نشریه فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد هفتم، شماره دوم، ۹٤
۱۷-۳۸
http://ejfpp.gau.ac.ir

تولید و بسته‌بندی نوشیدنی تخمیری فراسودمند از شیره خرما حاوی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*

مهری کرباسی[1*]، سیدمحمد موسوی[2] و محمد سعید یارمند[3]
[1]دانشجوی دکتری، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[2]استاد، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
[3]دانشیار، گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تهران، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش:۹۳/۰۳/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: هدف اصلی این پژوهش تولید نوشیدنی فراسودمند از شیره خرما به کمک *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و بررسی عوامل مؤثر بر ماندگاری آن طی دوره نگهداری به‌مدت ۱۲ هفته می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تخمیر توسط *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٤۸ ساعت انجام گرفت. سینتیک رشد و تغییرات عوامل محیطی نظیر pH، اسیدیته، افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی طی تخمیر بررسی شد. در مرحله بعد، نوشیدنی تخمیری به‌دست‌آمده با شکر و اسید سیتریک فرموله شد و در ظروف شیشه‌ای و پلی‌اتیلن‌ترفتالات بسته‌بندی گردید. نوشیدنی‌ها تحت شرایط مختلف دما (دمای محیط و ٤°C) و نور (بسته‌بندی در بطری‌های رنگی و شفاف) به‌مدت ۱۲ هفته نگهداری شدند و در فاصله‌های زمانی ١٤روزه، آزمون‌های شیمیایی شامل شدت رنگ، مقدار ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آزمون‌های میکروبی شامل شمارش کلی میکروبی و تعیین کپک و مخمر روی نمونه‌ها انجام شد.

یافته‌ها: نتایج به‌دست‌آمده از بررسی منحنی رشد نشان داد که جمعیت باکتریایی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* پس از ۲۰ ساعت به بیش از $۱۰^{۸}$ سلول بر میلی‌لیتر رسید. این باکتری در پایان دوره رشد لگاریتمی خود pH رابه کمتر از ٤/۳ کاهش داد که از نظر تکنولوژیکی و ممانعت از رشد سایر میکروارگانیسم‌های ناخواسته مورد توجه است. آزمایش‌ها نشان دادند که با توجه به تاثیر معنی‌دار زمان، نور، دما و بسته‌بندی ($P<۰/۰۵$)، نمونه‌های نوشیدنی در بطری‌های شیشه‌ای، دمای درجه سانتی‌گراد و شرایط بدون نور بیشترین خواص فراسودمند مربوط

*نویسنده مسئول: mehri.karbasi@ut.ac.ir

به ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بودند. همچنین، با انجام آزمون میکروبی در هیچ‌یک از نمونه‌های نگهداری شده، آلودگی کپک، مخمر و باکتری‌های مزوفیل هوازی مشاهده نشد و ارزیابی حسی نیز تغییرات معنی‌داری را در پارامترهای اندازه‌گیری شده نشان نداد.

نتیجه‌گیری: نتایج مشخص می‌کند که نوشیدنی شیره خرما باید به‌عنوان محصولی با مدت زمان ماندگاری متوسط و در بهترین حالت به‌مدت ٦ هفته عرضه شود تا بیشترین اثرات سلامتی‌بخش را از نظر آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنولی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: شیره خرما، تخمیر لاکتیکی، نوشیدنی فراسودمند، بسته‌بندی، تغییرات شیمیایی

مقدمه

در دهه اخیر تغییرات چشمگیری در درک نقش غذا در ارتقای سطح سلامت جامعه ایجاد شده است. تحقیقات علمی از بررسی نقش غذا به‌عنوان منبع انرژی، به بررسی فعالیت بیولوژیکی غذا در ارگان‌های مختلف، تغییر جهت داده‌اند. پیشرفت‌های علمی سبب گردیده تا مصرف‌کنندگان نیز به نقش غذا در بهبود کیفیت زندگی، افزایش طول عمر و پیشگیری از بیماری‌هایی هم‌چون عفونت‌های گوارشی، تصلب شرائین اکلیلی[1] (سرخرگ کُرُنری) قلب، کلسترول خون، سرطان (به‌خصوص سرطان روده) و التهاب مجرای گوارشی علاقه‌مند شوند (۲۸). در این راستا، الگوی غذایی جوامع پیشرفته و در حال‌توسعه به‌سمت تولید غذاهای عملگرا و سلامت‌بخش با کیفیت بالاتر و ارزش تغذیه‌ای بیشتر سوق داده شده است. غذای عملگرا[2] افزون بر خواص تغذیه‌ای پایه[3]، حداقل دارای یک ویژگی سلامتی‌بخش مشخص و ثابت شده نیز می‌باشد که توسط دانشمندان علم تغذیه توصیه و توسط مصرف‌کننده مصرف می‌شود (۹). فراورده‌های غذایی تخمیری هم جزء این دسته فراورده‌ها می‌باشند. ازآن‌جا که کشور ایران در تولید خرما پیشتاز است و از طرفی ضایعات این محصول کشاورزی بسیار بالا است، می‌توان با تولید فراورده‌های تخمیری جدید ازشیره خرما گامی عملیاتی در جهت تحقیقات صورت گرفته، برداشت.

لاکتیک‌اسید باکتری‌ها که معمولاً به‌عنوان باکتری‌های ایمن شناخته شده‌اند[4]، متابولیت‌های متفاوتی همچون اسیدهای آلی (به‌ویژه اسید لاکتیک)، دی‌اکسیدکربن، اتانول، هیدروژن پراکسید، دی‌استیل، باکتریوسین، اگزوپلی‌ساکارید، اسیدگاماآمینوبوتیریک، آنزیم، طعم، بافت و ترکیبات مغذی طی فرآیند تخمیر، تولید می‌کنند. این ترکیبات منجر به اثرات مهمی مانند ایجاد شرایط اسیدی، جلوگیری از رشد باکتری‌های بیماری‌زا و کاهش فاکتورهای ضد تغذیه‌ای می‌شوند (۲۲).

پراکندگی جغرافیایی خرما (*Phoenix dactylifera*) در ایران به‌صورتی است که بخش وسیعی از اراضی زیرکشت کشور را دربرگرفته وبیش از ۲۵۰ هزار هکتار مربوط به نخلستان‌های خرما می‌باشد. تولید جهانی خرما سالانه بین ۲/۵ تا ٤ میلیون تن می‌باشد، در این بین ایران سهم عمده‌ای داشته و اولین تولیدکننده خرما در دنیا می‌باشد (۱۳). خرما میوه بسیار مغذی است که به‌دلیل انرژی‌زایی بسیار

1. Coronary Thrombosis
2. Functional Food
3. Basic Nutritional Properties
4. Generally Recognized as Safe (GRAS)

بالا (۳۰۰۰ کالری بر کیلوگرم) در مقایسه با سایر میوه‌ها و مواد غذایی، همیشه مورد توجه بوده است (۱۳). خرما به‌عنوان یک شیرینی مغذی حاوی قند (۸۸-٤٤ درصد)، چربی (۰/۵-۰/۲ درصد)، پروتئین (٥/٦-۲/۳ درصد)، فیبر غذایی (۱۱/۵-٦/٤ درصد)، ویتامین و مواد معدنی همچون آهن، فسفر، پتاسیم و کلسیم (۱/۳درصد) می‌باشد (۵). از نظر ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز میوه خرما منبع بسیار خوبی است، چنین فعالیتی نیز برای شیره خرما گزارش شده است (۲، ٤، ۱۰ و ۳۹). تحقیقات نشان داده است که خرما دارای ویژگی ضدجهش بوده و خطر بیماری‌های مختلفی چون دیابت، چاقی و سرطان را کاهش می‌دهد (۱۱ و ۳۹). این میوه برای افرادی که نمی‌توانند ساکارز را تحمل کنند و از بیماری ارثی کمبود ساکارزایزو مالتاز رنج می‌برند، بسیار مفید می‌باشد (۱۳). مقادیر زیادی از خرمای تولیدی درجه ۳ یا ٤ می‌باشد که از آن در خوراک دام استفاده می‌شود یا دور ریخته می‌شود، بنابراین تبدیل خرما به شیره آن به‌عنوان یکی از محصولات اصلی از نظر اقتصادی بسیار مقرون به‌صرفه می‌باشد. شیره خرما به‌عنوان نگهدارنده آب، امولسیفایر و تنظیم‌کننده بافت کاربردهای متفاوتی در تولید محصولاتی نظیر مربا، مارمالاد، آبمیوه، شکلات، شیرینی، اسید سیتریک، اکسی‌تتراسایکلین، سرکه، اتانول و مخمر نان دارد (۱، ۱۲ و ۲٤).

