد و مصرف سوسترا، تولید اسیدهای آلی، تغییرات pH و زنده مانگی پروبیوتیک ها در طول نگهداری در سرما مورد ارزیابی قرار گرفته است. عناب استفاده شد. تخمیر تحت شرایط میکرواثر و فیل در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد. نتایج نشان داد باکتری توانایی رشد در نوشیدنی عصاره عناب را دارد و در انتهای تخمیر جمعیت میکروبی به  $10^8$  CFU/mL افزایش یافت. باکتری های استفاده شد در این پژوهش pH نمونه های تخمیری را به میزان قابل توجهی کاهش دادند و به حدود ۵/۳ رساندند. تغییرات مصرف قندهای گلوکز و فروکتوز، توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم در سطح ۰/۰۵ افزایش معنی دار پیدا کرده طوری که از ۸/۴ و ۴/۴ به ترتیب به ۳/۳ و ۱/۳ رسید. لاکتوباسیلوس پلانتاروم توانایی زنده مانگی بیشتری نسبت به لاکتوباسیلوس دلبروکی نشان داد، در انتهای هفته سوم جمعیت میکروبی لاکتوباسیلوس پلانتاروم  $2.3 \times 10^1$  CFU/mL شد در حالیکه لاکتوباسیلوس دلبروکی زنده مشاهده نشد. در مجموع میتوان چنین نتیجه گرفت نوشیدنی عناب تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی جایگزین سلامت افزای مناسبی برای مواد غذایی حاوی پروبیوتیک می باشد.

کلید واژگان: پروبیوتیک، نوشیدنی غیر لبنی، عصاره عناب، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس دلبروکی

\* مسئول مکاتبات: zeinab.mosavi@ut.ac.ir

## ۱- مقدمه

محصولاتی که ادعا می شود اثر خاص فیزیولوژیکی خاصی در بدن دارند معمولاً "غذاهای عملکردی" نامیده می شود. به طور کلی غذاهای عملکردی به دو دسته پروبیوتیک و پریبیوتیک تقسیم می شوند. پروبیوتیک ها شامل میکروارگانیسم های زنده هستند زمانی که به میزان کافی ( $10^6$  -  $10^9$  CFU/mL) مصرف شوند، باعث بهبود سلامتی در میزبان میگردند [۱]. در سال های اخیر، با افزایش مصرف کنندگان گیاهخوار در سراسر جهان، تقاضا برای محصولات پروبیوتیک برپایه گیاهان افزایش یافته است. از طرف دیگر، خطر کلوسترال بالا و عدم تحمل لاکتوز که دو مشکل بزرگ در محصولات تخمیری بر پایه لبنیات است [۲-۴]. به همین دلیل تولید گسترده محصولات تخمیری غیر لبنی به ویژه نوشیدنی های غیر لبنی در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. میوه ها و سبزیجات به سبب داشتن مواد مغذی از جمله مواد معدنی، ویتامین ها، فیبر بالا و آنتی اکسیدان دارای پتانسیل بالایی برای تخمیر هستند. به علاوه مشکل عدم تحمل لاکتوز که در محصولات لبنی وجود دارد، در این محصولات مشکل ساز نمی باشد.

میوه عناب با نام اختصاصی زیزیپوس جوجوبا<sup>۱</sup> از خانواده رامناسه می باشد. دارای درختچه های ۵ تا ۱۰ متری بوده و در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری رشد می کند. عناب مقاوم در برابر خشکسالی، شوری، نوسانات دما، آفات و بیماری ها است. عناب نارس، میوه ای سبز به شکل زیتون با خواص دارویی و آنتی اکسیدانی بوده و میوه رسیده آن، چروکیده و قهوه ای رنگ می باشد. عناب حاوی مواد معدنی عمده از جمله، پتاسیم، فسفر، منگنز و کلسیم می باشد و مقدار زیادی سدیم، روی، آهن و مس در آن وجود دارد. همچنین عناب حاوی ویتامین C، ریوفلاوین و تیامین است. ویتامین ها و مواد معدنی موجود در این میوه متابولیسم را افزایش داده و از سلامتی قلب و عروق حمایت میکنند [۵، ۶].

هدف از این پژوهش، تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک برپایه عصاره عناب می باشد. تخمیر توسط دو گونه از باکتری های اسید لاکتیک، لاکتوباسیلوس پلانتراروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انجام شد. طی فرایند تخمیر، تغییرات pH، سینتیک مصرف قند و اسید و همچنین پایداری پروبیوتیک ها در شرایط نگهداری در سرما ارزیابی شد.

## ۲- مواد و روش ها

## ۲-۱- آماده سازی نمونه

در ابتدا، میوه عناب (خراسان، ایران) به صورت خشک شده از استان خراسان خریداری شد. نمونه ها خشک شدند و تا زمان استفاده از آن، دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. میوه ها را به مدت یک شب خیسانده و با استفاده از آب گرم به مدت ۲۰ دقیقه در دمای  $80^{\circ}\text{C}$  جهت استخراج عصاره، داخل حمام آب گرم قرار گرفتند. بریکس عصاره بر روی ۱۸ تنظیم گردید و عصاره در نهایت به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد سترون شد و تا زمان استفاده از آن، در یخچال نگهداری شد.

