

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و زنده ماننی باکتری‌های اسید لاکتیک در نوشیدنی فراسودمند آب تره

لیلا مظفری^۱، اکرم شریفی^{۱*}، آتوسا فرخ^۱

^۱گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد قزوین، دانشگاه آزاد اسلامی، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۲۹

چکیده

در این پژوهش باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نوشیدنی آب تره اضافه شد و خواص فیزیکوشیمیایی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قابلیت زنده‌ماننی باکتری‌های پروبیوتیک و ویژگی‌های حسی نمونه‌ها در بازه زمانی ۱، ۱۵ و ۳۰ روز پس از تولید بررسی شد. نتایج نشان داد که pH تمام نمونه‌ها با گذشت زمان به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نمونه‌های محتوی مقادیر بالاتر آب تره، بریکس بیشتری داشتند و با گذشت زمان کدورت تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نمونه‌های با مقادیر بالاتر آب تره دارای محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بودند و با گذشت زمان IC₅₀ تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش و محتوای فنل کل آنها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. در روزهای یکم و پانزدهم، بالاترین میزان زنده‌ماننی هر دو ریززنده متعلق به نمونه‌های حاوی ۷۵٪ آب تره بود. عصاره آب تره با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی قابل توجه به زنده‌ماننی لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کمک کرد. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که در تمام روزهای مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در امتیاز طعم، بو، ظاهر، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها وجود نداشت.

واژگان کلیدی: آب تره، فراسودمند، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس

مقدمه

خصوصاً، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک زنده مانده در ماده غذایی باید حداقل 10^6 یا 10^7 cfu/ml باشد تا در تامین سلامتی، مفید واقع شود (۴). در حال حاضر، اغلب فراورده‌های پروبیوتیک موجود در بازار را فراورده‌های لبنی پروبیوتیک تشکیل می‌دهند، اما در سال‌های اخیر، تقاضا برای محصولات پروبیوتیک بر پایه محصولات غیر لبنی افزایش یافته است. کلسترول به‌عنوان یکی از ترکیبات عمده در فراورده‌های لبنی و نیز مشکل عدم تحمل لاکتوز دو عامل دخیل در کاهش مصرف محصولات لبنی هستند. چنانچه

غذاهایی که سبب بهبود سلامتی شده و مواد مغذی ضروری بدن را تامین می‌کنند، غذاهای فراسودمند نامیده می‌شوند (۱). براساس تعریف، باکتری‌های پروبیوتیک، ریززنده‌های زنده‌ای هستند که پس از مصرف، در روده ساکن شده و از طریق بهبود میکروفلور طبیعی روده، اثرات مفیدی در سلامتی انسان بر جای می‌گذارند (۲ و ۳). برای تامین سلامتی، توانایی زنده ماندن باکتری انتخاب شده در محصول در طول تولید و نگهداری بسیار حائز اهمیت است. در این

* asharifi@qiau.ac.ir

جایگزین مناسبی برای محصولات پروبیوتیک بر پایه لبنی برای افراد گیاه خوار وجود نداشته باشد، به تدریج پروبیوتیک‌ها با خواص دارویی بسیار بالا جایگاه خود را در بین قشر وسیعی از افراد جامعه از دست خواهند داد. میوه‌ها و سبزی‌ها به دلیل غنی بودن از نظر آنتی‌اکسیدانی، ویتامین‌ها، فیبرهای رژیمی و مواد معدنی در دسته غذاهای سالم قرار می‌گیرند. همچنین میوه‌ها و سبزی‌ها معایب ذکر شده در مورد محصولات لبنی را ندارند (۷-۵).

گیاه آب‌تره^۱ با نام‌های دیگر کلشک، بولاخ اوتی، علف چشمه، شاهی آبی و ترتیزک آبی شناخته می‌شود. گیاهی از تیره شب بوها به ارتفاع ۱۰ cm تا ۶۰ cm با برگ‌های کوچک به رنگ سبز تیره و گل‌های خوشه‌ای کوچک سفید و ساقه‌های خزنده است که از نقاط مختلف آن ریشه‌های کوچک و سفید خارج می‌شود و معمولاً در کنار جوی‌ها و باتلاق‌ها می‌روید. این گیاه مقدار قابل توجهی آهن، کلسیم و اسید فولیک و کمی هم ویتامین‌های B و آ دارد. آهن قابل جذب آب‌تره از اسفناج هم بیشتر است و به همین جهت می‌تواند در بهبود کم خونی مؤثر باشد. کلسیم آن نیز بیشتر از شیر و ویتامین B آن از پرتقال بیشتر است. همچنین، مقدار بالای ید این گیاه، آن را برای بهبود فعالیت غده تیروئید و درمان بیماران مبتلا به کم کاری تیروئید سودمند ساخته است (۸).

در پژوهش‌های بسیاری کاربرد میوه‌ها و سبزی‌ها و گیاهان دارویی در تولید نوشیدنی‌های فراسودمند بررسی شده است. Luckow و Delahunty (۲۰۰۴) نظر مصرف‌کنندگان در خصوص نوشیدنی‌های پروبیوتیک غیر لبنی را بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد مصرف‌کنندگان محصولات پروبیوتیک را به‌عنوان نوشیدنی‌های سالم برگزیدند (۹). Semjonovs و همکاران (۲۰۱۴) آب کلم سین بیوتیک حاوی فروکتان‌های مختلف و بیفیدوباکتریوم لاکتیس^۲ تولید کردند (۱۰). Chaikham و همکاران (۲۰۱۵) در بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس

کازنی^۳، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۴، بیفیدوباکتریوم لاکتیس^۵ انکپسوله شده با آلژینات به همراه عصاره برخی گیاهان تایلندی، در آبمیوه (توت، خربزه و زغال اخته) و ماست، نتیجه گرفتند که عصاره‌های گیاهی به‌طور قابل ملاحظه‌ای بر پایداری باکتری‌های پروبیوتیک اثر مثبت داشتند که به خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مذکور نسبت داده شد (۱۱). امینی نیا و همکاران (۱۳۹۵) نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتری‌های اسیدلاکتیک تولید کردند. نتایج آنها نشان داد باکتری‌های اسیدلاکتیک بخوبی قادر به رشد و فعالیت در آب کرفس می‌باشد و بیشترین تاثیر در کاهش pH و افزایش اسیدیته و همچنین تولید اسیدهای آلی توسط باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد (۱۲). در این پژوهش امکان تولید نوشیدنی فراسودمند با استفاده از عصاره آب‌تره و همچنین باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازنی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بررسی شد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی باکتری و تهیه عصاره آب‌تره

گونه‌های باکتری اسید لاکتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC1643 و لاکتوباسیلوس کازنی PTCC1608) از کلکسیون سازمان پژوهش‌های صنعتی ایران تهیه شد. تمام کشت‌های باکتریایی در دمای ۲۰ °C در محیط MRS که حاوی ۲۰٪ گلیسرول و ۸۰٪ محیط MRS بود نگهداری شدند (۱۲). گیاه آب‌تره (*Nasturtium officinale*) به‌صورت تازه از بازار محلی قزوین تهیه شد.