هدف این مطالعه تولید نوشیدنی تخمیری از شیره خرما و بررسی اثر فرایند تخمیر بر تغییرات pH، اسیدیته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولیک و پایداری آن طی دوره نگهداری محصول می‌باشد. برای این منظور عصاره شیره خرمای تخمیری (در انتهای فاز لگاریتمی) با آب، اسید سیتریک و شکر فرموله شد و در بطری‌های شیشه‌ای و پلی‌اتیلن‌ترفتالات[1] بسته‌بندی گردید و پس از پاستوریزاسیون، پارامترهای تاثیرگذار (دما و نور) بر پایداری و ویژگی‌های کیفی محصول طی مدت زمان ماندگاری آن بررسی شد. همچنین، رنگ، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی و شرایط میکروبی (کپک، مخمر و شمارش کلی) طی نگهداری محصول بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

شیره خرمای تجاری رنگبری نشده از شرکت شهد پارس (تبریز، ایران) خریداری و قبل از استفاده در دمای اتاق نگهداری شد. *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* GG۱۰۰۲۷۱ از شرکت DSM GMBH (آلمان) خریداری شد. محیط کشت‌های باکتریایی که به‌صورت منجمد در ۲۰°C- در محیط من‌رگوسا شارپ

1. Polyethylene Terephthalate (PET)

(MRS)[1](Merck، آلمان) حاوی ۲۰درصد گلیسرول نگهداری شده بودند، به‌وسیله پاساژ دوبل روی محیط MRS دوباره فعال شدند. ظروف بسته‌بندی (پلی‌اتیلن‌ترفتالات و شیشه) از شرکت زمزم ایران تهیه شدند.

تخمیر شیره خرما: شیره خرمای غلیظ با بریکس ۷۲ درجه؟ که با رفراکتومتر (Bellingham و Stanly، لندن، انگلیس) اندازه‌گیری شده بود با آب مقطر تا بریکس ۱۰ درجه؟ رقیق شد. آزمایش‌های اولیه میکروبی نشان داد که باکتری‌های اسید لاکتیک بدون اضافه‌کردن هیچ ماده افزودنی و تنظیم pH در محیط شیره خرما به‌خوبی رشد کردند. شیره خرما با pH اولیه ۰/۱±٤/٥ در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شد. به شیره خرما یک کشت ٤۸ ساعته باکتری اسیدلاکتیک در MRS آگار (>10^5CFU/ml)که در ۳۷ درجه سانتی‌گراد رشد داده شده بود، تلقیح شد و مخلوط در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. نمونه‌گیری در فواصل زمانی معینی به‌منظور آنالیزهای شیمیایی و میکروبیولوژیکی انجام شد.

آنالیزهای شیمیایی و میکروبی: عصاره تخمیرشده شیره خرما در بسته‌بندی‌های شیشه‌ای و پلی‌اتیلن ترفتالات (رنگی و شفاف به‌منظور تاثیر و عدم تاثیر نور) بسته‌بندی و به‌مدت ۱۲ هفته در دمای محیط و یخچال نگهداری شد. pH عصاره شیره خرما به وسیله pH متر دیجیتالی (Metrohm 744، هلند) اندازه‌گیری شد. اسیدیته کل برحسب میلی‌گرم اسیدلاکتیک معادل اسیدهای آلی در ۱۰۰ میلی‌لیتر نمونه، به‌وسیله تیتراسیون با سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال تا pH برابر با ۸/۲ تعیین شد. محتوای فنولی کل شیره خرما با روش فولین–سیوکالتو[2]که توسط سینگلتون و رسی (۱۹٦٥) تعیین شده (۳۳)، با کمی تغییرات اندازه‌گیری گردید. مقدار ۰/۲ میلی‌لیتر از شیره خرمای رقیق شده (۰/٥ میلی‌لیتر از شیره و ۱۲/٥ میلی‌لیتر آب) با ۱ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتو (۱۰ درصد حجمی – حجمی) از شرکت مرک (آلمان) مخلوط گردید و بعد از ٥ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، ۰/۸ میلی‌لیتر سدیم کربنات (۷/٥ وزنی – حجمی درصد) به مخلوط اضافه و یک ساعت در تاریکی نگهداری شد. جذب نمونه در ۷٦۰ نانومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (CEILE CE 2502، انگلستان) اندازه‌گیری گردید. نتایج به‌صورت میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در میلی لیتر نمونه (برای عصاره پروبیوتیک) و میلی‌گرم معادل اسیدگالیک در لیتر نمونه (برای نوشیدنی تخمیری) گزارش شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی طبق روش

1. Man Rogosa Sharpe (MRS)
2. FolinCiocalteu

منصوری و همکاران (۲۰۰۵) و کام و همکاران (۲۰۰۹) تعیین شد (۷ و ۲۳). ۲/۵ میلی‌گرم از رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی فنیل پیکریل هیدرازیل از شرکت سیگما (آمریکا) در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول (۰/۰۶۲۵ میلی‌مول بر لیتر) برای آماده‌سازی محلول اولیه ریخته شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از شیره خرمای رقیق شده با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول اولیه مخلوط و یک ساعت در تاریکی قرار داده شد. نمونه شاهد به همان روش تهیه شد اما به جای نمونه، متانول در محلول اولیه ریخته شد. جذب در ۵۱۵ نانومتری با دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد.درصد دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل باقیمانده توسط فرمول ۱ محاسبه گردید:

$$\text{درصد } DPPH_{\text{باقیمانده}} = \frac{[DPPH^{\cdot}]_{\text{نمونه}}}{[DPPH^{\cdot}]_{\text{شاهد}}} \qquad (۱)$$

که شاهد [دی‌فنیل پیکریل هیدرازیل] غلظت اولیه دی فنیل پیکریل هیدرازیل و نمونه [دی فنیل پیکریل هیدرازیل] غلظت در شرایط پایا[1] است. مقدار دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل باقیمانده در شرایط پایا در مقابل غلظت نمونه رسم شد تا فاکتور غلظت کارا[2] (EC_{50}) به‌دست آید. پارامتر EC_{50} غلظت موثری از نمونه است که کاهش ۵۰ درصد از غلظت اولیه دی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل را تامین می‌کند و بر حسب میلی‌لیتر نمونه بر گرم دی فنیل پیکریل هیدرازیل بیان می‌شود. راندمان ضد رادیکال[3] (AE) نیز به صورت فرمول ۲ محاسبه می‌شود:

$$AE = \frac{1}{EC50} \qquad (۲)$$

پارامترهای رنگ‌سنجی شامل L*a* b* با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و روش گنزالز–مولینا و همکاران (۲۰۰۸) با کمی تغییر تعیین شدند (۱۶).