## ۲-۲- باکتری مورد استفاده

در این مطالعه، از دو گونه از باکتری های اسیدلاکتیک؛ (لاکتوباسیلوس پلانتراروم *DSMZ 20174* و لاکتوباسیلوس دلبروکی *DSMZ 20006*) استفاده شد. باکتری ها تا قبل از مصرف در محیط مایع حاوی محیط کشت MRS (Merck)، آلمان) و گلیسرول، در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد در لوله های ۲ میلی لیتری نگهداری شدند. در زمان مصرف، باکتری ها در محیط کشت MRS مجدد فعال شدند.

## ۲-۳- تخمیر عصاره عناب

تعدادی محدود از کلونی باکتری های رشد یافته روی محیط MRS جامد، تحت شرایط کاملاً استریل به ۱۰ میلی لیتر محیط MRS مایع منتقل شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ساعت گرمخانه گذاری گردید. پس از رشد اولیه باکتری ها در محیط کشت اولیه MRS مایع، ۱۰٪ حجمی - حجمی از این محیط توسط نمونه بردار سترون به آب عناب سترون شده به عنوان محیط کشت اصلی، تلقیح گردید و نمونه گرمخانه گذاری شد. به منظور رسم منحنی رشد میکروبی و بررسی تغییرات متغیرهای مورد بررسی، نمونه برداری در شرایط سترون زیر هود در فواصل زمانی ۱۲ ساعت به مدت ۷۲ ساعت انجام گرفت.

## ۲-۴- اندازه گیری pH

به منظور اندازه گیری pH، ابتدا دستگاه بوسیله بافرهای مربوط تنظیم شد و الکتروود آن پس از شسته شدن توسط آب مقطر با کاغذ صافی خشک گردید و درون نمونه قرار داده شد و پس

1. Ziziphus jujuba Mill

از ثابت شدن pH نمونه، نتیجه یادداشت گردید.

## ۲-۵- اندازه گیری قندهای ساده

به منظور تعیین کمی قندهای گلوکز، فروکتوز از دستگاه کروماتوگرافی Knauer HPLC به همراه آشکارساز RI<sup>2</sup> استفاده شد. جداسازی با استفاده از ستون Eurokat H, 10  $\mu\text{m}$  صورت گرفت. دمای مورد استفاده داخل ستون ۳۰ درجه سانتیگراد، حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، نرخ جریان ۵/۰ میلی‌لیتر در دقیقه و فاز متحرک مورد استفاده اسید سولفوریک ۰/۱۰ نرمال بود. برای این کار عصاره عنب با استفاده از میکروفیلتر سرنگی با قطر منافذ ۲/۰ میکرون صاف شد تا ناخالصی‌های موجود، بویژه سلول‌های میکروبی جداسازی گردد. نمونه صاف شده به لوله ۲ میلی‌لیتری منتقل گردید و سپس داخل جایگاه مخصوص نمونه برداری دستگاه قرار داده شد.

## ۲-۶- اندازه گیری اسیدهای آلی

به منظور تعیین اسیدهای آلی موجود در عصاره عنب از کروماتوگراف Knauer HPLC به همراه آشکار ساز UV استفاده گردید. جهت جداسازی از ستون Ultrassep ES (250×3mm) FS، با حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر، نرخ جریان ۵/۰ میلی‌لیتر در دقیقه، دمای ستون مطابق با دمای اتاق و فاز متحرک ۰۰۲۵/۰ نرمال در طول موج ۲۱۰ نانومتر، استفاده گردید. به منظور انجام این کار برای تعیین زمان بازداری هریک از اسیدهای آلی موجود در عصاره عنب محلول ۲/۰ درصد از هریک از اسیدها به عنوان محلول استاندارد به دستگاه تزریق شد. سپس عصاره عنب با استفاده از میکروفیلتر سرنگی با قطر منافذ ۲/۰ میکرون صاف گردید تا ناخالصی‌های آن به ویژه سلول‌های میکروبی جداسازی شود. نمونه به ویال‌های ۲ میلی‌لیتری منتقل گردید و در داخل جایگاه مخصوص نمونه برداری دستگاه قرار گرفت.

## ۲-۷- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در

### دمای یخچال

تغییرات ایجاد شده در جمعیت سلول‌های باکتری در این پژوهش طی ۴ هفته نگهداری در یخچال بررسی شد به طوری

که هر هفته یکبار از محصول نمونه برداری شده و شمارش میکروبی زنده انجام شد.

