مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال نهم، شماره 4، زمستان 1393، صفحات 96-87

بررسی اثر نگهداری یخچالی بر قابلیت زیستی سویه‌های بومی و صنعتی پروبیوتیک و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی در آب زغال‌اخته

آمنه نعمت الهی[1]، سارا سهراب وندی[2]، سید امیر محمد مرتضویان فارسانی[3]، رزیتا کمیلی[4]، سپیده اسدزاده[4]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

2- نویسنده مسئول: استادیار گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: sohrabv@ut.ac.ir

3- دانشیار گروه آموزش علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

4- کارشناس گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 93/2/2 تاریخ پذیرش: 93/4/3

چکیده

سابقه و هدف: امروزه تقاضا برای فراورده‌های پروبیوتیک غیرلبنی به دلیل پرطرفدار شدن گیاه‌خواری، عدم تحمل لاکتوز شیر در برخی افراد و میزان بالای کلسترول فراورده‌های لبنی افزایش یافته است. بنابراین هدف از این مطالعه بررسی اثر نگهداری یخچالی بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی در آب زغال‌اخته است.

مواد و روش‌ها: آب زغال‌اخته با pH طبیعی و تعدیل شده با سدیم‌بی‌کربنات توسط سه سویه صنعتی پروبیوتیک شامل *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، *ل. پلانتارم* و *ل. کازئی* و دو سویه بومی *ل. کازئی* تلقیح شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از تلقیح وارد یخچال (4°C) شدند. سپس ویژگی‌های شیمیایی از جمله pH، اسیدیته، میزان مواد فنلی، آنتوسیانین‌ها و فعالیت ضداکسیدانی، ویژگی‌های میکروبی از جمله شمارش سلول‌های زنده پروبیوتیک و خواص حسی نمونه‌ها به مدت 4 هفته با فواصل زمانی یک هفته برای نمونه‌های با pH تعدیل‌شده مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و Repeated Measure و نرم‌افزار SPSS انجام شد. سطح معنی‌داری $p<0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان می‌دهد که نوع تیمار، زمان نگهداری و اثر متقابل این دو عامل بر تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در آب زغال‌اخته تاثیر معنی‌داری دارد ($P<0/05$). نتایج نشان داد که سویه بومی *ل. کازئی* زیر-گونه T4 در مقایسه با سایر پروبیوتیک‌ها، قابلیت زیستی خود را بعد از 4 هفته نگهداری یخچالی در تعداد 8/67 log cfu/ml حفظ نمود. همچنین بیشترین تغییرات در ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، در تیمارهای آب زغال‌اخته حاوی این سویه پروبیوتیک مشاهده شد که نشان-دهنده‌ی فعالیت تخمیری آن طی نگهداری یخچالی است.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که آب زغال‌اخته به دلایلی نظیر pH پایین و وجود ترکیبات فنلی بازدارنده بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها به ویژه سویه‌های صنعتی طی نگهداری یخچالی اثر منفی دارد.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، زغال‌اخته، فعالیت ضداکسیدانی، قابلیت زیستی، مواد فنلی

• مقدمه

توجه رو به افزایش مصرف فراورده‌های غذایی بی‌ضرر عاری از پاتوژن‌ها یا سموم آن‌ها و یا انواع حاوی ریززنده‌هایی که قادر به تغییر ترکیبات شیمیایی هستند؛ باعث افزایش تنوع فراورده‌های غذایی شده است. از طرف دیگر توجه مصرف‌کنندگان به رژیم‌های غذایی دارای اثر سلامت‌بخش و جلوگیری‌کننده از بیماری‌های مزمن نظیر دیابت، سرطان و

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

فشار خون بالا باعث افزایش تمایل مصرف‌کنندگان به غذاهای طبیعی و مصرف غذاهای فراسودمند شده است (1). غذاهای فراسودمند به عنوان غذاهایی تعریف می‌شوند که علاوه بر ارزش غذایی باعث جلوگیری از بیماری‌ها و کاهش خطر توسعه‌ی آن‌ها می‌شوند و بر میزبان اثرات سلامت‌بخش دارند (3، 2). برای تولید غذاهای فراسودمند، ترکیبات مختلفی مانند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و فیبرهای رژیمی و متابولیت‌های ثانویه گیاهی نظیر ترکیبات فنلی را به فراورده‌های غذایی اضافه می‌کنند (5، 4).

واژه پروبیوتیک توسط کمیته متخصصین به صورت ریز-زنده‌هایی تعریف می‌شود که در صورت ورود تعداد کافی آن به روده، اثرات سلامت‌بخشی بر میزبان اعمال می‌کند (7، 6). در تمامی فراورده‌های پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از فراورده در لحظه مصرف به عنوان ارزش اساسی آن‌ها محسوب می‌شود، از این رو این شاخص تعیین کننده‌ی کارایی دارویی این فراورده‌ها است و باید به اندازه کافی بالا باشد تا پس از مصرف با توجه به نوع فراورده تعداد کافی سلول زنده پروبیوتیک به محیط روده راه یابد. تعداد باکتری‌های زنده مورد نیاز در زمان مصرف برای اثربخش بودن غذا بر سلامتی باید حداقل 10^6-10^9 cfu/ml باشد (8). اثرات سلامت بخش پروبیوتیک‌ها بر انسان شامل افزایش تحمل و هضم لاکتوز، اثر مثبت بر فلور میکروبی روده، کاهش pH روده، بهبود عملکرد روده، کاهش کلسترول، آمونیاک و دیگر ترکیبات سمی، تولید ویتامین‌های گروه B نظیر فولیک اسید، ترمیم و تجدید فلور طبیعی روده بعد از درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها، درمان و جلوگیری از اسهال حاد ایجاد شده به وسیله روتاویروس‌ها (Rotaviruses) و تقویت سیستم ایمنی بدن است (9).