شمارش کلی باکتری‌های هوازی مزوفیل و هم‌چنین سلول‌های باکتریایی اسیدلاکتیک با استفاده از روش شمارش صفحه‌ای استاندارد[4] به‌ترتیب در محیط نوترینت آگار و MRS و برحسب CFU/ml (سلول بر میلی‌لیتر) طبق استاندارد ملی ایران شماره ۵۲۷۲ صورت گرفت (۲۵). آزمون کپک و مخمر

1. Steady State
2. Efficiency Concentration
3. Antiradical Efficiency
4. Standard plate count (SPC)

نیز با استفاده از محیط مخمر گلوکز کلرامفنیکل (YGC) و طبق روش رقت‌سازی دهگانی و کشت سطحی مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۹۹۷ انجام شد (۲٦).

نوشیدنی شیره خرمای تخمیری توسط گروه داوران شرکت زمزم جهت بررسی میزان پذیرش و قابل‌قبول بودن از سوی مصرف‌کننده و با روش ۵ نقطه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. به‌منظور بررسی صفات طعم، مزه، رنگ، بو، پس طعم و احساس دهانی در فرمولاسیون‌های مختلف نوشیدنی شیره خرمای تخمیر شده، فرم ارزشیابی حسی تهیه گردید. در این روش برای هر صفت عددی در نظر گرفته شد که عبارت است از ده برای بالاترین سطح یعنی عالی، هشت برای خوب، شش برای متوسط، چهار برای ضعیف و دو برای کمترین سطح یعنی خیلی ضعیف. میانگین جمع این امتیازها به‌عنوان معیاری برای تعیین میزان پذیرش حسی نوشیدنی در نظر گرفته شد.

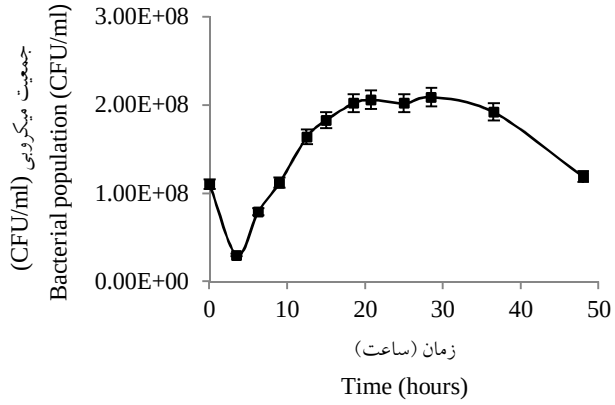
آنالیز آماری

همه آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد و هر نمونه در دو تکرار در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی تجزیه‌وتحلیل گردید. نتایج بر حسب میانگین‌انحراف معیار بیان شد و کلیه اطلاعات و داده‌های گردآوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز گردید (SAS Institute, Cary NC, USA). هر دو میانگین که با بالانویس یکسانی مشخص نشده‌اند (به‌عنوان مثال a و b یا b و c در ردیف‌ها) به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) متفاوت هستند.

نتایج و بحث

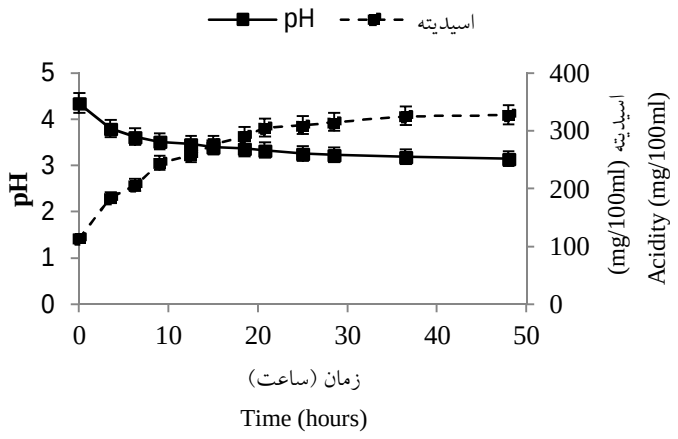
رشد باکتری اسیدلاکتیک: *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* بدون نیاز به هیچ‌گونه ماده افزودنی (منبع کربن و نیتروژن) و یا تنظیم pH به‌خوبی در محیط شیره خرمای رنگبری نشده رشد کرد. یون و همکاران (۲۰۰٦) نیز تخمیر آب کلم را با سه باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* بدون افزودن هیچ ماده دیگری انجام دادند (٤۲). سینتیک رشد باکتریایی طی تخمیر اسید لاکتیکی در شکل ۱ نشان داده شده است که در آن جمعیت باکتریایی از میزان اولیه ۱۱×۱۰^{۷} سلول بر میلی‌لیتر به بیش از $۱۰^{۸}$سلول بر میلی‌لیتر بعد از ۲۰ ساعت تخمیر رسید. از طرفی در مرحله اولیه تخمیر کاهشی در جمعیت میکروبی مشاهده می‌شود که نشان‌دهنده فاز تاخیر طی رشد می‌باشد. MRS براث با pH ۵/٦ به‌عنوان محیط کشت اختصاصی باکتری‌های اسیدلاکتیک، یک محیط

غنی است که مواد مغذی ضروری میکروارگانیسم‌ها را فراهم می‌کند، درحالی‌که شیره خرما با pHپایین‌تر به اندازه محیط MRS برای لاکتوباسیلوس‌ها غنی نیست. بنابراین، کاهشی در جمعیت میکروبی در مراحل اولیه رشد، به‌دلیل سازگاری میکروارگانیسم‌ها با شرایط غذایی جدید و اختلاف pH بین دو محیط رخ می‌دهد. بعد از اتمام فاز تاخیر، جمعیت میکروبی افزایش یافت و به $۲/۰۲\times۱۰^{۸}$ سلول بر میلی‌لیتردر انتهای فاز لگاریتمی رسید اما بعد از آن هیچ افزایش قابل‌توجهی مشاهده نشد ($P>۰/۰۵$)، تا هنگامی‌که منحنی رشد باکتریایی به فاز مرگ رسید .نزرو و همکاران (۲۰۰۸) تخمیر آب‌هویج غنی شده با*لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* را بدون افزودن هیچ ماده مکملی بررسی کردند. تعداد سلول‌های زنده این دو باکتری به‌ترتیب به ۵×۱۰^{۹} و $۵/۱\times۱۰^{۹}$ سلول بر میلی‌لیتررسید، در حالی‌که pH محیط رشد این باکتری‌ها به‌ترتیب ۳/۵۸ و ۳/٦۸ کاهش یافت (۲۷). به‌هرحال رشد متفاوت میکروبی در مطالعات گوناگون به‌دلیل ویژگی‌های فیزیولوژیکی، ترکیب سوبسترا و شرایط رشد می‌باشد.



شکل ۱. منحنی رشد *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* طی تخمیر شیره خرما در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد
Figure 1. *Lactobasilus rhamnosus* growth curve during date syrup fermentation at 37 °C

pH و اسیدیته: کاهش pH از مقدار اولیه ٤/٥ در شیره خرما به حدود ۳ در نمونه تخمیری بعد از ٤٨ ساعت در شکل ۲ نشان داده شده است. طی تخمیر شیره خرما با*لاکتوباسیلوس رامنوسوس*، اسیدیته کل از / ۱۱٤/۳ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر به / ۳۲۷/۸ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر افزایش یافت. گونه‌های لاکتوباسیل بیشتر اسیددوست هستند و می‌توانند pH پایین را تحمل کنند (۳۵).



