فصلنامه میکروبیولوژی کاربردی در صنایع غذایی (دوره۳-شماره ۲)............................... صفحات ۵۷ تا ۷۲

اثر افزودن گزیلوالیگوساکارید بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آب‌زرشک

رضوان دهقان نیری[1]، **محمد دانشی***[1]، سید علی یاسینی اردکانی[1]

[1] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد یزد، دانشگاه آزاد اسلامی، یزد، ایران

چکیده

امروزه به دلیل پرطرفدار شدن رژیم‌های گیاه‌خواری، عارضه عدم تحمل لاکتوز و وجود کلسترول در فرآورده‌های لبنی، تقاضا برای فرآورده‌های غیر لبنی پروبیوتیک افزایش‌یافته است. در این مطالعه اثر تخمیر و نگهداری یخچالی همراه با افزودن گزیلوالیگوساکارید (XOS)، بر روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در آب‌زرشک بررسی شد. ابتدا گزیلوالیگوساکارید با سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد و باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (با تعداد هر یک حداقل $۱۰^۸$ cfu/ml) به آب‌زرشک اضافه شد. ویژگی‌های شیمیایی و میکروبی نمونه‌ها شامل pH، اسیدیته، مقدار کل قندهای احیاء کننده و قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها بلافاصله پس از تلقیح، روزهای اول و دوم تخمیر و طی ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل نشان داد اثر نوع تیمار و زمان نگهداری بر ویژگی‌های شیمیایی و قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$). سویه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* توانست شرایط اسیدی آب‌زرشک را بهتر تحمل نموده وزنده‌مانی بیشتری را در آن نشان دهد و افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید تأثیری در بهبود زنده‌مانی آن نداشت هرچند سبب افزایش زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* گردید. نتایج تحقیق نشان داد که قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها به‌ویژه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در آب‌زرشک به‌شدت کاهش می‌یابد اما افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک مانند گزیلوالیگوساکارید می‌تواند زنده‌مانی باکتری اخیر را بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: آب‌زرشک پروبیوتیک، زنده‌مانی، گزیلوالیگوساکارید.

---

* mdaneshi@iauyazd.ac.ir

مقدمه

در طی دو دهه گذشته دانش انسان از تأثیر رژیم غذایی بر سلامتی و درمان بیماری‌ها به‌شدت افزایش‌یافته و مطالعات علمی گوناگونی برای یافتن تأثیر و اهمیت غذا و مواد مغذی بر عملکردهای ویژه در بدن انجام گرفته است. تحقیقات نشان می‌دهند مواد غذایی نه‌تنها رفع گرسنگی و تأمین مواد مغذی لازم برای انسان را به عهده‌دارند بلکه موجب جلوگیری از بیماری‌های مربوط به تغذیه، بهبود فیزیکی، جسمی و ذهنی مصرف‌کنندگان هم می‌شوند. در این راستا افزایش دانش مصرف‌کنندگان از یک‌طرف و نیز افزایش هزینه بهداشت و درمان، افزایش ثابت و پایای امید به زندگی و تمایل افراد سالمند در جهت بهبود کیفیت زندگی خود از طرف دیگر موجب شده که به رژیم‌های غذایی سالم که به محافظت در برابر بیماری‌ها کمک می‌کند توجه زیادی شده و تولیدکنندگان به سمت تولید غذاهای فراسودمند[1] با عملکرد ویژه به نام غذاهای عملکردی سوق داده شوند. بنا به دلایل ذکرشده می‌توان به این نتیجه رسید که انجام مطالعه و توسعه غذاهای فراسودمند از اهمیت بالایی برخوردار است (۱). اکثر محصولات فراسودمند در دسترس بر پایه لبنیات می‌باشند درحالی‌که امروزه به دلیل برخی مشکلات محصولات لبنی نظیر آلرژی، عدم تحمل لاکتوز، مقدار کلسترول بالای آن‌ها و نیز افزایش روند گیاه‌خواری در کشورهای پیشرفته، میوه و سبزی یک گزینه مناسب‌تر و سالم‌تر برای گسترش غذاهای پروبیوتیک غیر لبنی به‌حساب می‌آیند. غذاهای پروبیوتیک حاوی میکرب‌های زنده‌ای هستند که سبب بهبود تعادل فلور میکربی روده می‌شوند. مهم‌ترین اثرات مفید پروبیوتیک‌ها شامل اثر سلامت بخش‌بر عفونت‌های دستگاه گوارش، کاهش کلسترول سرم، بهبود متابولیسم لاکتوز، بهبود سیستم ایمنی، ویژگی‌های ضد سرطانی، ضد جهش‌زایی و ضد اسهالی، بهبود التهاب روده و توقف *هلیکوباکترپیلوری*[2] است. آب‌میوه زرشک حاوی مقدار زیادی آنتوسیانین، ویتامین C و اسیدهای آلی است. این میوه اثرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی دارد و در داروهای سنتی برای بهبود کار کبد و کلیه و تخفیف درد به کار می‌رود بنابراین، با توجه به خواص سلامت بخش فراوان موجود در آن، این میوه پتانسیل استفاده به‌عنوان غذای فراسودمند ازجمله تولید نوشیدنی پروبیوتیک را دارد (۲). پری‌بیوتیک‌ها طبق تعریف رسمی در سال ۱۹۹۵ به کربوهیدارت های غیرقابل‌هضمی اطلاق می‌شوند که به‌طور انتخابی سبب تحریک رشد و فعالیت تعدادی از باکتری‌های روده شده و بدین‌وسیله اثرات سودمندی روی میزبان اعمال می‌کنند. پری‌بیوتیک‌ها مواد غذایی هستند که نسبت به هضم در قسمت فوقانی دستگاه معدی روده‌ای مقاوم بوده و به‌صورت دست‌نخورده به ناحیه تحتانی روده می‌رسند، در آنجا با اثر فیزیولوژیکی مستقیمی که دارند، همچنین به‌وسیله تحریک اختصاصی رشد و فعالیت ترکیبات پروبیوتیک میکروفلور دستگاه معدی روده‌ای ازجمله *بیفیدوباکتریوم*، اکوسیستم دستگاه معدی روده‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهند؛ بنابراین دارای اثرات مفید بر روی سلامتی میزبان هستند (۳). گزیلوالیگوساکارید[3] زنجیره‌هایی از مولکول های زایلوز هستند که با پیوند ۴-۱ به هم متصل شده‌اند و درجه پلیمریزاسیون آن‌ها گستره‌ای از ۲ تا ۴ است. این ترکیبات به‌طور طبیعی در میوه، سبزیجات، گیاهان بامبو[4]، عسل و شیر یافت می‌شوند و به‌طور صنعتی از ترکیبات غنی از گزیلان تولید می‌شوند. این ترکیبات دارای خواص ارگانولپتیک مناسب جهت ترکیب شدن در غذاها بوده و پایداری خوبی در شرایط اسیدی و حرارت دارند. آنتی‌باکتریال، آنتی‌اکسیدان، آنتی‌آلرژیک، جاذب‌الرطوبه بودن نیز از دیگر خواص این ترکیبات است (۴).