عمدتاً افزودن پروبیوتیک‌ها در فراورده‌های لبنی نظیر ماست صورت می‌گیرد (10، 9)، این موضوع در حالی است که مشکلاتی نظیر عدم تحمل لاکتوز و میزان کلسترول فراورده‌های لبنی باعث محدودیت مصرف توسط بخشی از مردم می‌شوند (12، 11). تحقیقات نشان می دهند که استفاده از پروبیوتیک‌ها در آب میوه و سبزی می تواند جایگزین خوبی برای گروهی از مردم با نیازهای خاص نظیر گیاه خواران و افراد با واکنش‌های آلرژیکی به پروتئین‌های شیر باشد (14، 13).

مطالعات مختلفی در مورد استفاده از آب میوه‌جات مختلف به عنوان محیط پایه برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک انجام شده است. نتایج تحقیق موسوی و همکاران نشان داد که استفاده از *ل. پاراکازئی* و *ل.اسیدوفیلوس* در آب میوه‌های خیلی اسیدی مانند آب انار توصیه نمی‌شود. همچنین قابلیت زنده‌مانی *ل. پلانتاروم* و *ل. دلبروکی* طی نگهداری یخچالی در زمان محدود در آب انار نسبت به سایر سویه‌ها موفقیت آمیزتر بود (15). نتایج حاصل از آزمایشات Pereira و همکاران روی تخمیر آب سیب با استفاده از *ل.کازئی* نشان داد که این باکتری می‌تواند در شرایط نگهداری یخچالی به رشد خود ادامه دهد (16).

نتایج مطالعه روی قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در نوشیدنی مخلوط شیر- هویج نشان داد که تعداد سلول‌های زنده *ل. پلانتارم*، *ل. رامنوسوس* و *ب.لاکتیس طی 20 روز نگهداری یخچالی* اندکی کاهش پیدا کرد و تعداد *ل. اسیدوفیلوس* در حد 6/6 log cfu/ml باقی ماند (17). اثر نگهداری یخچالی روی قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها توسط پژوهشگران زیادی مورد مطالعه قرار گرفته است. مرتضویان و همکاران در سال 2007 اثر درجه حرارت نگهداری سرد را روی قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در ماست بررسی و گزارش کردند که بالاترین قابلیت زیستی *ل.اسیدوفیلوس* بعد از 20 روز نگهداری در درجه حرارت 2°C مشاهده شد. همچنین کاهش بیش از 2 سیکل لگاریتمی در تعداد *ل.اسیدوفیلوس* در انتهای زمان نگهداری ماست گزارش شد (18). با این وجود، قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در مواد بر پایه میوه به دلایلی نظیر اسیدی بودن محیط آن‌ها، وجود ترکیبات ضد میکروبی گیاهی و کمبود ترکیبات مغذی مورد نیاز رشد آن‌ها، دشوارتر از فراورده‌های لبنی است (19). Alegra و همکاران در سال 2011 گزارش کردند که *ل. رامنوسوس* در آب پرتقال و قطعات سیب، به ترتیب بعد از 12 و 4 هفته نگهداری در دمای 4°C زنده باقی ماندند (20، 15).

آب میوه زغال‌اخته حاوی مقدار زیادی آنتوسیانین، ویتامین C، تانین و اسیدهای آلی است. این میوه اثرات ضد-التهابی و ضداکسیدانی دارد و در داروهای سنتی برای بهبود کار کبد و کلیه و تخفیف درد به کار می‌رود. بنابراین، با توجه به خواص سلامت‌بخش فراوان موجود در آن، این میوه پتانسیل استفاده به عنوان غذای فراسودمند از جمله تولید نوشیدنی پروبیوتیک را دارد (21).

اهداف این مطالعه شامل مقایسه‌ی قابلیت زنده‌مانی سویه-های بومی کشور با سویه‌های صنعتی پروبیوتیک در برابر عوامل بازدارنده‌ی موجود در زغال‌اخته نظیر pH پایین و ترکیبات فنلی، تعدیل pH آب میوه با سدیم‌بی‌کربنات به منظور بررسی اثر pH روی قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و اثر نگهداری یخچالی بر برخی ویژگی‌های فراسودمند و حسی آب زغال‌اخته پروبیوتیک نظیر ترکیبات فنلی، میزان

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

آنتوسیانین‌ها، فعالیت ضداکسیدانی و تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک است.

• مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها: ابتدا آب زغال‌اخته تهیه شده به نسبت 6 به 1 با آب رقیق شد. pH یک دسته از تیمارها با سدیم‌بی‌کربنات تا حدود 3/5 تنظیم و دسته دیگر بدون تغییر pH (2/58) در دمای 95°C به مدت 10 دقیقه پاستوریزه شدند. پس از سرد شدن، نمونه‌های آب زغال‌اخته با سویه‌های صنعتی پروبیوتیک (*ل.رامنوسوس*، *ل. پلانتاروم* و *ل. کازئی*) و سویه‌های بومی (*ل. کازئی* زیرگونه T4 و TD4) با تعداد حدود 10^8 cfu/ml تلقیح شده و آنگاه تحت نگهداری یخچالی قرار گرفت. سپس ویژگی‌های شیمیایی، میکروبی و خواص حسی نمونه‌ها به مدت 4 هفته با فواصل زمانی هر هفته، برای نمونه‌های با pH تعدیل‌شده مورد بررسی قرار گرفت. شایان ذکر است که تعدیل pH نمونه‌ها به منظور بررسی اثر pH و مواد بازدارنده طبیعی موجود در زغال‌اخته بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها صورت گرفت.

آزمون اندازه گیری pH: دستگاه pH متر با محلول تامپون با pH= 4 تنظیم و سپس مقداری از نمونه را در یک بشر 100میلی‌لیتر ریخته و توسط pH متر، pH آن تعیین شد (15).

شمارش سلول‌های پروبیوتیک: سلول‌های زنده‌ی پروبیوتیک‌ها با استفاده از محیط کشت MRS- آگار، مطابق با روش مرتضویان وهمکاران (2007) با عنوان Subtractive enumeration method (SEM) به صورت انتخابی شمارش شد. گرمخانه‌گذاری در 37°C به مدت 72 ساعت انجام شد (22).

