Archive of SID

تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیکی از شلغم (*Brassica rapa*) و هویج بنفش (*Daucus carota*) با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*

مهنام قائم پناه[a]، مهناز هاشمی روان[b]، انوشه شریفان[c*]

[a] کارشناس ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[b] استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد پیشوا – ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[c] دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۷/۶/۳ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۷/۱۰/۱۰

چکیده

مقدمه: نوشیدنی‌های طبیعی با منشاء گیاهی یکی از فرآورده‌های مهم و پر مصرف می‌باشد که در سال‌های اخیر به طور گسترده‌ای در برنامه غذایی وارد شده است. هویج بنفش به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی (آنتی اکسیدان)، ویتامین، کاروتن و سایر ترکیبات ریز مغذی دیگر می‌تواند به عنوان منبع با ارزش در تولید مواد غذایی فراسودمند مورد استفاده قرار گیرد. از طرف دیگر شلغم نیز به دلیل داشتن فیبر، ویتامین و مواد معدنی مهم مثل پتاسیم می‌تواند یک منبع ارزان قیمت و با ارزش باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک Shalgam، از ۳ گونه باکتری اسید لاکتیک (*لاکتوباسیلوس فرمنتوم*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتارم*) به میزان 10^8 cfu/ml استفاده شد و آزمایش‌های شیمیایی، کیفی و حسی در ۳ تکرار انجام شد. از نوشیدنی تخمیر شده با مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (10^8 cfu/ml) بدون باکتری به عنوان نمونه کنترل استفاده شد. میزان pH ، الکل و تعداد باکتری‌ها پس از ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ از تخمیر بررسی شد. همچنین آزمون حسی برای ارزیابی پذیرش این نوشیدنی توسط ۱۰ پنلیست انجام گرفت.

یافته‌ها: بررسی نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که نوشیدنی تولید شده توسط باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی (حاوی ۷/۷۹ log cfu/ml بعد از ۷۲ساعت تخمیر) نسبت به دو باکتری دیگر از پذیرش بالاتری برخوردار است. میزان pH= ۳/۸ بدست آمد و همچنین میزان الکل تولید شده در نمونه حاوی این باکتری کمترین میزان بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به مجموع نتایج می‌توان گفت که نمونه حاوی باکتری لاکتوباسیلوس پاراکازئی بهترین کیفیت را در بین تیمارهای مورد بررسی به خود اختصاص داده است.

واژه‌های کلیدی: باکتری‌های اسید لاکتیک، پروبیوتیک، فراسودمند، نوشیدنی تخمیری

* نویسنده مسئول مکاتبات email: a_sharifan2000@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که دارای تأثیرات سودمندی بر روی میزبان می‌باشند. البته این در صورتی است که به مقدار مناسب در بدن توزیع شوند. این میکروارگانیسم‌ها همچنین تعادل میکروبی محیط معده و روده را نیز بهبود می‌بخشند(FAO/WHO 2001; Espinoza and Navarro, 2010;).

نوشیدنی‌های تخمیری آن دسته از نوشیدنی‌های هستند که در تولیدشان، فعالیت میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌ها دخالت داشته و موجب تغییرات بیوشیمیایی خوشایند می‌گردند که بسته به نوع میکروارگانیسم، فرایند تخمیر می‌تواند الکلی یا غیر الکلی باشد (Anon, 2001). تخمیر یا fermentation یک فرآیند متابولیکی است که قند طی آن توسط مخمر یا باکتری به اسید، گاز و یا الکل تبدیل می‌شود. به منظور اینکه تخمیر به طور موفق انجام شود باید ۳ عامل حرارت، منبع قندی و مخمر یا میکروارگانیسم وجود داشته باشند. فرایند تخمیر سبب تولید عطر و طعم خاص شده و در مواردی باعث افزایش هضم بهتر مواد توسط معده می‌شود. همچنین تخمیر موجب افزایش مدت زمان نگهداری محصول می‌گردد (Chojnacka, 2010).

از عوامل مهم و مؤثر در انتخاب سوش‌های پروبیوتیک، میزان تغییرات pH، افت ترکیبات تغذیه‌ای مهم، قابلیت پذیرش سوبسترا در پذیرش استارتر و نوع متابولیسم است (Karovicova and Kohajdova, 2003).

لاکتوباسیلوس پلانتاروم یک باکتری بی‌هوازی اختیاری است که می‌تواند در حضور و یا عدم حضور اکسیژن رشد کند. هنگامی که اکسیژن موجود نباشد، قادر به تخمیر و تبدیل قند به اسید لاکتیک یا الکل می‌باشد. این گونه توانایی سازگاری با محیط‌های دارای pH اندک در روده یا نمک بالا را دارا می‌باشد. این باکتری طعم‌ها و رایحه‌های مختلفی را به مواد غذایی ارائه می‌دهد که این امر بستگی به تعادل میانِ اسیدهای ارگانیک استات و لاکتات دارد. بنابراین آشکار است که فراورده‌های تخمیری گیاهی که حرارت ندیده‌اند نیز دارای مقدار فراوانی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می‌باشند (Tanguler and Erten, 2012). *لاکتوباسیلوس پلانتارم* توانست pH پایین و اسیدیته بالا را در ابمیوه انبه و چیکو[1] به خوبی تحمل نماید و ارزیابی حسی محصول نیز نشان داد که طعم آبمیوه پروبیوتیکی حاصله فرق چندانی با غیرپروبیوتیکی آن ندارد (Bathala *et al*., 2015). همچنین این گونه می‌تواند با منابع مختلف کربن رشد نماید و با محیط‌های مختلف سازگاری یابد بطور مثال می‌توان از رشد این باکتری در آب انار نام برد (Mousavi *et al*., 2011).