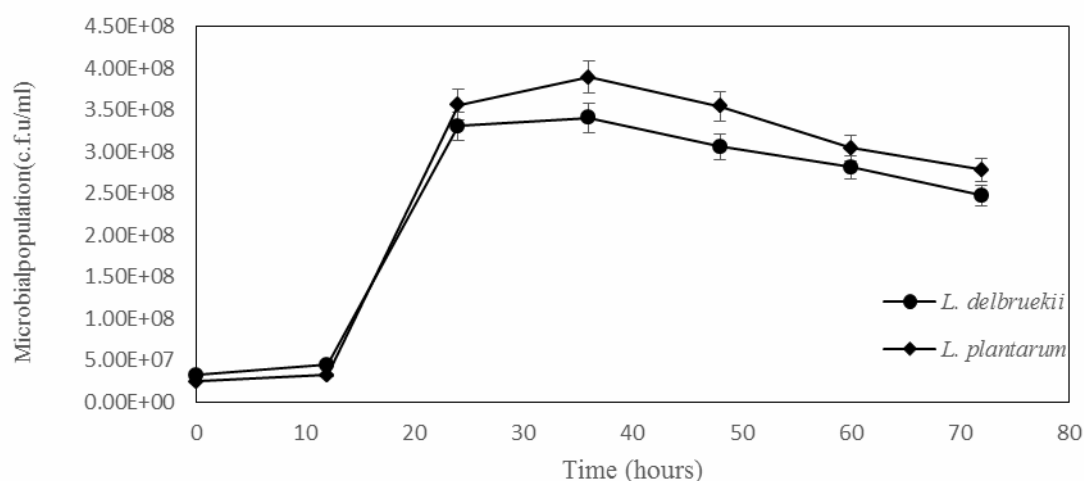
## ۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمون‌های کیفی، نتایج حاصل با نرم‌افزار SPSS و براساس طرح کاملاً تصادفی بررسی شدند. از نرم افزار اکسل برای رسم نمودارها استفاده گردید. مقایسه میانگین با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی دار صورت گرفت (تمامی نتایج با ۳ تکرار، انجام شد).

## ۳- بحث و نتایج

### ۳-۱- منحنی رشد میکروبی طی تخمیر

منحنی رشد باکتری‌های پروبیوتیک تلقیح شده به عصاره عنب طی ۷۲ ساعت تخمیر، در شکل ۱ آمده است. همانطور که منحنی رشد نشان می‌دهد، در ابتدای فرایند تخمیر جمعیت باکتری‌ها افزایش چندانی نداشت، اما پس از گذشت چند ساعت از شروع تخمیر و تطابق پذیری میکروارگانیسم‌ها با محیط رشد جدید، جمعیت سلول‌ها بصورت لگاریتمی افزایش یافت به طوری‌که، جمعیت باکتری‌ها در محدوده ۱۰ الی ۱۲ ساعت پس از شروع تخمیر وارد فاز لگاریتمی می‌شود و تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس دلبروکی نمونه از حدود CFU/mL  $10^7 \times 3/2$  به CFU/mL  $10^8 \times 3/3$  افزایش یافت و جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم از CFU/mL  $10^7 \times 4/47$  به CFU/mL  $10^8 \times 3/35$  افزایش یافت. اما بعد از این بازه زمانی، باکتری‌ها وارد فاز سکون شده و تعداد آن‌ها تقریباً بعد از ۴۰ ساعت تخمیر ثابت ماند. هرچند که در ساعات انتهایی تخمیر شاهد افت در تعداد باکتری‌ها بودیم که علت آن را می‌توان به ورود میکروارگانیسم‌ها به فاز مرگ در اثر تجمع مواد اسیدی و کاهش منابع کربن و ازت نسبت داد. در تحقیقات مشابه، روند مشابهی برای دیگر میکروب‌های پروبیوتیک از نظر نحوه رشد طی ۷۲ ساعت تخمیر مشاهده شد. هرچند که باکتری‌های مختلف دارای سرعت‌های رشد متفاوتی هستند، تفاوت بین سرعت رشد باکتری‌ها در عصاره‌های مختلف را می‌توان به ویژگی‌های خاص فیزیولوژی و ژنتیکی آن‌ها در محیط‌های مختلف نسبت داد [۷].