اسیدیته قابل تیتر: ابتدا دستگاه pH متر با محلول بافر با pH های برابر 7 و 4 کالیبره شد. سپس 50 میلی‌لیتر آب مقطر تازه جوشیده و سرد شده به یک بشر منتقل و 20 گرم آب میوه به آن اضافه شد. یک عدد مگنت داخل بشر قرار داده و سپس بشر روی هم زن مغناطیسی گذاشته شد. الکترود pH متر درون بشر قرار داده شد. سپس محلول سود 0/1 نرمال قطره قطره اضافه شده تا pH نمونه به 8/1 برسد. حجم هیدروکسید سدیم مصرفی یادداشت و مقدار اسیدیته مطابق فرمول زیر بر حسب اسید مالیک بیان می‌شود (3).

$$A=V\times \frac{0.0067\times 100}{m}$$

در این فرمول V حجم سود مصرفی، m وزن نمونه برداشتی بر حسب گرم و A اسیدیته کل بر حسب گرم اسیدمالیک در هر 100 گرم آب میوه است.

میزان آنتوسیانین: میزان آنتوسیانین کل با روش اختلاف pH اندازه گیری شد. میزان جذب آب میوه در 520 و 700 نانومتر در بافرهای با pH=1 (پتاسیم کلرید 0/2 مولار)و 4/5 =pH (استات سدیم 1 مولار) اندازه‌گیری شد. میزان آنتوسیانین‌ها با استفاده از ضریب خاموشی مولار 29600 (سیانیدین 3-گلوکوزید) و میزان جذب با استفاده از فرمول زیر محاسبه می‌شود:

$$A=\{(A_{510}-A_{700})_{pH\,1}-(A_{510}-A_{700})_{pH\,4.5}$$

نتایج بر حسب میلی گرم سیانیدین 3-گلوکوزید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه بیان شد (23).

میزان مواد فنلی: میزان مواد فنلی کل در آب زغال‌اخته مطابق روش Folin Ciocalteu با اسپکتروفوتومتر تعیین شد. به 100 میکرولیتر از نمونه، 7 میلی‌لیتر آب مقطر و 0/50 میلی‌لیتر معرف فنلی FC (مخلوطی از فسفومولیبدات و فسفوتنگستات است که در آزمون رنگ سنجی مواد فنلی و ضداکسیدان‌ها استفاده می‌شود.) و بعد از 7 دقیقه 1/5 میلی‌لیتر محلول سدیم‌کربنات 2% و 0/9 میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس میزان جذب در 765 نانومتر بعد از 2 ساعت نگهداری در تاریکی، تعیین شد. نتایج نهایی بر حسب میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه بیان شد (24).

فعالیت ضداکسیدانی: فعالیت ضداکسیدانی با روش اسپکتروفوتومتری تعیین می‌شود. 100 میکرولیتر از آب میوه به 3/9 میلی‌لیتر محلول DPPH (محلول متانولی 0/1 میلی‌مولار) اضافه شد، آنگاه به مدت 60 دقیقه در دمای اتاق در تاریکی نگهداری شد. سپس جذب آن در در 517 نانومتر در مقابل متانول خوانده شد و درصد فعالیت خورندگی رادیکال DPPH (2 ،2 دی فنیل -1- پیکریل هیدرازیل) با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{DPPH scavenging activity (\%)} = (A_{blank} - A_{sample}/A_{blank}) \times 100$$

A_{blank} جذب محلول متانولی DPPH و A_{sample} جذب نمونه را نشان می‌دهند (24).

ارزیابی حسی: ویژگی‌های حسی یعنی طعم، رنگ و پذیرش کلی توسط 9 ارزیاب آموزش دیده، به صورت مقایسه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در هر دوره زمانی 6 نمونه به ارزیاب‌ها ارائه شد. برای شست و شوی ذائقه و طعم بین نمونه‌ها از آب استفاده می‌شود (25).

تجزیه و تحلیل آماری: تمامی نمونه‌ها در سه تکرار تولید شده و مورد آزمون قرار گرفت. طرح آزمایشات به صورت فاکتوریل کامل بوده و یافتن تفاوت معنی‌دار میان میانگین داده‌های حاصل، با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

طرفه (One way ANOVA) و تفاوت میانگین‌های هر تیمار طی زمان از آزمون Repeated Measure با استفاده از نرم‌افزار SPSS در سطح معنی‌داری 0/05 انجام شد.

• یافته‌ها

تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH طبیعی طی 7 روز نگهداری یخچالی در 4°C: به منظور بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در آب زغال‌اخته با pH طبیعی طی نگهداری یخچالی، نمونه‌های تلقیح شده به تعداد 10^8 log cfu/ml طی 7 روز نگهداری یخچالی با فواصل زمانی یک روزه، از یخچال خارج شده و تحت شرایط استریل سلول‌های زنده رشد یافته به روش پلیت‌گذاری شمارش شدند. جدول 1 قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را طی 7 روز نگهداری یخچالی نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH طبیعی نشان می‌دهد. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود؛ سویه‌های پروبیوتیک در آب زغال‌اخته نتوانستند pH پایین را تحمل کنند و بعد از یک هفته نگهداری یخچالی غیرفعال شدند. از آن‌جا که تعداد سلول‌های زنده تمام سویه‌های مورد آزمون در هفته‌ی اول نگهداری یخچالی در 4°C به صفر رسید، برای بررسی تغییرات خصوصیات شیمیایی، میکروبی و ارزیابی حسی آب زغال‌اخته پروبیوتیک طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C، pH نمونه‌ها توسط سدیم بیکربنات تا حدود 3/5 تعدیل شد. شایان ذکر است که تعدیل pH نمونه‌ها به منظور بررسی اثر pH و مواد بازدارنده طبیعی موجود در زغال‌اخته بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها انجام شد.

تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل شده طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، پس از یک هفته نگهداری یخچالی، تعداد سلول‌های زنده در تیمارهای حاوی سویه‌های صنعتی *ل. رامنوسوس* و *ل. پلانتارم* با حدود 4 سیکل لگاریتمی کاهش از تعداد اولیه حدود 8 به ترتیب به تعداد 4/24 و 4/2 log cfu/ml کاهش پیدا کرد؛ که کمتر از میزان لازم برای ایجاد اثرات سلامت‌بخش (10^6 cfu/ml) در فراورده بود. این در حالی بود که تعداد سلول‌های زنده تیمارهای حاوی سویه صنعتی *ل. کازئی* و سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 با حدود 2 سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به میزان 6 log cfu/ml و 6/23 رسید.