لاکتوباسیلوس پاراکازئی یکی از انواع پروبیوتیک‌ها است که کاربرد وسیعی در فرآورده‌های فراسودمند دارد و زنده مانی این باکتری بیشتر از سایر گونه هاست. بهترین pH برای رشد لاکتوباسیلوس ۵ تا ۶/۵ است همچنین تراکم ۵ درصد کربن دی اکسید تاثیر بسزایی بر رشد آنها دارد. لاکتوباسیلوس‌ها در شرایط بی‌هوازی یا حداقل اکسیژن رشد دارند. همچنین یکی از باکتری‌های پروبیوتیکی است که پتانسیل کاربردی ویژه‌ای در تولید فراورده‌های شیری پروبیوتیکی مانند ماست دارد (Tanguler and Erten, 2012).

لاکتوباسیلوس فرمنتوم یک لاکتوباسیل گرم مثبت است که بطور معمول در خمیرترش پیدا می‌شود. مقاومت بالایی به pH دارد بطوریکه چند ساعت پس از انکوباسیون در یک محلول pH=۳ همچنان زنده بود و توانایی رشد نیز داشت. همچنین سویه‌های مختلف *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در غلظت‌های مختلف آب نمک مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج آزمایشات نشان داد که لاکتوباسیلوس فرمنتوم تحمل‌پذیری خوبی را نشان می‌دهد (Tanguler and Erten, 2012).

مخمرها بی‌هوازی اختیاری هستند یعنی در محیط هوازی نیز به زندگی خود ادامه داده و از اکسیژن محیط استفاده می‌کنند. مناسب‌ترین pH محیط برای رشد مخمرها، خنثی یا کمی اسیدی می‌باشد. همه سویه‌های *ساکارومایسس سرویزیه* می‌توانند تحت شرایط هوازی روی گلوکز، گالاکتوز، مالتوز و تره هالوز رشد کنند و برخی از گونه‌های آن قندهای پنج کربنه مانند ریبوز، الکل‌ها و اسیدهای آلی را نیز مورد استفاده قرار می‌دهند (Erginkaya and Ünal Turhan, 2016).

نوشیدنی تخمیری به دست آمده از شلغم و هویج بنفش Shalgam نام دارد. این نوشیدنی یک محصول اسید

[1] Sapota

www.SID.ir

Archive of SID

لاکتیک تخمیر شده است و یک نوشیدنی سنتی بسیار محبوب در جنوب ترکیه، به خصوص در شهرهای بزرگ استانبول، آنکارا و ازمیر می‌باشد (Erten *et al*., 2008). نوشیدنی Shalgam جزء محصولات غذایی پروبیوتیک بوده و منبع خوبی از مواد مغذی است. همچنین محتوای بتاکاروتن، ویتامین‌های گروه B، کلسیم، پتاسیم و آهن است. مصرف نوشیدنی Shalgam در جهان درحال افزایش است (Coskun, 2017).

Shalgam یک نوشیدنی قرمز، کدر، و ترش مزه است که توسط تخمیر اسید لاکتیک از هویج سیاه یا بنفش، خمیر ترش، نمک، آرد بلغور، شلغم و آب کافی به دست می‌آید. این نوشیدنی به طور سنتی و در مقیاس خانگی ساخته می‌شود و به طور گسترده همراه با غذا و یا به عنوان یک نوشیدنی گوارا جداگانه آشامیده می‌گردد (Erten *et al*., 2008).

در تولید نوشیدنیShalgam، ریشه هویج بنفش به عنوان ماده اولیه اصلی برای تخمیر و تولید اسید لاکتیک به عنوان محصول نهایی غالب در طی تخمیر استفاده می‌شود. همچنین در ایجاد رنگ قرمز در نوشیدنی نقش دارد (Erten *et al*., 2008). هویج بنفش[1] به رنگ بنفش بوده و داخل آن می‌تواند نارنجی یا سفید باشد. نه تنها از لحاظ رنگ بلکه از نظر مواد مغذی با هویج نارنجی متفاوت است و همچنین از مقدار کاروتن (آلفا و بتا کاروتن) بالاتری در مجموع برخوردار بوده که در ساخت ویتامین A کمک می‌کند (Alasalvar, 2005).

شلغم یک ماده خام جزئی برای تولید نوشیدنی Shalgam است (Erten *et al*., 2008). شلغم سبزی ریشه ای است از خانواده *Brassica rapa* گونه *rapa* که می‌تواند به رنگ‌های سبز و سفید و یا بنفش و با برگ‌هایی ناصاف و بریدگی‌های زیاد یافت شود. شلغم دارای کربوهیدرات و مواد معدنی از جمله آهن، پتاسیم، منیزیم، کلسیم، فسفر و انواع ویتامین‌های B ، C و E می‌باشد.

آرد بلغور ، که در نسبت ۳ ٪ در نوشیدنی استفاده می‌شود، از مواد اولیه جزئی برای تولید نوشیدنی Shalgam است. این ماده همچنین مواد مغذی لازم برای میکروارگانیسم‌ها را در طی مراحل اولیه تخمیر در روش تولید سنتی و همچنین در روش مستقیم فراهم می‌کند (Erten *et al*., 2008). برای به دست آوردن بلغور، گندم[2] بخارپز، خشک، پوست‌گیری، خرد، و الک می‌شود. محصولی که در لایه‌های بالایی غربال باقی می‌ماند بلغور نام دارد و قسمت پایینی (آرد)، که از الک عبور کرده است در تولید نوشیدنی Shalgam استفاده می‌شود. به غیر از استفاده از این روش، بلغور همچنین می‌تواند آسیاب شده و برای ساخت نوشیدنی Shalgam استفاده گردد (Öztürk, 2009; Canbas and Fenercioğlu, 1984).

کلرید سدیم یا همان نمک عمومی، یک ماده ضروری در تولید نوشیدنی Shalgam است. نمک اضافه شده سنگ نمک تصفیه شده تجاری است. غلظت آن برای تخمیر نوشیدنی Shalgam ، ۲-۱ ٪ می‌باشد (Erten *et al*., 2008).

خمیر ترش، که از تخمیر کردن خمیر نانوایی در دمای اتاق طی شبانه روز به دست می‌آید، نیز در تولید نوشیدنی Shalgam استفاده می‌شود. همچنین می‌توان از مخمر نانوایی، *ساکارومایسس سرویزیه* به تنهایی استفاده نمود (Erten *et al*., 2008; Tangular, 2010).

