تولید آب سیب پروبیوتیک تخمیر شده بوسیله لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

محمدرضا اعتقادی[1]، فرزانه عبدالملکی[2*]

1-دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قزوین، قزوین، ایران
2- استادیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی صنایع و مکانیک، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی ، قزوین، ایران

(تاریخ دریافت: 97/12/24 تاریخ پذیرش: 98/07/20)

چکیده

هدف از این پژوهش، بررسی امکان تولید آب‌سیب پروبیوتیک با استفاده از سه میکروارگانیسم *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و لاکتوباسیلوس *اسیدوفیلوس* بود. برای این منظور، آب سیب با 7 (log cfu/ml) از هر میکروارگانیسم، به صورت منفرد، تلقیح شدند و تغییرات زنده-مانی میکروارگانیسم‌ها، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی آنها طی یک دوره تخمیر سه روزه در دمای 37 درجه سلسیوس و سپس یک دوره نگهداری چهارهفته‌ای در دمای 5 درجه سلیسوس، در مقایسه با نمونه شاهد مورد بررسی قرار گرفت. بر پایه یافته‌های بدست‌آمده، طی فرآیند تخمیر، شمار میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک هر سه نمونه، حدود 1/5 تا 2 سیکل لگاریتمی افزایش یافت. شمار میکروارگانیسم‌ها در هفته نخست دوره نگهداری نیز افزایش قابل توجهی داشت ولی پس از آن تا پایان دوره، یک روند کاهشی را نشان شد. با این حال، در پایان دوره نگهداری، شمار میکروارگانیسم‌ها برای سه نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *پلانتاروم* و *اسیدوفیلوس* به ترتیب حدود 8/6، 8/5 و 8/8 (log cfu/ml) بود که از استاندارد مورد انتظار از فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک بیشتر است. دوره تخمیر و نگهداری، با کاهش pH، افزایش اسیدیته و کاهش ماده جامد و قند کل همراه بود. پس از دوره تخمیر و همچنین با افزایش زمان نگهداری، ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های تخمیری به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) کمتر مورد قبول مصرف‌کنندگان قرار گرفت. علی‌رغم تفاوت‌های مشاهده شده بین نمونه‌های پروبیوتیک در مقاطع زمانی مختلف، تفاوت معنی‌داری بین میزان پذیرش کلی آنها در پایان دوره نگهداری مشاهده نشد ($p>0/05$). نمونه‌های پروبیوتیک با وجود اختلاف معنی‌دار ($p\leq0/05$) در میزان مطلوبیت حسی در مقایسه با نمونه شاهد، در پایان دوره نگهداری نمره پذیرش کلی بین 6-7 را دریافت کردند. با در نظر گرفتن ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی و همچنین زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها، علی‌رغم تمامی تفاوت‌های مشاهده شده بین سه نمونه مورد بررسی، می‌توان عنوان داشت که تولید آب-سیب پروبیوتیک با هر سه میکروارگانیسم مورد بررسی به صورت موفقیت‌آمیزی امکان‌پذیر است.

کلید واژگان: پروبیوتیک، آب‌سیب ، *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

* مسئول مکاتبات: fa.abdolmaleki@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

1- مقدمه

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر در یک مقدار مشخص مصرف شوند، قادر به ایجاد اثرات سلامت‌بخش در میزبان خواهند بود [1]. از این رو، پروبیوتیک، به عنوان صفتی برای مواد غذایی حاوی این میکروارگانیسم‌ها بکار برده می‌شود. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک دربرگیرنده طیف وسیعی از سویه‌های مختلف جنس‌های میکروبی شامل *بیفیدیوباکتریوم‌ها*[1]، *لاکتوباسیلوس‌ها*[2]، *انتروکوکوس‌ها*[3]، *سایکرومایسس‌ها*[4]، *استرپتوکوکوس‌ها*[5]، *پدیوکوکوس‌ها*[6]، *پروپینوباکتریوم‌ها*[7] و ... می‌باشند [2]. پروبیوتیک‌ها در واقع همان میکروارگانیسم‌های مفید روده می‌باشند که با جلوگیری از رشد انواع مضر، سلامت میزبان خود را تضمین می‌کنند. گفته می‌شود که پروبیوتیک‌ها، با ممانعت از عفونت روده، بهبود سیستم ایمنی، کاهش محتوای کلسترول سرم، سنتز ویتامین‌هایی نظیر ویتامین بی و اسید فولیک، تحریک جذب کلیسم، متابولیسم لاکتوز، بهبود هضم پروتئین‌ها و ... مانع بروز بسیاری از بیماری‌ها در میزبان خود از جمله سرطان روده بزرگ، بیماری‌های قلبی-عروقی، کلسترول بالا، پانکراتیت و ... می‌شوند [3]. مصرف طولانی مدت آنتی‌بیوتیک‌ها که طی دهه‌های اخیر به شدت افزایش پیدا کرده است، با برهم زدن تعادل فلور میکروبی روده به نفع میکرارگانیسم‌های مضر، زمینه‌ساز بروز بسیاری از بیماری‌های خطرناک می‌شود [4]. از این رو، مصرف غذاهای پروبیوتیک، می‌تواند استراتژی مناسبی برای ارتقای فلور مفید میکروبی روده و به دنبال آن بهبود سلامت مصرف‌کنندگان قلمداد شود.

شیر و فرآورده‌های حاصل از آن، بیش از هر محصول غذایی دیگری برای تولید محصولات پروبیوتیک مورد پژوهش قرار گرفته‌اند. با این حال، عدم تحمل لاکتوز شیر در بسیاری از افراد جامعه، چربی بالا و همچنین حساسیت برخی از افراد به پروتئین‌ها شیر، پژوهشگران را به جستجوی محصولات هدف دیگری برای تلفیق میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک وا داشته است [5]. آب میوه‌ها یکی از جایگزین‌های جذاب فرآورده‌های لبنی برای توسعه فرمولاسیون‌های غذایی پروبیوتیک می‌باشند. آب‌میوه‌ها از یک سو، به دلیل سرشار بودن از ترکیبات قندی، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک می‌باشند [6] و از سوی دیگر، به دلیل فقدان چربی، دارا بودن حجم بالایی از مواد ارزشمند تغذیه‌ای همچون ویتامین‌ها، مواد معدنی، فیتوکیمیکال‌ها و مواد آنتی‌اکسیدانی، و همچنین ویژگی‌های مطلوب حسی، از محبوبیت بالایی بین گروه‌های سنی مختلف برخوردار می‌باشند [3]. تا کنون، تلاش‌های موفقیت‌آمیزی برای تولید آب‌میوه‌های پروبیوتیک از آب هلو [7]، آب انگور [8]، آب انبه [9]، آب پرتقال [10]، آب سیب کاشو [11] و ... صورت گرفته است.

آب سیب می‌تواند به عنوان یکی از گزینه‌های مطرح برای تولید آب میوه‌های پروبیوتیک در نظر گرفته شود. سیب میوه‌ای چهار فصل است و در بسیاری از نقاط دنیا کشت می‌شود. سیب با چیزی حدود 20%، بالاترین سهم از تولیدات باغی ایران را به خود اختصاص می‌دهد. به علاوه، بر اساس آمار سازمان فائو، ایران پس از چین، اتحادیه اروپا و آمریکا، چهارمین تولید کننده عمده سیب در دنیا می‌باشد [12]. آب سیب منبع خوبی از فیبرها، ویتامین ث، ترکیبات فنولی و مواد معدنی از قبیل پتاسیم، منیزیوم، کلسیم و فسفر می‌باشد [13]. پژوهش‌های مختلف آزمایشگاهی و بالینی نشان داده‌اند که سیب و یا آب آن، از اثرات درمانی قابل توجهی در ارتباط با برخی از بیماری‌ها مانند کلسترول بالای خون، عارضه‌های قلبی-عروقی، آسم، دیابت، برخی از سرطان‌ها، یبوست و ... برخوردار می‌باشند [14].