هدف از این تحقیق ارزیابی میزان تأثیر پری‌بیوتیک گزیلوالیگوساکارید بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*[5] و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*[6] در طی

---

[1] Functional Foods

[2] Helicobacter pylori

[3] Xylooligosaccharid

[4] Bamboo

[5] *Lactobacilus rhamnosus*

[6] *Bifidobacterium lactis*

دو روز تخمیر و همچنین ۲۱ روز نگهداری آب‌زرشک پروبیوتیک در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و مقایسه آن‌ها با یکدیگر است.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی نمونه‌ها

ابتدا آب‌میوه غلیظ شده زرشک (کشت و صنعت خوشه سرخ شرق، ایران) زرشک با آب تا رسیدن به مواد جامد محلول (بریکس[1]) ۱۰ درصد رقیق شد و در بطری شیشه‌ای درب دار مقاوم به حرارت با حجم ۱۰۰ml پر و در دمای ۹۵ °C به مدت ۱۰min پاستوریزه گردیدند. سپس نمونه‌ها بلافاصله تا دمای ۴ °C سرد شده و به دو گروه چهارتایی تقسیم شدند. در هر گروه، به بطری‌ها ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد گزیلواولیگوساکارید (Longlive Bio-Technology Co. China) به همراه هر دو سوش پروبیوتیک تهیه‌شده از شرکت تک ژن (ایران) شامل *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* (IBRC-N10783) و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (N0311) اضافه شد به طوری که تعداد هر یک از باکتری‌های مذکور در آب‌زرشک در هنگام تلقیح، حدود 10^8cfu/ml بود. گروه اول به مدت ۴۸h در دمای ۳۷°C گرمخانه گذاری شدند و گروه دیگر بلافاصله به یخچال با دمای ۱ ± ۴ °C منتقل گردیده و در طی مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفتند. (۵).

شمارش سلول‌های پروبیوتیک

سلول‌های زنده باکتری‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با استفاده از محیط کشت MRS آگار (مرک، آلمان) به‌صورت انتخابی شمارش شد. گرمخانه گذاری در ۳۷°C به مدت ۷۲h در شرایط بی‌هوازی انجام گرفت (۶) جهت شمارش بهتر *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از ۰/۰۵ درصد سیستئین هیدروکلرید به‌عنوان احیاء کننده محیط استفاده شد (۷).

اندازه‌گیری اسیدیته

برای آب‌میوه‌هایی مانند آب‌زرشک که رنگ آن‌ها مانع تشخیص نقطه پایانی تیتراسیون با سود است از روش پتانسیومتری استفاده می‌شود. ابتدا دستگاه pH متر (Metrohm,Swiss) با محلول بافر با pH های برابر ۷ و ۴ کالیبره شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر تازه جوشیده و سرد شده درون یک بشر ریخته و ۲۰ گرم آب‌زرشک به آن اضافه شد. تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH=۸/۲ انجام گرفت. حجم هیدروکسید سدیم مصرفی یادداشت و مقدار اسیدیته مطابق فرمول زیر برحسب اسیدمالیک بیان گردید.

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

در این فرمول V حجم سود مصرفی، m وزن نمونه مورداستفاده برحسب گرم و A اسیدیته کل برحسب گرم اسید مالیک در هر ۱۰۰ گرم آب‌میوه است (۸).

اندازه‌گیری میزان کل قندهای احیاء کننده

اندازه‌گیری قندهای احیاء کننده با استفاده از محلول‌های فهلینگ A و B مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۵ انجام شد. (۹).

اندازه‌گیری pH

مقدار pH نمونه‌ها مطابق با روش ذکرشده در استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۵ انجام شد.(۹)

تجزیه‌وتحلیل آماری

تمام آزمون‌ها با سه تکرار انجام شد و داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SPSS version 18 (SPSS,Chicago) و به‌وسیله آنالیز واریانس یک‌طرفه (One way ANOVA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن ($p< 0/05$) استفاده گردید.

---

[1] Brix

نتایج

تغییرات قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های آب‌زرشک

بعد از ۲ روز تخمیر در دمای ۳۷°C

جدول شماره ۱ قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را در مقادیر متفاوت گزیلوالیگوساکارید در طی ۲ روز تخمیر نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نوع تیمار (وجود باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)، غلظت گزیلوالیگوساکارید و اثر متقابل این دو عامل بر تعداد سلول‌های زنده باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* تأثیر معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵) که این موضوع نشان داد روند افزایشی تعداد سلول‌های زنده به غلظت گزیلوالیگوساکارید، نوع پروبیوتیک موردبررسی و نیز برهمکنش این دو عامل بستگی دارد. سرعت تغییرات تعداد سلول‌های زنده هر تیمار با سایر تیمارها متفاوت است. همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود تعداد سلول‌های زنده در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بعد از ۲ روز تخمیر با ۳ سیکل لگاریتمی کاهش به ۵/۳۶ log cfu/ml رسید که ازنظر آماری این کاهش معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). این در حالی است که تعداد این باکتری در نمونه‌های حاوی ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید با ۳ سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به ۵/۷۳ log cfu/ml، ۵/۹۳ و ۵/۶۳ رسید که در سطح اطمینان ۹۵ درصد با افزایش میزان قند گزیلوالیگوساکارید تفاوت معنی‌داری در میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مشاهده نشد. در مورد سویه بومی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* تعداد سلول‌های زنده بعد از ۲ روز تخمیر در دمای ۳۷°C با ۵ سیکل لگاریتمی کاهش به log ۳/۱۰cfu/ml رسید. این کاهش ازنظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). نمونه‌های حاوی این باکتری و غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید به ترتیب با ۴، ۴ و ۵ سیکل لگاریتمی کاهش به log cfu/ml ۳/۸۸، ۴/۱۳ و ۴/۶۵ رسید که این افزایش زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در اثر افزایش میزان غلظت گزیلوالیگوساکارید ازنظر آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). هرچند این باکتری در مقایسه با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* پایداری کمتری در این آب‌میوه داشت اما اثر گزیلوالیگوساکارید بر زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* معنی‌دار بود.

بعد از ۲۱ روز نگهداری در دمای یخچال (٤°C)

جدول شماره ۲ قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را با مقادیر متفاوت گزیلوالیگوساکارید طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴°C نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که نوع تیمار (وجود باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*)، غلظت گزیلوالیگوساکارید و اثر متقابل این دو عامل بر تعداد سلول‌های زنده باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* تأثیر معنی‌داری دارد (p<۰/۰۵) که این موضوع نشان‌دهنده‌ی آن است که روند افزایشی تعداد سلول‌های زنده به غلظت گزیلوالیگوساکارید، نوع پروبیوتیک موردبررسی و نیز برهمکنش این دو عامل بستگی دارد. همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود تعداد سلول‌های زنده در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بعد از ۱۴ روز نگهداری یخچالی با ۵ سیکل لگاریتمی کاهش به ۳/۱۰ log cfu/ml رسید که ازنظر آماری این کاهش معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). نمونه‌های حاوی این باکتری و ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید با ۵ سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به ۳/۰۲، ۳/۱۵ و log ۳/۱۵ cfu/ml رسیدند که در سطح اطمینان ۹۵ درصد با افزایش میزان گزیلوالیگوساکارید تفاوت معنی‌داری در میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* مشاهده نشد. این در حالی بود–