جدول1. تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH طبیعی طی 7 روز نگهداری یخچالی در 4°C

تیمار*	قابلیت زیستی (logcfu/ml)							
	d_0	d_1	d_2	d_3	d_4	d_5	d_6	d_7
R	8^{aA}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}
P	$8/02^{abA}$	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}	0^{aB}
C	$8/02^{abA}$	$4/64^{bB}$	$3/7^{bC}$	$1/4^{bD}$	0^{aE}	0^{aE}	0^{aE}	0^{aE}
T4	$8/03^{bA}$	$8/03^{cA}$	$8/6^{cB}$	$8/5^{cC}$	$4/5^{bD}$	$3/5^{bE}$	$1/9^{bF}$	0^{aG}
TD4	$8/06^{cA}$	$3/8^{dB}$	$3/2^{dC}$	$2/5^{dD}$	0^{aE}	0^{aE}	0^{aE}	0^{aE}

*R: *ل. رامنوسوس*، P: *ل. پلانتارم*، C: *ل. کازئی*، T4: *ل. کازئی* زیرگونه T4، TD4: *ل. کازئی* زیرگونه TD4

- حروف کوچک یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها است.

- حروف بزرگ یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین دوره‌های نگهداری است.

جدول 2. تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی 28 روز نگهداری یخچالی در 4°C

تیمار*	قابلیت زیستی (log cfu/ml)				
	d_0	d_7	d_{14}	d_{21}	d_{28}
R	$8/03^{aA}$	$4/24^{aB}$	$3/92^{aC}$	0^{aD}	0^{aD}
P	$8/02^{abA}$	$4/2^{bB}$	$3/6^{bC}$	$2/46^{bD}$	$2/15^{bE}$
C	$8/04^{aA}$	6^{cB}	$4/95^{cC}$	$4/87^{cD}$	$4/74^{cE}$
T4	$8/01^{bA}$	$8/22^{dB}$	$8/46^{dC}$	$8/8^{dD}$	$8/67^{dE}$
TD4	$8/04^{aA}$	$6/23^{eB}$	$5/34^{eC}$	$5/3^{eD}$	$4/57^{eE}$

* R: *ل. رامنوسوس*، P: *ل. پلانتارم*، C: *ل. کازئی*، T4: *ل. کازئی* زیرگونه T4، TD4: *ل. کازئی* زیرگونه TD4

- حروف کوچک یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها است.

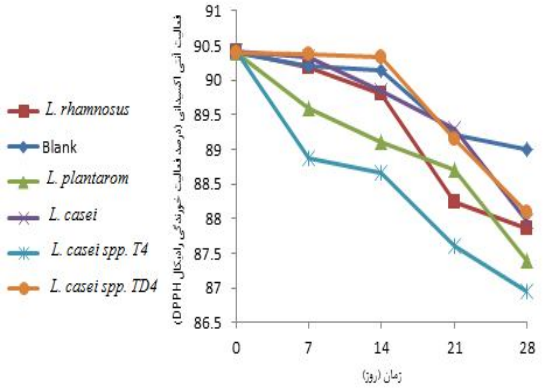
- حروف بزرگ یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین دوره‌های نگهداری است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 برخلاف سایر تیمارها در هفته اول نگهداری قابلیت زیستی خود را به طور کامل حفظ کرد و افزایش اندک اما معنی‌داری (P<0/05) در میزان سلول‌های زنده آن مشاهده شد. در هفته دوم و سوم نگهداری یخچالی تمام سویه‌ها به جز سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه T4 روند کاهشی خود را ادامه دادند. به عنوان مثال تعداد سلول‌های زنده سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه TD4 در هفته دوم به کمتر از میزان لازم برای ایجاد اثرات سلامت‌بخش درمصرف‌کننده رسید و سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* بعد از 3 هفته نگهداری یخچالی به طور کامل قابلیت زیستی خود را از دست داد. در هفته چهارم نگهداری یخچالی، تعداد سلول‌های زنده تمامی پروبیوتیک‌ها کاهش پیدا کرد که این کاهش در مورد سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 به طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها شدت کمتری داشت و هنوز در مقدار لازم برای ایجاد اثر سلامت‌بخش در مصرف کننده بود (8/67 log cfu/ml).

تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 3 نشان داده شده است افزایش pHدر مورد سویه‌های بومی و سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* طی 28 روز نگهداری یخچالی معنی‌دار است (P<0/05). نتایج نشان داد که سلول‌های باکتریایی دارای برخی فعالیت‌های تخمیری حتی در طول نگهداری در 4°C هستند. بنابراین افزایش تعداد سلول‌های زنده سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 نشانگر داشتن فعالیت‌های تخمیری در درجه حرارت نگهداری یخچالی است که تغییرات بیشتر pH توسط این سویه در مقایسه با سایرین طی نگهداری یخچالی بیان‌گر این واقعیت است. این افزایش در مورد سویه‌های بومی می‌تواند ناشی از تبدیل مالیک اسید به لاکتیک اسید باشد که باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌شود. متابولیت های اسیدی مثل اسید لاکتیک، ثابت اسیدیته بالاتری (pKa=3/86) نسبت به مالیک اسید (pKa=2) دارند بنابراین اسیدیته کل کاهش می‌یابد. افزایش pH در تیمار حاوی سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* می‌تواند ناشی از اتولیز پیکره باکتری‌ها و آزادسازی پپتیدها به درون محیط باشد. در مورد سایر سویه‌ها نیز pH در طول نگهداری یخچالی افزایش می‌یابد که از نظر آماری معنی‌دار نیست. مطابق جدول 4 کاهش اسیدیته تنها در مورد سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از نظر آماری معنی‌دار است (P<0/05)، و در مورد سایرین تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

تغییرات فعالیت ضداکسیدانی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق شکل 1 روند تغییرات فعالیت ضد-اکسیدانی طی 4 هفته نگهداری یخچالی در تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته به صورت معنی‌دار کاهش پیدا کرد (P<0/05). شایان ذکر است که این کاهش برای تیمار شاهد با کمترین شدت (1/5% کاهش) و برای تیمار دارای سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 با بیشترین شدت (4% کاهش) صورت گرفت. به طوری‌که میزان فعالیت ضداکسیدانی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 90/4% به 88/08%و تیمار شاهد از 90/4% به 89% کاهش پیدا کرد.