شکل ۲. تغییرات pH و اسیدیته طی تخمیر شیره خرما. خط تیره تغییرات اسیدیته و خط کامل تغییرات pH

Figure 2. The changes of pH and acidity during date syrup fermentation. The dashed line indicates changes of acidity

تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی کل طی تخمیر: تغییرات در فنول کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی طی تخمیر شیره خرما در جدول ۱ نشان داده شده است. ترکیبات فنولی کل از مقدار اولیه/٦/٨٥ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر به ۱۱/۲۱ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر در پایان تخمیر (٤٨ ساعت) افزایش یافت. علاوه‌براین، مقدار EC_{50} نمونه از ۰/٦ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر به ۰/۳۵ میلی‌گرم در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر کاهش یافت که نشان‌دهنده افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه تخمیری می‌باشد. فلاونوئیدها و ترکیبات فنولیک مثل اسید سینامیک و مشتقات آن باعث فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه خرما می‌شوند. ساختار اسید سینامیک به‌گونه‌ای است که به‌راحتی قادر به از دست دادن هیدروژن می‌باشد و برای رسیدن به پایداری رزونانسی، رادیکال‌های آزاد را مهار می‌کند (۲۳). آنزیم‌های باکتری‌های اسیدلاکتیک و پلیمرزدایی پلی‌فنول‌های پیچیده در شرایط اسیدی شیره خرمای تخمیرشده ممکن است منجر به افزایش مولکول‌های کوچک با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا شده باشد (۱۸). در کل، بیشتر ترکیبات فنولیک موجود در گیاهان با قندها به شکل گلیکوزید درآمده‌اند. دسترسی هیدروکسیل آزاد حلقه فنولی در پایداری رزونانسی رادیکال‌های آزاد نقش مهمی دارد. بنابراین، در شرایطی که ترکیبات فنولی آزاد از فرم گلیکوزیدی خارج شوند، خواص آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه خواص سلامتی‌بخش این دسته از ترکیبات بهبود می‌یابد (۳۱). به‌طورکلی، تفاوت بین محتوای فنولی و میزان

آنتی‌اکسیدان نمونه‌های شیره خرما به‌دلیل تفاوت در شـرایط رشـد، واریتـه، رسـیدگی، فصـل، منشـاء جغرافیایی، شرایط نگهداری، روش استخراج و نوع حلال مورد استفاده می‌باشد (۲).

جدول ۱. غلظت کارا (EC_{50})، راندمان ضد رادیکال (AE) و محتوای فنول کل شیره خرمای تخمیر شده

Table 1. Efficient concentration (EC_{50}), Antiradical efficiencies (AE) and Total phenolic compounds of fermented date syrup

ترکیبات فنولیک (mg GAE/ml) Phenolic compounds (mg GAE/ml)	EC_{50} (ml/g)	AE ($1/EC_{50}$)	نمونه Sample
٦/٨٥±٠/٧١[b]	٠/٦٠±٠/٠٢[a]	١/٦٦±٠/٠٥[b]	نمونه تخمیر نشده Unfermented sample
١١/٢١±٠/٨٤[a]	٠/٣٥±٠/٠١[b]	٠/٣٥±٠/٠١[a]	رامنوسوس rhamnosus L.

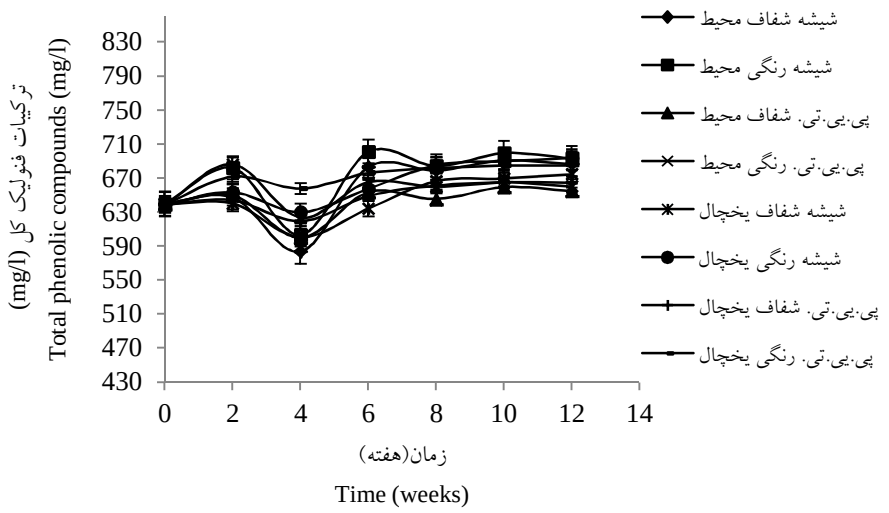
نتایج (میانگین±انحراف استاندارد برای ۳ تکرار) دارای حروف غیرمشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر دارند (طبق آزمون دانکن، P<۰/۰۵). GAE، معادل گالیک اسید

تولید نوشیدنی از شیره خرمای تخمیری: در این مرحله از شـیره خرمـایی کـه بـه‌مـدت ۱۸ سـاعت گرمخانه‌گذاری و تخمیر شده بود، استفاده گردید. براساس شکل ۱ مدت فاز لگـاریتمی طـی شـده و متابولیت‌های میکروبی در بیشترین میزان خود هستند. سپس، فرمولاسیون نوشیدنی با عصاره تخمیرشده شیره خرما، آب بدون املاح، شکر و اسید سیتریک تهیه شد و توسط گروه داوران شرکت زمزم جهت بررسی میزان پذیرش و قابل‌قبول بودن از سوی مصرف‌کننده با روش ۵ نقطـه‌ای مـورد ارزیـابی قـرار گرفت.ارزیاب‌ها پس از بررسی نوشیدنی به فاکتورهای مورد پرسش، براساس میزان علاقه‌مندی امتیـاز دادند. میانگین نهایی برای این نوشیدنی ۸/۱۳ بود که درجه‌ای بین خوب و عالی می‌باشد. به‌این‌ترتیب، این نوشیدنی از نظر مصرف‌کنندگان قابل قبول می‌باشد. نوشیدنی‌های تهیه شده در بطری‌های پلی‌اتیلن ترفتالات و شیشه‌ای که هر کدام به دو صورت شفاف (به منظور تاثیر نور) و رنگی (عدم تاثیر نور) بودند به میزان ۵۰ میلی‌لیتر ریخته و سپس درب‌بندی گردیدند. پس از تکمیل عملیات درب‌بندی، بطـری‌هـا به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد توسط آب داغ پاستوریزه وسپس به سرعت دمـای ۳۵ درجه سانتی‌گراد خنک گردیدند (۸). در ابتدای دوره نگهداری، آزمایش‌های موردنظر برروی نمونه‌های تازه تولید شده انجام گرفت و نتایج حاصل از این آنالیز به عنوان شاهد جهت سنجش تغییرات حاصله در زمان و شرایط مختلف نگهداری منظور گردید (جدول ۲).