جدول ۱. تغییرات قابلیت زیستی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های آب‌زرشک بعد از ۲ روز تخمیر

تیمار	قابلیت زیستی (log cfu/ml)		
	بلافاصله بعد از تلقیح	روز اول تخمیر	روز دوم تخمیر
L	۸/۰۲ ±۰/۰۳۱ ^{aA}	۷/۰۶ ±۰/۰۱۷ ^{aB}	۵/۳۶ ± ۰/۰۳۰ ^{aC}
LX_1	۸/۰۲ ±۰/۰۲۰ ^{aA}	۷/۲۸ ± ۰/۱۶۰ ^{bB}	۵/۷۳ ± ۰/۰۶۹ ^{bC}
LX_2	۸/۰۰ ±۰/۰۱۰ ^{aA}	۷/۳۱ ± ۰/۰۳۶ ^{cB}	۵/۹۳ ± ۰/۰۲۸ ^{cC}
LX_3	۸/۰۰ ±۰/۰۲۳ ^{aA}	۷/۳۸ ± ۰/۰۲۶ ^{dB}	۵/۶۳ ± ۰/۰۲۵ ^{dC}
B	۸/۰۲ ±۰/۲۰۰ ^{aA}	۶/۱۰ ± ۰/۰۸۷ ^{aB}	۳/۱۰ ± ۰/۰۳۰ ^{aC}
BX_1	۸/۰۲ ± ۰/۰۶۰ ^{aA}	۶/۹۱ ± ۰/۰۶۵ ^{bB}	۳/۸۸ ± ۰/۰۳۰ ^{aC}
BX_2	۸/۰۳ ± ۰/۰۱۰ ^{aA}	۷/۰۸ ± ۰/۰۷۲ ^{cB}	۴/۱۳ ± ۰/۰۳۰ ^{aC}
BX_3	۸/۰۰ ± ۰/۰۱۷ ^{aA}	۷/۷۲ ± ۰/۰۷۵ ^{dB}	۴/۶۵ ± ۰/۰۳ ^{aC}

L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx_1: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_2: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید، Lx_3: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx_1: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_2: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید

Bx_3: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

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

که در تمام نمونه‌ها، باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بعد از ۳ هفته نگهداری یخچالی به‌طور کامل از بین رفت. در مورد سویه بومی *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* تعداد سلول‌های زنده بعد از ۷ روز نگهداری یخچالی در دمای ۴°C با ۴ سیکل لگاریتمی کاهش به ۴/۰۳ log cfu/ml رسید.

این کاهش ازنظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$). نمونه‌های حاوی این باکتری و غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید در روز ۷ با ۴،۴،۳ سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به ۴/۴۸ log cfu/ml، ۴/۹۳ و ۵/۰۵ و بعد از ۱۴ روز نگهداری یخچالی با ۶،۶،۵ سیکل لگاریتمی کاهش به ترتیب به ۲/۰۱، ۲/۹۰ و ۳/۷۰ رسیدند؛ که این افزایش زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در اثر افزایش میزان غلظت گزیلوالیگوساکارید ازنظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$) هرچند قابلیت زنده‌مانی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در مقایسه با *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بسیار کمتر بوده و در هفته دوم کاملاً از بین رفت. باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در تمام تیمارهای حاوی گزیلوالیگوساکارید نیز پس از ۳ هفته نگهداری کاملاً از بین رفتند. تنها یک هفته نگهداری در مورد باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* توانست میزان باکتری را در حداقل مقدار پذیرفته‌شده (10^6 cfu/ml) جهت تولید محصول فراسودمند نگه دارد.

جدول ۲. تغییرات قابلیت زیستی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در نمونه‌های آب‌زرشک طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی

تیمار	قابلیت زیستی (log cfu/ml)			
	بلافاصله بعد از تلقیح	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم
L	۸/۰۲± ۰/۰۲^{aA}	۶/۱۱ ±۰/۰۱^{aB}	۳/۱۰ ±۰/۰۷۵^{aC}	۰/۰۰
LX_1	۸/۰۲ ±۰/۰۲^{aA}	۶/۱۷ ±۰/۰۷^{bB}	۳/۰۲ ±۰/۰۴^{bC}	۰/۰۰
LX_2	۸/۰۲ ±۰/۰۱^{aA}	۶/۱۹ ±۰/۱۸^{cB}	۳/۱۵ ±۰/۰۴۵^{cC}	۰/۰۰
LX_3	۸/۰۲ ±۰/۰۲۳^{aA}	۶/۲۰ ±۰/۰۵^{cB}	۳/۱۵ ±۰/۰۸۶^{cC}	۰/۰۰
B	۸/۰۲ ±۰/۰۲^{aA}	۴/۰۳ ±۰/۱۲^{aB}	۰/۰۰^{aC}	۰/۰۰
BX_1	۸/۰۲ ±۰/۰۱^{aA}	۴/۴۸ ±۰/۰۹^{aB}	۲/۰۱ ±۰/۰۳۶^{bC}	۰/۰۰
BX_2	۸/۰۳ ±۰/۰۳^{aA}	۴/۹۳ ±۰/۰۷۸^{aB}	۲/۹۰ ±۰/۰۲۹^{cC}	۰/۰۰
BX_3	۸/۰۰ ±۰/۰۱^{aA}	۵/۰۵ ±۰/۱۰^{bB}	۳/۷۰ ±۰/۰۱۴^{dC}	۰/۰۰

L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx_1: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_2: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید، Lx_3: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx_1: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_2: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید

Bx_3: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

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

تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های آب‌زرشک بعد از ۲ روز تخمیر در دمای ۳۷°C

با توجه به pH اولیه آب‌زرشک (pH=۳)، نتایج نشان می‌دهد که نوع تیمار در زمان تخمیر بر تغییرات pH آب‌زرشک تأثیر معنی‌داری دارد ($p<۰/۰۵$). بر اساس نتایج بیان‌شده در جدول ۳، pH تمام تیمارها طی ۲ روز تخمیر افزایش‌یافته است. با افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید در هر دوسویه باکتری نیز، pH نمونه‌ها افزایش معنی‌داری را نشان داد. در مورد تغییرات اسیدیته تیمارهای مختلف طی ۲ روز تخمیر مشاهده شد که نوع تیمار بر تغییرات اسیدیته تأثیر معنی‌دار دارد ($p<۰/۰۵$). این موضوع نشان می‌دهد که اگرچه تغییرات اسیدیته تیمارهای مختلف پس از ۲ روز تخمیر، روند کاهشی داشت اما سرعت تغییرات اسیدیته متفاوت است و نتایج حاصل از آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که سرعت تغییرات اسیدیته با افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید در نمونه‌های حاوی باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بود. در جدول ۳ تغییرات اسیدیته در نمونه‌های آب‌زرشک طی ۲ روز تخمیر در دمای ۳۷°C نیز نشان داده‌شده است. در این جدول ملاحظه می‌گردد که در زمان تولید، اسیدیته تمامی تیمارها در محدوده ۱/۲ درصد برحسب اسید مالیک است که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند اما پس از دو روز تخمیر در تمامی تیمارها کاهش اسیدیته دیده می‌شود که در مورد نمونه‌های حاوی پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار است.