شکل 1. تغییرات فعالیت ضداکسیدانی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

جدول 3. تغییرات میزان pH در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

تیمار*	زمان(روز)				
	d0	d7	d14	d21	d28
B	3/49 a A	3/49 a A	3/49 a A	3/49 a A	3/49 a A
R	3/5 a A	3/5 a A	3/5 a A	3/51 a b A B	3/52 b B
P	3/51 a A	3/5 a A	3/5 a A	3/51 a b A	3/51 b A
C	3/5 a A	3/49 a A	3/5 a A	3/51 a b A	3/51 b A
T4	3/49 a A	3/5 a A	3/51 a A B	3/53 b B C	3/55 c C
TD4	3/5 a A	3/5 a A	3/5 a A	3/52 b A B	3/53 b c B

*B: تیمار شاهد بدون پروبیوتیک، R: *ل. رامنوسوس*، P: *ل. پلانتارم*، C: *ل. کازئی*، T4: *ل. کازئی* زیرگونه T4، TD4: *ل. کازئی* زیرگونه TD4

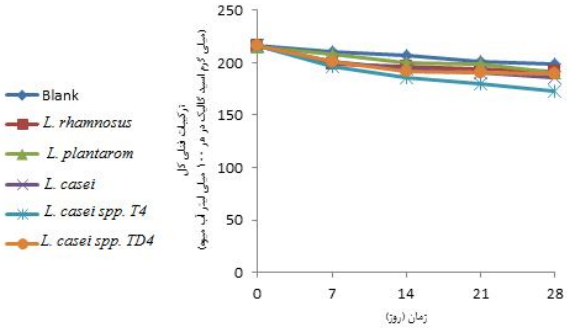
- حروف کوچک یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها است.

-حروف بزرگ یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین دوره‌های نگهداری است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

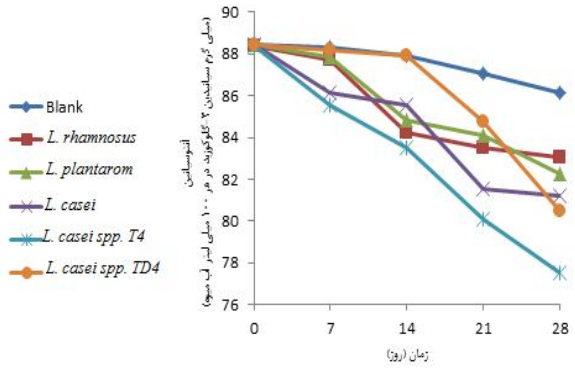
مطابق جدول 4 کاهش اسیدیته تنها در مورد سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از نظر آماری معنی‌دار است (P<0/05)، و در مورد سایرین تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

تغییرات میزان مواد فنلی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق شکل 2 در روز هفتم نگهداری یخچالی، کاهش معنی‌دار میزان مواد فنلی تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته در سطح اطمینان 95% مشاهده شد. نیز این کاهش معنی‌دار (p<0/05) میزان مواد فنلی در تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته در روزهای 14، 21 و 27 نگهداری یخچالی مشاهده شد. مطابق شکل 2 بیشترین کاهش در میزان مواد فنلی (تا حدود 20%) در طول نگهداری یخچالی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 و کمترین میزان کاهش (تا حدود 8%) برای تیمار شاهد مشاهده شد. میزان مواد فنلی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 216/1 به 172/5و تیمار شاهد از میزان 215/9 به 199/03 میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه کاهش پیدا کرد.



شکل 2. تغییرات میزان مواد فنلی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

تغییرات میزان آنتوسیانین‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق با شکل 3 در هفته اول، کاهش معنی‌دار میزان آنتوسیانین تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته در سطح اطمینان 95% مشاهده شد. این روند کاهشی در روزهای 14، 21 و 28 نگهداری یخچالی برای تمام تیمارها به صورت معنی‌دار ادامه یافت (P<0/05). شایان ذکر است که این کاهش برای تیمار شاهد با کمترین شدت تا حدود 2/5% و برای تیمار دارای سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه T4 با بیشترین شدت تا حدود 12% دیده شد. میزان آنتوسیانین‌ها برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 88/4 به 77/56 و تیمار شاهد از میزان 88/45 به 86/16 میلی‌گرم سیانیدین 3-گلوکوزید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه کاهش پیدا کرد.



شکل 3. تغییرات میزان آنتوسیانین‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

جدول 4. تغییرات میزان اسیدیته در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

تیمار*	زمان(روز)				
	d0	d7	d14	d21	d28
B	1 aA	1 aA	1/01 aA	1/01 aA	1/01 aA
R	1 aA	1 aA	1/01 aA	1 abA	1 aA
P	1 aA	1 aA	1 aA	1 abA	1 aA
C	0/99 aA	1 aA	1 aA	1 abA	1 aA
T4	1 aA B	1/02 a A	1/01 a A	0/98 b B C	0/97 b C
TD4	1/01 aA	1/02 aA	1/02 aA	1/01 a A	1 aA

*B: تیمار شاهد بدون پروبیوتیک، R: *ل. رامنوسوس*، P: *ل. پلانتارم*، C: *ل. کازئی*، T4: *ل. کازئی* زیرگونه T4، TD4: *ل. کازئی* زیرگونه TD4

- حروف کوچک یکسان در هر ستون نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها است.

