

Investigation of some physicochemical properties and survival of probiotic bacteria in industrial symbiotic juices by Response Surface and D-Optimal design with incomplete factorial

Mohammadyar Hosseini^{1*}, Mohammad Alizadeh², Mahmoud RezazadBari³

¹Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ilam University, Ilam, Iran, Email: m.hosseini@ilam.ac.ir

^{2,3} Professor, Department of Food Science and Technology, Urmia University, Urmia, Iran

Article Info

Article type:
Research Full Paper

Article history:
Received: 2022/03/23
Revised: 2022/04/26
Accepted: 2022/06/07

Keywords:
Juice
Probiotic
Prebiotic
Physicochemical properties

ABSTRACT

Background and objectives: In recent years, in addition to considering the nutritional characteristics of a desired food, consumers also pay special attention to the health characteristics of the product. Today, probiotic juices have not received much attention in the industry and have little research history. Therefore, choosing apple and cherry juices with different pH range can be a suitable model for other juices.

Materials and methods: In this study, the effect of 5 variables including fruit type (apple, cherry), inulin, type of probiotic microorganisms (*Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei*) and probiotic addition method (encapsulated and free) and storage time (1, 7, 14 and 21 days) on some physicochemical properties of juices (turbidity, viscosity, total sugar and vitamin C) were investigated. The D-Optimal response surface methodology with incomplete factorial was used to design the experiment and its analysis was performed with SAS 4.5 software.

Results: Analysis of variance at 5% level of significance showed that except for turbidity, other independent variables had significant effects ($p < 0.05$) on dependent variables in this study. In the cherry juice containing encapsulated microorganisms, the amount of turbidity is constant (approximately 4) and in present of free cells this amount is reduced (1.5). In apple juice, the amount of turbidity is constant in present of encapsulated and free form (2.8). The viscosity results showed that apple juice has a minimum viscosity (1.25) and cherry juice has a high viscosity (1.32), which depends on the type of fruit composition and its formulation. Also, the results of total sugar showed that apples have the highest percentage of sugar (10.2) and cherries have the lowest percentage of sugar (4.1). Within a month, these values were higher in the encapsulation form than in the free, which was due to less fermentation by microbes. The vitamin C chart shows that apples had the lowest amount (4%) and cherries had the highest amount (18%). Encapsulated and free microbes had little effect on vitamin C.

Conclusion: The results of this study showed that symbiotic juice can be introduced to the market as a profitable new product with a maximum expiration time of one month according to physicochemical analysis. In addition, samples containing encapsulated microorganisms have better storage time and organoleptic properties than others. Also, in acidic fruits, this shelf life is reduced, which from the twenty-first day onwards, the physicochemical analysis of the juice changes significantly and becomes

unusable.

Cite this article: Hosseini, M.Y., Alizadeh, M., RezazadBari, M. 2022. Investigation of some physicochemical properties and survival of probiotic bacteria in industrial symbiotic juices by Response Surface and D-Optimal design with incomplete factorial. *Food Processing and Preservation Journal*, 14 (2), 53-70.



© The Author(s).

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20056.1698

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

بررسی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک آبمیوه‌های سین بیوتیک صنعتی به روش سطح پاسخ و طرح آزمایشی دی اپتیمال با فاکتوریل ناقص

محمدیار حسینی^{۱*}، محمد علیزاده^۲، محمود رضازادباری^۳

^۱ استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران، رایانامه: m.hosseini@ilam.ac.ir