در نمونه‌های آب‌زرشک بعد از ۲۱ روز نگهداری یخچالی در دمای ٤°C

با توجه به pH اولیه آب‌زرشک (pH=۳) نتایج حاصل از آنالیز واریانس یک‌طرفه نشان می‌دهد که نوع تیمار در زمان نگهداری یخچالی بر تغییرات pH آب‌زرشک تأثیر معنی‌داری ندارد (p>۰/۰۵) همان‌طور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود pH تمام تیمارهای حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در محدوده ۰/۲ ± ۳ باقی ماند؛ اما در مورد باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید در روز ۷ نگهداری یخچالی pH نمونه‌ها به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (p<۰/۰۵). در مورد تغییرات اسیدیته تیمارهای مختلف طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی (جدول ۵) مشاهده شد که نوع تیمار بر تغییرات اسیدیته تأثیر معنی‌دار دارد (p<۰/۰۵). این موضوع نشان می‌دهد که اگرچه تغییرات اسیدیته تیمارهای مختلف در طی هفته‌های پس از تلقیح روند کاهشی را نشان داد اما سرعت تغییرات اسیدیته متفاوت است و سرعت تغییرات اسیدیته با افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید در نمونه‌های حاوی باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به‌طور معنی‌داری بیشتر از تیمارهای حاوی باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بود. همان‌طور که در جدول ۵ نشان داده‌شده است در زمان تولید، اسیدیته تمامی تیمارها در محدوده ۱/۲ درصد برحسب اسید مالیک است که با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند اما طی ۲۱ روز نگهداری در دمای ۴ °C در تمامی تیمارها کاهش میزان اسیدیته دیده شد که این کاهش در مورد نمونه‌های حاوی پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* با افزایش غلظت گزیلو-الیگوساکارید در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بود.

جدول ۳. تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بعد از ۲ روز تخمیر در دمای ۳۷°C

	pH			اسیدیته (برحسب درصد اسید مالیک)		
	بلافاصله پس از تلقیح	روز اول تخمیر	روز دوم تخمیر	بلافاصله پس از تلقیح	روز اول تخمیر	روز دوم تخمیر
L	۲/۹۹±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۵ ±۰/۰۱^{aB}	۳/۱۰ ±۰/۰۱^{aC}	۱/۲۰ ±۰/۰۳^{aA}	۱/۱۴ ±۰/۰۷^{aB}	۱/۰۹ ±۰/۰۸^{aC}
LX1	۲/۹۸ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۶ ±۰/۰۱^{aB}	۳/۱۴ ±۰/۰۲^{bC}	۱/۲۱ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۳ ±۰/۰۶^{aB}	۱/۰۸ ±۰/۰۷^{aC}
LX2	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۱۱ ±۰/۰۲^{bB}	۳/۱۷ ±۰/۰۲^{cC}	۱/۲۰ ±۰/۰۳^{aA}	۱/۱۳ ±۰/۰۵^{aB}	۱/۰۹ ±۰/۰۷^{aC}
LX3	۳/۰۰ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۱۸ ±۰/۰۱^{cB}	۳/۲۵ ±۰/۰۱^{dC}	۱/۲۲ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۵ ±۰/۰۸^{aB}	۱/۱۰ ±۰/۰۷^{aC}
B	۳/۰۰ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۲±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۹ ±۰/۰۳^{aB}	۱/۱۹ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۷±۰/۰۱۷^{aA}	۱/۱۵ ±۰/۰۳^{aA}
BX1	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۸±۰/۰۳^{bB}	۳/۱۳ ±۰/۰۳^{bC}	۱/۲۱ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۹ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۷ ±۰/۰۵^{aA}
BX2	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۱۲ ±۰/۰۳^{cB}	۳/۱۸ ±۰/۰۲^{cC}	۱/۲۰ ±۰/۰۱^{aA}	۱/۱۷ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۵ ±۰/۰۳^{aA}
BX3	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۱۴ ±۰/۰۲^{dB}	۳/۲۰ ±۰/۰۳^{cC}	۱/۲۰ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۴ ±۰/۰۳^{aA}	۱/۱۰ ±۰/۰۲^{aA}

L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx_1: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_2: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید، Lx_3: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx_1: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_2: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید

Bx_3: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

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

جداول ٤ (بالا) و ٥ (پایین). تغییرات pH و اسیدیته در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* طی ۲۱ روز نگهداری یخچالی

تیمار*	pH			
	بلافاصله بعد از تلقیح	**هفته اول**	**هفته دوم**	**هفته سوم**
L	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۲/۹۷ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۲^{aA}
LX$_1$	۲/۹۸ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۰ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}
LX$_2$	۲/۹۹ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۱^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۹ ±۰/۰۲^{aA}
LX$_3$	۳/۰۰ ±۰/۰۱^{aA}	۲/۹۷ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۲^{aA}
B	۳/۰۰ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۸ ±۰/۰۲^{aA}	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۰ ±۰/۰۱^{aA}
BX$_1$	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۰ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۲ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۱±۰/۰۱^{aA}
BX$_2$	۲/۹۹ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۱ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۱ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۱ ±۰/۰۲^{aA}
BX$_3$	۲/۹۹ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۳ ±۰/۰۲^{aA}	۳/۰۲ ±۰/۰۱^{aA}	۳/۰۱ ±۰/۰۲^{aA}

تیمار	اسیدیته (درصد برحسب اسید مالیک)			
	بلافاصله بعد از تلقیح	**هفته اول**	**هفته دوم**	**هفته سوم**
L	۱/۲۰ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۰۳ ±۰/۰۲^{aB}	۱/۰۲ ±۰/۰۱^{aB}	۱/۰۰ ±۰/۰۱^{aB}
LX$_1$	۱/۲۱±۰/۰۱^{aA}	۱/۰۰ ±۰/۰۲^{aB}	۱/۰۰ ±۰/۰۲^{aB}	۰/۹۹ ±۰/۰۲^{aB}
LX$_2$	۱/۲۰ ±۰/۰۲^{aA}	۰/۹۹ ±۰/۰۳^{bB}	۰/۹۸ ±۰/۰۲^{aB}	۰/۹۷ ±۰/۰۲^{bB}
LX$_3$	۱/۲۲ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۰۲ ±۰/۰۱^{cB}	۱/۰۰ ±۰/۰۲^{bB}	۱/۰۰ ±۰/۰۱^{bB}
B	۱/۱۹ ±۰/۰۲^{aA}	۱/۱۶ ±۰/۰۱^{aB}	۱/۱۶ ±۰/۰۱^{aB}	۱/۰۹ ±۰/۰۲^{aC}
BX$_1$	۱/۲۰ ±۰/۰۱^{aA}	۱/۱۲ ±۰/۰۲^{bB}	۱/۱۰ ±۰/۰۲^{aB}	۱/۰۸ ±۰/۰۲^{aB}
BX$_2$	۱/۲۱ ±۰/۰۱^{aA}	۱/۰۵ ±۰/۰۲^{cB}	۱/۰۶ ±۰/۰۲^{aB}	۱/۰۵ ±۰/۰۲^{bB}
BX$_3$	۱/۲۰ ±۰/۰۱^{aA}	۱/۰۱ ±۰/۰۲^{dB}	۱/۰۰ ±۰/۰۱^{bB}	۱/۰۰ ± ۰/۰۲^{cB}