احیا ریز زنده‌های مورد آزمایش

احیا ریز زنده‌های مورد آزمایش (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازنی) در شرایط هوایی انجام شد. برای این کار، که بسته‌های حاوی باکتری با دقت در شرایط استریل باز و پس از فعال‌سازی، در کرایوتیوپ‌های مخصوص در دمای ۱۸ °C - نگه داری شد. در هر مرحله، یک گرانول از باکتری در ۱۰۰ mL محیط

⁴ *Lactobacillus acidophilus*

⁵ *Bifidobacterium lactis*

¹ *Nasturtium officinale*

² *Bifidobacterium lactis*

³ *Lactobacillus casei*

توسط بافر استاندارد ۴ و ۷، الکترو د pH متر مستقیماً در داخل نمونه‌ها قرار گرفت و pH قرائت شد (۱۵).

اندازه‌گیری کدورت نوشیدنی تولیدی

برای اندازه‌گیری کدورت نمونه‌های نوشیدنی از دستگاه کدورت سنج Germany, 2100P Turbidimeter استفاده شد و کدورت نمونه‌ها بر حسب واحد نفلومتریکی (NTU) گزارش شد (۲۰).

روش اندازه‌گیری آهن

به دلیل وجود مقدار قابل توجهی آهن در گیاه آب‌تره، پس از تولید خاکستر مرطوب، عنصر آهن در مقابل محلول‌های استاندارد توسط دستگاه جذب اتمی، مدل Yangline 8020 ساخت کره جنوبی، اندازه‌گیری شد (۱۹).

بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال DPPH در نمونه‌های تولیدی

بررسی درصد مهارکنندگی رادیکال پایدار دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH^۱) مطابق با روش Cam و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد (۱۶). برای این کار، ۳/۹ mL محلول mM ۰/۰۶ DPPH با ۰/۱ mL از نمونه در لوله آزمایش قرار گرفت. محلول حاصل در تاریکی و در دمای اتاق به مدت ۳۰ min دقیقه قرار داده شد و جذب آن در طول موج ۵۱۷ nm تعیین شد. A_{blank} جذب محلول شاهد و A_{sample} جذب نمونه‌های نوشیدنی پروبیوتیک بود و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی از معادله ۱ محاسبه شد (۱۶).

معادله ۱

$$\text{Antioxidant activity (\%)} = \left(1 - \frac{A_{sample}}{A_{controle}}\right) \times 100$$

IC₅₀ بیانگر غلظتی از نمونه است که موجب ۵۰٪ بازدارندگی در ظرفیت رادیکالی می‌شود و مقدار آن از طریق رسم مقادیر مختلف فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH^۱ بر حسب غلظت‌های مختلف نمونه و محاسبه معادله خط رگرسیون به دست می‌آید (۱۷).

اندازه‌گیری محتوی فنل کل

MRS برات به صورت یکنواخت مخلوط و در دمای ۳۷ °C به مدت ۲۴ h گرم خانه‌گذاری شد. سپس، ۱ mL از کشت حاصل دوباره به ۹ mL محیط کشت تازه اضافه و در انکوباتور ۳۷ °C به مدت ۲۴ h قرار داده شد. در نهایت سوسپانسون باکتری توسط سانتریفوژ در ۴۵۰۰ rpm (۲۲۶۸ G=)، به مدت ۵ min سانتریفوژ شد. رسوب حاصله از سانتریفوژ جداسازی و در دو مرحله با محلول ۰/۱٪ آب پپتونه شسته و رسوب باکتری در آب پپتونه ۰/۱٪ حل شد. سپس، جذب نوری باکتری با استفاده از اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۹۵ nm تعیین شد. هم‌زمان با تعیین میزان جذب نوری با دستگاه اسپکتروفوتومتر، شمارش باکتریایی به روش شمارش صفحه‌ای سطحی انجام شد (۱۳).

آماده سازی نوشیدنی آب تره و تلقیح باکتری به نمونه‌ها

در ابتدا زواید گیاه آب‌تره حذف و سپس شستشو و به قطعات کوچک تر بریده شد و با دستگاه آبمیوه‌گیری، آب‌گیری انجام شد. نمونه‌ها با بن ماری در دمای ۸۰ °C به مدت ۵ min پاستوریزه شدند. سپس، نمونه‌ها با نسبت‌های مختلف آب و عصاره آب‌تره (۱۲۵ mL، ۲۵۰ mL و ۳۷۵ mL)، شکر و اسانس سیب سبز (۰/۱۰٪) مخلوط شدند. درصد شکر و طعم دهنده در آزمایشات حسی اولیه تعیین شد (۱۲). در نهایت تلقیح گونه‌های مورد مطالعه به نوشیدنی آب‌تره انجام شد. پس از تلقیح باکتری، نمونه‌ها در دمای ۳۷ °C به مدت ۷۲ h گرم‌خانه‌گذاری شدند. نمونه شاهد بدون تلقیح آماده شد و در بازه زمانی ۳۰ روزه، آزمایشات بر روی نمونه‌های تولیدی انجام شد. دوز تلقیح هر دو باکتری پروبیوتیک 5×10^9 cfu/mL بود (۱۴). در نهایت تیمارها با نسبت‌های مختلف آب و آب تره به اضافه باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس تهیه شد.