ترکیبات فنولی نوشیدنی تخمیری: ترکیبات فنولی در سبزیجات، میوه‌ها، گیاهان، چای و آبمیوه‌ها وجود دارند، بنابراین از اجزای ضروری رژیم غذایی انسان محسوب می‌شوند (۲۱) و باعث کاهش خطر بیماری‌های قلبی و عروقی، سکته مغزی و انواع خاصی از سرطان‌ها می‌شوند (۱۹ و ۳۰). با توجه به شکل ۳ ترکیبات فنولی در تمام نمونه‌های نوشیدنی پس از ٤ هفته نگهداری به‌طور معنی‌داری، ابتدا طی ۲ هفته افزایش و سپس تا هفته چهارم کاهش یافتند، پس از این زمان تا پایان هفته هشتم نیز به‌طور معنی‌داری، ابتدا مقادیر افزایشی نشان داد و سپس کاهش یافت (P<۰/۰۵)، سپس تا انتهای دوره نگهداری روند نسبتا ثابتی داشت، به‌گونه‌ای که کمترین مقدار ترکیبات فنولی پس از ٤ هفته نگهداری اندازه‌گیری شد. ساياه و همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه اثر بسته‌بندی و زمان برروی ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی سنتلا آسیاتیکا[1] و کلیمچاک و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی اثر دما و زمان بر محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو آب پرتقال تجاری طی نگهداری، نیز نتایج مشابهی را اعلام کردند (۲۱ و ۳۲). در این مطالعه محتوای فنولی نمونه‌های آب پرتقال تا ماه چهارم کاهش یافت و سپس تا انتهای زمان نگهداری یعنی بعد از ٦ماه دوباره افزایش پیدا کرد. درمطالعه حاضرمیزان ترکیبات فنولی پس از ٦هفته برای بسته‌بندی‌های PET رنگی، شیشه رنگی، PET شفاف و شیشه شفاف به‌ترتیب برابر با ٦٧٦/٠٧، ٦٥٧/٦٤، ٦٤٩/١٢ و ٦٣٤/٤٥ میلی‌گرم اسید گالیک در لیتر در دمای یخچال و ٦٦٥/٣٧، ٧٠١/٠٤، ٦٥٣/٤٨، ٦٨٣/٢٠ میلی‌گرم اسید گالیک در لیتر در دمای محیط بود. افزایش در ترکیبات فنولی ممکن است به‌دلیل تشکیل ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه طی نگهداری باشد که با معرف فولین- سیوکالتو واکنش داده و میزان ترکیبات فنولی را افزایش داده‌اند (۱۵، ۲۱، ۳۲ و ۵۱). در کل تغییرات به‌وجود آمده در نوشیدنی وابسته به ترکیب فیتوشیمیایی[2] و شرایط نگهداری آن می‌باشد (۳٤). از طرفی روش اندازه‌گیری ترکیبات فنولیک با معرف فولین-سیوکالتو روش مناسبی برای اندازه‌گیری کل فنول‌ها نمی‌باشد زیرا این معرف فقط با فنول‌ها واکنش نمی‌دهد بلکه با ترکیبات کاهنده غیرفنولی مختلف مثل آمین‌های آلیفاتیک، بافرهای بیولوژیک، آمینواسیدها (تریپتوفان)، هیدروکسیل آمین، هیدرازین، برخی از پورین‌ها و سایر عوامل کاهنده و غیرکاهنده که منجر به افزایش ترکیبات فنولی کل می‌شوند نیز واکنش می‌دهد (۱۷). همچنین،فنول‌های مختلف در ارزیابی با معرف فولین-سیوکالتو می‌توانند جواب‌های مختلفی را نشان دهند. ارائه جذب

1. Centella asiatica
2. Phytochemical

کمتر منجر به تخمین کمتر ترکیبات مختلف فنولی می‌شود (٤١). فـاکتور نـور نیـز بـر روی تغییـرات محتوای فنولی معنی‌دار بوده است (P<۰/۰۵)، بدین ترتیب که نمونه‌ها در غیاب نور، مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی را نشان داده‌اند. پایداری پلی‌فنول‌ها در مواد غذایی و نوشیدنی‌هـا تحـت تـاثیر عوامـل خارجی همچون نور، اکسیژن و دماهای مختلف نگهداری قرار می‌گیرد، به این صورت که دمای بالاتر و وجود نور و اکسیژن سبب تسریع کاهش ترکیبات فنولی می‌شود (٣٨).



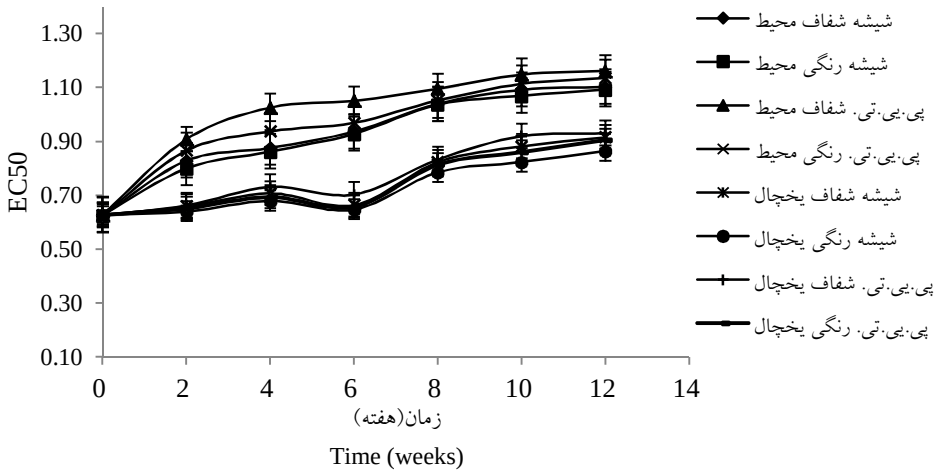
شکل ٣. تغییرات ترکیبات فنولی کل نوشیدنی شیره خرمای تخمیر شده طی ١٢ هفته نگهداری.

Figure 3. The changes of total phenolic compounds of fermented date syrup beverage during 12 weeks of storage.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی تخمیری: فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونـه‌هـا برحسـب EC_{50} بیـان شـد. میزان EC_{50} طی ١٢ هفته نگهداری در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت و در نتیجه فعالیت آنتـی‌اکسـیدانی کاهش داشت (شکل ٤). میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به بسـته‌بنـدی‌هـای PET رنگـی، شیشـه رنگی، PET شفاف و شیشه شفاف به‌ترتیب برابر با ٠/٦٥٨، ٠/٦٤٨، ٠/٧٠٣ و ٠/٦٦٤ میلی‌لیتـر نمونـه به گرم DPPH در دمای یخچال و ٠/٩٧٠، ٠/٩٢٩، ١/٠٥، ٠/٩٣٨ میلی‌لیتر نمونـه بـه گـرم DPPH در دمای محیط، پس از ٦ هفته می‌باشد. نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که فعالیت آنتی‌اکسـیدانی تحـت تاثیر زمان، دما، نور و بسته‌بندی قرار دارد (P<۰/۰۵) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های نگهداری شده