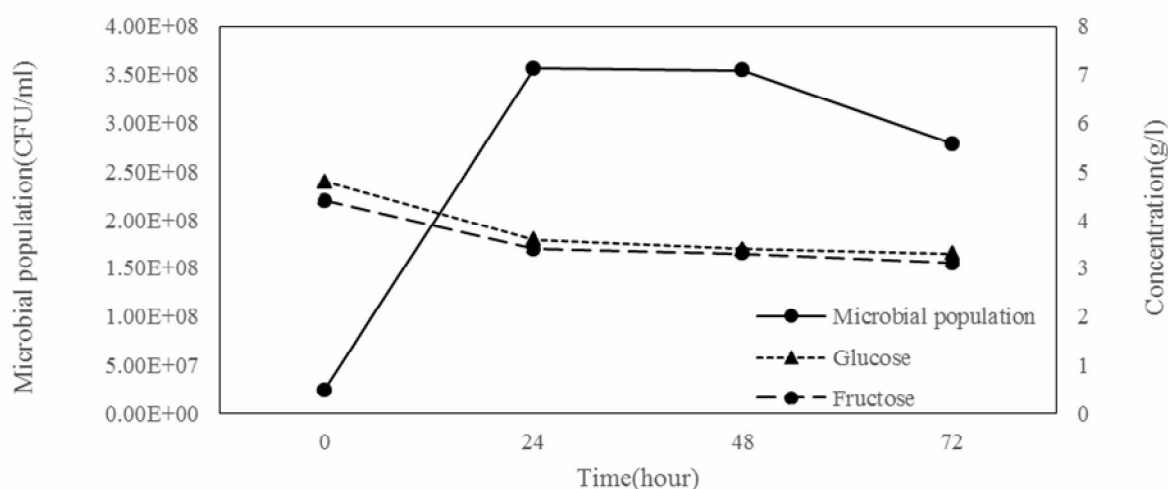


**Fig 1** Growth kinetic of *L. plantarum* and *L. delbrueckii* during fermentation at 37°C in jujube extract (All values are obtained with three replications)

### ۳-۲- کینتیک مصرف قند

تغییرات مصرف قند در شکل‌های ۲ و ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود مقدار اولیه قند گلوکز و فروکتوز در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم، به ترتیب ۸/۴ و ۴/۴ گرم بر لیتر بوده است و در مورد لاکتوباسیلوس دلبروکی به ترتیب ۲/۵ و ۸/۴ بود. همانطور که مشخص است مصرف گلوکز در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم بیشتر بوده است و میتوان این را با رشد جمعیت میکروبی بیشتر لاکتوباسیلوس پلانتاروم مطابقت داد. بیشترین میزان مصرف قند در ساعات رشد لگاریتمی باکتری بوده است و از ۴۸ ساعت به بعد مقدار مصرف ثابت ماند با ادامه تخمیر تا زمان ۷۲ کاهش قابل توجهی دیده نشد و

در انتهای تخمیر مقدار گلوکز و فروکتوز در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم به ترتیب ۳/۳ و ۱/۳ و در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس دلبروکی به ترتیب ۱/۴ و ۱/۳ بوده است. تغییرات مصرف قند در سطح ۰.۵/۰ دارای تفاوت معنی دار می‌باشند. احتمالاً علت این پدیده تجمع اسیدهای آلی تولید شده طی تخمیر و رشد سلولی می‌باشد که خود بر سوخت و ساز منابع کربنی و انرژی تأثیر می‌گذارد [۸]. از نتایج مصرف قند ها میتوان به این نتیجه رسید که بهترین منبع کربنی و منبع انرژی برای باکتری‌های پروبیوتیک گلوکز و فروکتوز می‌باشد. Mousavi و همکاران (۲۰۱۱) نیز این نتیجه را گزارش کرده اند [۹].



**Fig 2** Glucose and Fructose consumption during fermentation by *L. delbrueckii* at 37°C in jujube extract (All values are obtained with three replications)

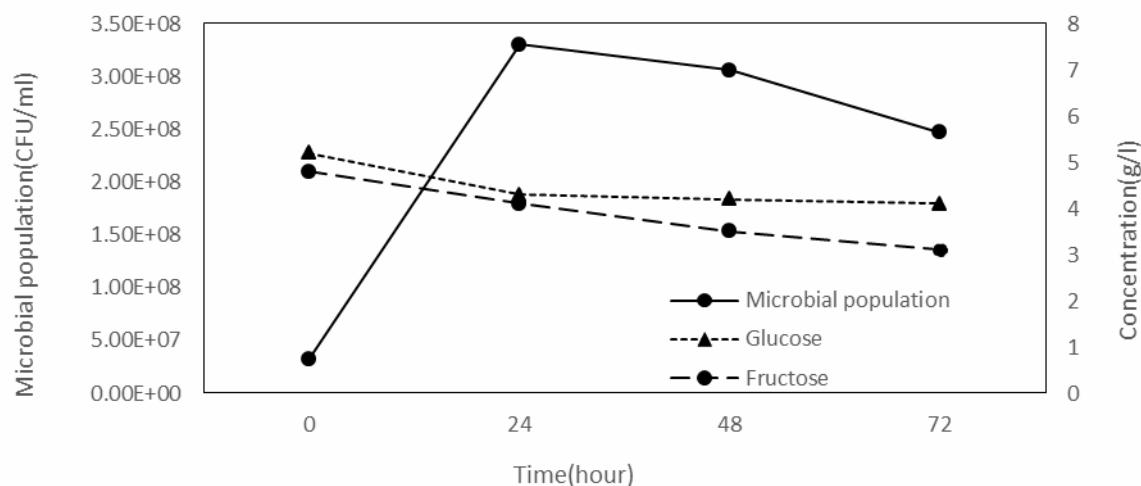


Fig 3 Glucose and Fructose consumption during fermentation by *L. plantarum* in jujube juice

در تولید نوشیدنی تخمیری آب انار توسط Mousavi و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز روند مشابهی مانند این پژوهش را نشان داد [۹، ۱۰]. این کاهش pH می‌تواند موجب جلوگیری از رشد و نمو میکروارگانیسم‌های ناخواسته بویژه در مراحل اولیه تخمیر را فراهم نماید. نتایج مشابهی در مورد آب هویج تخمیر شده با لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکترها توسط Tamminen و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شد [۱۱]. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته را می‌توان در مصرف منابع کربنی موجود در عصاره‌ها توسط لاکتوباسیلوس‌ها و تولید اسیدهای مختلف از جمله اسید لاکتیک جستجو کرد.