آزمایش‌های شیمیایی و میکروبی

اندازه‌گیری pH

برای تعیین pH، پس از کالیبره کردن دستگاه pH متر

² DPPH Radical Scavenging Activity

¹ Diphenyl-1-picrylhydrazyl

هدونیک ۵ نقطه‌ای به نمونه‌ها امتیاز می‌دهد (۲۲). در این آزمون فاکتورهای طعم، بافت، رنگ و پذیرش کلی در پنج سطح بسیار خوب (۵)، خوب (۴)، متوسط (۳)، بد (۲)، بسیار بد (۱) ارزیابی شد (۲۳).

آنالیز آماری

این مطالعه در ۷ تیمار و به صورت ۳ تکرار انجام شد. برای ارزیابی داده‌ها از نرم‌افزار SPSS 16 و برای کلاس‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده شد. روش آماری استفاده شده برای آنالیز آماری نیز آزمون دانکن بود که توسط نرم‌افزار SPSS انجام شد.

نتایج

نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب‌تره

pH

نتایج مقایسه میانگین pH نمونه‌ها در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، تاثیر فرمولاسیون و مدت زمان نگهداری بر pH نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب‌تره معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). مقایسه میانگین نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، pH نمونه‌های ۱ و ۴ که حاوی میزان آب‌تره بیشتری بود با هر دو باکتری *لاکتوباسیلوس کازنی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به طور معنی‌داری پائین‌تر از نمونه‌های دیگر بود ($p \leq 0.05$). همچنین، بالاترین میزان pH متعلق به نمونه‌های ۳ و ۶ با کمترین میزان آب‌تره با هر دو باکتری بود ($p \leq 0.05$) و افزایش میزان آب‌تره روی pH تاثیر معنی‌دار داشت. همچنین، با گذشت زمان، pH تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$).

کدورت

نتایج مقایسه میانگین کدورت نمونه‌ها در شکل ۲ ارائه شده است.

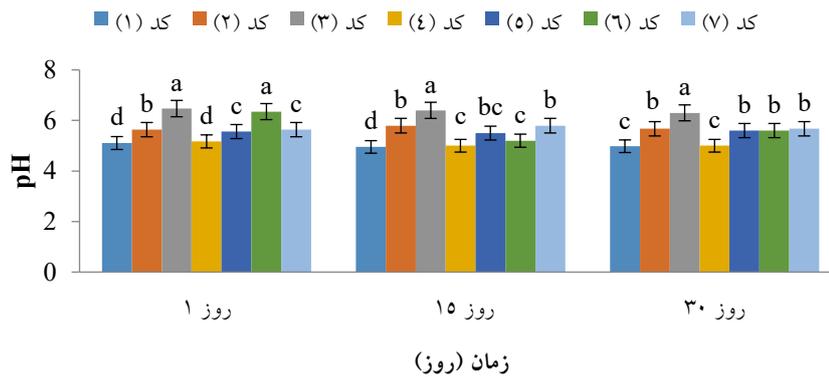
محتوی فنول کل با استفاده از معرف فولین-سیوکالتیو اندازه‌گیری شد. ابتدا، مقدار $200 \mu\text{L}$ نمونه با 0.1 mL معرف فولین-سیوکالتیو مخلوط شده و ۸ min در دمای اتاق نگهداری شد. سپس 0.8 mL محلول کربنات سدیم (۵/۷٪) به مخلوط فوق اضافه و پس از ۳۰ min نگهداری در دمای محیط، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج 765 nm خوانده شد. غلظت معادل، با قرار دادن میزان جذب در منحنی استاندارد به دست آمد. نتایج به صورت معادل اسید گالیک در 100 mL نمونه گزارش شد (mg GAE/L). برای رسم منحنی استاندارد گالیک اسید، غلظت‌های $8-80 \text{ mg/ml}$ از گالیک اسید تهیه شده و طبق روش آزمایش، مقدار جذب آنها در طول موج 760 nm خوانده شد. سپس، منحنی غلظت گالیک اسید در برابر جذب رسم شد (۱۸).

آزمایش‌های میکروبی

در فواصل ۱، ۱۵ و ۳۰ روز، 1 mL نمونه در 9 mL آب پیتونه ۰/۱٪ هموزن شد. سپس، رقت‌های بعدی در لوله‌های حاوی آب پیتونه ۰/۱٪ تهیه شد. برای شمارش *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از محیط MRS سوربیتول آگار استفاده شد که 10 mL محلول ۱۰٪ سوربیتول به 90 mL محیط کشت قبل از ریختن در پلیت‌ها اضافه می‌شود. سپس، پلیت‌ها تحت شرایط بی‌هوازی توسط گاز پک نوع C در جار بی‌هوازی، به مدت ۷۲ h در دمای 37°C گرم‌خانه گذاری شدند. روند کشت *لاکتوباسیلوس کازنی* مشابه *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بوده با این تفاوت که پلیت‌ها مستقیماً در آنکوباتور 37°C گرم‌خانه گذاری شده و به محیط کشت آن سوربیتول اضافه نشد (۲۱).

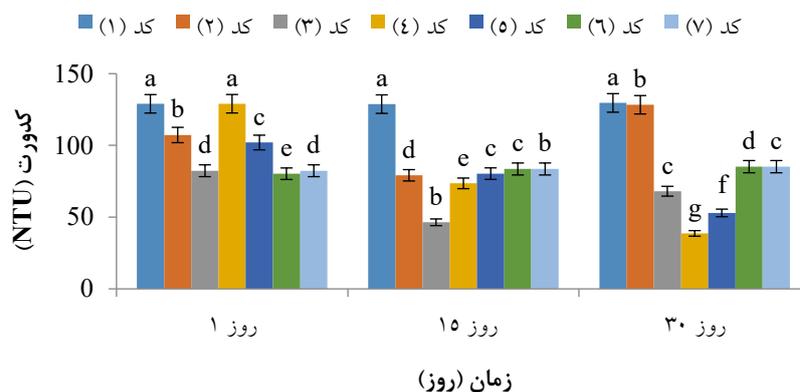
ارزیابی حسی

نوشیدنی پروبیوتیک تولید شده از آب گیاه آب‌تره، با حضور ۷ ارزیاب آموزش دیده از لحاظ رنگ، طعم، بو و پذیرش کلی ارزیابی شد. هر ارزیاب بر اساس مقیاس



شکل ۱. تغییرات pH نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار است ($p \leq 0.05$). کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری‌های پروبیوتیک.