^۲ استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله کامل علمی-پژوهشی	سابقه و هدف: در سال‌های اخیر مصرف کنندگان علاوه بر در نظر گرفتن ویژگی‌های تغذیه‌ای یک ماده غذایی به خصوصیات سلامت بخش محصول نیز توجه ویژه‌ای دارند. امروزه به آبمیوه‌های پروبیوتیک در صنعت توجه خاصی نشده است و سابقه پژوهش آن محدود است. لذا انتخاب دو آبمیوه سیب و آلبالو با دامنه pH متفاوت می‌تواند الگویی مناسب برای سایر آبمیوه‌ها نیز باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۰۳ تاریخ ویرایش: ۱۴۰۱/۰۲/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۱۷	مواد و روش‌ها: در این پژوهش به بررسی تاثیر ۵ متغیر شامل نوع میوه (سیب، آلبالو)، اینولین، نوع میکروارگانیزم پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی) و روش افزودن پروبیوتیک (انکپسوله و آزاد) و زمان نگهداری (۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز) بر برخی از پارامترهای فیزیکوشیمیایی آبمیوه‌ها (کدورت، ویسکوزیته، قند کل و ویتامین C) پرداخته شد. از روش سطح پاسخ D-Optimal با فاکتوریل ناقص برای طراحی آزمایش استفاده گردید و آنالیز آن با نرم‌افزار SAS 4.5 صورت گرفت.
واژه‌های کلیدی: آبمیوه پروبیوتیک پری بیوتیک ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی	یافته‌ها: آنالیز واریانس داده‌ها در سطح ۵ درصد نشان داد که به جز کدورت بقیه متغیرهای مستقل اثرات معنی‌دار ($p < 0.05$) بر متغیرهای وابسته در این پژوهش داشتند. در آب آلبالو حاوی میکروارگانیزم‌های انکپسوله میزان کدورت ثابت (تقریباً ۴) و در حضور سلول‌های آزاد این مقدار کاهش می‌یابد (۱/۵). در آب سیب میزان کدورت در حالت انکپسوله و آزاد ثابت است (۲/۸). نتایج ویسکوزیته نشان داد آب سیب ویسکوزیته پایین (۱/۲۵) و آب آلبالو از ویسکوزیته بالایی (۱/۳۲) برخوردار است که وابسته به نوع ترکیب میوه و فرمولاسیون آن می‌باشد. همچنین نتایج قند کل نشان داد سیب بیشترین مقدار درصد قند (۱۰/۲) و آلبالو کمترین مقدار درصد قند (۴/۱) برخوردار است. در مدت یک‌ماه این مقادیر در انکپسوله‌ها بیشتر از آزاد بود که به علت تخمیر کمتر توسط میکروب‌ها انجام شد. نمودار ویتامین C نشان می‌دهد سیب کمترین مقدار (۴ درصد) و آلبالو بیشترین مقدار (۱۸ درصد) را به خود اختصاص داد. میکروب‌های انکپسوله و آزاد تاثیر چندانی در ویتامین C نداشتند.
	نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که می‌توان آبمیوه سین بیوتیک را به عنوان یک محصول جدید فراسودمند با حداکثر زمان انقضا یک‌ماه با توجه به آنالیز فیزیکوشیمیایی به بازار معرفی نمود. به علاوه نمونه‌هایی که حاوی میکروارگانیزم‌های انکپسوله بودند زمان نگهداری و خواص ارگانولپتیکی بهتری نسبت به بقیه دارند. همچنین در میوه‌های اسیدی این زمان ماندگاری کمتر می‌شود که از روز

بیست و یکم به بعد آنالیز فیزیکوشیمیایی آبمیوه تغییرات محسوسی می‌یابد و غیر قابل مصرف می‌شود.

استناد: حسینی، م.، علیزاده، م.، رضازادباری، م. (۱۴۰۱). بررسی برخی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک آبمیوه‌های سین بیوتیک صنعتی به روش سطح پاسخ و طرح آزمایشی دی اپتیمال با فاکتوریل ناقص. فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۱۴ (۲)، ۵۳-۷۰.

DOI: 10.22069/FPPJ.2022.20056.1698



© نویسندگان.

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده و مشخصی هستند که در صورت مصرف در انسان یا حیوان، با اثر بر روی فلور میکروبی بدن باعث اعمال اثرات مفید بر سلامتی میزبان می‌شوند. اکثر پروبیوتیک‌ها متعلق به گروه بزرگی از باکتری‌های اصلی فلور میکروبی روده انسان بوده و در آنجا زندگی همسفرگی بی ضرری دارند. به کارگیری پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از بیماری‌ها و بهبود وضعیت سلامتی انسان و دام پیشینه‌ای چندین هزار ساله دارد. در سال‌های اخیر مصرف کنندگان علاوه بر در نظر گرفتن ویژگی‌های تغذیه‌ای که به صورت متعارف از یک ماده غذایی مورد انتظار است به خصوصیات سلامت بخش محصول نیز توجه ویژه‌ای دارند. پری بیوتیک‌ها ترکیباتی غیر قابل هضم یا اندک هضم هستند که به صورت دست نخورده یا با شکست جزیی در محیط روده در دسترس پروبیوتیک‌ها قرار می‌گیرند و به عنوان منابع کربن یا انرژی، رشد و یا فعالیت این میکروارگانیسم‌ها را تحریک کنند. از مهمترین پری بیوتیک‌های طبیعی و ساختگی می‌توان به فروکتو-الیگوساکاریدها (FOSs) که ممکن است به صورت خطی یا شاخه دار باشند اشاره کرد و مهم‌ترین آن‌ها اینولین می‌باشد (۱). ماده غذایی سین بیوتیک فرآورده‌های پروبیوتیک حاوی پری بیوتیک است که در بردارنده دست کم یک ویژگی سلامت بخش مشخص، افزون بر خواص تغذیه‌ای پایه می‌باشد. غذاهای پروبیوتیک به دسته‌ای از فرآورده‌های غذایی گفته می‌شود که شامل یک یا مخلوطی از کشت‌های باکتریایی زنده و مفید هستند که مصرف آن‌ها باعث ایجاد تعادل در فلور میکروبی روده و در نهایت سبب افزایش سلامتی انسان می‌شود (۲ و ۳).