### ۳-۳- تغییرات pH طی تخمیر نوشیدنی بویسله

#### پلانتاروم و دلبروکی

روند تغییرات pH باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی به ترتیب در نمودار ۴ و ۵ آمده است. در مورد تغییرات بوجود آمده در نوشیدنی حین تخمیر همانطور که در شکل‌ها مشخص است pH عصاره در باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی از مقدار اولیه حدود ۹/۴ به ترتیب به ۴/۳ در نوشیدنی حاوی پلانتاروم و ۵/۳ در نوشیدنی حاوی دلبروکی رسیدند ( $p < 0.05$ ). نتایج حاصل از پژوهش Di Cagno و همکاران (۲۰۰۹) بر روی آب گوجه فرنگی و تغییرات اسیدیته و pH

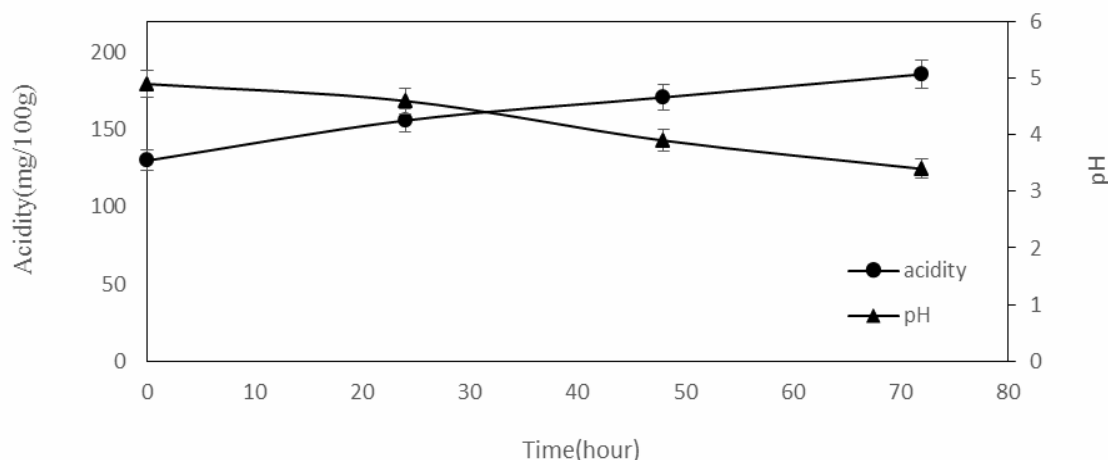
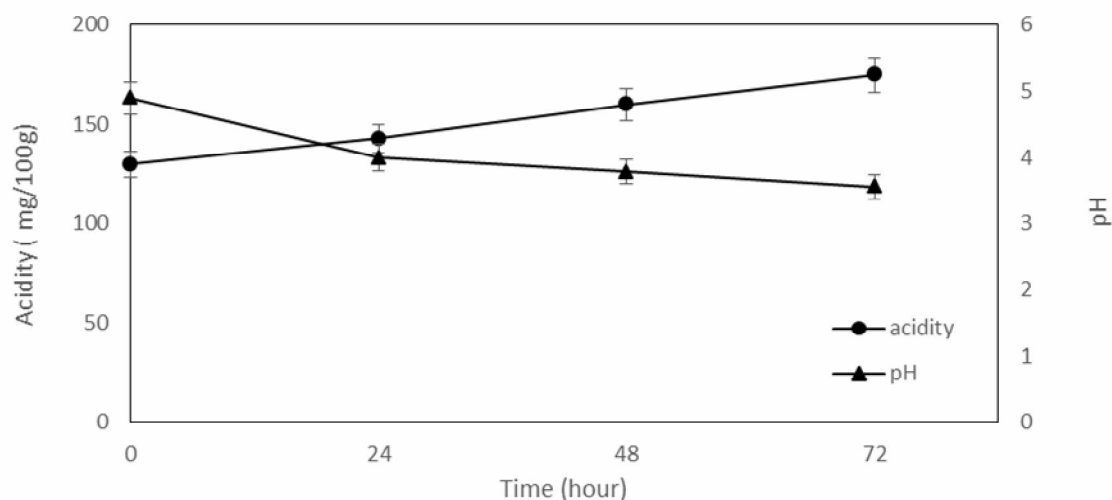