شکل ۲. کدورت (NTU) نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار می‌باشد ($p \leq 0.05$). کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری‌های پروبیوتیک.

پانزدهم و سی ام، بالاترین میزان کدورت در نمونه ۱ مشاهده شد ($p \leq 0.05$). با گذشت زمان کدورت نمونه‌های ۱، ۳ و ۷ به طور معنی داری افزایش یافت ($p \leq 0.05$).

آهن

نتایج مقایسه میانگین آهن نمونه‌ها در شکل ۳ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، تاثیر میزان آب تره بر مقدار آهن نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده معنی دار بود ($p \leq 0.05$).

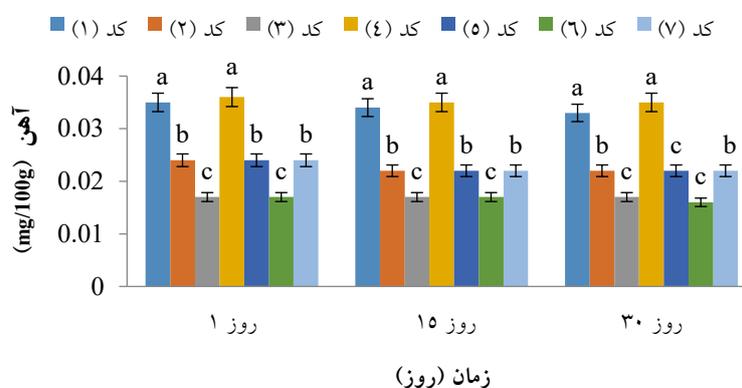
نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که تاثیر فرمولاسیون و مدت زمان نگهداری بر کدورت نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره معنی دار بود ($p \leq 0.05$). در تمامی روزهای مورد بررسی، بالاترین میزان کدورت متعلق به نمونه‌های ۱ و ۴ بود ($p \leq 0.05$) و پائین ترین میزان کدورت در نمونه‌های ۳ و ۶ مشاهده شد که حاوی کمترین میزان آب تره با هر دو باکتری بودند. اختلاف آماری معنی داری بین تیمارهای مذکور وجود نداشت ($p > 0.05$). در روزهای

نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، تاثیر میزان آب تره بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50) نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره معنی‌دار بود ($p \leq 0.05$). در تمام روزهای مورد بررسی، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (پائین‌ترین IC50) برای نمونه‌های ۱ و ۴ مشاهده شد که حاوی میزان آب تره بیشتری بود با هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ($p \leq 0.05$).

در تمام روزهای مورد بررسی، بالاترین میزان آهن در نمونه ۴ دیده شد و بیشترین مقدار آهن برای نمونه‌های ۱ و ۴ با محتوای بیشتر آب تره با هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ثبت شد ($p \leq 0.05$). پائین‌ترین میزان آهن در نمونه‌های ۳ و ۶ ثبت شد که حاوی کمترین میزان آب تره با هر دو باکتری بودند ($p \leq 0.05$).

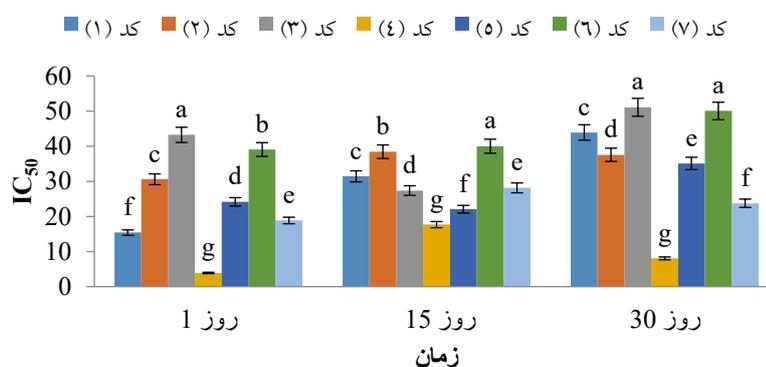
فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50)

نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50) نمونه‌ها در شکل ۴ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس



شکل ۳. آهن نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره (mg/100g)

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p \leq 0.05$). کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری‌های پروبیوتیک.



شکل ۴. فعالیت آنتی‌اکسیدانی (IC50) نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار ($p \leq 0.05$) می‌باشد. کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری‌های پروبیوتیک.

فرمولاسیون بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره معنی دار بود ($p > 0.05$). در روزهای یکم و پانزدهم، بیشترین میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متعلق به نمونه‌های ۱ و ۴ که حاوی میزان آب تره بیشتری بود با هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود ($p \leq 0.05$) و کمترین میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ۳ و ۶ با کمترین میزان آب تره با هر دو باکتری مشاهده شد ($p \leq 0.05$). در روز سی‌ام، بالاترین میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس متعلق به نمونه ۱ بود ($p \leq 0.05$) و پائین‌ترین میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در نمونه‌های ۳ و ۶ مشاهده شد ($p \leq 0.05$).

نتایج ارزیابی حسی نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که در تمام روزهای مورد بررسی، تاثیر فرمولاسیون بر امتیاز طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره معنی دار نبود ($p > 0.05$). نتایج مقایسه میانگین نمونه‌ها نشان داد که در تمام روزهای مورد بررسی، اختلاف آماری معنی داری در امتیاز طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها وجود نداشت ($p > 0.05$). با گذشت زمان، اختلاف آماری معنی داری نیز در امتیاز طعم، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی نمونه‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$).