L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx$_1$: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx$_2$: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید، Lx$_3$: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

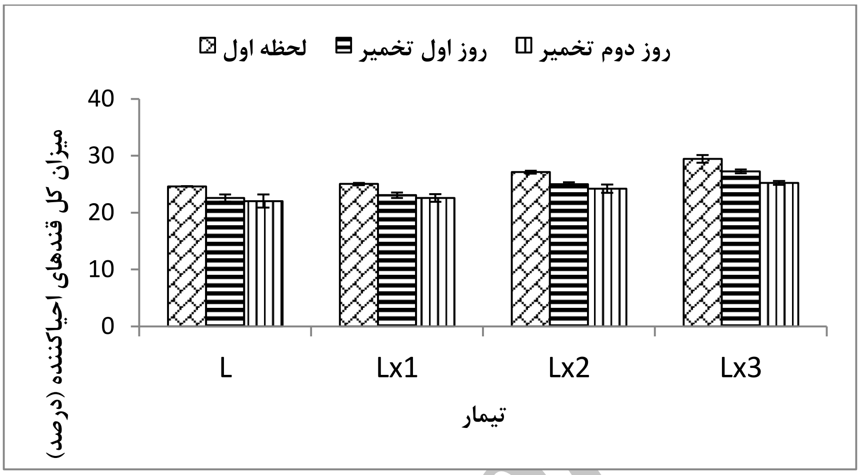
B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx$_1$: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx$_2$: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید

Bx$_3$: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

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

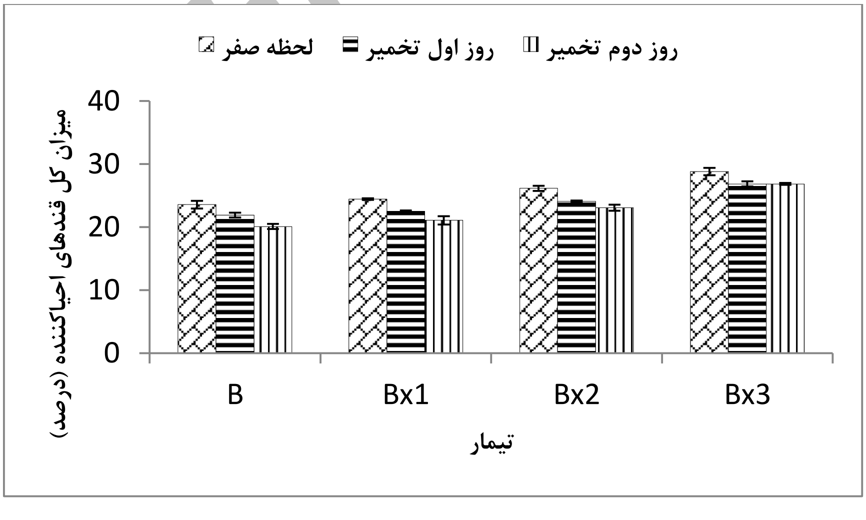
تغییرات میزان کل قندهای احیاء کننده -در نمونه‌های آب‌زرشک بعد از ۲ روز تخمیر در ۳۷ °C

میزان کل قندهای احیاء کننده نمونه‌های تخمیر شده بعد از ۲۴ و ۴۸ h گرمخانه گذاری در ۳۷°C با استفاده از روش فهلینگ اندازه‌گیری شد (۹). با توجه به نمودارهای شکل‌های ۱ و ۲ طی تخمیر میزان قند احیاء کننده نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* روند رو به کاهش را نشان می‌دهد؛ که این اختلاف در مورد هر دوسویه معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).



L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx_1: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_2: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_3: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

شکل ۱. نمودار تغییرات میزان کل قندهای احیاء کننده در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در طی ۲ روز تخمیر در ۳۷°C

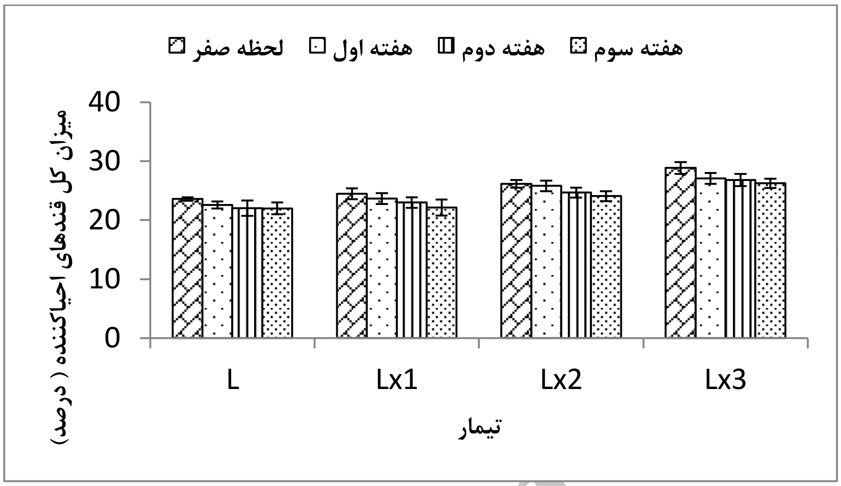


B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx_1: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_2: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_3: بیفیدوباکتریوم *لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

شکل ۲. نمودار تغییرات میزان کل قندهای احیاء کننده در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در طی ۲ روز تخمیر در ۳۷ °C

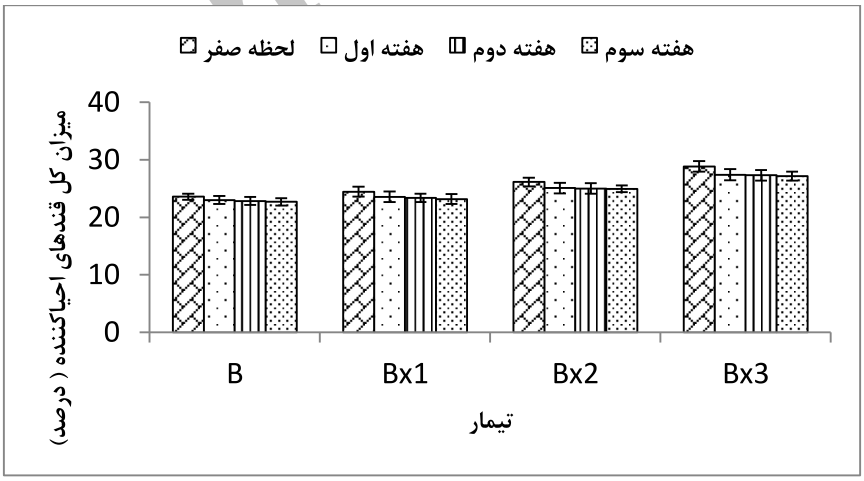
-در نمونه‌های آب‌زرشک بعد از ۲۱ روز نگهداری یخچالی در دمای ٤°C

با توجه به نمودارهای شکل‌های ۳ و ۴ در طی تخمیر میزان قند احیاء کننده نمونه‌های حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* روند رو به کاهش را نشان می‌دهد؛ که این اختلاف در مورد هر دوسویه معنی‌دار است ($p<۰/۰۵$).