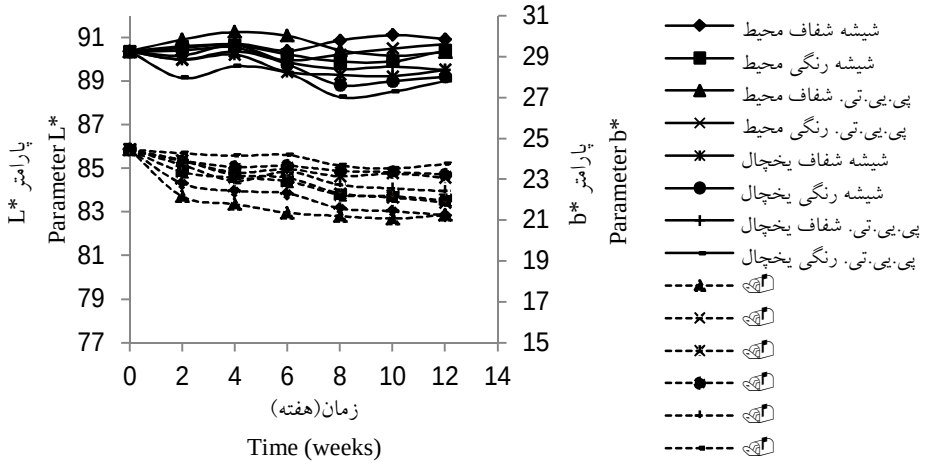
در دمای یخچال و فاقد نور به میزان بیشتری حفظ شده‌است. در دمای یخچال و محیط مقـادیر EC_{50} مربوط به بطری‌های شیشه‌ای کمتر می‌باشد، بنابراین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی این ظروف به میزان بیشتری حفظ شده است. نوشیدنی شیره خرمای استفاده شده در این مطالعه دارای ترکیبات مختلفـی همچـون قند و عوامل مقید کننده[1] همچون اسیدسیتریک می‌باشد که همراه با فرآیند پاستوریزاسـیون مـی‌تواننـد واکنش‌های پیچیده و مکانیسم‌های ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را تحت تاثیر قرار دهنـد. تغییـر در سـاختار آنتی‌اکسیدان‌های فنولی و برهم‌کنش آن‌ها با سایر ترکیبات غذایی می‌تواند کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در آب‌میوه‌ها توجیه کند (۲۹ و ۳۲). کیم و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردنـد کـه مقـدار ترکیبـات آنتی‌اکسیدانی و فنولی چای سبز در بسته‌بندی‌های شیشه‌ای در مقایسه با کیسه‌های انعطاف‌پـذیر بهتـر حفظ شده است که به علت نفوذ کمتر اکسیژن و به دنبال آن تغییرات اکسیداتیو کمتر این بسته‌بندی‌ها می‌باشد (۲۰). میزان انتقال اکسیژن از بطری‌های PET در دمای اتاق (۲۳°C) برابـر بـا ۵۲cc/pkg/day است، در حالی که شیشه به‌عنوان ماده بسته‌بندی غیرقابل نفوذ به اکسیژن شناخته می‌شود (۳۷). در کل کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند به علت تغییرات اکسیداتیو ناشی از اکسیژن حل شده درنوشیدنی یا اکسیژن موجود در فضای سر بطری[2] یا اکسیژن انتقال یافته از مواد بسـته‌بنـدی باشـد کـه تخریـب پلی‌فنول‌های مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی را سرعت می‌بخشد (۲۰). همان‌طور که ملاحظـه مـی‌شـود فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به ترکیبات فنولی به میزان بیشـتری کـاهش یافتـه اسـت. کـاهش بیشـتر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی احتمالاً به‌دلیل کاهش اجزای آنتی‌اکسیدانی کم اهمیت‌تـر و جزئـی بـوده اسـت (۲۰). ورا گارسیا و همکاران در بررسی مقدار مواد معدنی نوشـیدنی گیـاه یربامـت[3] بیـان کردنـد کـه فاکتورهای ناپایدار کننده مثل فلزات پرواکسیدان[4] در دم کرده این گیاه ممکـن اسـت در واکـنش‌هـای فنتون[5] به منظور تولید اکسیژن واکنشگر دخالت داشته باشند (۲۰ و ٤۰).

1. Chelating Agent
2. Head space
3. Yerba mate
4. Proxidan
5. Fenton Reactions



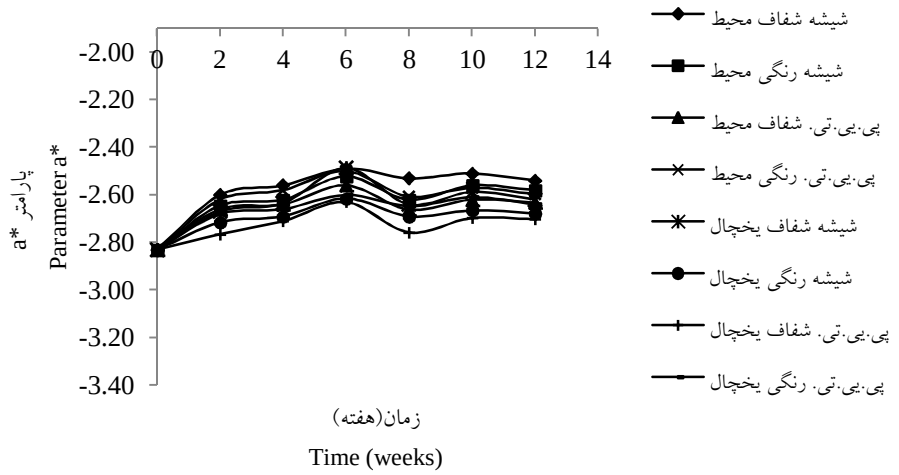
شکل ٤. تغییرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی (EC_{50}) نوشیدنی شیره خرمای تخمیر شده طی ۱۲ هفته نگهداری

Figure 4. The changes of antioxidant activity (EC50) of fermented date syrup beverage during 12 weeks of storage



شکل ۵. تغییرات پارامترهای *L و *b نوشیدنی شیره خرمای تخمیر شده طی ۱۲ هفته نگهداری. خط تیره تغییرات پارامتر *b و خط کامل تغییرات پارامتر *L

Figure 5. The changes of parameters L* and b* of fermented date syrup beverage during 12 weeks of storage. The dashed line indicates changes of parameter b*, and the full line indicates changes of parameter L*.



شکل ٦. تغییرات پارامتر *a نوشیدنی شیره خرمای تخمیر شده طی ۱۲ هفته نگهداری

Figure 6. The changes of parameter a* of fermented date syrup beverage during 12 weeks of storage.

پارامترهای رنگ‌سنجی نوشیدنی تخمیری: به‌منظور ارزیابی تغییرات رنگی ایجاد شده در نوشیدنی شیره خرما می‌توان از پارامترهای رنگ‌سنجی (*L)، (*a) و (*b) استفاده کرد. میزان روشنایی یا *L مربوط به عوامل ایجادکننده رنگ و کدورت می‌باشد. میزان قرمزی یا *a به رنگدانه‌هایی با ساختار پلیمری مثل ملانوئیدین‌ها مربوط بوده و حاصل واکنش‌های قهوه‌ای شدن آنزیمی و غیرآنزیمی شیره خرما می‌باشد. همچنین، فاکتور زردی یا *b نشان‌دهنده رنگدانه‌هایی با وزن مولکولی پایین همچون کاروتنوئیدها (بتاکاروتن و لوتئین) و فلاونوئیدها (مانند کوئرستین و کاتکین) می‌باشد (۳). نتایج حاصل از این اندازه‌گیری در شکل‌های ۵ و ٦ نشان داده شده است. بررسی پارامترهای رنگ‌سنجی نمونه‌ها طی دوره نگهداری نشان داد که با گذشت زمان تغییر معنی‌داری در آن‌ها ایجاد نشده و فاکتورهای رنگ طی ۱۲ هفته نگهداری در تمامی تیمارها تقریبا ثابت بوده‌اند. اثر دمای نگهداری و نوع بطری نیز بر میزان رنگ در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشد. جیرونز ویلاپلانا و همکاران (۲۰۱۲) نوشیدنی جدیدی را با استفاده از آبلیمو و ماکویی[1] (یک نوع میوه توت مانند) طراحی کردند و به ارزیابی ترکیب نوشیدنی جدید، پایداری ترکیبات آن، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و

1. Maqui

محتوای ترکیبات فنولی آن به‌مدت ۷۰ روز پرداختند. در این مطالعه ویژگی‌های رنگی شامل پارامترهای *L، *a و *b به‌طورکلی ثابت بود و تنها تفاوت‌های ناچیزی نشان داده شد که بیانگر رنگی جذاب و پایدار در نوشیدنی بود (۱۵).