علی‌رغم جذابیت‌های بالقوه آب میوه‌های پروبیوتیک، چالش‌هایی نیز در مسیر تولید این محصولات موجود خواهد بود. گفته می‌شود که برای اطلاق عنوان پروبیوتیک به یک ماده غذایی، محصول مورد نظر باید در زمان مصرف، دست‌کم حاوی 10^6-10^7 کلنی (بر گرم نمونه) از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باشد [15]. pH اسیدی آب‌میوه‌ها تهدیدی جدی برای زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و کاهش شمار آنها به کمتر از استاندارد مورد انتظار از یک ماده غذایی پروبیوتیک به شمار می‌آید [16]. به علاوه، تاثیر بعضا منفی حضور میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک بر پروفایل حسی آب‌میوه‌ها از جمله ایجاد طعم لبنی، طعم نمکی، طعم تلخی، طعم گسی و ... نیز، چالشی قابل تامل است [17]. لاکتوباسیلوس‌ها یکی از انواع باکتری‌های پروبیوتیک هستند که کارایی سویه‌های مختلف آنها برای تولید آب سبزیجات و میوه‌جات پروبیوتیک

1. *Bifidobacterium*
2. *Lactobacillus*
3. *Enterococcus*
4. *Saccharomyces*
5. *Streptococcus*
6. *Pediococcus*
7. *Propionibacterium*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

با ویژگی‌های مطلوب به اثبات رسیده است. از این رو، هدف از این پژوهش، بررسی پتانسیل برخی از سویه‌های *لاکتوباسیلوس*ها از جمله *لاکتوباسیلوس دلبروکی*[1]، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[2] و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[3] برای تولید نوشیدنی آب سیب پروبیوتیک با ویژگی‌های مطلوب حسی می‌باشد.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

برای تهیه آب سیب، سیب‌های رقم قرمز لبنانی (*Red delicious*) تهیه شده از بازار محلی، پس از شستشو، پوست‌گیری و برش‌زنی، توسط یک دستگاه آب‌میوه‌گیر خانگی آبگیری شدند و سپس جهت جداسازی مواد جامد معلق، صاف شدند. آب‌میوه‌های فیلتر شده، بوسیله یک حمام آب‌گرم در دمای 80 درجه سلسیوس به مدت 5 دقیقه، پاستوریزه شدند و تا زمان انجام آزمایش‌ها، در دمای 4 درجه سلسیوس نگهداری شدند (قضاوی و همکاران، 1395). محیط کشت MRS براث، سه سوش باکتریایی *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، و نحو کپکی *آسپرژیلوس فلاووس*[4] از شرکت کریستین هانسن (دانمارک) خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی از درجه آنالیتیکال برخوردار بوده و از شرکت مرک (آلمان) تهیه شدند.

2-2- روش‌ها

2-2-1- کشت باکتری‌ها و آماده‌سازی نمونه

ابتدا سه سوش باکتری لاکتوباسیلوس شامل *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در دمای $37^{\circ}C$ بمدت 24 ساعت در محیط MRS براث به منظور فعالسازی دوباره، کشت شدند. در ادامه، مقدار 100 میلی‌لیتر از آب‌سیب پاستوریزه بدون نگهدارنده و شکر افزوده، به بطری‌های شیشه‌ای استریل منتقل شده و بوسیله روش مک‌فارلند، با 10^7 واحد تشکیل‌دهنده کلنی (در میلی‌لیتر نمونه) از باکتری‌های پروبیوتیک فعال شده تلقیح شدند. نمونه‌های تلقیح شده و شاهد (نمونه بدون باکتری) به مدت 72 ساعت در دمای $37\ ^{\circ}C$ در شرایط بی‌هوازی درون یک انکوباتور شیکردار گرمخانه‌گذاری شدند و در فواصل 24، 48 و 72 ساعت، از لحاظ ویژگی‌های بیوشیمیایی و زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از 72 ساعت انکوباسیون، کلیه نمونه های تخمیر شده، به دمای یخچالی (4 درجه سلسیوس) منتقل شدند و طی یک دوره نگهداری 4 هفته‌ای، هر هفته از لحاظ خواص فیزیکوشیمیایی، حسی و زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، مورد ارزیابی قرار گرفتند [18].

2-2-2 اندازه‌گیری قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها

شمارش سلول‌های زنده با روش پلیت استاندارد بر روی محیط کشت MRS تعیین شد. نمونه‌ها با محلول سرم استریل، رقیق شده (10^{-6} - 10^{-1}) و در محیط کشت MRS Agar کشت داده شدند. سپس، 100 میکرولیتر از هر رقت برداشته شد و با پیپت استریل بر روی محیط کشت پخش شد و به مدت 48 ساعت در دمای 37 درجه سلسیوس انکوبه شد. سرانجام، کلنی‌های مشخص شده توسط کلنی کانتر شمارش شدند [19].

2-2-3- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

اندازه‌گیری pH با استفاده از یک دستگاه pH متر دیجیتال (مدل 691، شرکت metrohm، ساخت کشور سوئیس) صورت پذیرفت. اسیدیته نوشیدنی‌های آب سیب، به روش تیتراسیون و مطابق با دستورالعمل استاندارد ملی ایران شماره 1634 اندازه‌گیری شد [20]. اندازه‌گیری مواد جامد کل محلول (بریکس) نمونه‌های آب سیب بوسیله یک دستگاه رفراکتومتر (مدل 2081، شرکت MC، ساخت کشور ژاپن) انجام شد. قند کل نوشیدنی آب سیب، با پیروی از دستوالعمل استاندارد ملی ایران به شماره 2685 که بر اساس احیا مس دو ظرفیتی حاصل از ترکیب فهلینگ A و B توسط قندهای احیاکننده آب میوه و تبدیل آن به مس یک ظرفیتی می باشد، اندازه‌گیری شد [21].

2-2-4- ارزیابی حسی

آزمون ارزیابی حسی بر اساس یک طرح هدونیک 9 نمره‌ای، به‌وسیله یک گروه ارزیاب 10 نفره آموزش‌دیده در مورد پارامترهای مزه، بو، ظاهر و پذیرش کلی نمونه‌های آب‌سیب صورت پذیرفت. جزئیات طرح ارزیابی حسی مورد استفاده از این قرار بود: فوق‌العاده نامطلوب (1)، بسیار نامطلوب (2)، نسبتا نامطلوب (3)، به صورت جزئی نامطلوب (4)، نه مطلوب و نه نامطلوب (5)، به صورت جزئی مطلوب (6)، نسبتا مطلوب (7)، بسیار مطلوب (8) و فوق‌العاده مطلوب (9) [22].

1. *Lactobacillus delbrueckii*
2. *Lactobacillus acidophilus*
3. *Lactobacillus plantarum*
4. *Aspergillus flavus*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

3-2- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل نتایج در قالب یک طرح آماری کاملا تصادفی و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه 21 صورت پذیرفت. مقایسه میانگین‌ها (ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، شمار پروبیوتیک‌ها و خصوصیات حسی) با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه انجام شد. معنی‌داری اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان 95% مورد بررسی قرار گرفت.