L: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، Lx_1: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_2: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید Lx_3: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

شکل۳. نمودار تغییرات میزان کل قندهای احیاء کننده در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس بعد از ۲۱ روز نگهداری یخچالی



B: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* Bx_1: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۰/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_2: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱ درصد گزیلوالیگوساکارید Bx_3: *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* و ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید

شکل٤. نمودار تغییرات میزان کل قندهای احیاء کننده در نمونه‌های آب‌زرشک حاوی باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بعد از ۲۱ روز نگهداری یخچالی

بحث و نتیجه‌گیری

یافته‌های این پژوهش نشان داد پس از ۲ روز تخمیر، تعداد سلول‌های زنده درتیمارهای حاوی سویه‌های *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* از تعداد اولیه حدود ۸ log cfu/ml به ترتیب به تعداد ۵/۳۶ و ۴/۱۰ log cfu/ml کاهش پیدا کرد که با نتایج مطالعات شیهان و همکاران (۲۰۰۷) در رابطه بازنده‌مانی پروبیوتیک تا در آب ذغال لخته[1] مطابقت داشت (۱۰) اما با یافته‌های گزارش‌شده توسط یون[2] و همکاران در سال‌های ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ در مورد تخمیر آب چغندر و گوجه‌فرنگی با استفاده از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* پروبیوتیک که همراه با افزایش زنده‌مانی آن‌ها بود مغایرت داشت (۱۱ و ۱۲). در اکثر مطالعات مربوط به تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده بعد از ۴۸h تخمیر افزایش پیدا نموده است اما در این پژوهش دلیل افزایش نیافتن تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک طی فرآیند تخمیر آب‌زرشک احتمالاً مربوط به حضور مواد بازدارنده‌ای نظیر مواد فنلی و کمبود ترکیبات مغذی نظیر قندهای قابل تخمیر است. عصاره‌های گیاهی نظیر آب‌زرشک غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که دارای فعالیت‌های ضد باکتریایی، ضدویروسی، ضد سم و یا ضد قارچی هستند. بیان‌شده که این ترکیبات می‌توانند سبب جلوگیری از رشد ریززنده های بیماری‌زای غذایی و ریز زنده‌های عامل فساد شوند. برخی محققین نیز اعلام داشته‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها ممکن است اثرات منفی روی باکتری‌های سودمند نظیر پروبیوتیک‌ها داشته باشند. ترکیبات فنلی به دیواره سلولی باکتری آسیب وارد می کنند که سبب مرگ سلول می‌شود؛ که دلیل آن احتمالاً به دلیل تغییر فرآیندهای وابسته به انرژی و انتقال و مسیر متابولیسم که برای زنده‌مانی باکتری‌ها ضروری است، است. واکنش‌های هیدروفوبیک بین لیپیدهای غشایی و ترکیبات فنلی نیز در این غیرفعال سازی اثرگذار هستند. نتایج نشان دادند که باکتری‌های اسیدلاکتیک ممکن است در حضور ترکیبات فنلی خاصی متجمع شوند، به‌طوری‌که این ترکیبات بسیار محکم به غشای سلولی می‌چسبند و سبب تجزیه و بنابراین افت زنده‌مانی سلول می‌شوند (۱۳).

عواملی نظیر اسیدیته، pH، میزان اکسیژن، کمبود مواد مغذی و وجود مواد ضدمیکروبی در فرآورده، قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. موسوی و همکاران (۲۰۱۱) اعلام نمودند چنانچه غنی کردن آبمیوه‌ها قبل از تخمیر توسط قندهایی نظیر گلوکز و لاکتوز صورت بگیرد، موجب افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در فرآورده طی تخمیر می‌شود (۱۴). افزایش سازگاری به اسیدهای آلی و pH پایین فرآورده‌های تخمیری نیز از اهمیت بسزایی برخوردار است؛ بنابراین عواملی نظیر حضور ترکیبات فنلی در فرآورده، اسیدیته بالا و تولید و تجمع ترکیباتی نظیر اسیدهای آلی و ترکیبات معطر مانند دی استیل و استالدئید طی تخمیر می‌تواند در آسیب رساندن به سلول‌های پروبیوتیک در آب‌زرشک مؤثر باشد. نیز احتمال می‌رود ازآنجاکه اختلاف زیادی در pH و منبع انرژی میان محیط پیش کشت و محیط آب‌میوه وجود داشت، این موضوع سبب افزایش زمان فاز تأخیر رشد و افت تعداد سلول‌های زنده شد. سلول‌ها پس از سپری شدن مرحله تأخیر وارد مرحله رشد و افزایش توده سلولی زنده می‌شوند اما به دلیل اسیدی بودن و وجود دیگر ترکیبات بازدارنده در محیط، بیشتر انرژی صرف مقابله با این شرایط می‌شود و عملاً هیچ‌گونه رشدی تا ۲۲h تخمیر در مورد این سویه‌ها صورت نمی‌گیرد. از این نتایج دانسته می‌شود که pH به‌تنهایی مسئول کاهش تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در آب‌زرشک طی تخمیر نیست زیرا همان‌طور که در جدول یک نشان داده‌شده، افزایش غلظت گزیلوالیگوساکارید به‌عنوان قند قابل تخمیر برای باکتری‌های پروبیوتیک توانست میزان باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* را از ۳/۱۰ log cfu/ml به ۴/۶۵ log cfu/ml افزایش دهد. هرچند این افزایش بر روی

---

[1] Cranberry juice

[2] yoon

باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تأثیری نداشت که این نتیجه با نتایج بررسی زنده‌مانی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در شیر بز توسط هی و همکاران (۲۰۱۱) مغایرت داشت. آن‌ها با افزودن گزیلوالیگوساکارید افزایش معنی‌داری را در تعداد سلول‌های زنده باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در شیر بز پس از ۱۸h گرمخانه گذاری در ۳۷°C مشاهده کردند (۱۵).

همان‌طور که در جدول شماره ۳ نشان داده‌شده است بعد از ۲ روز تخمیر pH تمام تیمارها افزایش و اسیدیته آن‌ها کاهش یافت که مشابه نتایج حاصل از مطالعه موسوی و همکاران در مورد تخمیر آب انار با پروبیوتیک‌ها است که طی تخمیر، pH نمونه‌ها افزایش و اسیدیته کاهش پیدا کرد. بعد از ۲ روز تخمیر تغییرات اسیدیته تیمارهای حاوی غلظت‌های مختلف گزیلوالیگوساکارید تلقیح شده با باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* به‌طور معنی‌دار کاهش پیدا کرد. علت کاهش اسیدیته آب‌زرشک پروبیوتیک پس از تخمیر احتمالاً مربوط به دکربوکسیله کردن اسیدمالیک و اسیدسیتریک به‌عنوان اسیدهای غالب موجود در زرشک و تولید اسیدلاکتیک و دی‌اکسید کربن است. این واکنش معمولاً در طول تخمیر توسط آنزیم‌های تولیدشده توسط گونه‌های پروبیوتیک رخ می‌دهد. این عمل یک مکانیسم زیستی اسیدزدایی با تبدیل اسید مالیک و اسیدسیتریک به اسیدلاکتیک است .این فرآیند منجر به افزایش pH و کاهش اسیدیته کل می‌شود که علت آن بالاتر بودن ثابت تفکیک اسیدی اسیدلاکتیک تولیدشده (۳/۸۶) در مقایسه با اسید مالیک (۲) و اسیدسیتریک (۳/۰۱) است. (۱۴).