آزمایش‌های میکروبی نوشیدنی تخمیری: در نمونه‌های نوشیدنی در طول مدت زمان نگهداری رشد میکروبی مشاهده نشد. بنابراین، تغییرات میکروبی بر طعم و ماندگاری نمونه‌ها اثری نداشت.

ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری: جهت مقایسه اثر تیمارها (نور- تاریکی، یخچال- محیط، شیشه پلی‌اتیلن ترفتالات، زمان) بر طعم و مزه و ویژگی‌های ظاهری نوشیدنی شیره خرما، آزمون چشایی در پایان دوره نگهداری انجام شد. آنالیز نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که بین ۹ نمونه شیره خرما (نمونه‌های نگهداری شده در ۸ حالت متفاوت با نمونه تازه) از لحاظ طعم، مزه و ظاهر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. چنین به‌نظر می‌رسد که پایداری نمونه‌ها برحسب روش مورد استفاده در سالم‌سازی حرارتی (پاستوریزاسیون در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۰ دقیقه)، نوع فرمولاسیون و بسته‌بندی به‌کار رفته مناسب می‌باشد و نوشابه تولید شده از پایداری حسی مناسبی برخوردار است.

نتیجه‌گیری

همان‌طورکه پیش از این اشاره شد، هدف از پروژه کنونی تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری از شیره خرما با استفاده از باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* و بررسی عوامل موثر بر ماندگاری آن طی مدت زمان نگهداری می‌باشد.از جنبه ویژگی‌های سلامتی‌بخش، نظیر افزایش ترکیبات فنولیک کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فرآیند تخمیر منجر به بهبود قابل‌ملاحظه‌ای در این خواص گردید. میزان ترکیبات فنولی در نمونه تخمیرشده برابر با mg/ml ۱۱/۲۱ بود. افزایش مواد فنولیک کل طی تخمیر، خود منجر به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تخمیری شد، زیرا مواد فنولیک جزء آنتی‌اکسیدان‌های قوی بودند. نتایج به‌دست آمده از بررسی منحنی رشد نشان داد که جمعیت باکتریایی *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* پس از ۲۰ ساعت به‌بیش از $۱۰^{۸}$ سلول بر میلی‌لیتر رسید. نتایج حاصل از بررسی فاکتور pH نیز مشخص کرد که باکتری لاکتیکی در پایان دوره رشد لگاریتمی خود pH را به زیر ۳/٤ کاهش داد که از نظر تکنولوژیکی و ممانعت از رشد سایر میکروارگانیسم‌های ناخواسته مورد توجه است.در مرحله بعد نوشیدنی تخمیری حاصل از تخمیر شیره خرما فرموله شد و پس از پاستوریزاسیون، شرایط نگهداری آن مورد بررسی قرار گرفت. نوشیدنی حاصل در ظروف شیشه‌ای و

PET بسته‌بندی شده و تحت شرایط مختلف دما و نور به‌مدت۱۲ هفته نگهداری شد. این بخش از مطالعه به منظور ارزیابی تاثیر فاکتورهای مختلف بر حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولیک موثر در فواید سلامتی‌بخش و کیفیت نوشیدنی شیره خرما انجام شد. به‌منظور حفظ بیشتر ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی، نگهداری آن در بطری‌های شیشه‌ای، دمای یخچال (٤ درجه سانتی‌گراد) و شرایط بدون نور (بطری‌های رنگی) توصیه می‌شود، زیرا در دمای پایین‌تر سرعت واکنش‌های شیمیایی کاهش می‌یابد. همچنین،بطری‌های رنگی در همه ویژگی‌های مورد آزمایش تغییرات کمتری را نشان دادند و در بطری‌های شیشه‌ای به علت نفوذپذیری کمتر، نوشیدنی تغییرات اکسیداتیو کمتری را متحمل می‌شود. ارزیابی حسی تاثیر معنی‌داری بر پارامترهای اندازه گیری‌شده نداشت. همچنین،با انجام آزمون میکروبی در هیچ‌یک ازنمونه‌های نگهداری شده در دمای محیط و یخچال آلودگی کپک و مخمر و باکتری‌های مزوفیل هوازی مشاهده نشد. این نتایج نشان می‌دهد که نوشیدنی شیره خرما باید به‌عنوان محصولی با مدت زمان ماندگاری متوسط و در بهترین حالت به‌مدت ٦ هفته عرضه شود تا بیشترین فواید سلامتی‌بخش را از نظر آنتی‌اکسیدان‌های پلی‌فنولی داشته باشد.

سپاسگزاری

در پایان از شرکت زمزم ایران که در انجام این تحقیق حمایت و مساعدت فراوان داشته‌اند، تقدیر و تشکر می‌گردد.

منابع

1. Abou-Zeid, A.A., Baeshin, N.A. and Baghlaf, A.O. 1993. Utilization of date products in production of oxytetracycline by *Streptomyces rimosus*. Zentralblatt für Mikrobiologie. 148(5): 333-341.
2. Al-Farsi, M., Alasalvar, C., Al-Abid, M., Al-Shoaily, K., Al-Amry, M. andAl-Rawahy, F. 2007. Compositional and functional characteristics of dates, syrups, and their by-products. Food Chem. 104: 943-947.
3. Belitz, H. D., Grosch, W. and Schieberle, P. 2009. Coffee, Tea, Cocoa. Food chemistry. 938-970.
4. Ben Thabet, I., Besbes, S., Attia, H., Deroanne, C., Francis, F., Drira, NE. and Blecker, C. 2009. Physicochemical characteristics of date sap “Lagmi” from Deglet Nour palm (*Phoenix Dactylifera* L.). Int. J. Food Prop. 12: 659-670.
5. Biglari, F., Alkarkhi, AFM. and Easa, AM. 2009. Cluster analysis of antioxidant compounds in dates (*Phoenix dactylifera*): effect of long-term cold storage. Food Chem. 112: 998–1001.

6. Black, JG. 1996. Microbiology: Principles and applications. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, Inc. 3: 136-140, 151-153.
7. Cam, M., Hisil, Y. and Durmaz, G. 2009. Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. Food Chem. 112: 721–726.
8. Chiranjit, P. and Mitlesh, K.H. 1982. Wild Fruits of the Sub-Himalayn Region, Kalyani Publishers. 22: 301-309.
9. Contor, L. 2001. Functional food science in Europe. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases: NMCD. 11: 20-23.
10. Dhaouadi, K., Raboudi, F., Estevan, C., Barrajón, E., Vilanova, E., Hamdaoui, M. and Fattouch, S. 2010. Cell viability effects and antioxidant and antimicrobial activities of Tunisian date syrup (Rub El Tamer) polyphenolic extracts. J. Agric. Food Chem. 59: 402 - 406.
11. Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, NE. and Attia, H. 2008. Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. Food Chem. 111: 676–682.
12. Entezari, MH., Hagh Nazary, S. and Haddad Khodaparast, MH. 2004. The direct effect of ultrasound on the extraction of date syrup and its micro-organisms. Ultrason. Sonochem. 11: 379–384.
13. FAO. 2002. Date palm cultivation, FAO plant production and protection paper vol. 1. Publishing Management Service, Information Division, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy.
14. Friedman, M. and Jurgens, H.S. 2000. Effect of pH on the Stability of Plant Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem. 48: 2101-2110.
15. Girones-Vilaplana, A., Mena, P., García-Viguera, C. and A. Moreno, D. 2012. A novel beverage rich in antioxidant phenolics: Maqui berry (Aristotelia chilensis) and lemon juice. Food Sci. and Technol. 47: 279-286.
16. González-Molina, E., Moreno, D.A. and García-Viguera, C. 2008. Genotype andharvest time influence the phytochemical quality of fino lemon juice (*Citruslemon* (L.) Burm. F.) for industrial use. J. Agric. Food Chem. 56(5): 1669-1675.
17. Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollard, C. A. and Sasner, J. J. 2003. Utilization of folineciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds. J. Agric. Food Chem. 51(7): 1811-1815.
18. Jayabalan, R., Subathradevi, P., Marimuthu, S., Sathishkumar, M. and Swaminathan, K. 2008. Changes in free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. Food Chem. 109: 227-234.
19. Kaur, C.H. and Kappor, H.C. 2001. Antioxidantin fruits and vegetables – the millennium's health. Int. J. Food Sci. and Tech. 36: 703–725.
20. Kim, Y., Welt, B.A. and Talcott, S.T. 2011. The Impact of Packaging Materials on the Antioxidant Phytochemical Stability of Aqueous Infusions of Green Tea