3- نتایج و بحث

3-1- زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های پربیوتیک

یافته‌های حاصل از بررسی تغییرات شمار میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در آب سیب، طی دوره تخمیر و نگهداری در شکل 1 نشان داده شده است. بر پایه این یافته‌ها، دوره تخمیر با افزایش قابل توجه شمار میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک برای هر سه نمونه آب سیب همراه بود به طوری که در پایان این دوره سه روزه، شمار آنها از مقدار اولیه حدود 7 (log cfu/ml) به حدود 8/7 (log cfu/ml) برای *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، 8/5 (log cfu/ml) برای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و 8/8 (log cfu/ml) برای *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* رسید. علاوه بر اختلاف جزئی مشاهده شده بین شمار پروبیوتیک‌ها، در چگونگی رشد آنها در سه مقطع زمانی دوره تخمیر نیز تفاوت‌هایی مشاهده شد؛ در واقع، روند افزایشی شمار *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دو روز نخست معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود ولی در 24 ساعت آخر، تغییرات مشاهده شده فاقد اهمیت آماری بود ($p>0/05$)؛ این در حالی بود که تغییرات شمار *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در هر سه مقطع دوره تخمیر، از لحاظ آماری معنی‌دار ($p\leq0/05$) بود. یوون[1] و همکاران (2005) در دو پژوهش مختلف در ارتباط با تولید آب چغندر و آب گوجه تخمیری با استفاده از *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *پلانتاروم*، *دلبروکی* و *کازئی*[2]، افزایش قابل ملاحظه شمار پروبیوتیک‌ها در دو روز نخست و عدم تغییر معنی‌دار شمار آنها در 24 ساعت انتهایی دوره تخمیر را گزارش کردند [23 و 24].

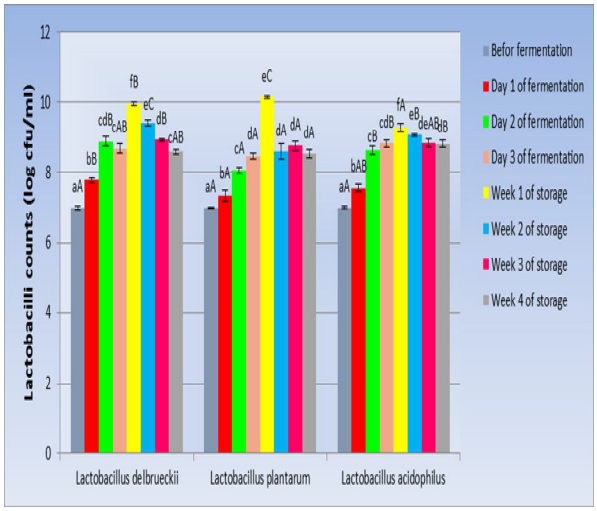

Fig 1 Changes in bacterial counts of probiotic apple juice samples. Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

پس از تخمیر، بیشترین میزان رشد سلولی برای هر سه میکروارگانیسم پروبیوتیک، در هفته نخست دوره نگهداری مشاهده شد که این میزان رشد، برای *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* با حدود 10/1 (log cfu/ml)، بیشتر از سایرین بود و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *اسیدوفیلوس* به ترتیب با حدود 9/9 و 9/3 (log cfu/ml) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند. همانطور که در شکل 4-1 می‌توان دید، اختلاف عنوان شده بین سه میکروارگانیسم، از لحاظ آماری معنی‌دار ($p\leq0/05$) می‌باشد. پس از هفته نخست، هر سه نمونه کاهش قابل توجهی را شمار پروبیوتیک‌ها نشان دادند ولی چگونگی تغییرات آنها از لحاظ آماری تا حدودی متفاوت بود. در واقع، روند کاهشی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در تمام مقاطع دوره نگهداری، از لحاظ آماری معنی‌دار بود ($p\leq0/05$) ولی برای *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، پس از کاهش معنی‌دار ($p\leq0/05$) در هفته دوم، تغییرات مشاهده شده تا پایان دوره نگهداری، فاقد اهمیت آماری بود ($p>0/05$). در ارتباط با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز، پس از کاهش معنی‌دار ($p\leq0/05$) در هفته دوم، در هفته سوم تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($p>0/05$) ولی در هفته چهارم در مقایسه با هفته دوم، یک کاهش معنی‌دار ($p\leq0/05$) در شمارش میکروبی مشاهده شد، اگرچه اختلاف مشاهده شده

1. Yoon e al.
2. *Lactobacillus casei*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

بین هفته سوم و چهارم معنی‌دار نبود ($p>0/05$). با وجود روند کاهشی شمار هر سه میکروارگانیسم مورد بررسی طی سه هفته انتهایی، تعداد همگی آنها در انتهای دوره، از حد توصیه شده برای اطلاق عنوان پروبیوتیک به یک محصول غذایی (10^6 cfu/ml) بیشتر بود. در پایان دوره نگهداری، شمار *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *پلانتاروم* و *اسیدوفیلوس* در آب سیب تخمیری به ترتیب حدود 8/6، 8/5 و 8/8 (log cfu/ml) بود. عوامل مختلفی همچون نوع نحو باکتریایی، سطح تلقیح، دمای تلقیح، pH، فاکتورهای رشد، بازدارنده‌های رشد، حضور پراکسید هیدروژن و اکسیژن، غلظت متابولیت‌ها، ظرفیت بافری محیط تخمیر، دمای نگهداری و در دسترس بودن ترکیبات مغذی بر زنده‌مانی و رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک طی دوره تخمیر و نگهداری موثر می‌باشند [19]. از این رو، با توجه به یکسان بودن شرایط برای هر سه میکروارگانیسم مورد بررسی در این پژوهش، تفاوت شمار آنها در آب سیب را باید ناشی از توانایی متفاوت آنها در تخمیر آب سیب دانست. همسو با یافته‌های پژوهش جاری، توتونچی و همکاران (1394) عنوان داشتند که شمار *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های آب انگور تخمیری، علی‌رغم کاهش 1-1/5 سیکل لگاریتمی طی دوره نگهداری، پس از حدود 4 هفته همچنان بیشتر از 10^8 (log cfu/ml) بود [25]. پرییرا و همکاران[1] (2011) نیز پس از بهینه‌سازی شرایط تخمیر آب سیب شامل دما و زمان تخمیر، pH اولیه آب میوه و همچنین سطح تلقیح *لاکتوباسیلوس کازئی*، عنوان داشتند که در سراسر دوره نگهداری 42 روزه، شمار پروبیوتیک یاد شده همواره از 10^8 (log cfu/ml) بیشتر بود. لازم به ذکر است که بیشترین رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* در هفته نخست دوره نگهداری بود [11].

3-2- تغییرات pH و اسیدیته

نتایج تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های آب‌سیب شاهد و پروبیوتیک، طی دوره تخمیر و نگهداری در شکل 2 و 3 نشان داده شده است. بر پایه این یافته‌ها، هر سه نوع نوشیدنی پروبیوتیک، در همان روز نخست دوره تخمیر، کاهش معنی‌داری در مقدار pH و افزایش معنی‌داری در مقدار اسیدیته را نشان دادند ($p\leq0/05$). در ادامه فرآیند تخمیر، pH نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تغییر معنی‌داری نکرد ($p>0/05$) ولی نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در روز دوم و نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در روز سوم دوره تخمیر، کاهش معنی‌داری در میزان pH را نشان دادند ($p\leq0/05$). در ارتباط با اسیدیته نیز، نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، پس از روز نخست تخمیر تا پایان دوره سه روزه تخمیر، تغییر معنی‌داری در مقدار اسیدیته را نشان نداد ($p>0/05$)، ولی اسیدیته نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به نحو معنی‌داری در روز دوم و سوم تخمیر افزایش پیدا کرد ($p\leq0/05$). برای نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* نیز، در روز دوم تخمیر یک افزایش معنی‌دار مشاهده شد ($p\leq0/05$) ولی در روز سوم تغییرات اسیدیته آن فاقد اهمیت آماری بود ($p>0/05$).