Özler and Kılıç در سال 1996 به بررسی ویژگی‌های نوشیدنی Shalgam با ترکیبات متفاوت از شلغم، چغندر قرمز، هویج سیاه، مخمرنانوایی، ارد بلغور، خمیر ترش (Shalgam تولیدی به روش کلاسیک) و استارتر کالچر (مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس، ۳ ٪)، Yaldırak در سال 2011 به بررسی میزان کپک و مخمر و باکتری‌های لاکتیک اسید در نوشیدنی تخمیری Shalgam در دو درجه حرارت تخمیر ۲۵ و ۳۵ درجه سانتی‌گراد، Erginkaya and Ünal Turhan در سال 2016 جداسازی و شناسایی باکتری‌های لاکتیک اسید و مخمرهای عمده میکروفلور پرورش یافته در طی تخمیر در نوشیدنی Shalgam تولید شده به روش سنتی (دارای دو مرحله تخمیر)، Coskun در سال 2017 به بررسی زمان مناسب جهت تولید نوشیدنی تخمیری بدون الکل Shalgam به روش سنتی و تجاری پرداختند.

بنابراین با توجه به مطالب فوق هدف از این مطالعه تولید نوشیدنی تخمیری از شلغم (*Brassica rapa*) و هویج بنفش (*Daucus carota*) با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و*

[1] *Daucus carota ssp.sativus var.atrorubens*

[2] *Tritucum aestivum*

www.SID.ir

Archive of SID

لاکتوباسیلوس فرمنتوم و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- مواد

باکتری‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر *لاکتوباسیلوس پلانتارم* (PTCC 1058)، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* (PTCC1608) و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* (PTCC 1333) و همچنین مخمر *ساکارومایسس سرویزیه* (PTCC 5269)، از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه و خریداری شدند. نمونه‌های شلغم و هویج خریداری شده از بازار خرم آباد برای این تحقیق استفاده شدند که از نظر واریته و فصل کشت دارای شرایط یکسان بوده و در دما و رطوبت یخچال (دمای ۴ تا ۷ درجه سانتیگراد و رطوبت حدود ۸۰-۹۰ درصد) نگهداری شدند. نمک، شکر و آرد بلغور نیز از سوپرمارکت محلی واقع در شهر خرم آباد نیز تهیه گردید.

- روش‌ها

- فعال سازی سلول‌های میکروبی

جهت فعال سازی باکتری‌های LAB، هر یک از سویه‌های خریداری شده، به محیط کشت MRS agar منتقل شد و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت نگهداری شد. به منظور فعال سازی سلول‌های مخمر نیز، از سویه خریداری شده تحت شرایط استریل به پلیت دارای محیط کشت PDA[1] انتقال داده شد. سپس در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵-۴ روز انکوبه گردید (Harrigan, 1990).

- تهیه سوسپانسیون میکروبی

تعداد 10^{10} تا 10^{8} CFU از استارتر کالچرهای *لاکتوباسیلوس پلانتارم*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* و *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* فعال شده را برای مرحله تخمیر به همراه مخمر فعال *ساکارومایسس سرویزیه* که توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شده بود، استفاده گردید. ابتدا در لوله مخصوص اسپکتروفوتومتر، سرم فیزیولوژی ریخته و سپس از کلنی باکتری یا مخمر به وسیله لوپ به آن منتقل شدند. طبق استاندارد و میزان طول موج مشخص تعریف شده برای باکتری(۵۶۰ تا ۶۲۰ نانومتر) یا مخمر (۵۲۴ نانومتر) تعداد CFU بدست می‌آید (اشرفی، ۱۳۸۵). نمونه‌های تحقیق به شرح زیر می‌باشند:

نمونه ۱: نوشیدنی Shalgam حاوی *Lb. fermentatum*

نمونه ۲: نوشیدنی Shalgam حاوی *Lb. paracasei*

نمونه ۳: نوشیدنی Shalgam حاوی *Lb. plantarum*

نمونه شاهد: نوشیدنی Shalgam حاوی *S. cerevisiae*

- تهیه و پاستوریزاسیون آب شلغم و هویج بنفش

برای تهیه آب شلغم و هویج بنفش، آن‌ها را شسته و پوست و قسمت‌های زائد را جدا نموده، سپس شلغم (۲-۱ ٪)، و هویج بنفش (۲۰-۱۰ ٪) را قطعه قطعه کرده و تمامی قطعه‌ها را به ظرف بزرگ یک لیتری منتقل و با آب آشامیدنی شهری به حجم یک لیتر رسانده شد. نمک (۲-۱/۲ ٪)، آرد بلغور (۳ ٪)، اسید سیتریک (۵ ٪) و شکر(۷ ٪) در همین مرحله به ظرف اضافه شد. مخلوط نوشیدنی بدست امده در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه پاستوریزه گردید و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد (Özler and Kılıç, 1996).

بر طبق استاندارد افزودنی‌های غذایی کدکس کشور ترکیه در نوشیدنی‌ها، بنزوئیک اسید یا نمک‌های آن (بنزوات سدیم، پتاسیم و کلسیم) بعنوان نگهدارنده‌های شیمیایی (حداکثر ۲۰۰ mg/l) می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند در حالی‌که سوربیک اسید نباید مورد استفاده قرار گیرد (Erten and Tangüler, 2012; Anonymous, 2013).

در این تحقیق از روش مستقیم برای تولید نوشیدنی استفاده می‌شود. در روش مستقیم، تخمیر اول (تخمیر خمیرترش) انجام نمی شود (İncedayı, 2008).