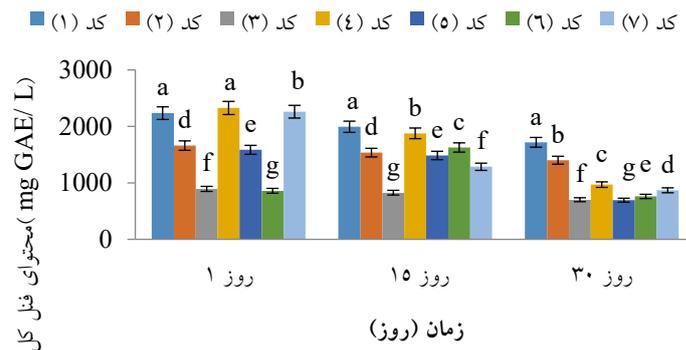
همچنین، پائین‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بالاترین IC50) در نمونه‌های ۳ و ۶ با کمترین میزان آب تره با هر دو باکتری مشاهده شد ($p \leq 0.05$). فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمام نمونه‌ها با گذشت زمان به طور معنی داری کاهش داشت و IC50 آنها به طور معنی داری افزایش یافت ($p \leq 0.05$).

محتوای فنل کل

نتایج مقایسه میانگین فنل تام نمونه‌ها در شکل ۵ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، تاثیر فرمولاسیون و مدت زمان نگهداری بر محتوای فنل کل نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره معنی دار بود ($p > 0.05$). در روزهای یکم و پانزدهم، بالاترین محتوای فنل کل متعلق به نمونه‌های ۱ و ۴ که حاوی میزان آب تره بیشتری بود با هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد ($p \leq 0.05$) و پائین‌ترین میزان فنل کل در نمونه‌های ۳ و ۶ با کمترین میزان آب تره با هر دو باکتری ثبت شد ($p \leq 0.05$). در روز سی‌ام، بالاترین محتوای فنل کل متعلق به نمونه ۱ بود ($p \leq 0.05$) و پائین‌ترین محتوای فنل کل در نمونه‌های ۳ و ۶ مشاهده شد ($p \leq 0.05$). با گذشت زمان ترکیبات فنلی تمامی نمونه‌ها به طور معنی داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$).

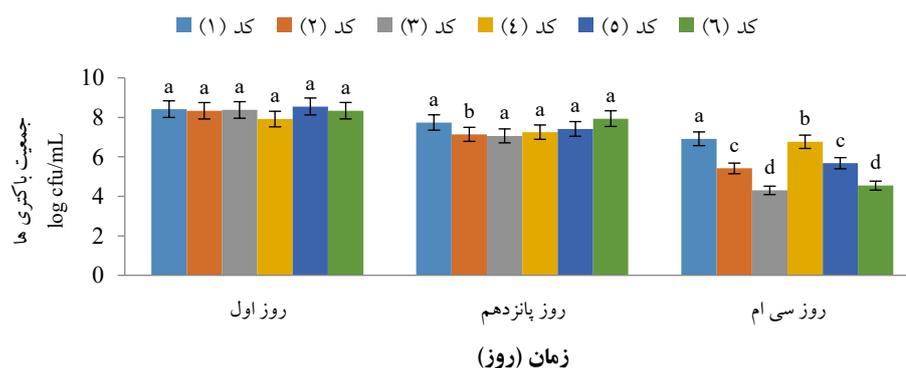
نتایج زنده مانی باکتری‌های پروبیوتیک نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

نتایج مقایسه میانگین زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نمونه‌ها در شکل ۶ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس نمونه‌ها نشان داد که در تمام بازه‌های زمانی، تاثیر



شکل ۵. محتوای فنل کل (mg GAE/L) نوشیدنی های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار می باشد ($p \leq 0.05$). کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری های پروبیوتیک.



شکل ۶. قابلیت زندهمانی باکتری های پروبیوتیک در نوشیدنی های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره

حروف متفاوت نشانگر اختلاف معنی دار می باشد ($p \leq 0.05$). کد (۱): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۲): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۳): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، کد (۴): نسبت آب و آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۵): نسبت آب و آب تره مساوی + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۶): نسبت آب و آب تره ۳ به ۱ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، کد (۷): نسبت آب و آب تره مساوی و فاقد باکتری های پروبیوتیک.

آب تره در تمام بازه های زمانی با هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد. با گذشت زمان، pH نمونه تمامی نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). فعالیت باکتری های آغازگر موجب افت معنی دار pH طی مدت زمان نگهداری محصولات تخمیری و تولید اسیدهای آلی می شوند (۲۴). در پژوهش حاضر در تمام بازه های زمانی، افزودن باکتری های

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه امکان تولید نوشیدنی فراسودمند با استفاده از عصاره آب تره و همچنین باکتری های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بررسی شد. پائین ترین میزان pH در نمونه های حاوی مقادیر بالاتر

آب‌چغندر تخمیر شده را از ۶/۳ به کمتر از ۴/۵ کاهش دهند (۲۸).

بر اساس نتایج حاصل از بررسی کدورت نوشیدنی پروبیوتیک تولیدی، نشان داد پائین‌ترین میزان کدورت برای نمونه‌های ۳ و ۶ ثبت شد که حاوی کمترین میزان آب‌تره با هر دو باکتری بودند. رئیسی و همکاران (۱۳۹۰) تولید نوشیدنی انگور فرا سودمند با استفاده از عصاره سبوس برنج را بررسی کردند. نتایج این پژوهش نشان داد با افزایش میزان عصاره در فرمولاسیون میزان کدورت افزایش می‌یابد (۲۹). شیخ قاسمی و زمردی (۱۳۹۳) تاثیر کپسوله کردن بر زنده‌مانی *Lactobacillus acidophilus* و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری را بررسی کردند و نتایج نشان داد فعالیت *Lactobacillus acidophilus* به صورت آزاد سبب کاهش معنی‌دار میزان شفافیت و افزایش کدورت در آب سیب شده است. این در حالی است که استفاده از فرم کپسوله پروبیوتیک تنها در انتهای دوره نگهداری، تغییرات معنی‌داری را در شفافیت و کدورت ایجاد کرد (۳۰). پژوهش‌های مذکور نتایج بررسی حاضر را تایید می‌کنند. متابولیت‌های حاصل از باکتری‌های پروبیوتیک باعث افزایش کدورت نوشیدنی می‌شوند (۳۰). شاه و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند کدورت آب میوه‌های مدل حاوی *Lactobacillus rhamnosus*، *Bifidobacterium lactis* و *Lactobacillus paracasei* پس از ۶ هفته نگهداری در دمای ۴ °C به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (۱۴). در حالی که در مطالعه حاضر با افزایش زمان نگهداری کدورت نمونه‌ها افزایش یافت.