دوره نگهداری نیز از تاثیر قابل توجهی بر pH و اسیدیته نمونه‌های آب سیب برخوردار بود. در واقع، برای نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *پلانتاروم*، بیشترین کاهش pH و افزایش اسیدیته چه در دوره تخمیر و چه در دوره نگهداری در هفته نخست دوره نگهداری مشاهده شد. برای نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز، تغییرات مشاهده شده در هفته نخست معنی‌دار بود ($p\leq0/05$) ولی شدت تغییرات آن به مراتب کمتر از دو نمونه دیگر بود. همین امر باعث شد تا این نمونه در تمامی مقاطع دوره نگهداری یک ماهه، به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) دارای pH بیشتر و اسیدیته کمتری نسبت به دو نمونه دیگر پروبیوتیک باشد. ادامه دوره نگهداری نیز با کاهش pH و افزایش اسیدیته برای نمونه‌های پروبیوتیک همراه بود اگرچه تفاوت‌هایی بین شدت تغییرات آنها مشاهده شد. به طور کلی می‌توان عنوان داشت که سرعت کاهش pH و افزایش اسیدیته طی دوره نگهداری، برای نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *دلبروکی* بیشتر از نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بوده است. لازم به ذکر است که در پایان دوره نگهداری، نمونه تخمیرشده با پلانتاروم به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) دارای pH کمتر و اسیدیته بیشتری نسبت به نمونه تخمیر شده با دلبروکی بود.

1. Pereira et al.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

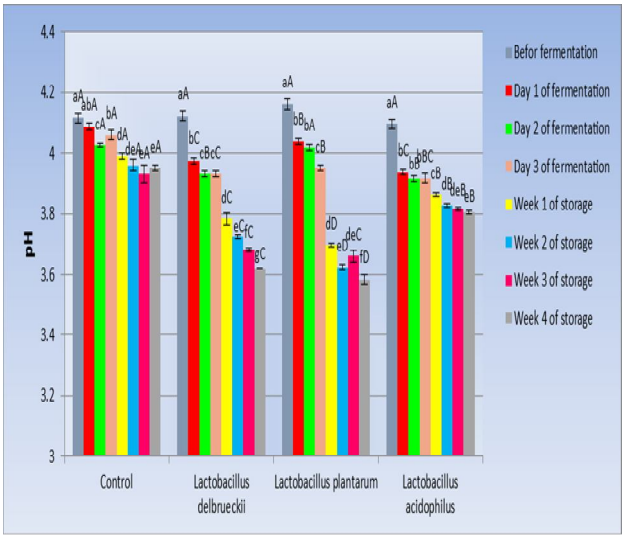

Fig 2 Changes in pH of control and probiotic apple juice samples. Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

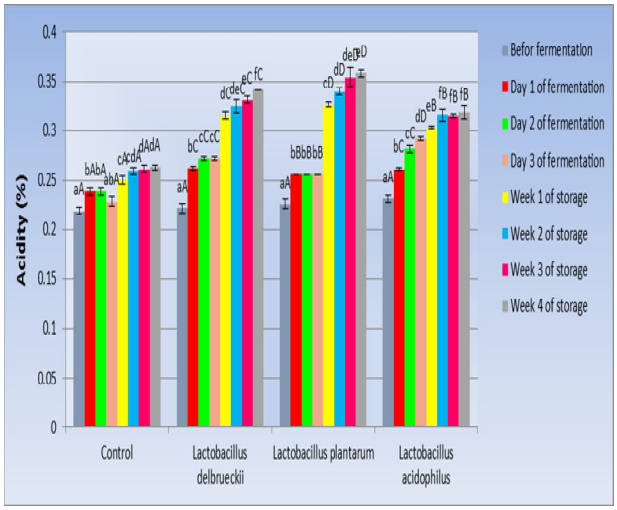

Fig 3 Changes in acidity of control and probiotic apple juice samples. Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

کاهش pH و/یا افزایش اسیدیته نوشیدنی‌های تخمیری در دوره تخمیر و/یا دوره نگهداری در پژوهش‌هایی در ارتباط با تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب مخلوط سبزیجات با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *کازئی* [18]، تولید آب آلوئه‌ورا تخمیری با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *کازئی*، *روتری*[1]، *فرمنتاتوم*[2] و *پلانتاروم* [26]، تولید آب‌سیب پروبیوتیک با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *بیفیدیوباکتریوم لاکتیس* [27]، تولید آب گوجه‌فرنگی [23] و آب چغندر پروبیوتیک [24] با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *کازئی*، *دلبروکی* و *پلانتاروم* و ... اشاره کرد. به طور کلی، علت کاهش pH و افزایش اسیدیته چه در دوره تخمیر و چه در دوره نگهداری، به مصرف قندهای موجود در آب میوه‌ها توسط باکتری‌های استارتر و به دنبال آن، تولید اسیدهای آلی (بویژه اسیدلاکتیک در مورد باکتری‌های لاکتیکی) نسبت داده می‌شود [17]. در پژوهش پیش‌رو، علی‌رغم تفاوت‌هایی که بین روند تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های حاوی هر یک از پروبیوتیک‌ها مشاهده شد، در پایان دوره تخمیر، نمونه تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای بیشترین اسیدیته و کمترین pH و نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای کمترین اسیدیته و بیشترین pH بودند. یوون و همکارن (2005) نیز عنوان داشتند که در بین نمونه‌های آب چغندر تخمیر شده با میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *پلانتاروم*، *دلبروکی* و *کازئی*، بیشترین کاهش pH و بیشترین افزایش اسیدیته طی دوره تخمیر 72 ساعته، مربوط به نمونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌باشد [24].

یکی از تغییرات مشهود برای نمونه‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری، افزایش شدید اسیدیته و کاهش شدید pH طی هفته نخست بود که در مورد هر دو پارامتر، تغییرات نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* کمتر از دو نمونه دیگر بود. امیدی و همکاران (1389) نیز مشاهده کردند که در هر دو دمای نگهداری یخچال و محیط، بیشترین کاهش pH آب هویج پروبیوتیک تولیدی بوسیله میکروارگانسیم‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *فرمنتاتوم*، *کازئی* و *اسیدوفیلوس*، در هفته نخست دوره نگهداری رخ داد [28]. در پژوهش پیش‌رو، با وجود تفاوت‌هایی که در شدت تغییرات pH و اسیدیته برای هر نمونه طی دوره نگهداری مشاهده شد، در پایان دوره چهار هفته‌ای، نمونه تخمیرشده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* دارای بیشترین اسیدیته و کمترین pH و نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای کمترین اسیدیته و بیشترین pH بود.

1. *Lactobacillus reuteri*
2. *Lactobacillus fermentum*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

سرلک و همکاران (1395) نیز گزارش کردند که سرعت کاهش افت pH آب آلوئه‌ورا تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* طی دوره نگهداری سه هفته‌ای از چهار نمونه دیگر تخمیر شده با میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *روتری*، *فرمنتاتوم* و *پلانتاروم* به صورت معنی‌داری کمتر است [26]. لازم به ذکر است که هم در دوره تخمیر و هم در دوره نگهداری، pH نمونه شاهد کاهش، و اسیدیته آن افزایش یافت هر چند که میزان تغییرات آن در مقایسه با تغییرات نمونه‌های پروبیوتیک به صورت قابل توجهی کمتر بود. با توجه به عدم تلقیح باکتری‌های پروبیوتیک به نمونه شاهد، تغییرات مشاهده شده را باید ناشی از فعالیت باکتری‌های راه‌یافته به این نمونه طی مراحل مختلف آماده‌سازی دانست.