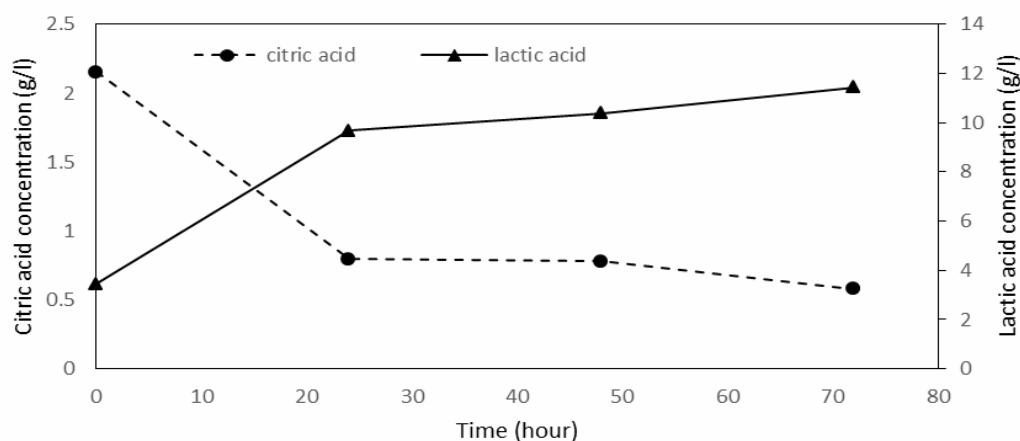
Fig 4 pH and titrable acidity changes in Jujube extract during fermentation by *L. plantarum*. (All values are obtained with three replications)



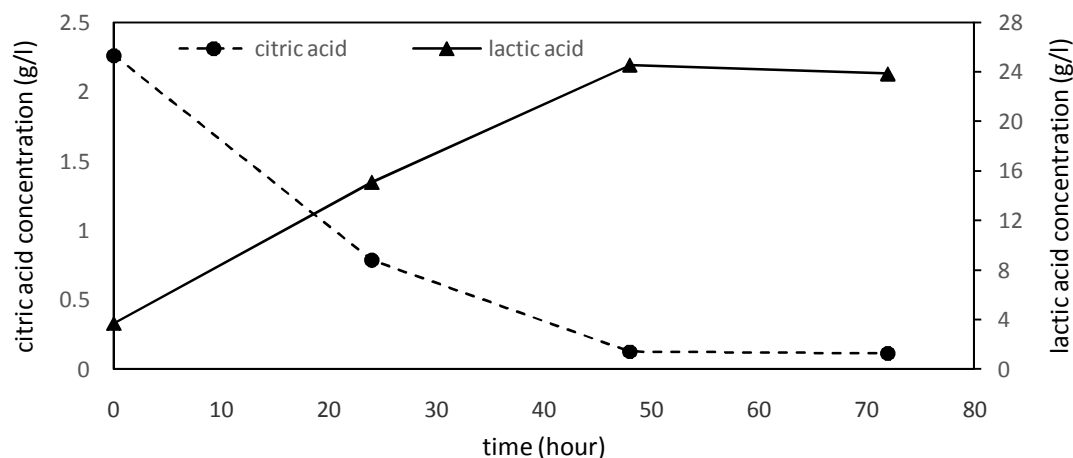
**Fig 5** pH and titrable acidity changes in Jujube extract during fermentation by *L. delbrueckii* (All values are obtained with three replications)

۳-۴- تغییرات مصرف و تولید اسیدهای آلی

در شکل ۶ و ۷ تغییرات اسیدهای آلی تولید شده و مصرف شده نشان داده است. تغییرات مصرف و تولید اسیدهای آلی توسط دستگاه HPLC اندازه گیری شده است. همانطور که مشاهده می شود اسید لاکتیک به طور قابل توجهی تولید گردیده است و مقدار آن در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم از صفر به ۸۷/۲۳ گرم بر لیتر و در نوشیدنی تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس دلبروکی از صفر به ۴۳/۱۱ گرم بر لیتر رسیده است ( $p < 0.05$ ). بیشترین میزان تولید در ناحیه رشد لگاریتمی باکتری رخ داده است. همچنین اسید سیتریک روند کاهشی نشان داد به طوری که در نمونه تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم مقدار این اسید به نزدیک صفر رسیده است و در نمونه تخمیر شده توسط لاکتوباسیلوس دلبروکی به حدود ۵ گرم در لیتر رسید.



**Fig 6** Kinetics of organic acid consumption and production in jujube juice during fermentation by *L. delbrueckii*



**Fig 7** Kinetics of organic acid consumption and production in jujube juice during fermentation by *L. plantarum*

ارزیابی قابلیت زنده مانی پروبیوتیک‌ها در آب کلم طی نگهداری یخچالی انجام دادند که در سال ۲۰۰۶ به چاپ رسید [۲]. نتایج نشان می‌دهد که لاکتوباسیلوس پلانترام و لاکتوباسیلوس دلبروکی توانستند قابلیت زیستی خود را طی چندین هفته نگهداری در  $4^{\circ}\text{C}$  حفظ کنند. به منظور بهره مندی از خواص سلامتی بخش باکتری‌های پروبیوتیک، حداقل سلول زنده توصیه شده در فراورده  $10^6 \text{ CfU/ml}$  اعلام شده است. بنابراین زنده مانی کشت لاکتیکی در طول دوره نگهداری یخچالی از اهمیت زیادی برخوردار است [۱۴]. زمان تخمیر، درجه حرارت نگهداری و میزان اکسیژن موجود در فراورده بر قابلیت زنده مانی سلول‌های پروبیوتیک اثر دارند.