آهن یکی از ریزمغذی‌های حیاتی در تغذیه انسان است که کمبود آن باعث کم‌خونی فقر آهن می‌شود (۳۱). اصلی‌ترین دلایل بروز این نوع کم‌خونی را به دریافت ناکافی، جذب ناکافی یا ترکیبی از هر دو نسبت می‌دهند (۳۲). در تمام روزهای مورد بررسی در این مطالعه، نمونه‌های محتوی مقادیر بالاتر آب‌تره، دارای بالاترین میزان آهن بودند و با گذشت زمان، اختلاف آماری معنی‌داری در میزان

لاکتیکی منجر به کاهش معنی‌دار pH نسبت به نمونه شاهد شد. نمونه‌های محتوی مقادیر بالاتر آب‌تره، pH پائین‌تری را نسبت به نمونه‌های دیگر نشان دادند که می‌توان آن را به pH آب‌تره نسبت داد.

میزان pH و اسیدیته، از عوامل مهم در تهیه یک فراورده پروبیوتیکی محسوب می‌شوند؛ زیرا کاهش pH در مدت زمان نگهداری محصول، با افزایش تولید اسید توسط باکتری‌ها همراه است و بیشترین اسید تولید شده، اسید لاکتیک می‌باشد. اگر مقدار این اسید بیش از حد باشد در طعم و مزه فراورده تأثیر گذاشته و شرایط نامطلوبی را برای محصول ایجاد می‌کند (۲۱).

آبمیوه‌ها محتوی مقادیر بالای اسیدهای آلی هستند که کاهش pH توسط فعالیت باکتری‌ها نیز آن را تشدید می‌کند. *Lactobacillus* ها اغلب مقاوم به تغییرات pH در آبمیوه‌ها هستند (pH=۴/۳-۳/۷) و بیفیدوباکترها مقاومت کمتری به اسید تولید شده و کاهش pH دارند و pH = ۴/۶ برای زنده‌مانی آن‌ها مضر است (۲۵). به‌طور کلی قابلیت بقای پروبیوتیک‌ها در فراورده‌های تخمیری به دلیل پائین بودن pH و بالا بودن اسیدیته نسبتاً اندک است (۲۶، ۲۷).

در تطابق با مطالعه حاضر، پژوهشی توسط Yoon و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد که از نژادهای *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus plantarum*، *Lactobacillus casei* و *Lactobacillus delbrueckii* برای تولید آب گوجه‌فرنگی پروبیوتیک استفاده کردند. نتایج این مطالعه نشان داد *Lactobacillus plantarum* نسبت به سایر گونه‌ها، قند را با سرعت بیشتری مصرف می‌کند و در نتیجه اسید بیشتری تولید و موجب کاهش قابل توجه pH آب گوجه‌فرنگی می‌شود (۷). در پژوهشی دیگر از چغندرهای بزرگ با بافت سفت به‌عنوان محیط مناسب رشد پروبیوتیک‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد *Lactobacillus acidophilus* و *Lactobacillus plantarum* نسبت به سایر گونه‌ها میزان بیشتری اسید لاکتیک تولید می‌کنند و می‌توانند پس از ۴۸ h گرمخانه‌گذاری در ۳۰ °C، pH

3 *Lactocaseibacillus rhamnosus*
4 *Lactocaseibacillus paracasei*

1 *Lactiplantibacillus plantarum*
2 *Lactobacillus delbrueckii*

آهن نمونه‌ها مشاهده نشد. منبع اصلی تامین آهن در این نوشیدنی، میزان آهن موجود در گیاه آب تره بود و باکتری پروبیوتیک و شرایط نگهداری تأثیری در میزان آهن نداشت. اسلامی مشکنانی و همکاران (۱۳۹۳) در بررسی اثر افزودن پودر ریزجلبک *اسپیروولینا پلاتنسیس*^۱ بر ویژگی‌های دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعنای به نتایج مشابهی دست پیدا کردند. میزان آهن در تیمارها با افزودن ریزجلبک/اسپیروولینا پلاتنسیس به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین، بررسی میزان آهن در طی مدت ماندگاری هیچگونه تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. میان محتوی آهن تیمارهای حاوی ۰/۵ و ۱٪ نعنای نیز تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. (۳۳).

در تمامی گیاهان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی با میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی رابطه مستقیم دارد. رادیکال آزاد DPPH رنگ بنفش و جذبی قوی و مشخص در ۵۱۷ nm دارد و می‌تواند با ترکیب‌های ضد اکسیدکننده بدون اکسیژن واکنش داده و با جذب یک اتم هیدروژن یک مولکول DPPH-H زرد پایدار تولید کند که به سادگی با اسپکتروفتومتر UV قابل بررسی است (۳۴). ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند از تخریب اکسیداتیو سلول‌های پروبیوتیک مانع نمایند (۳۵). در این مطالعه نمونه‌های محتوی مقادیر بالاتر آب تره دارای محتوای فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری بودند و با گذشت زمان IC_{50} تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش و میزان ترکیبات فنلی آنها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). به نظر می‌رسد که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در نوشیدنی‌های پروبیوتیک تهیه شده از گیاه آب تره دستخوش تخریب اکسیداتیو شده‌اند. در تمام نمونه‌های تولیدی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی کل در طول دوره نگهداری به‌طور معنی‌دار کاهش یافت. تیمارهایی که درصد آب تره بیشتری داشتند از فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری برخوردار بودند. مقادیر بالاتر آب تره، تأثیر بیشتری نیز بر زنده‌مانی باکتری‌ها داشت. نتایج مشابهی در سایر پژوهش‌ها به‌دست آمده است. مرحمتی‌زاده و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی تأثیر مکمل‌سازی شیر