3-3- تغییرات قند کل

تغییرات قند کل آب‌سیب شاهد و انواع تلقیح شده با میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، طی دوره تخمیر و نگهداری در شکل 4 نشان داده شده است. همانطور که در شکل می‌توان دید، روز نخست دوره تخمیر با کاهش قابل توجه ($p\leq0/05$) میزان قند کل برای نوشیدنی‌های پروبیوتیک همراه بود. نمونه-های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *پلانتاروم*، در روز دوم تخمیر نیز کاهش معنی‌داری ($p\leq0/05$) در میزان قند کل را نشان دادند ولی در روز سوم، این تغییرات معنی‌داری نبودند ($p>0/05$). این در حالیست که تغییرات میزان قند کل نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در هر دو مقطع دیگر دوره تخمیر فاقد اهمیت آماری بود. در پایان دوره تخمیر، نمونه تخمیرشده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای بیشترین مقدار قند بود و پس از به ترتیب نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *دلبرکی* قرار داشتند. در تناقض با یافته‌های این پژوهش، یوون و همکاران در پژوهش‌هایی در ارتباط با تولید آب گوجه‌فرنگی [23] و آب چغندر [24] پروبیوتیک دریافتند که میزان کاهش قند برای نمونه‌های حاوی *پلانتاروم* بیشتر از نمونه‌های حاوی *دلبروکی* می‌باشد. همانطور که پیشتر نیز عنوان شد، علت اصلی کاهش قند و در پی آن، ماده جامد نوشیدنی‌های پروبیوتیک، فعالیت تخمیری باکتری‌ها می‌باشد. با توجه به اینکه عوامل بسیاری در فعالیت تخمیری میکروارگانیسم‌ها موثر می‌باشند، تفاوت عملکرد باکتری‌ها در چگونگی تخمیر قندها در شرایط متفاوت محیط تخمیر نیز کاملا قابل انتظار است.

روند کاهشی میزان قند کل، در دوره نگهداری نیز ادامه پیدا کرد و بیشترین مقدار این کاهش در هفته نخست مشاهده شد. در این مقطع، نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *پلانتاروم* به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) دارای قند کمتری نسبت به نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بودند و از این نظر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p>0/05$). دهقان‌نیری و همکاران (1396) نیز در مشاهداتی مشابه، کاهش به مراتب بیشتر قند نمونه‌های آب زرشک تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*[1] و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*[2] طی هفته نخست دوره چهارهفته‌ای نگهداری را گزارش کردند [29]. کاهش میزان قند در هفته دوم و سوم نیز برای نمونه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *دلبروکی* معنی‌دار بود ($p\leq0/05$) ولی تغییرات هفته چهارم فاقد اهمیت آماری بود. کاهش مشاهده شده در میزان قند کل نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، در هفته دوم معنی‌دار بود ($p\leq0/05$)، ولی در هفته سوم تغییر معنی‌داری نکرد ($p>0/05$) و دوباره در هفته چهارم نسبت به هفته دوم، کاهش معنی‌داری ($p\leq0/05$) در میزان قند کل را نشان داد. علی‌رغم این تفاوت‌ها، در پایان دوره نگهداری، نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *پلانتاروم* فاقد اختلاف معنی‌دار آماری با یکدیگر بودند ولی میزان قند آنها به نحو معنی‌داری کمتر از نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود. امیدی و همکاران (1389) نیز عنوان داشتند در پایان دوره نگهداری، مقدار قند آب‌هویج تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* کمتر از نمونه تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بود [28]. لازم به ذکر است که چه در دوره تخمیر و چه در دوره نگهداری، میزان قند کل نمونه شاهد به طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک بود. کاهش مشاهده شده برای نمونه شاهد را -همانطور که پیشتر عنوان شد- می-توان ناشی از فعالیت تخمیری باکتری‌های راه‌یافته به آن در مراحل مختلف آماده‌سازی و نگهداری دانست.

1. *Lactobacillus rhamnosus*
2. *Bifidobacterium lactis*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

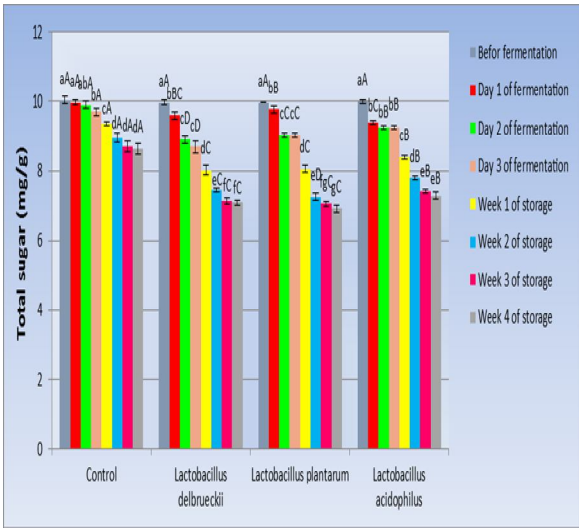

Fig 4 Changes in total sugar of control and probiotic apple juice samples. Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

4-3- تغییرات ماده جامد کل محلول

بررسی تغییرات ماده جامد کل محلول یا بریکس نمونه‌های آب سیب پروبیوتیک در مقایسه با نمونه شاهد طی دوره تخمیر و نگهداری (شکل 5) نشان داد که روز نخست دوره تخمیر با کاهش معنی‌دار ($p\leq0/05$) این پارامتر برای همه نمونه‌ها از جمله نمونه شاهد همراه بود. روند کاهشی یاد شده، برای نمونه تلقیح‌شده با *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، در دو مقطع دیگر دوره تخمیر نیز معنی‌دار بود ($p\leq0/05$). برای نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* یا *اسیدوفیلوس* نیز، کاهش بریکس، در روز دوم تخمیر معنی‌دار بود ($p\leq0/05$) ولی این کاهش، در روز سوم تخمیر نسبت به روز دوم، فاقد اهمیت آماری می‌باشد ($p>0/05$). در پایان دوره تخمیر، نمونه *دلبروکی* دارای بیشترین کاهش بریکس بود و پس از آن *پلانتاروم* و *اسیدوفیلوس* قرار داشتند. لازم به ذکر است در هر سه مقطع زمانی دوره تخمیر، ماده جامد کل نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس‌ها نسبت به نمونه شاهد، به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) کمتر بود. همسو با یافته‌های این پژوهش، بابایی و همکاران (1397) در پژوهشی در ارتباط با تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب مخلوط سبزیجات با استفاده از میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *کازئی* (به صورت تلفیقی) [18] و توتونچی و همکاران (1394) در پژوهش دیگری در ارتباط با تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با دو میکروارگانیسم یادشده (به صورت منفرد) [25]، بیشترین کاهش بریکس را طی روز نخست دوره تخمیر مشاهده کردند.