- حروف بزرگ یکسان در هر ردیف نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار بین دوره‌های نگهداری است.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

ارزیابی حسی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل-شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 5 مشاهده می‌شود، بین نمونه‌های شاهد بدون پروبیوتیک و نمونه‌های تلقیح‌شده با سویه‌های صنعتی *ل. رامنوسوس*، *ل.پلانتارم* و *ل. کازئی* سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C ، از نظر طعم، بو و پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد (p>0/05). درحالی که بین نمونه‌های شاهد بدون پروبیوتیک و نمونه‌های تلقیح شده با سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شد (P<0/05). نتایج حاصل از این جدول نشان می‌دهد که بلافاصله بعد از تلقیح و طی 4 هفته نگهداری یخچالی، در نمونه‌های تلقیح‌شده با سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 بوی تیز و طعم گس تشخیص داده شد. در کل، طعم نامعمول شناسایی شده در این تیمار، بدطعمی نبود؛ بلکه بیشتر خاص بود و حتی نسبتاً مطبوع گزارش شد و طی 4 هفته، بین این تیمار و تیمار شاهد فاقد پروبیوتیک از نظر بو، طعم و پذیرش کلی از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود داشت (P<0/05).

جدول 5. آزمون حسی مقایسه‌ای نمونه های آب زغال اخته با pH تعدیل شده طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C

	دوره نگهداری (هفته)																	
	0				1				2				3				4	
تیمارهای مقایسه‌ای**	O*	T	OA	O	T	OA	O	T	OA	O	T	OA	O	T	OA	O	T	OA
R و B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
P و B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
C و B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
T4 و B	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
TD4 و B	*P*<0/05***	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	P<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<.0/05	*P*<0/05	*P*<0/05	*P*<0/05

* O = بو، T=مزه و OA=پذیرش کلی

** B: تیمار شاهد بدون پروبیوتیک، R: *ل.رامنوسوس*، P: *ل. پلانتارم*، C: *ل.کازئی*، T4: *ل.کازئی* زیرگونه T4، TD4: *ل.کازئی* زیرگونه TD4

*** تفاوت های معنی‌دار، نتیجه ارزیابی نمونه ها توسط 9 ارزیاب حسی بود.

• بحث

تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH طبیعی طی 7 روز نگهداری یخچالی در 4°C: به منظور بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در آب زغال‌اخته با pH طبیعی طی نگهداری یخچالی، نمونه‌های تلقیح شده به تعداد 10^8 log cfu/ml طی 7 روز نگهداری یخچالی با فواصل زمانی یک روزه، از یخچال خارج شده و تحت شرایط استریل سلول‌های زنده رشد یافته به روش پلیت‌گذاری شمارش شدند. جدول 1 قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها را طی 7 روز نگهداری یخچالی نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH طبیعی نشان می‌دهد. همان طور که در این جدول مشاهده می‌شود؛ سویه‌های پروبیوتیک در آب زغال‌اخته نتوانستند pH پایین را تحمل کنند و بعد از یک هفته نگهداری یخچالی غیرفعال شدند. از آن‌جا که تعداد سلول‌های زنده تمام سویه‌های مورد آزمون در هفته‌ی اول نگهداری یخچالی در 4°C به صفر رسید، برای بررسی تغییرات خصوصیات شیمیایی، میکروبی و ارزیابی حسی آب زغال‌اخته پروبیوتیک طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C، pH نمونه‌ها توسط سدیم بیکربنات تا حدود 3/5 تعدیل شد. شایان ذکر است که تعدیل pH نمونه‌ها به منظور بررسی اثر pH و مواد بازدارنده طبیعی موجود در زغال‌اخته بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها انجام شد.

تغییرات قابلیت زیستی باکتری‌ها در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل شده طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 2 مشاهده می‌شود، پس از یک هفته نگهداری یخچالی، تعداد سلول‌های زنده در تیمارهای حاوی سویه‌های صنعتی *ل. رامنوسوس* و *ل. پلانتارم* با حدود 4 سیکل لگاریتمی کاهش از تعداد اولیه حدود 8 به ترتیب به تعداد 4/24 و 4/2 log cfu/ml کاهش پیدا کرد؛ که کمتر از میزان لازم برای ایجاد اثرات سلامت-بخش (10^6 cfu/ml) در فراورده بود. این در حالی بود که تعداد سلول‌های زنده تیمارهای حاوی سویه صنعتی *ل. کازئی* و سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 با حدود 2 سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به میزان 6 log cfu/ml و 6/23 رسید. سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 برخلاف سایر تیمارها در هفته اول نگهداری قابلیت زیستی خود را به طور کامل حفظ کرد و افزایش اندک اما معنی‌داری (P<0/05) در میزان سلول‌های زنده آن مشاهده شد. در هفته دوم و سوم

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

نگهداری یخچالی تمام سویه‌ها به جز سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه T4 روند کاهشی خود را ادامه دادند. به عنوان مثال تعداد سلول‌های زنده سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه TD4 در هفته دوم به کمتر از میزان لازم برای ایجاد اثرات سلامت-بخش درمصرف‌کننده رسید و سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* بعد از 3 هفته نگهداری یخچالی به طور کامل قابلیت زیستی خود را از دست داد. در هفته چهارم نگهداری یخچالی، تعداد سلول‌های زنده تمامی پروبیوتیک‌ها کاهش پیدا کرد که این کاهش در مورد سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 به طور معنی‌داری در مقایسه با سایر تیمارها شدت کمتری داشت و هنوز در مقدار لازم برای ایجاد اثر سلامت‌بخش در مصرف کننده بود (8/67 log cfu/ml).

تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 3 نشان داده شده است افزایش pH در مورد سویه‌های بومی و سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* طی 28 روز نگهداری یخچالی معنی‌دار است (P<0/05). نتایج نشان داد که سلول‌های باکتریایی دارای برخی فعالیت‌های تخمیری حتی در طول نگهداری در 4°C هستند. بنابراین افزایش تعداد سلول‌های زنده سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 نشانگر داشتن فعالیت‌های تخمیری در درجه حرارت نگهداری یخچالی است که تغییرات بیشتر pH توسط این سویه در مقایسه با سایرین طی نگهداری یخچالی بیان‌گر این واقعیت است. این افزایش در مورد سویه‌های بومی می‌تواند ناشی از تبدیل مالیک اسید به لاکتیک اسید باشد که باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌شود. متابولیت های اسیدی مثل اسید لاکتیک، ثابت اسیدیته بالاتری (pKa=3/86) نسبت به مالیک اسید (pKa=2) دارند بنابراین اسیدیته کل کاهش می‌یابد. افزایش pH در تیمار حاوی سویه صنعتی *ل. رامنوسوس* می‌تواند ناشی از اتولیز پیکره باکتری‌ها و آزادسازی پپتیدها به درون محیط باشد. در مورد سایر سویه-ها نیز pH در طول نگهداری یخچالی افزایش می‌یابد که از نظر آماری معنی‌دار نیست.