(Camellia sinensis) and Yaupon Holly (Ilex vomitoria) during Cold Storage. J. Agric. Food Chem. 59: 4676–4683.
21. Klimczak, M., Malecka, M., Szlacchta, M. and Gliszczynska, S.A. 2007. Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and antioxidant activity of orange juices. J. Food Compos. Anal. 20: 313–323.
22. Leroy, F. and De Vuyst, L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci. Technol. 15:67–78.
23. Mansouri, A., Embarek, G., Kokkalou, E. and Kefalas, P. 2005. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chem. 89: 411–420.
24. Mehaia, MA. and Cheryan M. 1991. Fermentation of date extracts to ethanol and vinegar in batch and continuous membrane reactors. Enzyme Microb. Technol. 13: 257-261.
25. National standard of Iran 5272. 2000. Microbiology of foods, total count of microorganisms at 30°C.
26. National standard of Iran 997. 1996. Detection of fungi contamination (molds and yeasts) in foods.
27. Nazzaro, F., Fratianni, F., Sada, A. and Orlando, P. 2008. Synbiotic potential of carrot juice supplemented with *Lactobacillus* spp. and inulin or fructooligosaccharides. J. Sci. Food Agric. 88: 2271–2276.
28. Nguyen, T.D.T., Kang, J.H. and Lee, M.S. 2007. Characterization of *Lactobacillus plantarum* PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. Int. J. Food Microbiol. 113: 358–361.
29. Nicoli, M.C., Anese, M. and Parpinel, M. 1999. Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. Trends Food Sci. Technol. 10(3): 94–100.
30. Prior, R.L. and Cao, G. 2000. Flavonoids: diet and health relationships. Nutr. Clin. Care. 3: 279–288.
31. Shahidi, F., and Naczk, M. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. J. Chromatogr. A. 1054, 95-111.
32. Siah, W.M., Faridah, H., Rahimah, M.Z., Tahir, S.M. and Zain, D.M. 2011. Effects of packaging materials and storage on total phenolic content and antioxidant activity of Centella asiatica drinks. J. Trop. Agric. and Fd. Sc. 39(1): 000-000.
33. Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16:144-158.
34. Talcott, S.T., Percival, S.S., Pitter-Moore, J. and Celoria, C. 2003. Phytochemical composition and antioxidant stability of fortified yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). J. Agric. Food Chem. 51 :935–941.

35. Tannock, G.W. 2004. A Special Fondness for Lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol. 70: 3189–3194.
36. Uzogara, S.G., Morton, I.D. and Daniel, J.W. 1990. Changes in some antinutrients in cowpeas (*Vigna unguiculata*) processed with “kanwa” alkaline salt. Plant Foods Hum. Nutr. 40: 249 -258.
37. Van Aardt, M., Duncan, S.E., Marcy, J.E., Long, T.E. and Hackney, C.R. 2001. Effectiveness of poly (ethylene terephthalate) and high-density polyethylene in protection of milk flavor. J. Dairy Sci. 84: 1341–1347.
38. Vander Sluis, A.A., Dekker, M. and Van Boekel, M.A. 2005. Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 3. Stability during storage J. Agric. And Food. Chem. 53(4): 1073-1080.
39. Vayalil, P.K. 2002. Antioxidant and antimutagenic properties of aqueous extract of date fruit (*Phoenix dactylifera*). J. Agric. Food Chem. 50: 610-617.
40. Vera García, R., Basualdo, I., Peralta, I., de Herebia, M. and Caballero, S. 1997. Minerals content of Paraguayan yerba mate (Ilex paraguariensis, S.H.). National Center for Biotechnology Information. 47:1.77-80.
41. Vinson, J.A., Su, X., Zubik, L. and Bose, P. 2001. Phenol antioxidantquantity and quality in foods: fruits. J. Agric. Food Chem. 49: 5315–5321.
42. Yoon, KY., Woodams, EE., and Hang, YD.2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. Bioresour. Technol. 97: 1427–1430.

EJFPP, Vol. 7 (2): 17-38
http://ejfpp.gau.ac.ir

Production and packaging of fermented functional beverage from date syrup containing *lactobacillus rhamnosus*

M. Karbasi[1*], S.M. Mousavi[2] and M.S. Yarmand[3]
[1] Ph.D Student, Dept. of Bioprocess Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran.
[2] Prof., Dept. of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran.
[3]Associate Prof., Dept. of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, University of Tehran, Karaj, Iran.

Received: 2014/04/08 ; Accepted: 2014/07/02

Abstract

Background and objectives: In this research, production of date palm extract based functional beverage through its fermentation by *lactobacillus rhamnosus* during 12 weeks storage was assayed.

Materials and methods: Fermentation was done at 37°C for 48h. Growth kinetics, pH, acidity, total phenolic content, and antioxidant activity were investigated during the fermentation process. In the next step, fermented date extract which was mixed with sugar and citric acid, was used to produce the functional drink. Pasteurized samples were packed in the glass and polyethylene terephthalate bottles which were transparent and opaque to indicate the light effect and then storage stability of the beverages was studied. Packages were stored at ambient and refrigerator (4°C) temperature. The samples of each treatment had been withdrawn after two weeks, up to a period of 12 weeks. Afterward following tests were performed on the samples: pH, color intensity, acidity, phenolic compounds, antioxidant activity, aerobic mesophilic bacteria, yeasts and moulds colony count. sensory evaluation was performed at the end of the shelf life.

Results: The results of growth curve showed that population of *L. rhamnosus* reached to 10^8 CFU/ml after 20 h. In addition, pH of date syrup decreased to about 4.3 after fermentation, which is important because of the inhibition of undesirable bacteria growth and technological aspect. Because of the preservation of phenolic

[*] Corresponding author; mehri.Krbasi@alumni.ut.ac.ir

compounds and antioxidant activity, storage at 4°C, in the glass and opaque bottles is suggested. Sensory evaluation showed no significant organoleptic changes in the samples. In terms of microbiologic test, no moulds, yeasts and aerobic mesophilic bacteria contamination were observed.

Conclusion: These findings suggest that date palm extract drinks should be treated as short shelf life (6 weeks as optimal) products to get the most potential health benefits of antioxidant polyphenols.

Keywords: Functional beverage, Packaging, Date palm syrup, Lactic-fermentation, Chemical changes.