پروبیوتیک با عصاره چای سبز و ماست، بیان کردند که ارتباط مثبت و مستقیم بین افزایش جمعیت باکتریایی و افزایش غلظت عصاره وجود داشت که به ترکیبات پلی‌فنلی موجود در عصاره و نقش رادیکال‌گیرندگی آنها نسبت داده شد (۳۶). شاه و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آبمیوه مدل‌سازی شده با افزودن عصاره دانه انگور سفید، عصاره چای سبز و ویتامین‌های B2، B3، B6، C به‌عنوان منابع آنتی‌اکسیدانی، بیان کردند که زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در آبمیوه حاوی عصاره چای سبز و عصاره دانه انگور (حاوی ویتامین C) افزایش یافت (۱۴). در روزهای یکم و پانزدهم، بالاترین میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مربوط به نمونه‌های ۱ (حاوی ۰/۷۵٪ آب تره) و ۴ (حاوی ۰/۷۵٪ آب تره) بود ($p \leq 0.05$) و پائین‌ترین میزان زنده‌مانی باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در نمونه‌های ۳ و ۶ مشاهده شد. کاهش زنده‌مانی باکتری‌ها با گذشت زمان را می‌توان به تولید اسید، کاهش pH و مصرف ترکیبات مغذی مورد استفاده باکتری‌ها نسبت داد. همچنین، با توجه به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها در طی زمان ۳۰ روز، یکی از دلایل کاهش زنده‌مانی ریززنده‌ها را می‌توان به کاهش اثر آنتی‌اکسیدانی آنها در طی زمان نسبت داد (۲۱). Yoon و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند در صورت استفاده از نژادهای *لاکتوباسیلوس پلانناروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* برای تخمیر آب کلم، تعداد این ریززنده‌ها پس از ۴۸ h تخمیر در دمای ۳۰ °C به میزان 10^9 cfu/mL می‌رسد. پس از ۴ هفته نگهداری یخچالی آب کلم، تعداد سلول‌های زنده *لاکتوباسیلوس پلانناروم* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* به ترتیب 10^7 fu/mL و 10^5 cfu/mL بود (۳۷). امینی‌نیا و همکاران (۱۳۹۵) در تولید نوشیدنی فرا سودمند آب کرفس با استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک به نتایج مشابهی با این پژوهش رسیدند.

نتایج ارزیابی حسی نشان داد که در همه نمونه‌ها و تمام روزهای مورد بررسی، اختلاف آماری معنی‌داری در امتیاز

¹ *spirulina platensis*

9. Luckow, T. and Delahunty, C., 2004. Which juice is 'healthier'? A consumer study of probiotic non-dairy juice drinks. *Food Quality and Preference*, 15(7-8), pp.751-759.
10. Semjonovs, P., Shakizova, L., Denina, I., Kozlinskis, E. and Unite, D., 2014. Development of a fructan-supplemented synbiotic cabbage juice beverage fermented by *Bifidobacterium lactis* Bb12. *Research Journal of Microbiology*, 9(3), p.129.
11. Chaikham, P., 2015. Stability of probiotics encapsulated with Thai herbal extracts in fruit juices and yoghurt during refrigerated storage. *Food Bioscience*, 12, pp.61-66.
۱۲. امینی نیا، ه، رضوی، ه، عیوض زاده، ا، ۱۳۹۵. تولید نوشیدنی فرا سودمند آب کرفس با استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک، فصل نامه علوم و صنایع غذایی، دوره ۱۳، شماره ۵۱، صفحه ۱۰۳ تا ۱۰۶.
13. Brown, A.C. and Valiere, A., 2004. Probiotics and medical nutrition therapy. Nutrition in clinical care: an official publication of Tufts University, 7(2), p.56.
14. Shah NP, Ding WK, Fallourd MJ, Leyer G. 2010. Improving the Stability of Probiotic Bacteria in Model Fruit Juices Using Vitamins and Antioxidants. *Journal of Food Science*. 75: 45-41.
۱۵. سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷. آمیبیوه: ویژگی‌ها و روش‌های آزمون، شماره ۲۶۸۵.
16. Çam, M., Hışıl, Y. and Durmaz, G., 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food chemistry*, 112(3), pp.721-726.
17. Khalighi-Sigaroodi, F., Ahvazi, M., Hadjiakhoondi, A., Taghizadeh, M., Yazdani, D., Khalighi-Sigaroodi, S. and Bidel, S., 2012. Cytotoxicity and antioxidant activity of 23 plant species of Leguminosae family. *Iranian journal of pharmaceutical research: JJPR*, 11(1), p.295.
۱۸. شریعتی فرن، کامکار، ا، شمس اردکانی، م، میثاقی، ع، ۱۳۹۰. بررسی کمی و کیفی ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه علف هیضه. افق دانش؛ فصلنامه ی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی گناباد) دوره ی ۱۷. شماره ی ۴. صفحه ۳۷.
۱۹. انتظاری، م، پایروند، ف، - ۱۳۹۱. بررسی مقایسه ای عناصر آهن، روی، منگنز و مس در شوید و شنبلیله. خلاصه مقالات سومین کنگره عناصر کمیاب ایران دانشگاه علوم پزشکی کاشان. دوماهنامه فیض دوره - ۱۶

طعم، بو، بافت و ظاهر، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها وجود نداشت ($p > 0.05$).

در نهایت با بررسی نتایج نمونه‌های ۱ (با نسبت آب به آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس کارنی) و ۴ (نسبت آب به آب تره ۱ به ۳ + باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس)، اگرچه، به دلیل مقادیر بالای آب تره از کدورت بیشتری برخوردار بودند ولی از نظر pH، مقدار آهن، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی و همچنین زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها شرایط بهتری نسبت به سایر تیمارها داشتند. نتایج نشان داد می‌توان از عصاره گیاه آب تره برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک با خصوصیات فیزیوشیمیایی و حسی مناسب استفاده کرد.

منابع

- Ferrari C K, 2007. Functional foods and physical activities in health promotion of aging people. *Maturitas*, 58: 327-339.
- Ross R P, Fitzgerald G, Collins K and Stanton C, 2002. Cheese delivering biocultures: probiotic cheese. *Australian Journal of Dairy Technology* 57: 71-78.
- Boylston T D, Vinderola C G, Ghoddsi H B and Reinheimer J A, 2004. Incorporation of bifidobacterium into cheeses: challenges and rewards. *International Dairy Journal* 14: 375-387.
- De Vos P, Faas M M, Spasojevic M and Sikkema J, 2010. Encapsulation for preservation of functionality and targeted delivery of bioactive food components. *International Dairy Journal* 20: 292-302.
- Heenan C N, Adams M C, Hosken, R W and Fleet G H, 2004. Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a no fermented frozen vegetarian dessert. *Lebensmittel-Wissenschaft und- Technology* 37: 461-466.
- Carlos K, Ferrai B and Faculdades, C. 2007. Functional food and physical activities in health promotion of again people. *Maturitas* 58: 327-339.
- Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D., 2004. Probiotication of tomato juice by lactic acid bacteria. *Journal of microbiology*, 42(4), pp.315-318.
- Hecht, S.S., Chung, F.L., Richie Jr, J.P., Akerkar, S.A., Borukhova, A., Skowronski, L. and Carmella, S.G., 1995. Effects of watercress consumption on metabolism of a tobacco-specific lung carcinogen in smokers. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 4(8), pp.877-884.