قند موجود در محیط در طی تخمیر توسط باکتری‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد. ازآنجایی‌که گلوکز قند اصلی مورداستفاده برای رشد باکتری‌ها است بنابراین به نظر می‌رسد که این کاهش بیشتر مربوط به مصرف گلوکز و سپس فروکتوز توسط باکتری‌های پروبیوتیک است. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه خود بر روی تخمیر گل‌گاوزبان توسط لاکتوباسیلوس‌ها، گلوکز را به‌عنوان منبع کربن موردعلاقه برای تمام باکتری‌ها اعلام نمودند و قندهای فروکتوز و ساکارز در اولویت بعد قرار دارند (۱۴). طی تخمیر آب انار توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک نیز گلوکز به‌عنوان منبع اصلی کربوهیدرات مورداستفاده توسط سوش‌های لاکتیکی معرفی‌شده و پس‌ازآن فروکتوز مورداستفاده آن‌ها قرار می‌گیرد (۱۳). به‌طورکلی در تمامی مطالعات انجام‌گرفته بر روی پروبیوتیک‌ها میزان قند (که نوع آن متفاوت بوده است) در طی تخمیر کاهش‌یافته است.

قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در طول نگهداری در محیط اسیدی یا در حضور اکسیژن افت می‌کند. به‌علاوه فرمولاسیون ماده غذایی شدیداً بر روی زنده‌مانی آن‌ها در طول نگهداری اثر دارد. آب‌میوه جات ممکن است شامل بازدارنده‌های طبیعی رشد میکروبی یا افزودنی‌های مصنوعی باشند که روی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها اثر منفی دارد؛ بنابراین اختلاف در پایداری سویه‌ها در این مطالعه ممکن است ناشی از pH و ماهیت ترکیبات موجود در آب‌میوه باشد؛ بنابراین عواملی نظیر حضور ترکیبات فنلی در فرآورده، اسیدیته بالا، کمبود ترکیبات مغذی نظیر قندهای قابل تخمیر می‌تواند در آسیب رساندن به سلول‌های پروبیوتیک در آب‌زرشک طی نگهداری یخچالی مؤثر باشد. ازآنجاکه ازنظر pH و منبع انرژی اختلاف زیادی بین محیط پیش کشت و محیط آب‌میوه وجود داشت طولانی شدن فاز تأخیری رشد و افت تعداد سلول‌های زنده محتمل بود. اسیدهای آلی در محیطی که به‌شدت اسیدی است به شکل تفکیک نشده وجود دارد و بنابراین به‌راحتی وارد سلول باکتری می‌شود و درنهایت موجب افت فعالیت متابولیک و سرعت رشد می‌گردد. ترکیبات فنلی به دیواره سلولی باکتری آسیب وارد می‌کنند که سبب مرگ سلول می‌شود؛ که احتمالاً به دلیل تغییر فرآیندهای وابسته به انرژی، انتقال و مسیر متابولیسم که برای زنده‌مانی باکتری‌ها ضروری است. واکنش‌های هیدروفوبیک بین لیپیدهای غشایی و ترکیبات فنلی در این غیرفعال سازی دخیل هستند. همچنین باکتری‌های اسیدلاکتیک ممکن است در حضور ترکیبات فنلی خاصی تجمع یابند. این ترکیبات به‌طور محکمی به غشا سلولی می‌چسبد و سبب تجزیه و بنابراین

افت زنده‌مانی سلول می‌شود. در pH پایین اسیدهای آلی به‌صورت تفکیک نشده حضور دارند و قادر به عبور از دیواره سلولی باکتریایی و متوقف سازی عملیات سلولی و مرگ آن می‌باشند (۱۳). در سال‌های اخیر مطالعات گسترده‌ای در مورد فرآورده‌های تخمیری پروبیوتیک انجام‌شده است اما پژوهش‌های انجام‌شده در رابطه با پایداری پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های غیرتخمیری بسیار اندک بوده است. یکی از مهم‌ترین مزایای استفاده از فرآورده‌های غیرتخمیری به‌عنوان حامل برای پروبیوتیک‌ها، عدم حضور فرآورده‌های پایانی حاصل از تخمیر است زیرا ترکیبات رایحه دار و اسیدهای آلی اثر منفی بر قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها دارند.

همان‌طور که نتایج نشان داد، افزایش غلظت قند گزیلوالیگوساکارید در نمونه‌های تلقیح شده با باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* تأثیری بر میزان زنده‌مانی باکتری‌ها نداشت. درحالی‌که افزایش غلظت قند مذکور در سویه *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* موجب افزایش زنده‌مانی این باکتری در آب‌زرشک در طی ۳ هفته نگهداری یخچالی شد؛ که دلیل آن استفاده این نوع باکتری از قند پری‌بیوتیک افزوده‌شده است. نگهداری نمونه‌ها در دمای ٤°C تخمیر را محدود می‌کند اما گزارش‌شده که سلول‌های باکتری دارای برخی فعالیت‌های تخمیری حتی در طول نگهداری در دمای ۴°C هستند؛ بنابراین افزایش تعداد سلول‌های زنده باکتری *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در غلظت ۱/۵ درصد گزیلوالیگوساکارید احتمالاً نشان از تخمیر این قند توسط *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در دمای یخچالی است (۱۶). باکتری‌های گروه *بیفیدوباکتریوم* می‌توانند به‌صورت انتخابی از قندهای پری‌بیوتیک استفاده کرده و قابلیت بقای خود را افزایش دهند. هوگس[1] و هوور[2] (۱۹۹۵) نشان دادند که قابلیت زیستی *بیفیدوباکتریوم‌ها* در شیر پس چرخ در درجه حرارت یخچال با حفظ pH تغییر نمی‌کند (۱۶).

آلگرا[3] و همکارانش (۲۰۱۱) گزارش کردند که *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در آب‌پرتقال و قطعات سیب، به ترتیب بعد از ۱۲ و ۴ هفته نگهداری در دمای ۴°C زنده باقی ماندند (۱۶)؛ بنابراین با توجه به pH تقریباً مشابه سیب و پرتقال با pH مورداستفاده در این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که دلیل از بین رفتن کامل *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در روز ۲۱ ام نگهداری یخچالی، وجود ترکیبات فنلی بازدارنده رشد و کمبود مواد مغذی موردنیاز و عدم توانایی این باکتری در استفاده از گزیلوالیگوساکارید به‌عنوان قند قابل تخمیر است.