- فرآیند تخمیر

فرآیند تخمیر در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول ابتدا مخمر (تعداد 10^{8} CFU/ml) را در شرایط استریل به ظرف محتوی نوشیدنی انتقال داده و فرصت داده شد تا به مدت ۷۲ ساعت در محیط تاریک و در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی‌گراد) تخمیر الکلی انجام شود. در مرحله دوم

[1] Potato Dextrose Agar

www.SID.ir

Archive of SID

پس از ۷۲ ساعت درب ظرف را باز کرده و تعداد 10^8 CFU/ml از باکتری‌ها که توسط اسپکتروفوتومتر اندازه گرفته شده است به ظرف منتقل داده شد. باکتری‌ها بر خلاف سلول مخمر به دمای بالاتری احتیاج داشته در نتیجه ظرف را در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده تا به مدت ۴۸-۲۴ ساعت تخمیر لاکتیکی انجام شود (Canbas and Fenercioğlu, 1984).

- شمارش باکتری‌های لاکتیکی

به این منظور از روش پورپلیت استفاده شد. از محیط‌کشت MRS جامد استریل استفاده گردید. تعداد کلنی‌های تشکیل یافته در هر میلی لیتر نمونه توسط رابطه ۱ محاسبه گردید (Vinderola and Reinheimer, 2000).

(رابطه ۱):

تعداد کلنی در هر میلی لیتر= (CFU/ml) تعداد کلنی × عکس فاکتور رقت

- اندازه‌گیری pH

از دستگاهpH متر به منظور اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران شماره ۴۴۰۴ استفاده گردید (بی‌نام، ۱۳۷۶).

- اندازه‌گیری میزان الکل

طبق روش ذکر شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۵ و رابطه ۲، میزان الکل (گرم در ۱۰۰ گرم) در نوشیدنی محاسبه گردید (بی نام، ۱۳۸۶).

(رابطه ۲):

میزان درصد الکل= ۰/۵ / [۱۰۰× ۰/۰۱۱۵۱۷ (میلی لیتر تیوسولفات ۰/۱ شاهد- میلی لیتر تیوسولفات ۰/۱ نرمال نمونه)]

- ارزیابی حسی محصول

در این مرحله ۲۵ میلی لیتر آزمونه که درجه حرارت آن حدود ۱۸ درجه سانتیگراد بود در اختیار ۱۰ نفر ارزیاب قرار گرفت تا نظرات خود را در فرم ارزیابی حسی ثبت نمایند. ویژگی‌های حسی نوشیدنی از قبیل طعم، رنگ، یو و پذیرش کلی بر اساس روش هدونیک ۵ امتیازی مورد ارزیابی قرار گرفت (Günes, 2008).

یافته‌ها

- شمارش باکتری‌های LAB

تعداد باکتری‌ها در زمان‌های ۲۴ ، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شدند. تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس فرمنتوم* در ۲۴ ساعت بعد از تخمیر روند افزایشی داشت ولی بیشترین تعداد بعد از ۴۸ ساعت وجود داشت و پس از ۷۲ ساعت، روند نزولی داشت. این روند کاهشی نیز برای *لاکتوباسیلوس پلانتارم* و *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* نیز وجود داشت و پس از ۴۸ ساعت، این تعداد افزایش پیدا کرد ولی پس از ۷۲ ساعت تخمیر تعداد باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتارم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی* نیز کاهش پیدا کرد (نمودار ۱).

- میزان pH

میزان pH نیز در سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اندازه‌گیری شد. pH نمونه شاهد در روز صفر برابر ۶/۱ شد. در روز اول مقدار pH در نمونه های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب برابر با ۵/۵ ، ۴/۸ و ۵/۲ شد. در روز دوم میزان pH روند نزولی بیشتری داشت و در نمونه‌های ۱ ، ۲ و ۳ به ترتیب به ۴/۵، ۴/۱ و ۴/۳ رسید. در آخرین روز همچنان روند کاهشی در pH وجود داشت ولی این روند نسبت به روز دوم کمتر بود بطوریکه میزان pH در نمونه های ۱، ۲ و ۳ به ترتیب برابر با ۴/۱، ۳/۸ و ۳/۹ رسید (نمودار۲).

- میزان الکل

میزان الکل این نوشیدنی در ۲۴ ساعت بعد از تخمیر در حدود ۰/۳ درصد بود ولی با افزایش زمان افزایش یافت و در ۴۸ ساعت به مقدار ۰/۸ ٪ وبعد از ۷۲ ساعت به ۱/۵ ٪ رسید (نمودار ۳).

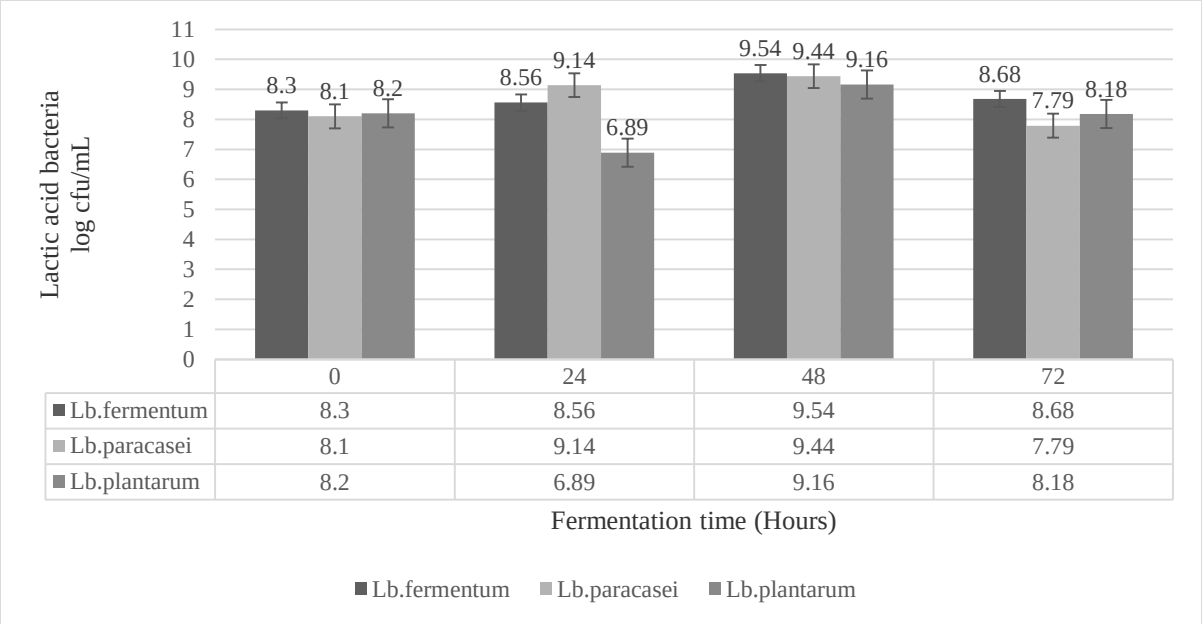
- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط ۱۰ پنلیست که تحت شرایط محیطی یکسانی قرار داشتند انجام شد. مقداری نان سفید و آب در اختیار پنلیست‌ها قرار گرفت تا از آن برای خنثی کردن مزه دهان در حین تست کردن نمونه ها اسفاده کنند. نمونه‌ها شماره‌گذاری شدند ولی به صورت رندوم در اختیار پنلیست‌ها قرار گرفتند. پنلیست‌ها هریک از آزمونه‌ها را به ترتیب از بیشترین مقبولیت به کمترین مقبولیت امتیازبندی