### ۳-۵- بررسی زنده‌مانی باکتری‌ها طی نگهداری

#### در دمای یخچال

تغییرات ایجاد شده در سلول‌های باکتری در این پژوهش طی ۴ هفته نگهداری در یخچال در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد بعد از یک هفته نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  سانی گراد حدود دو لگاریتم از جمعیت میکروبی کاهش یافت. این روند تا هفته چهارم ادامه یافت، همچنین پس از ۴ هفته نگهداری لاکتوباسیلوس دلبروکی دیگر قابل شناسایی نبود در حالی که لاکتوباسیلوس پلانترام مقاومت بیشتری نشان داده و قابل شمارش بود. Yoon و همکاران تحقیقی را با هدف

**Table 1** the effect of cold on the survival of bacteria during storage for 4 week

Microbial population		Time of storage (week)
<i>L. delbruekii</i>	<i>L. plantarum</i>	
$3.56 \times 10^8 \pm 0.01 \times 10^8$ <sup>a</sup>	$3.3 \times 10^8 \pm 0.05 \times 10^8$ <sup>a</sup>	<b>0</b>
$4 \times 10^6 \pm 0.1 \times 10^5$ <sup>b</sup>	$5.5 \times 10^6 \pm 0.6 \times 10^5$ <sup>b</sup>	<b>1</b>
$3.7 \times 10^3 \pm 0.4 \times 10^2$ <sup>c</sup>	$1.2 \times 10^4 \pm 0.1 \times 10^3$ <sup>c</sup>	<b>2</b>
-	$3.2 \times 10^1 \pm 0.1$ <sup>d</sup>	<b>3</b>
-	-	<b>4</b>

\*Values with different superscript letters within the same column are statistically different (P < 0.05)

طور مشابه، لاکتوباسیلوس پلانترام بیشترین قابلیت زنده‌مانی در شرایط مذکور را داشت. در میان همه عوامل موثر بر زنده مانی باکتری‌ها در طول نگهداری محصول تخمیری پروبیوتیک pH مهمترین عامل است. pH و اسیدیته تولید شده از محصولات پروبیوتیک بطور قابل توجهی بر بقای سلولی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک تأثیر می‌گذارد [۱۶]. به طور

علت چنین کاهش محسوسی در این نوشیدنی را میتوان به کاهش توانایی سوش‌های میکروبی در زنده ماندن تحت دمای پایین نگهداری، شرایط حاصل از افزایش اسیدیته و کاهش pH نسبت داد. چنین روندی برای آب انار و آب گوجه فرنگی توسط Mouasvi و همکاران (۲۰۱۱) و Yoon و همکاران (۲۰۰۴) گزارش گردید [۹، ۱۵]. در مطالعات آن‌ها به

- casei. 2011. 44(5): p. 1276-1283.
- [4] Sanders, M.E.J.N.r., Probiotics: considerations for human health. 2003. 61(3): p. 91-99.
- [5] Kamal Ghouth, S.M.S., Identification book of Iranian collection of Jujube echotypes. 2011: Agricultural Jihad Organization of Southern Khorasan Province.
- [6] Zargari, A., Herbal medicines (In Persian). 1991, Tehran: University of Tehran press. 4272.
- [7] Jahandideh, F., The investigation of production of a functional beverage based on *Echium amoenum* Extract by selected lactic acid bacteria, in Food Science and Engineering. 2012, University of Tehran: Karaj.
- [8] Shah, N. and P.J.J.o.F.S. Jelen, Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. 1990. 55(2): p. 506-509.
- [9] Mousavi, Z., et al., Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. 2011. 27(1): p. 123-128.
- [10] Di Cagno, R., et al., Effect of autochthonous lactic acid bacteria starters on health-promoting and sensory properties of tomato juices. 2009. 128(3): p. 473-483.
- [11] Tamminen, M., S. Salminen, and A.C.J.I.J.o.B.f.W.I. Ouwehand, Fermentation of carrot juice by probiotics: Viability and preservation of adhesion. 2013. 2(1): p. 10-15.
- [12] Hashemi, S.M.B., et al., Fermentation of sarshir (kaymak) by lactic acid bacteria: antibacterial activity, antioxidant properties, lipid and protein oxidation and fatty acid profile. 2017. 97(13): p. 4595-4603.
- [13] Mousavi, Z.E., et al., Effect of fermentation of pomegranate juice by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* on the antioxidant activity and metabolism of sugars, organic acids and phenolic compounds. 2013. 27(1): p. 1-13.
- [14] Dimitrovski, D., et al., Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. 2015. 65(4): p. 2161-2170.
- [15] Yoon, K.Y., E.E. Woodams, and Y.D.J.T.J.o.m. Hang, Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. 2004. 42(4): p. 315-318.
- [16] Cruz, A.G., et al., Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development. 2010. 9(4): p. 358-373.
- [17] Mortazavian, A.M., R. Mohammadi, and S. Sohrabvandi, Delivery of probiotic microorganisms into gastrointestinal tract by food products, in New advances in the basic and clinical gastroenterology. 2012, IntechOpen.