ثابت بودن pH و کاهش اسیدیته در تمامی تیمارها نشان از تبدیل اسیدمالیک به اسیدلاکتیک است که سبب کاهش اسیدیته می‌شود و در تیمار حاوی سویه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* می‌تواند ناشی از خودکافت پیکره باکتری‌ها و آزادسازی پپتیدها به درون محیط باشد در مورد عدم‌تغییر pH باوجود کاهش در اسیدیته می‌توان وجود عوامل بافری تولیدشده در طی نگهداری را عامل آن دانست. نتایج مطالعه‌ی دانشی و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد علیرغم افزایش اندک در اسیدیته در طول نگهداری، pH نوشیدنی مخلوط شیر هویج در طول ۳ هفته نگهداری یخچالی تغییر نکرد که نشان‌دهنده‌ی ظرفیت بافری بالای نوشیدنی است. در این مطالعه pH نمونه‌ها بعد از ۲۸ روز نگهداری تغییر نکرد که نشان‌دهنده‌ی فعالیت متابولیکی ضعیف پروبیوتیک‌ها در دمای ۴°C است که مشابه نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش بود(۱۸). در این مطالعه *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* زنده‌مانی بیشتری در مقایسه با *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در طول نگهداری داشت که مشابه نتایج حاصل از کار شیهان[4] و همکاران (۲۰۰۷) در مورد آب‌پرتقال و آناناس و نتایج

---

[1] Hughes

[2] Hoover

[3] Alegra

[4] Sheehan

تحقیقات دانشی[1] و همکاران (۲۰۱۳) در مورد نوشیدنی شیر/آب هویج بود (۱۰، ۱۸)

آب‌زرشک به دلایلی چون pH پایین و وجود ترکیبات فنلی بازدارنده، محیط مناسبی برای رشد وزنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نیست. نتایج این تحقیق نشان داد از میان دوسویه بومی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*، سویه دوم زنده‌مانی کمتری را در این شرایط نشان می‌دهد اما افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک مانند گزیلواولیگوساکارید توانست زنده‌مانی این باکتری را بهبود بخشد درحالی‌که این قند پری‌بیوتیک تأثیری بر زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* نداشت هرچند باکتری اخیر قابلیت زنده‌مانی بیشتری را در شرایط سخت اسیدی نسبت به سویه دیگر نشان داد.

منابع

۱. مرتضویان ا، سهراب وندی س. مروری بر پروبیوتیک‌ها و فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک (۱۳۸۵). انتشارات آتا

2. Tomosaka H, Chin Y. W, Salim A. A, Keller W. J, Chai H, Kinghorn A. D. Antioxidant and cytoprotective compounds from Berberis vulgaris (barberry). Phytotherapy Research, 2008; 22(7): 979-981.

3. Ziemer C. J, Gibson G. R. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. International Dairy Journal, 1998; 8(5-6): 473-479.

4. Mäkeläinen H, Juntunen M, Hasselwander O. Prebiotic potential of xylo-oligosaccharides. Prebiotics and Probiotics Science and Technology, 2009; 245-258.

5. Nematollahi A, Sohrabvandi S,Mortazavian A.M,Jazaeri S. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage, Electronic journal of Biotechnology, 2016; 21: 49-53

6- 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): 270-272.

7- Bolduc M.P, Raymond Y, Fustier P, Champagne C. P, Vuillemard J.C. Sensitivity of bifidobacteria to oxygen and redox potential in non-fermented pasteurized milk. International Dairy Journal, 2006; 16(9): 1038-1048.

8- AOAC, Official methods of analysis of AOAC International: AOAC International, 2000

۹- سازمان ملی استاندارد ایران، آب‌میوه‌ها- روش‌های آزمون، استاندارد ملی ایران به شماره استاندارد ۲۶۸۵، تجدیدنظر اول، ۱۳۸۶

10- Sheehan V. M, Ross P, Fitzgerald G. F. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. Innovative food science & emerging technologies, 2007; 8(2): 279-284

11- Yoon K. Y, Woodams E. E, Hang Y. D. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. LWT-Food Science and Technology, 2005; 38(1): 73-75.

12- Yoon K. Y, Woodams E. E, Hang Y. D. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. Bioresource Technology, 2006; 97(12): 1427-1430.

13-
ematollahi A. Studying some functional and sensory characteristics of probiotic cornelian cherry juice. M.Sc. Thesis in Food Science and Technology, Shahid Beheshti University of medical science, 2014

14- Mousavi Z, Mousavi S, Razavi S, Emam-Djomeh Z, Kiani H. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011; 27(1): 123-128.

15- He C, Liyuan J, Guowei S, Juanna S. Effect of Xylo-oligosaccharide and Fructo-oligosaccharide on the growth of selected probiotics in goat milk. Paper presented at International Conference on the Human Health and Biomedical Engineering (HHBE), 2011

16- Hughes D. B, Hoover D. G. Viability and enzymatic activity of *bifidobacteria* in milk. Journal of Dairy Science, 1995; 78(2): 268-276.

17- Alegre I, Viñas I, Usall J, Anguera M, Abadias M. Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic

---

[1] Daneshi

milk/carrot juice mix drink. Electronic Journal of Biotechnology, 2013; 16(5): 1-12.

strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. Food Microbiology, 2011; 28(1): 59-66.

18- Daneshi M, Ehsani M. R, Razavi S. H, Labbafi M. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of

Effect of Xylooligosaccharid on viability of probiotic bacteria in Barbery juice

[1]Rezvan Dehghan Niri, [1*]**Mohammad Daneshi,** [1]Seyed Ali Yasini Ardakani

[1]Department of Food Science and Technology, Agriculture Faculty, Yazd branch, Islamic Azad University, Yazd, Iran

Abstract

Nowadays, due to the popularity of vegetarian diet, lactose intolerance and high cholesterol content in dairy products, demand for non-dairy probiotic products has increased. In this study the effect of fermentation, refrigerated storage and adding Xylooligosaccharid (XOS) on viability of some probiotic bacteria in Barbery juice was evaluated. Barbery juice inoculated with two probiotic species included L.rhamnosus and B.lactis (each 10^8 cfu/ml) after the xylooligosachcarid (XOS) was added to samples at concentration of 0.5,1 and 1.5 percent. Then the chemical characteristics including pH, acidity, sugar consumption and viability of probiotic bacteria were monitored during primary fermentation and refrigerated storage for 21 days. Data analysis showed the treatment type and storage time had significant effects on the chemical characteristics and viability of probiotic bacteria ($p<0.05$). Although increasing concenteration of Xylooligosaccharid led to more viability for B. lactis but had no effect in improving the survival of L.rhamnosus. However, L.rhamnosus could tolerate better the acidic conditions of Berbery juice and showed greater survival. The low pH and presence of inhibitors such as phenolic compounds in Barbey juice have negative effects on viability of probiotics during storage time but using the prebiotic comounds like Xylooligosaccharid can improve the viability of some probiotic bacteria such as B.lactis.

Keywords: Probiotic, Xylooligoaccarid, Barbey juice, Viability

---

[*] mdaneshi@iauyazd.ac.ir