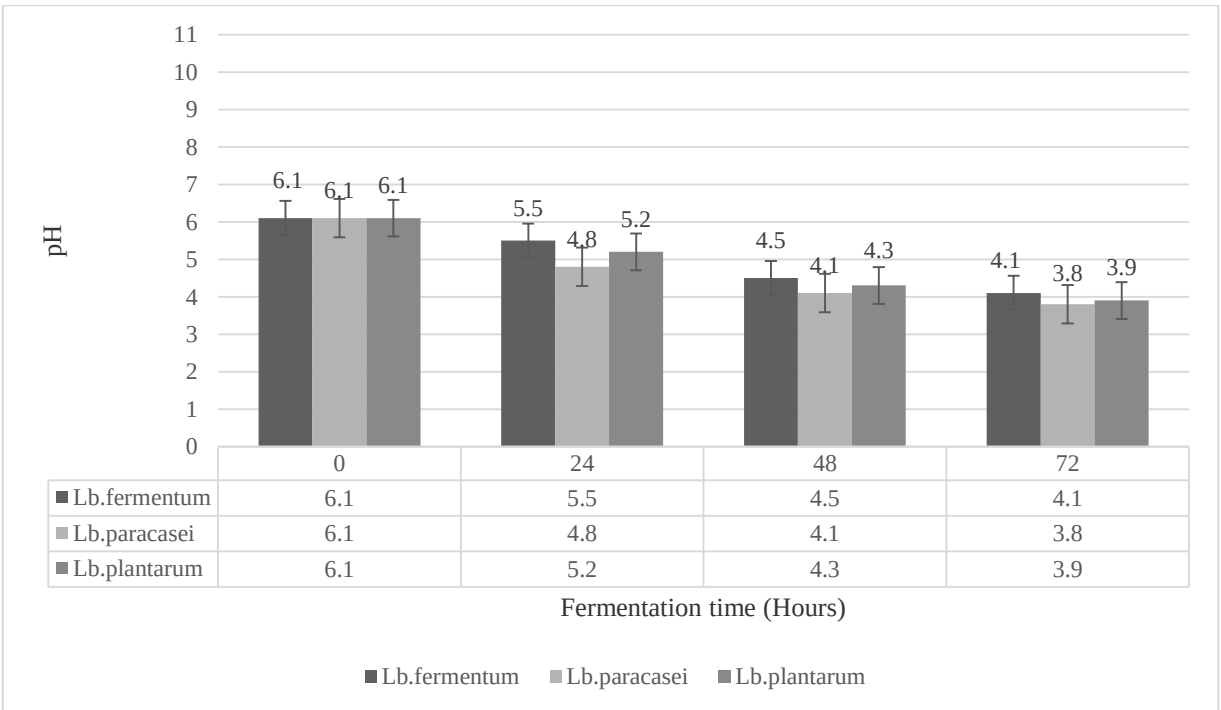
www.SID.ir

Archive of SID

کردند (Günes, 2008). نتایج در جدول ۱ (میانگین داده‌های ارزیابی حسی) ذکر شده است.



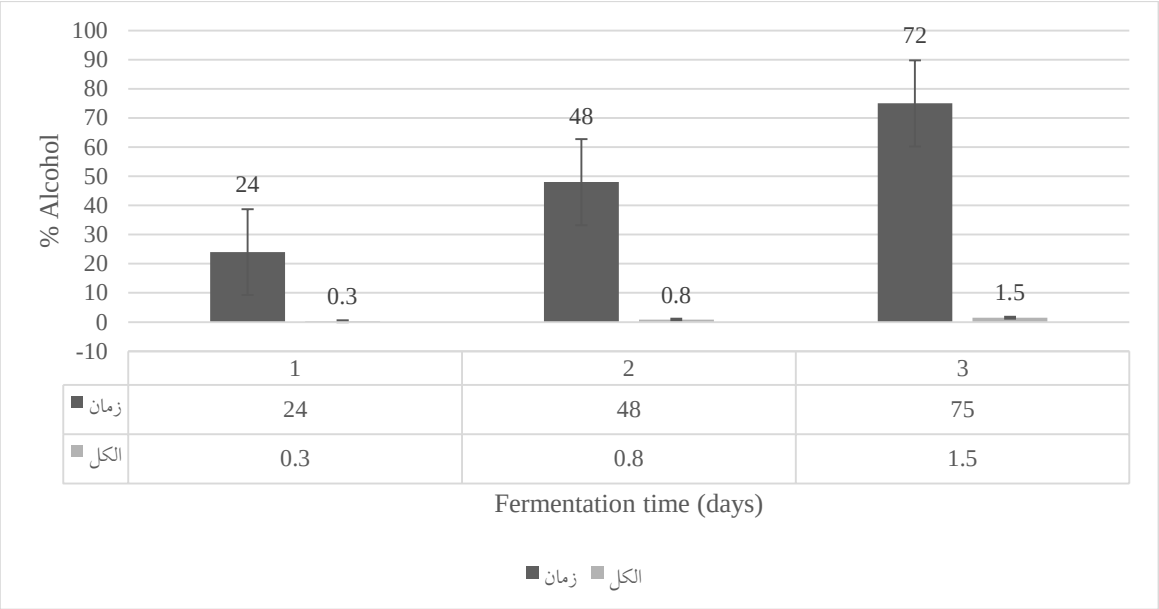
نمودار ۱- شمارش باکتری‌های *لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پلانتارم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نگهداری نوشیدنی تخمیری