تغییرات فعالیت ضداکسیدانی در نمونه‌های آب زغال-اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق شکل 1 روند تغییرات فعالیت ضداکسیدانی طی 4 هفته نگهداری یخچالی در تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته به صورت معنی‌دار کاهش پیدا کرد (P<0/05). شایان ذکر است که این کاهش برای تیمار شاهد با کمترین شدت (1/5% کاهش) و برای تیمار دارای سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 با بیشترین شدت (4% کاهش) صورت گرفت. به طوری‌که میزان فعالیت ضداکسیدانی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 90/4% به 88/08%و تیمار شاهد از 90/4% به 89% کاهش پیدا کرد.

تغییرات میزان مواد فنلی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق شکل 2 در روز هفتم نگهداری یخچالی، کاهش معنی‌دار میزان مواد فنلی تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته در سطح اطمینان 95% مشاهده شد. نیز این کاهش معنی‌دار (p<0/05) میزان مواد فنلی در تمامی تیمارهای آب زغال-اخته در روزهای 14، 21 و 27 نگهداری یخچالی مشاهده شد. مطابق شکل 2 بیشترین کاهش در میزان مواد فنلی (تا حدود 20%) در طول نگهداری یخچالی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 و کمترین میزان کاهش (تا حدود 8%) برای تیمار شاهد مشاهده شد. میزان مواد فنلی برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 216/1 به 172/5و تیمار شاهد از میزان 215/9 به 199/03 میلی‌گرم گالیک‌اسید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه کاهش پیدا کرد.

تغییرات میزان آنتوسیانین‌ها در نمونه‌های آب زغال-اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: مطابق با شکل 3 در هفته اول، کاهش معنی‌دار میزان آنتوسیانین تمامی تیمارهای آب زغال‌اخته در سطح اطمینان 95% مشاهده شد. این روند کاهشی در روزهای 14، 21 و 28 نگهداری یخچالی برای تمام تیمارها به صورت معنی‌دار ادامه یافت (P<0/05). شایان ذکر است که این کاهش برای تیمار شاهد با کمترین شدت تا حدود 2/5% و برای تیمار دارای سویه بومی *ل. کازئی* زیر گونه T4 با بیشترین شدت تا حدود 12% دیده شد. میزان آنتوسیانین‌ها برای تیمار حاوی سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 از میزان 88/4 به 77/56 و تیمار شاهد از میزان 88/45 به 86/16 میلی‌گرم سیانیدین 3-گلوکوزید در هر 100 میلی‌لیتر آب میوه کاهش پیدا کرد.

ارزیابی حسی در نمونه‌های آب زغال‌اخته با pH تعدیل‌شده طی4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C: همان طور که در جدول 5 مشاهده می‌شود، بین نمونه‌های شاهد بدون پروبیوتیک و نمونه‌های تلقیح‌شده با سویه‌های صنعتی *ل. رامنوسوس*، *ل.پلانتارم* و *ل. کازئی* سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه T4 طی 4 هفته نگهداری یخچالی در 4°C ، از نظر طعم، بو و پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری از نظر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

آماری مشاهده نشد (p>0/05). درحالی که بین نمونه‌های شاهد بدون پروبیوتیک و نمونه‌های تلقیح شده با سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 تفاوت‌های معنی‌داری مشاهده شد (P<0/05). نتایج حاصل از این جدول نشان می‌دهد که بلافاصله بعد از تلقیح و طی 4 هفته نگهداری یخچالی، در نمونه‌های تلقیح‌شده با سویه بومی *ل. کازئی* زیرگونه TD4 بوی تیز و طعم گس تشخیص داده شد. در کل، طعم نامعمول شناسایی شده در این تیمار، بدطعمی نبود؛ بلکه بیشتر خاص بود و حتی نسبتاً مطبوع گزارش شد و طی 4 هفته، بین این تیمار و تیمار شاهد فاقد پروبیوتیک از نظر بو، طعم و پذیرش کلی از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود داشت (P<0/05).