به مانند دیگر پارامترهایی که تا کنون ذکر شدند، بریکس نیز بیشترین تغییرات را در هفته نخست دوره نگهداری نشان داد. در این مقطع دوره نگهداری، اختلاف بین مقدار بریکس دو نمونه تخمیرشده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *دلبروکی* از لحاظ آماری فاقد اهمیت بود و هر دو به نحو معنی‌داری ($p\leq0/05$) دارای بریکس کمتری نسبت به نمونه تخمیرشده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بودند. کاهش بریکس نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس دلبروکی* در سه مقطع دیگر دوره نگهداری نیز معنی‌دار بود ($p\leq0/05$)؛ این در حالیست که نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، شاهد تغییر معنی‌داری طی دو مقطع انتهایی نبود ($p>0/05$). با این حال، باز هم، در انتهای دوره نگهداری، اختلاف معنی‌داری بین این دو نمونه از نظر مقدار ماده جامد کل محلول مشاهده نشد ($p>0/05$). در ارتباط با نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نیز، در هفته دوم دوره نگهداری، تغییر معنی‌داری در مقدار بریکس مشاهده نشد ($p>0/05$) ولی در هفته سوم و چهارم با کاهش معنی‌داری ($p\leq0/05$) بریکس آنها همراه بود. علی‌رغم تفاوت‌های آماری مشاهده شده بین روند کاهشی میزان ماده جامد کل برای نمونه‌های پروبیوتیک، میزان ماده جامد کل نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در انتهای دوره ماندگاری به طور معنی‌داری ($p\leq0/05$) بیشتر از دو نمونه دیگر بود. همچنین، همانطور که پیش‌بینی می‌شد، نمونه کنترل در تمامی مقاطع دوره نگهداری، به صورت معنی‌داری کاهش کمتری را نسبت به سه نمونه پروبیوتیک مورد بررسی نشان داد. نگاهی به یافته‌های مقدار قند کل و ماهد جامد کل محلول، نشان از تشابه روند تغییرات آنها طی دوره تخمیر و نگهداری دارد. با توجه به اینکه بیشترین بخش ماده جامد آب میوه‌ها را قندها تشکیل می‌دهند، و از آنجائیکه میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک از قندها به عنوان منبع اصلی کسب انرژی بهره می‌برند، دستیابی به چنین یافته‌هایی قابل انتظار بود. زندی و همکاران (2016) نشان دادند که بین بریکس و میزان قند نوشیدنی پروبیوتیک حاصل از مخلوط آب هویج، آب چغندر و آب سیب طی دوره تخمیر و نگهداری رابطه مثبت و معنی‌داری برقرار است [30].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

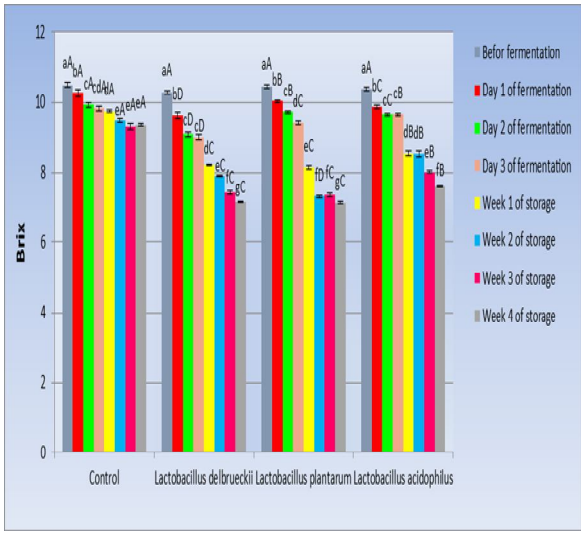

Fig 5 Changes in brix of control and probiotic apple juice samples. Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

3-5- ویژگی‌های حسی

نتایج ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های آب‌سیب شاهد و پروبیوتیک در جدول 1 ارائه شده است. بر پایه این یافته‌ها، دوره تخمیر و نگهداری با کاهش مطلوبیت ویژگی‌های حسی برای همه نمونه‌ها همراه بود. با این حال، در بیشتر مقاطع دوره نگهداری، نمونه شاهد از نقطه نظر مزه، بو، ظاهر و پذیرش کلی، به نحو معنی‌داری ($p \leq 0/05$) بیشتر از نمونه‌های پروبیوتیک مورد پذیرش مصرف‌کنندگان قرار گرفت. بین مطلوبیت نمونه‌های پروبیوتیک نیز در مقاطع مختلف تفاوت‌های معنی‌داری ($p \leq 0/05$) مشاهده شد ولی در پایان دوره ماندگاری، اختلاف معنی‌داری بین آنها مشاهده نشد ($p > 0/05$). در واقع، پس از سه روز تخمیر در دمای 37 درجه سلسیوس و چهار هفته نگهداری در دمای 4 درجه سلسیوس، نمره ارزیابی مزه هر سه نمونه بین 5-6 (در محدوده "نه مطلوب نه نامطلوب" و "به صورت جزئی مطلوب") و نمره ارزیابی بو، ظاهر و پذیرش کلی آنها بین 6-7 (محدوده به صورت جزئی مطلوب تا نسبتا مطلوب) بود. این در حالیست که نمره ارزیابی مزه نمونه شاهد در این مقطع، حدود 7 (نسبتا مطلوب) و نمره سایر پارامترهای حسی آن بین 7-8 (نسبتا مطلوب و بسیار مطلوب) بود. همسو با یافته‌های این پژوهش، لوکوف و همکاران[1] (2005) عنوان داشتند که کیفیت حسی آب‌پرتقال تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس رامنوس*، *کازئی* و *پاراکازئی*[2]، به صورت قابل توجهی کمتر از نمونه شاهد بود و علت آن را به پدیده‌هایی همچون مزه ترش، طعم لبنی و مزه دارویی نمونه‌های پروبیوتیک نسبت دادند [10]. در پژوهش جاری نیز، مزه آب سیب بیشتر از سایر ویژگی‌های حسی تحت تاثیر منفی حضور میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک قرار گرفت. در این ارتباط، بوی محصول کمتر تحت تاثیر قرار گرفت ولی ظاهر محصول نیز کاهش مطلوبیت قابل توجهی را در نتیجه حضور میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک نشان داد. پرییرا و همکاران (2011) گزارش کردند که با افزایش بیومس، کدورت نمونه افزایش و فاکتور روشنایی (L*) آن کاهش می‌یابد [11]. گفته می‌شود که با افزایش جمعیت باکتری‌ها و به دنبال آن نامساعد شدن شرایط مورد نیاز برای فعالیت سلولی، متابولیت‌های پلی‌ساکاریدی تجمع پیدا کرده و همین امر باعث افزایش کدورت نوشیدنی می‌شود [27]. در پژوهش پیش‌رو نیز علی‌رغم تفاوت‌های مشاهده در روند تغییرات ویژگی‌های حسی نمونه‌های تخمیر شده با لاکتوباسیلوس‌های مختلف، بیشترین کاهش‌ها در کیفیت ارگانولپتیک، پس از تخمیر و در هفته نخست دوره نگهداری مشاهده شد که در واقع همان مقاطع پیک جمعیت باکتریایی می‌باشند. پیمنتل و همکاران نیز بیشترین افزایش کدورت آب سیب تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* را در هفته نخست دوره 4 هفته‌ایِ نگهداری مشاهده کردند.