نمودار ۲- مقایسه تغییرات pH در حضور باکتری‌های *لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پلانتارم و لاکتوباسیلوس پاراکازئی* در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نگهداری

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۳- اندازه‌گیری میزان الکل تولید شده در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نگهداری

جدول ۱- میانگین داده های ارزیابی حسی

شاخص	طعم	رنگ	بو	پذیرش کلی
نمونه نوشیدنی	۳/۵	۴/۶	۲/۹	۳/۸

بحث

- شمارش باکتری های LAB

هدف از انجام این پژوهش، افزایش مدت زمان بقاء باکتریهای لاکتیک بود. همانطور که مشخص شد تعداد سلول‌های مورد نظر تابعی از زمان نگهداری بود. در تمام فرآورده‌های پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از فرآورده در لحظه مصرف از ارزش اساسی فرآورده‌های پروبیوتیک به شمار می آید. از این‌رو شاخص یاد شده تعیین‌کننده کارایی سلامت‌بخش این محصولات است بنابراین تعداد پروبیوتیک‌ها در فرآورده باید به اندازه کافی زیاد باشد تا پس از مصرف با توجه به نوع فرآورده تعداد استاندارد سلول زنده پروبیوتیک به محیط روده راه یابد. تعداد باکتری‌های زنده موردنیاز در زمان مصرف برای اثربخش بودن غذا بر سلامتی فرد مصرف‌کننده باید حداقل 10^6 cfu/ml باشد (Sheehan *et al.*, 2007). بنابراین نوشیدنی Shalgam حاوی گونه‌های لاکتوباسیلوس نیز جزء محصولات پروبیوتیک به‌شمار می‌آید.

نمک در طی تخمیر، مانع فساد و رشد باکتری‌های پاتوژنیک، بسته به غلظتش می شود. بنابراین شرایط را مطلوب رشد باکتری‌های اسید لاکتیک می کند (Erten *et al.*, 2008).

Günes (۲۰۰۸) اثرات اضافه کردن درصدهای مختلف هویج سیاه در ویژگی‌های نوشیدنی Shalgam پرداختند. شمارش باکتری لاکتیک اسید بین ۷/۸۲ تا ۷/۹۵ log cfu/mL در نوشیدنی در شروع تخمیر بود و در پایان تخمیر میزان باکتری‌های لاکتیک اسید بین log cfu/mL ۸/۹۵ (در نمونه حاوی ۲۰ ٪ هویج) و ۷/۶۰log cfu/mL (در نمونه حاوی ۱۵ ٪ هویج) بود که بیانگر افزایش باکتری لاکتیک اسید در طی تخمیر بود و با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

Yaldırak (۲۰۱۱) بیان نمودند که میزان باکتری‌های لاکتیک اسید در روز اول تخمیر نوشیدنی Shalgam تخمیر شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، از log cfu/mL ۱۰/۰۶ به log cfu/mL ۱۱/۷۸ در اخرین روز تخمیر رسید و همچنین میزان باکتری‌های لاکتیک اسید در روز اول تخمیر نوشیدنی Shalgam تخمیر شده در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، از log cfu/mL ۱۰/۰۶ به log cfu/mL ۱۱/۱۴ در اخرین روز تخمیر رسید که با نتایج تحقیق حاضر که بیانگر افزایش میزان باکتری‌های

www.SID.ir

Archive of SID

لاکتیک اسید در طی تخمیر بود، مشابهت داشت.

Tanguler و Erten (۲۰۱۲) رشد باکتری لاکتیک اسید در طی تخمیر در نوشیدنی تخمیری Shalgam تولیدی به روش سنتی را بررسی نمودند. میزان رشد باکتری لاکتیک اسید در طی تخمیر افزایش یافت. *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* عمده ترین میزان رشد در اولین و دومین مرحله تخمیر را داشت. *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* همچنین جایگاه مهمی در مراحل تخمیر داشت. *لاکتوباسیلوس برویس و لاکتوباسیلوس فرمنتوم* نیز در طی تخمیر رشد داشتند. با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

Erginkaya و Ünal Turhan (۲۰۱۶) در طی بررسی‌های خود بیان نمودند که باکتری های لاکتیک اسید و مخمرها در طی تخمیر افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش در اولین مرحله تخمیر، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و دومین مرحله تخمیر *ساکارومایسس سرویزیه* گزارش دادند.

Ekinci و همکاران (۲۰۱۶) شمارش باکتری‌های اسیدلاکتیک را در نمونه نوشیدنی Shalgam بررسی نموده و گزارش نمودند که میزان باکتری لاکتیک اسید (بخصوص گونه‌های لاکتوباسیلوس) ۴/۰۹ log cfu/mL بودند.

- میزان pH

میزان pH در نمونه های نوشیدنی Shalgam پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تخمیر اندازه گیری شد و روند کاهشی میزان pH مشاهده گردید.

Özler و Kılıç (۱۹۹۶) نوشیدنی Shalgam با ترکیبات متفاوت از شلغم، چغندر قرمز، هویج سیاه، مخمرنانوایی، ارد بلغور، خمیر ترش (Shalgam تولیدی به روش کلاسیک) و استارتر کالچر (مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس، ۳٪) را تولید کردند. بعد از ۶ ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد، pH بین ۳/۳۴ و ۳/۳۷ بودند. پایین ترین pH متعلق به تیمارهای حاوی شلغم، هویج سیاه (تهیه شده به روش های مرسوم) و شلغم+ هویج سیاه+ چغندرقرمز (حاوی استارتر کالچر و مخمر) بود.