References

1. Hilliam M. Functional Food–How big is the market. World Food Ingred 2000;12:50-52.
2. Sanders ME. Overview of Functional Foods: Emphasis on Probiotic Bacteria. Int Dairy J 1998;8(5–6):341-7.
3. Prado FC, Parada JL, Pandey A, Soccol CR. Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Res Int 2008;41(2):111-23.
4. Puupponen-Pimiä R, Aura A-M, Oksman-Caldentey K-M, Myllärinen P, Saarela M, Mattila-Sandholm T, et al. Development of functional ingredients for gut health . Trends Food Sci Technol 2002;13(1):3-11.
5. do Espírito Santo AP, Perego P, Converti A, Oliveira MN. Influence of food matrices on probiotic viability–A review focusing on the fruity bases. Trends Food Sci Technol 2011;22(7):85-7.
6. Guarner F, Schaafsma G. Probiotics. Int J Food Microbiol 1998;39(3):237-8.
7. Joint F. WHO Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Córdoba, Argentina October. 2001:1-4.
8. Sheehan VM, Ross P, Fitzgerald GF. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. Innov Food Sci Emerg Technol 2007;8(2):279-84.
9. Ásványi-Molnár N, Sipos-Kozma Z, Tóth Á, Ásványi B, Varga L. Development of functional dairy food enriched in spirulina (Arthrospira platensis). Tejgazdaság. 2009;69(2):15-22.
10. Almeida Md, Cruz Ad, Faria J, Moura M, Carvalho Ld , Freitas M. Effect of the açai pulp on the sensorial attributes of probiotic yogurts. Int J Probiotics Prebiotics 2009;4(1):41-4.
11. Tantipaibulvut S, Soontornsophan C, Luangviphusavanich S. Fermentation of roselle juice by lactic acid bacteria. Asian J Food Agro-Ind 2008; 1(4): 217-227.
12. Krasaekoopt W, Pianjareonlap R, Kittisuriyanont K, editors. Probiotic fruit juices. The 2nd International Conference on Fermentation Technology for Value added Agricultural Products, Kosa Hotel, Khon Kaen, Thailand; 2007.
13. Marhamatizadeh MH, Rezazadeh S, Kazemeini F, Kazemi MR. The study of probiotic juice product conditions supplemented by culture of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum. Middle-East J Sci Res 2012;11(3):287-95.
14. Rößle C, Auty MA, Brunton N, Gormley RT, Butler F. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. Innov Food Sci Emerg Technol 2010;11(1):203-9.
15. Mousavi Z, Mousavi S, Razavi S, Emam-Djomeh Z, Kiani H. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World J Microbiol Biotechnol 2011;27(1):123-8.
16. Pereira ALF, Maciel TC, Rodrigues S. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with Lactobacillus casei. Food Res Int 2011;44(5):1276-83.
17. Daneshi M, Ehsani MR, Razavi SH, Labbafi M. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. Electronic J Biotechnol 2013;16(5):5-11.
18. Mortazavian A, Ehsani M, Mousavi S, Rezaei K, Sohrabvandi S, Reinheimer J. Effect of refrigerated storage temperature on the viability of probiotic micro-organisms in yogurt. Int J Dairy Technol 2007;60(2):123-7.
19. Mortazavian A, Sohrabvandi S. Probiotics and food probiotic products based on dairy probiotic products. First ed.Tehran: Eta Publication; 2006: p. 24-34 [in persion].
20. Nualkaekul S, Charalampopoulos D. Survival of Lactobacillus plantarum in model solutions and fruit juices. Int J Food Microbiol 2011;146(2):111-7.
21. Tešević V, Nikićević N, Milosavljević S, Bajić D, Vajs V, Vučković I, et al. Characterization of volatile compounds of'Drenja', an alcoholic beverage obtained from the fruits of Cornelian cherry. J Serbian Chemic. Soc 2009;74(2):117-28.
22. Mortazavian A, Ehsani M, Sohrabvandi S, Reinheimer J. MRS-bile agar: its suitability for the enumeration of mixed probiotic cultures in cultured dairy products. Milchwissenschaft 2007;62(3):270-2.
23. Hassanpour H, Yousef H, Jafar H, Mohammad A. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (Cornus mas L.) genotypes in Iran. Sci Hortic 2011;129(3):459-63.
24. Šamec D, Piljac-Žegarac J. Postharvest stability of antioxidant compounds in hawthorn and cornelian cherries at room and refrigerator temperatures—Comparison with blackberries, white and red grapes. Sci Hortic 2011;131:15-21.
25. Luckow T, Delahunty C. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. Food Qual Preference 2004;15(7):751-9.
26. Puupponen-Pimiä R, Nohynek L, Meier C, Kähkönen M, Heinonen M, Hopia A, et al. Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. Journal of applied microbiology. 2001;90(4):494-507.
27. Parkar SG, Stevenson DE, Skinner MA. The potential influence of fruit polyphenols on colonic microflora and human gut health. Int J Food Microbiol 2008;124(3):295-8.
28. Patthamakanokporn O, Puwastien P, Nitithamyong A, Sirichakwal PP. Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. J Food Composition Analysis 2008;21(3):241-8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]

Studying the Effect of Refrigerated Storage on the Vability of Native and Industrial Probiotic Strains and Some Physico-chemical and Sensory Properties in Cornelian Cherry Juice

Nematollahi A[1], Sohrabvandi S[2], Mortazavin Farsani AM[3], Komeyli R[4], Asadzade S[4]*

1. *Students' Research Committee, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran n*
2. **Corresponding author: Assistant Prof. (in Research), Dept.of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. Email: sohrabv@sbmu.ac.ir*
3. *Associate prof, Dept.of Food Science and Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
4. *Dept.of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Received 22 Apr, 2014 **Accepted 24 Jun, 2014**

Background and Objectives: Recently, an increased demand for nondairy probiotic products comes from the popularity of vegetarianism, lactose intolerance, and high cholesterol content in dairy products. The objective of this study is evaluating the effect of refrigerated study on the viability of probiotics and some physicochemical characteristics in cornelian cherry juice.

Materials and Methods: Cornelian cherry juice with natural and adjusted pH with sodium bicarbonate was inoculated with three industrial bacteria (*L. rhamnosus*, *L. plantarom* and *L. casei*) and two native probiotic bacteria (*L. casei*) (10^8 cfu/ml). Then the samples were placed in the refrigerator (4°C) immediately after inoculation. Next, the changes in chemical characteristics such as pH, acidity, phenolic compounds content, anthocyanin content, antioxidant activity, microbial characteristics (such as enumeration of live probiotic cells), and sensory properties were evaluated during 4 weeks with the time intervals of one week for the samples with adjusted pH. Significant differences between the averages of obtained data were checked by one way ANOVA test. Also differences between the averages of each treatment during the refrigerating time were examined by repeated measure test using SPSS software at the significant level of 0.05.

Results: Data analysis showed that treatment type, storage period and interaction effect of these two factors have significant effects on the changes of physicochemical characteristics and probiotic viability ($P<0.05$). The results revealed that native probiotic strain *L. casei* spp. T4 compared to other strains maintained its viability at 8.67 log cfu/ml after 4 weeks of refrigerated storage. Also there were the most changes in physicochemical characteristics in the cornelian cherry treatments containing this strain, which is a marker of fermentative activity during the refrigerated storage.

Conclusion: The results showed that cornelian cherry juice because of low pH and presence of inhibitor phenolic compounds has negative effect on viability of probiotics, especially industrial strains during the refrigerated storage.

Keywords: Probiotics, Cornelian cherry, Anti-oxidant activity, Viability, Phenolic compounds

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-05-23]