در پژوهش پیش رو، اگرچه در پایان دوره نگهداری، تفاوت معنی‌داری بین ویژگی‌های حسی نمونه‌های مختلف پروبیوتیک مشاهده نشد ($p > 0/05$) ولی اختلاف بین آنها در برخی از مقاطع زمانی، از لحاظ آماری معنی‌دار ($p \leq 0/05$) بود با این حال، این اختلاف‌ها از الگوی مشخصی پیروی نکردند؛ در نتیجه، امکان رتبه‌بندی نمونه‌ها بر اساس ویژگی‌های حسی امکان‌پذیر نبود. اسپریتوسانتو و همکاران[3] (2015) گزارش کردند که در بین آب‌میوه‌های تخمیری بوسیله *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *کازئی*، *پلانتاروم*، *پاراکازئی* و *رامنوسوس*، نمونه‌های حاوی *اسیدوفیلوس* و *کازئی* دارای بالاترین کیفیت حسی و نمونه حاوی پلانتارم دارای پایین‌ترین کیفیت حسی بودند [31]. باید توجه داشت که عوامل متعددی (که پیشتر ذکر شدند) بر زنده‌مانی و رشد میکروارگانسیم‌های پروبیوتیک و در نتیجه بر متابولیت‌های تولیدی بوسیله آنها که عوامل اصلی

1 . Luckow et al

2. Lactobacillus paracasei
3. Espirito-Santo

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

تغییرات ویژگی حسی محصول هستند تاثیرگذار می‌باشند. بر این اساس، تنها در شرایطی برابر از نظر عوامل یادشده، می‌توان چنین یافته‌هایی در ارتباط با تاثیر یک میکروارگانیسم بر ویژگی‌های حسی یک محصول در دو پژوهش مختلف را با یکدیگر مقایسه کرد. یکی دیگر از پیش‌شرط‌های علمی بودن این مقایسه، شناسایی کیفی و کمی متابولیت‌های تولیدی بوسیله میکروارگانیسم‌ها می‌باشد چرا که حتی در شرایط کاملا برابر، یک میکروارگانیسم به عنوان یک موجود زنده، ممکن است رفتار متفاوتی از خود نشان دهد.

Table 1 Sensory scores of control and probiotic apple juice samples

Sensory attributes	Time Intervals	Control	Lactobacillus delbrueckii	Lactobacillus plantarum	Lactobacillus acidophilus
Taste	Before fermentation	9±0.16aA	8.6±0.22aA	8.8±0.5aA	8.8±0.33aA
	After fermentation	8.5±0.16bA	7.8±0.3bB	7.9±0.2bB	7.8±0.34bB
	Week 1 of storage	7.8±0.23cA	6.9±0.45cBC	6.3±0.25cC	7.1±0.28cB
	Week 2 of storage	7.9±0.51cA	6.8±0.35cC	6.6±0.5cBC	7.3±0.27bcB
	Week 3 of storage	7.5±0.31cdA	6.1±0.2dB	6.4±0.5cdB	6.3±0.36dB
	Week 4 of storage	7.1±0.3dA	5.3±0.2eB	5.6±0.4dB	5.5±0.3eB
Odor	Before fermentation	8.6±0.51abA	8.5±0.34aA	8.8±0.55aA	8.3±0.25aA
	After fermentation	8.7±0.33aA	7.8±0.18bB	7.9±0.25bB	7.4±0.5bcB
	Week 1 of storage	8.1±0.13bA	6.9±0.68bcB	8±0.4abAB	7.3±0.7bcAB
	Week 2 of storage	8.1±0.13bA	6.8±0.16cB	7±0.4cB	7.5±0.6abcAB
	Week 3 of storage	7.6±0.28cAB	7.2±0.23cB	7±0.45cB	8±0.25abA
	Week 4 of storage	7.8±0.23bcA	7.1±0.51bcAB	6.5±0.35cB	6.6±0.5cB
Appearance	Before fermentation	8.4±0.3aA	8.6±0.2aA	8.8±0.6aA	8.8±0.1aA
	After fermentation	8.5±0.4aA	7.8±0.8abAB	7.9±0.2bB	8±0.2bAB
	Week 1 of storage	7.8±0.7abAB	7.6±0.04bB	7±0.2cA	7.1±0.4cdA
	Week 2 of storage	7.9±0.6abA	6.8±0.1cB	6.6±0.2cB	7.3±0.3cA
	Week 3 of storage	7.5±0.3bA	6.1±0.6cB	6.4±0.4cB	6.6±0.2dB
	Week 4 of storage	7.6±0.5bA	6.7±0.2cB	6.5±0.4cB	6.4±0.5dB
Overall Acceptability	Before fermentation	8.7±0.29aA	8.6±0.25aA	8.8±0.53aA	8.65±0.26aA
	After fermentation	8.5±0.26aA	7.8±0.36bB	7.9±0.21bB	7.7±0.36bB
	Week 1 of storage	7.8±0.29bA	7.±0.43bcB	6.9±0.28cB	7.1±0.43bcB
	Week 2 of storage	7.9±0.31bA	6.8±0.24cC	6.7±0.41cdBC	7.3±0.37bcAB
	Week 3 of storage	7.5±0.3bA	6.4±0.29cdB	6.5±0.46cdB	6.8±0.29cB
	Week 4 of storage	7.4±0.32bA	6.1±0.29dB	6±0.38dB	6±0.40dB

Different lowercase letters stand for significant changes of a treatment during fermentation and storage ($p \leq 0.05$). Different uppercase letters represent significant differences between treatments at the same time intervals ($p \leq 0.05$).

4- نتیجه‌گیری کلی

باوجود تفاوت‌های مشاهده شده بین روند تغییرات ویژگی‌های مختلف سه نمونه پروبیوتیک طی زمان تخمیر و نگهداری، روند تغییرات ماده جامد کل و قند کل آنها با روند تغییرات pH و اسیدیته و همچنین شمار میکروارگانسیم‌ها نسبتا مطابقت داشت که نشان‌دهنده نقش کلیدی میکروارگانیسم‌ها در ایجاد تغییرات بیوشیمیایی از طریق تخمیر قند آب میوه و تولید اسید می‌باشد. البته، به ظاهر تناقض‌هایی نیز در این زمینه مشاهده شد به عنوان مثال، جمعیت میکروبی نمونه تلقیح‌شده با لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در پایان دوره نگهداری بیشتر از دو نمونه دیگر بود ولی در عین حال، در این مقطع، دارای اسیدیته کمتر، pH بیشتر، و قند کل و ماده جامد کل بالاتری بود. این یافته‌ها بطور ضمنی اشاره به این مهم دارند که بین شمار میکروارگانیسم‌ها و تغییرات لزوما رابطه خطی برقرار نمی‌باشد. به علاوه، دو میکروارگانسیم مختلف در یک مقدار جمعیت میکروبی مشابه، دارای سوخت و ساز یا متابولیسم یکسانی نیستند. این پدیده در ارتباط با ویژگی‌های حسی نیز مشاهده شد. بدین معنی که نمونه‌های پروبیوتیک مختلف علی-رغم تفاوت در شمار میکروبی و همچنین تفاوت در تغییرات بیوشیمیایی طی مراحل مختلف تخمیر و نگهداری، در پایان دوره نگهداری از مقبولیت یکسانی نزد مصرف‌کنندگان برخوردار بودند. باید توجه داشت که کاهش قند و تولید اسید،

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

تنها عوامل موثر بر ویژگی‌های حسی یک محصول تخمیری نمی‌باشند. در واقع، آنچه ممکن است حتی از تاثیر بیشتری بر کیفیت محصول برخوردار است نوع و مقدار متابولیت‌های تولیدی بوسیله میکروارگانیسم‌ها می‌باشد در پایان، با توجه به شمار پروبیوتیک از یک سو و کیفیت قابل قبول حسی همه نمونه‌ها در پایان دوره نگهداری از سوی دیگر، می‌توان عنوان داشت که تولید موفقیت‌آمیز آب سیب پروبیوتیک با هر سه میکروارگانسیم *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، *پلانتاروم* و *اسیدوفیلوس* امکان‌پذیر است.

5- منابع

[1] Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical Infectious Diseases*, *46*(Supplement_2), S58-S61.

[2] Ranadheera, R. D. C. S., Baines, S. K., & Adams, M. C. (2010). Importance of food in probiotic efficacy. *Food research international*, *43*(1), 1-7.