Ekinci و همکاران (۲۰۱۶) میزان pH را در نمونه نوشیدنی Shalgam بررسی نموده و گزارش نمودند که میزان pH ۳/۴۳ بوده که مطابق استاندارد و حد مجاز بودند.

Toktaş (۲۰۱۶) نوشیدنی Shalgam در ازمایشگاه به روش مستقیم تهیه گردید و نمونه های نوشیدنی را برای یک ماه نگهداری کرده و سپس به سوپرمارکت ها در جاهای مختلف شهر استانبول برای فروش فرستادند. انالیز نمونه های جمع اوری شده روز اول، روز دوازدهم و روز بیست و چهارم تخمیر با سه نمونه نوشیدنی Shalgam تجاری، عصاره هویج سیاه و بلغور گندم انجام شد. نتایج نشان داد میزان pH نوشیدنی بطور مداوم در طی تخمیر لاکتیکی کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

- میزان الکل

روند افزایشی میزان الکل به دلیل افزایش متابولیسم باکتری‌ها است. البته تعداد باکتری‌ها روند کاهشی نشان داد که این نشان می‌دهد مقدار الکل بعد از ۷۲ ساعت نباید روند افزایشی بالاتری را نشان دهد.

Özler و Kılıç (۱۹۹۶) نوشیدنی Shalgam با ترکیبات متفاوت از شلغم، چغندر قرمز، هویج سیاه، مخمرنانوایی، آرد بلغور، خمیر ترش (Shalgam تولیدی به روش کلاسیک) و استارتر کالچر (مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس برویس، ۳ ٪) را تولید کردند. بعد از ۶ ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد، مقدار الکل ۰/۴۰- ۰/۰۵ درصد بودند که نشان دهنده روند افزایش میزان الکل بود که با نتایج تحقیق حاضر مشابهت داشت.

- ارزیابی حسی

در محصول Shalgam ، لاکتیک اسید بیشترین مقدار را دارد. لاکتیک اسید در Shalgam تولید شده و به طعم و مزه کمک می‌کند. استیک اسید بوجود امده بوسیله مخمرها و باکتری لاکتیک اسید هتروفرمنتاتیو، اسیدهای فرار اصلی را فراهم می‌کنند. ۴۴ ترکیبات معطر فرار در نوشیدنی Shalgam شناسایی شده است. آن‌ها شامل اسیدهای فرار، فنلهای فرار، ترکیبات کربونیل، استرها، بیشتر الکل‌ها، نوریزوپیرونویدزها[1]، ترپنول‌ها[2] و لاکتون‌ها هستند و مسئول ایجاد طعم و مزه در نوشیدنی Shalgam می‌باشند (Erten

[1] Norisoprenoids [2] Terpenols

www.SID.ir

Archive of SID

and Tangüler, 2012). مخمر ساکارومایسس و مخمرهای دیگر و قارچ‌ها در نوشیدنی Shalgam در محیط وجود داشته و جزء مواد اولیه این نوشیدنی می‌باشد (Tangüler, 2010). مخمرها نقش مهمی در ویژگی‌های شیمیایی و حسی نوشیدنی Shalgam ایفا می‌کنند (Erten and Tangüler, 2012).

Günes (۲۰۰۸) اثرات اضافه کردن درصدهای مختلف هویج سیاه در ویژگی های نوشیدنی Shalgam پرداختند و نتایج ارزیابی حسی نشان داد که نمونه حاوی ۱۷/۵ ٪ هویج امتیاز بالاتری را کسب نمود.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان چنین گفت که هر سه باکتری به همراه مخمر ساکارومایسس موفق به تخمیر و تولید این نوشیدنی پروبیوتیکی شدند ولی میزان تخمیر، الکل و تعداد باکتری های در هریک از این سه گونه با یکدیگر متفاوت بود. در این میان، میزان پذیرش و الکل *لاکتوباسیلوس پاراکازئی* بالاتر بود و باعث شد که نسبت به دو باکتری برتری پیدا کند.

منابع

اشرفی، ف. (۱۳۸۵). میکروب شناسی عملی. انتشارات احسن. چاپ اول.

بی‌نام. (۱۳۷۶). اندازه گیری pH در فرآورده های میوه و سبزی، استاندارد ملی ایران شماره ۴۴۰۴.

بی‌نام. (۱۳۸۶). روش‌های آزمون آبمیوه جات، استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵.

Alasalvar, C., Al-Farsi, M., Quantick, P.C., Shahidi, F. & Wiktorowicz, R. (2005). Effect of chill storage and MAP on antioxidant activity, anthocyanins, carotenoids, phenolics and sensory quality of ready-to-eat shredded orange and purple carrots. Food Chemistry, 89, 69-76.

Anon. (1994). Ministry of Social Affairs and Health, Finland. THE ALCOHOL ACT. No. 1143/1994.

Anon. (2013). Turkish Food Codex Regulation on Food Additives; Published Official Newspaper Date: 30.06.2013, Official Newspaper Number: 28693; Republic of Turkey Ministry of Food, Agriculture and Livestock: Ankara, Turkey. Available online:http://www. resmigazete. gov. tr/eskiler/2013/06/ 20130630-4.htm (accessed on 10 April 2017).

Bathala, V. S. K., Sreedharamurthy, M., Sarathi, V. & Obulam, R. (2015). Probiotication of mango and sapota juices using Lactobacillus plantarum NCDC LP 20, Nutrafoods, 14, 97-106

Canbaş, A. & Fenercioğlu, H. A. (1984) b. Research on Shalgam juice. Gida, 95, 279–286.

Chojnacka, K. (2010). Fermentation products. Chemical Engineering and Chemical Process Technology, 5.

Coskun, F. (2017). A Traditional Turkish Fermented Non-Alcoholic Beverage, "Shalgam". Beverages, 4(49), doi:10.3390/beverages3040049.

Ekinci, F.Y., Baser, G.M., Özcan, E., Üstündağ, Ö.G., Korachi, M., Sofu, A., Blumberg, J. B. & Oliver Chen, C.Y. (2016). Characterization of chemical, biological, and antiproliferative properties of fermented black carrot juice, Shalgam. European Food Research and Technology, 242, 1355–1368.