- شماره ۷ - صفحه ۶۶۵.
۲۹. رئیسی. ف، رضوی. ه، حجت الاسلامی. م، ۱۳۹۰. تولید نوشیدنی انگور فراسودمند با استفاده از عصاره سبوس برنج، بیستمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی، تهران.
۳۰. شیخ قاسمی. ش، زمردی. ش، ۱۳۹۳. تاثیر کپسوله کردن بر زنده ماندن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط. علوم غذایی و تغذیه، دوره ۱۱، شماره ۳، صفحات ۸۱-۹۰.
31. Gaucheron, F., 2000. Iron fortification in dairy industry. *Trends in Food Science & Technology*, 11(11), pp.403-409.
32. Xia, S. and Xu, S., 2005. Ferrous sulfate liposomes: preparation, stability and application in fluid milk. *Food research international*, 38(3), pp.289-296.
۳۳. اسلامی مشکنانی. ع، فدائی نوغانی. و، خسروی دارانی. ک، مزینانی. ص، ۱۳۹۳. بررسی اثر افزودن پودر ریز جلبک اسپیرولینا پلاتنسیس بر برخی از ویژگی های فیزیکیوشیمیایی و حسی دوغ پروبیوتیک حاوی پودر نعناع. فصلنامه فناوری های نوین غذایی، سال دوم، شماره ۶، صفحه ۷۰-۵۹.
۲۰. الهامی راد. ا، محمدی. ع، ۱۳۹۴. فرمولاسیون نوشابه گاز دار با استفاده از عرق بید مشک و ارزیابی تغییرات فیزیکیوشیمیایی و میکروبی آن در طی نگهداری، مجله پژوهش های علوم و صنایع غذایی، صفحه ۳.
۲۱. توتونچی پ، حصاری ج، مرادی م، فتحی آچاچلویی ب، ۱۳۹۴. ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5. نشریه پژوهش های صنایع غذایی، جلد ۲۵ شماره ۴. صفحات ۲۵-۳۴.
۲۲. قضاوی. ن، مشتاقی. ح، بنیادیان. م، ۱۳۹۵. تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب قرمز و زرد. مجله میکروب شناسی مواد غذایی. صفحات ۱-۳.
23. Crizel, T.D.M., Araujo, R.R.D., Rios, A.D.O., Rech, R. and Flôres, S.H., 2014. Orange fiber as a novel fat replacer in lemon ice cream. *Food Science and Technology*, 34, pp.332-340.
24. Samira, Y., Mostafa, M.T. and Fakhri, S., 2007. Studying microbial, physiochemical and sensory properties of directly concentrated probiotic yoghurt. *African Journal of Agricultural Research*, 2(8), pp.365-369.
25. Tripathi, M.K. and Giri, S.K., 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of functional foods*, 9, pp.225-241.
26. Varnam, A.H. and Sutherland, J.P., 1994. Fermented milks. In *Milk and Milk Products* (pp. 346-386). Springer, Boston, MA.
27. Kitazawa, H., Ueha, S., Itoh, S., Watanabe, H., Konno, K., Kawai, Y., Saito, T., Itoh, T. and Yamaguchi, T., 2001. AT oligonucleotides inducing B lymphocyte activation exist in probiotic *Lactobacillus gasseri*. *International journal of food microbiology*, 65(3), pp.149-162.
28. Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D., 2005. Fermentation of beet juice by beneficial lactic acid bacteria. *LWT-Food Science and Technology*, 38(1), pp.73-75.
34. Netzel, M., Netzel, G., Tian, Q., Schwartz, S. and Konczak, I., 2007. Native Australian fruits—a novel source of antioxidants for food. *Innovative food science & emerging technologies*, 8(3), pp.339-346.
35. Nag, A. and Das, S., 2013. Improving ambient temperature stability of probiotics with stress adaptation and fluidized bed drying. *Journal of functional foods*, 5(1), pp.170-177.
36. Marhamatizadeh, M.H., Ehsandoost, E. and Gholami, P., 2013. The influence of green tea (*Camellia sinensis* L.) extract on characteristic of probiotic bacteria in milk and yoghurt during fermentation and refrigerated storage. *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(17), pp.599-606.
37. Yoon, K.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D., 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource technology*, 97(12), pp.1427-1430.

Evaluation of physicochemical properties and lactic acid bacteria survival in watercress extract (*Nasturtium officinale*) functional beverage

Leila Mozafari¹, Akram Sharifi^{1*}, Atoosa Farrokh¹

* asharifi@qiau.ac.ir



¹Department of Food Science and Technology, Qazvin Branch, Islamic Azad University, Qazvin, Iran

Abstract

In this research, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* bacteria were added to watercress drink and the physicochemical properties, antioxidant activity, viability of probiotic bacteria and sensory characteristics of the samples were investigated in the period of 1, 15 and 30 days after production. The results showed that the pH in all samples decreased significantly with time. Brix of the samples containing higher amounts of watercress was more, and with the passage of time, the turbidity of all samples decreased significantly. The samples containing higher amounts of watercress had higher total phenol and antioxidant activity, and with the passage of time, the IC50 of all samples increased significantly and their total phenol decreased significantly. On the 1st and 15th days, the highest viability rates of both microorganisms belonged to samples containing 75% watercress. Watercress extract helped the viability of *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus acidophilus* with its antioxidant activity and significant phenolic compounds. The results of the sensory evaluation showed that there was no statistically significant difference in the score of flavor, aroma, texture, color and overall acceptability of the samples on all the days investigated.

Keywords: watercress, Functional, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*