[3] Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V., & Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products–a healthy approach. *Food bioscience*, *21*, 80-89.

[4] Balamurugan, R., Mary, R. R., Chittaranjan, S., Jancy, H., Devi, R. S., & Ramakrishna, B. S. (2010). Low levels of faecal lactobacilli in women with iron-deficiency anaemia in south India. *British journal of nutrition*, *104*(7), 931-934.

[5] Granato, D., Branco, G. F., Nazzaro, F., Cruz, A. G., & Faria, J. A. (2010). Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, *9*(3), 292-302.

[6] Ding, W. K., & Shah, N. P. (2008). Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *Int Food Res J*, *15*(2), 219-32.

[7] Pakbin, B., Razavi, S. H., Mahmoudi, R., & Gajarbeygi, P. (2014). Producing probiotic peach juice. *Biotechnology and health sciences*.

[8] Güven, S., & Aksoy, M. (2009). Some modifications in hardaliye production. II. In *Traditional Foods Symposium Abstract Book. Van, Turkey* (pp. 675-678).

[9] Reddy, L. V., Min, J. H., & Wee, Y. J. (2015). Production of probiotic mango juice by fermentation of lactic acid bacteria. Microbiology and Biotechnology Letters, 43(2), 120-125.

1. [10] Luckow, T., Sheehan, V., Delahunty, C., & Fitzgerald, G. (2005). Determining the odor and flavor characteristics of probiotic, health promoting ingredients and the effects of repeated exposure on consumer acceptance. Journal of Food Science, 70(1), S53-S59.
2. [11] Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with Lactobacillus casei. Food Research International, 44(5), 1276-1283.

[12]http://faostat.fao.org/faostat

[13] Souci, S. W., Fachmann, W., & Kraut, H. (2000). *Food composition and nutrition tables* (No. Ed. 6). Medpharm GmbH Scientific Publishers.

[14] Boyer, J., & Liu, R. H. (2004). Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutrition journal*, *3*(1), 5.

[15] Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *8*(2), 279-284.

[16] Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., & Leyer, G. (2010). Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. *Journal of food science*, *75*(5), M278-M282.

[17] Pimentel, T. C., Madrona, G. S., Garcia, S., & Prudencio, S. H. (2015). Probiotic viability, physicochemical characteristics and acceptability during refrigerated storage of clarified apple juice supplemented with Lactobacillus paracasei ssp. paracasei and oligofructose in different package type. *LWT-Food science and Technology*, *63*(1), 415-422.

[18] Babaei, M., Hashemiravan, M. & Pourahmad, R. Production of probiotic beverage based on tomato juice and mixture of sweet pepper, celery and coriander juices Food Science and Technology, 74 (15), 331-341. [In Persian]

[19] Nazzaro, F., Fratianni, F., Sada, A., & Orlando, P. (2008). Synbiotic potential of carrot juice supplemented with Lactobacillus spp. and inulin or fructooligosaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *88*(13), 2271-2276.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

drink. Koomesh, 18 (1), 117-127. [In Persian]

[27] Sokoutifar, R., Shavakhi, F., Parvinnezhad, S. & Dadkhah, A. (2017). Evaluating the survival of lactobacillus acidophilus and bifidobacterium lactis and their effect on physicochemical properties of apple juice, Innovation in Food Science and Technology, 9 (4), 31-40. [In Persian]

[28] Omidi, B., Fazeli, M., Amouzgar, M. & Jamalifar, H. (2010). Probiotication of Iranian carrot juice (Zardak) using four lactobacillus strains. Microbiology Science, 2 (6), 51-59. [In Persian]

[29] Dehghan Niri, R., daneshi, M. & Ardakani, S.A.Y. (2017). Effect of xylooligosaccharid on viability of probiotic bacteria in barbery juice. Applied Microbiology in Food Industries, 3 (2), 57-72.

[30] Zandi, M. M., & Berenjy, S. (2016). Production of Probiotic Fermented Mixture of Carrot, Beet and Apple Juices. *Journal of paramedical Sciences*, *7*(3), 17-23.

[31] Espirito-Santo, A. P., Carlin, F., & Renard, C. M. (2015). Apple, grape or orange juice: Which one offers the best substrate for lactobacilli growth?—A screening study on bacteria viability, superoxide dismutase activity, folates production and hedonic characteristics. *Food Research International*, *78*, 352-360.

[20] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2010). *Grape juice-Specifications*. 3rd ed., ISIRI No. 1634 [in Persian].

[21] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI) (2007). *Fruit juices – Test methods*. 1th ed., ISIRI No. 2685 [in Persian].

[22] Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2017). Effect of whey protein addition and transglutaminase treatment on the physical and sensory properties of reduced-fat ice cream. *Journal of dairy science*, *100*(7), 5206-5211.

[23] Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2004). Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *The Journal of microbiology*, *42*(4), 315-318.

[24] Yoon, K. Y., Woodams, E. E., & Hang, Y. D. (2005). Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, *38*(1), 73-75.

[25] Totonchi, P., Hesari, J., Moradi, M. & Fathi Achacheoie, B. (2015). Production and evaluation of probiotic red grape juice by Latobacillus acidophilus LA5, and Lactobacillus casei. Journal of Food Research, 25 (4), 655-666. [In Persian]

[26] Sarlak, Z., Mohammadi, R., Abdolmaleki, K., Mortazavian, A.M. & Shadnoosh, M. (2016). Effects of addition of different probiotic strains on the biochemical and microbiological properties of Aloe vera

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]

Development of probiotic apple juice fermented with *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*

Eteghadi, M. [1], Abdolmaleki, F. [2*]

1. M.Sc. graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Industrial & Mechanical Engineering, Islamic Azad University, Qazvin Branch, Qazvin, Iran
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Industrial & Mechanical Engineering, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran

(Received: 2019/03/15 Accepted:2019/10/12)

The objective of the present study was to develop probiotic apple juices fermented with *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus*. To this end, the probiotic microorganisms individually inoculated to the apple juice at 10^7 (log cfu/ml) and changes in bacterial cell viability and physicochemical and organoleptic properties were investigated over a 3-day fermentation period at 37 °C and then a 4-week storage period at 5 °C in comparison to the control sample. The results showed that the probiotic beverages experienced an increase of about 1.5-2 (log cfu/ml) in viable cell counts after the fermentation period. The first week of the storage period was also concomitant with tremendous rise in *lactobacilli* counts but decreasing trend were observed for all the three species until the end of the storage period. However, the viable cell counts for the beverages fermented with *L. delbrueckii*, *L. plantarum* and *L. acidophilus* were found to be 8.6. 8.5 and 8.8 (log cfu/ml), respectively, after 4 week storing, which are higher than the minimum requirements needed for probiotic status. Both the fermentation and storage periods caused increase in acidity and decrease in pH, total sugar content and brix. The sensory acceptance of the prebiotic beverages significantly ($p \leq 0.05$) reduced as the storage period prolonged. Despite differences observed in sensory attributes of the probiotic beverages during storage period, they did not significantly ($p > 0.05$) differ in terms of total acceptability at the end of the shelf-life. All the three samples had significantly ($p \leq 0.05$) lower sensory acceptance compared to the control sample but at the end of storage period, they all received total sensory scores between 6 and 7. Considering the cell viability, and physicochemical and organoleptic properties, and despite all the differences observed between the samples, it could be concluded that development of probiotic apple juices is satisfactorily possible with the three microorganisms.

Keywords: Probiotic apple juice, *L. delbrueckii*, *L. plantarum* and *L. acidophilus*, Physicochemical properties, Organoleptic properties

*Corresponding Author E-Mail Address: fa.abdolmaleki@gmail.com

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-08-14]