Erginkaya, Z. & Ünal Turhan, E. (2016). Enumeration and identification of dominant microflora during the fermentation of Shalgam. Akademik Gıda, 14(2), 92–97.

Erten, H. & Tangüler, H. (2012). Shalgam (Şalgam). In Handbook of Plant Based Fermented Foods and Beverages, 2nd ed. Hui, Y.H., Evranuz, Ö.E., Eds.; CRC Press Taylor & Francis Group: Boca Raton, FL, USA, pp. 657– 664.

Erten, H., & Tanguler, H. & Canbas, A. (2008). A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: Shalgam (salgam). Food Reviews International, 24(3), 352-359.

Erten, H. & Tangüler, H. (2012). Shalgam (Şalgam). In Handbook of Plant Based Fermented Foods and Beverages, 2nd ed.; Hui, Y.H., Evranuz, Ö.E., Eds.; CRC Press Taylor

www.SID.ir

Archive of SID

& Francis Group: Boca Raton, FL, USA, pp. 657– 664.

Espinoza, Y. R. & Navarro, Y. G. (2010). Non-dairy probiotic products. Journal of Food Microbiology, 27, 1-11.

FAO/WHO. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Cordoba, Argentina: Food and Agriculture Organization of the United Nation and Word Health Organization Expert Consultation Report.

Güneş, G. A. (2008). Study Determination of the Most Suitable Quantityof Black Carrot (*Daucus Carota*) for theProduction of Shalgam (Salgam). Master's Thesis, Cukurova University, Adana, Turkey.

Harrigan, W. F. & McCance, M. E. (1990). Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, 8th edition. Academic Press, London, p. 452.

İncedayı, B., Uylaşer, V. & Çopur, U. A. (2008). A Traditional Turkish beverage Shalgam: Manufacturing technique and nutritional value. Journal of Food, Agriculture and Environment, 6, 31–34.

Karovicova, J. & Kohajdova, Z. (2003). Lactic acid fermented vegetable juices. HORT. SCI. (PRAGUE), 30(4), 152–158.

Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi S. H., Emamd jomesh, Z. & Kiani, H. (2011). Fermentation of Pomegranate juice By Probiotic Lactic acid Bacteria. World journal Biotechnology, 27, 123-128.

Özler, N. & Kılıç, O. (1996). Researchs on the production of fermented turnip juices. Gida, 21, 323–330.

Öztürk, O. A. (2009). Research on the Composition of Shalgam Beverages Obtained from Adana Area. Master's Thesis, Cukurova University, Adana, Turkey.

Sheehan, V. M., Ross, P. & Fitzgeraid, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit Juices. Innovation Food Science Emery Technology, 8, 279-284.

Tangüler, H. (2010). Identification of Predominant Lactic Acid Bacteria Isolated from Shalgam Beverage and Improvement of Its Production Technique. Ph.D. Thesis, Cukurova University, Adana, Turkey.

Tanguler, H. & Erten, H. (2012). Occurrence and growth of lactic acid bacteria species during the fermentation of Shalgam (salgam), a traditional Turkish fermented beverage. Food Sci. Technol, 46, 36–41, doi:10.1016/j.lwt.2011.10.026.

Toktaş, B. (2016). Effect of Fermentation on Phenolic Content, Anthocyanin Stability, Antioxidant Capacity and In Vitro Bioaccessibility during Shalgam (Şalgam) Beverage Production. Master's Thesis, Istanbul Technical University, Istanbul, Turkey.

Vinderola, C. G. & Reinheimer, J. A. (2000). Enumeration Lactobacillus Casei in The Presence of Lactobacillus Acidophilus, B ifidobacteria and Lactic Starter Bacteria in Fermented Dairy Products. International Dairy Journal, 10 (4), 271-275.

Yaldırak, G. (2011). Effects of Different Fermentation Temperature on the Formation of Biogenic Amines in Shalgam Produced by Natural Fermentation. Master's Thesis, Sakarya University, Sakarya, Turkey.

www.SID.ir

Archive of SID

Production of Probiotic Fermented Beverage from Turnip (*Brassica rapa*) and Purple Carrots (*Daucus carota*) Using *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus paracasei* and *Saccharomyces cerevisiae*

M. Ghaempanah[a], M. Hashemirovan[b], A. Sharifan[c*]

[a] M. Sc. of Food Science and Technology, Faculty of Science and Engineering, Food Industry, Research Branch of Tehran, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[b] Assistant Professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Pishva-Varamin Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[c] Associate Professor of the Department of Food Science and Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 25 August 2018 Accepted: 31 December 2018

Abstract

Introduction: Natural beverages from vegetable origin are one of the most important and consuming products that have been widely introduced in the food program in recent years. Violet carrots can be used as a valuable source for the production of complementary foods because of the presence of phenolic compounds (antioxidants), vitamin C, carotene and other nutrients. On the other hand, turnip can also be an unexpensive and valuable source of fiber, vitamin and important minerals such as potassium. Beverages are one of the most important and widely consumed products that have been widely introduced in the diet in recent years.

Materials and Methods: In this study, 3 species of lactic acid bacteria (*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus plantarum*) were used to produce probiotic beverages. Chemical, qualitative and sensory tests were performed in 3 replications. Fermented beverage with the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) without bacteria was used as a control sample. pH, alcohol and number of bacteria after 24, 48 and 72 fermentation were investigated. Sensory evaluation was also carried out to evaluate the acceptance of this drink by 10 pints.

Results: The results showed that *lactobacillus paracasei* (7.79 log cfu/ml bacteria 72 h after of fermentation) had a higher acceptance than other bacteria. The value of pH was 3.8 and the amount of alcohol produced in the sample containing this bacterium was lower.

Conclusion: According to the total results, the sample containing *Lactobacillus paracasei* has the best quality among the other treatments.

Keywords: *Fermented Drink, Functional, Lactic Acid Bacteria, Probiotics.*

* Corresponding Author: a_sharifan2000@yahoo.com

www.SID.ir