طبیعی نوشیدنی‌های تخمیری دارای pH پایین و سطح بالایی از اسیدیته هستند. یون‌های هیدروژن بوسیله تخریب انتقال جرم از طریق غشای سلولی و گرسنگی اسیدی سلول‌ها سبب آسیب رساندن به آن‌ها می‌شوند[۱۷].

## ۴- نتیجه گیری

در این مطالعه، هدف، تولید نوشیدنی فراسودمند از عصاره عناب و با استفاده از باکتری‌های لاکتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس دلبروکی، به عنوان یک نوشیدنی تخمیری غیر لبنی بود. عملیات تخمیر لاکتیکی توسط سوش‌های ذکر شده انجام و پارامترهای مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین زنده‌مانی این باکتری‌ها در محصول تخمیری به مدت ۴ هفته ارزیابی شد. تولید اسید لاکتیک توسط باکتری‌های پروبیوتیک به صورت قابل توجهی افزایش یافته و قندهای ساده به عنوان منبع کربنی و انرژی توسط باکتری‌ها مصرف شده‌اند. همچنین باکتری‌ها توانایی مناسبی در زنده‌مانی طی نگهداری در ۴ درجه سانتی‌گراد از خود نشان دادند. نتایج نشان داد هردو سوش باکتری استفاده شده در پژوهش در جریان فرایند تخمیر، pH محیط را به کمتر از ۴/۵ کاهش دادند و از نظر ممانعت از رشد سایر میکروارگانیسم‌های ناخواسته در محصول بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در مجموع با در نظر گرفتن جنبه‌های سلامت بخشی و پروبیوتیکی محصول می‌توان چنین نتیجه گرفت که سوش‌های لاکتیکی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و دلبروکی گزینه‌های مناسبی برای تولید نوشیدنی فراسودمند از عصاره عناب می‌باشند.

## ۵- قدردانی

از شرکت شیرین زم زم ایران جهت ارائه تجهیزات لازم برای اجرای این تحقیق، کمال تشکر را داریم.

## ۶- منابع

- [1] Sheehan, V.M., et al., Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. 2007. 8(2): p. 279-284.
- [2] Yoon, K.Y., E.E. Woodams, and Y.D.J.B.t. Hang, Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. 2006. 97(12): p. 1427-1430.
- [3] Pereira, A.L.F., T.C. Maciel, and S.J.F.R.I. Rodrigues, Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus*



## Evaluation of growth, sugar and organic acid metabolism and cell viability of probiotic lactic acid bacteria in jujube extract

Mahmoudi, B.<sup>1</sup>, Ebrahim zade Mousavi, Z.<sup>2\*</sup>, Khodaiyan, F.<sup>2</sup>

1. Alumni student, Bioprocessing and Biodetection Lab, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran.
2. Associated professor, Bioprocessing and Biodetection Lab, Department of Food Science & Technology, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran.

(Received: 2019/07/29 Accepted: 2020/07/18)

In this research, the production of a probiotic drink based on jujube extract by means of fermentation with *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus delbrueckii* as probiotic lactic acid bacteria has been studied. The fermentation was performed for 72 hours at 37°C. The changes in microbial population, pH and titrable acidity as well as sugar and organic acid metabolism during the fermentation period were evaluated. Appropriate growth of *L. plantarum* and *L. delbrueckii* resulted in an increase in acidity to 1.86 and 1.75, and a decline in pH to 3.4 and 3.56, respectively after 72 hours. Glucose and fructose were significantly consumed by the strains. Citric acid concentration reduced to 1.12 g/l and 5.8 g/l in the extract fermented by *L. plantarum* and *L. delbrueckii*, respectively after 72 hours. Lactic acid was produced by *L. plantarum* and *L. delbrueckii* with 23.8 and 11.4 g/l lactic acid, respectively at the end of fermentation. *L. plantarum* cells exhibited more resistance toward cold storage conditions. So that at the end of the third week of cold storage conditions, the viable cells of *L. plantarum* was  $3.2 \times 10^1 \times \text{CFU} / \text{mL}$ , while no viable cells of *L. delbrueckii* was observed at this week. In general, it can be concluded that the fermentation of jujube by *L. plantarum* and *L. delbrueckii* could be considered as an appropriate way to improve the functional properties of beverages.

**Keywords:** Probiotics, Non-dairy beverage, Jujube extract, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: Zeinab.mosavi@ut.ac.ir