اینولین در طبیعت به صورت کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای در گیاهان، یا به صورت پلی ساکاریدهای خارج سلولی در برخی از میکروارگانیسم‌ها یافت می‌شود. درجه پلیمریزاسیون اینولین با توجه به نوع گیاه و میکروارگانیسم از ۲ تا ۶۰ متغیر است، با افزایش طول زنجیره فروکتوزی از قابلیت انحلال و میزان شیرینی این ترکیبات کاسته می‌شود. به طوری که ترکیبات اینولین با درجه پلیمریزاسیون ۸-۲ که به اینولالیگوساکاریدها معروف هستند دارای بالاترین قابلیت انحلال در آب و شیرینی معادل ۳۰٪ شیرینی ساکارز می‌باشند (۴، ۵ و ۶). آمیوه‌ها دارای مواد مغذی مفیدی مانند موادمعدنی، ویتامین‌ها و آنتی اکسیدان‌ها هستند و می‌توانند ماده ای مناسب برای کشت باکتری باشند. این مواد از پتانسیل بالا برای تبدیل شدن به محصولات پروبیوتیک برخوردارند زیرا فرآورده‌ای سلامت بخش هستند و برخلاف فرآورده‌های لبنی فاقد ترکیبات ناسازگار با بدن نظیر لاکتوز بوده و منجر به محروم شدن بخشی از جمعیت از مصرف آن نمی‌شوند (۳). آب سیب یک نوشیدنی عمومی است و توسط عموم مردم به صورت کنسانتره نیز استفاده می‌شود. ۹۰ درصد میوه‌ها دارای اسید آسکوربیک و مقدار فنل بالا هستند. آب سیب به عنوان یک منبع خوب در تولید آمیوه استفاده می‌شود (۷). برای بررسی طیف زیاد آمیوه‌ها آب آلبالو به عنوان آمیوه اسیدی نیز در نظر گرفته شده است. متداول‌ترین میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در محصولات پروبیوتیک مربوط به گروه باکتری‌های اسید لاکتیک هستند که شامل نژادهای خاصی از جنس *لاکتوباسیلوس* و *استرپتوکوکوس* می‌باشند (۸ و ۹).

کیونگ و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه‌ای اقدام به تولید آب کلم پروبیوتیک حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک کردند و نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس*

1. Fructooligosaccharides

پروبیوتیک بر پایه آب سیب، صباغ پور و همکاران (۱۴۰۰) آب آناناس پروبیوتیک، هویج و چغندر قرمز، قضاوی و همکاران (۲۰۱۸) روی آب انار پروبیوتیک و بابایی و همکاران (۲۰۱۸) و کینگ و همکاران (۲۰۰۶) تولید نوشیدنی‌های پروبیوتیک آب گوجه انجام داده‌اند (۱۶، ۱۷، ۱۸، ۸، ۱۹، ۹ و ۲۰).

از آن‌جا که آبمیوه فرآورده‌ای پرمصرف و پرفردار است و مصرف آن در بین سنین مختلف رایج است، در این مطالعه به تولید محصول جدید سین بیوتیک بر پایه آبمیوه‌های سیب و آلبالو پرداخته شد. علاوه بر این تاثیر نوع میکروارگانیسم پروبیوتیک و فرم افزودن آن به آبمیوه و ترکیبات پری بیوتیک بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی دو آبمیوه سیب و آلبالو در طی زمان نگهداری بررسی شد. هدف از انتخاب دو نوع آبمیوه سیب و آلبالو، تفاوت چشمگیر pH بین آن‌ها است و نیز مورد پسند بودن این آبمیوه‌ها در بین عموم مردم جامعه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: سویه‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران واقع در کرج خریداری شد. محیط کشت *MRS*، آلزینات سدیم، کلرید کلسیم، *Tween80*، کیتوزان، اسید استیک منجمد، سود، کاغذ واتمن شماره ۴ و بطری شیشه‌ای از شرکت فرآیندسازان خریداری شدند. مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در این تحقیق با درجه خلوص بالا از شرکت مرک تهیه شد.

ویسکوزیته: ویسکوزیته نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه رئومتر *Physica Anton Paar* (مدل *MCR 301* ساخت کشور اتریش) مجهز به رئومتری استونه‌های هم مرکز انجام شد. برای

کازئی در pH کم قادر به بقا نیست و از بین می‌رود (۱۰). نتایج پژوهش مورارو و همکاران (۲۰۰۷) نشان داد که آب کرفس پروبیوتیک ترش مزه می‌باشد و نیاز به اصلاح طعم دارد (۱۱). کراساکوپت و همکاران (۲۰۰۷)، آبمیوه‌های پروبیوتیک را در مقیاس آزمایشگاهی بررسی کردند و نتایج نشان داد که کیفیت محصولات را می‌توان تا یک ماه حفظ نمود (۱۲). در تحقیقی خلخال و همکاران (۱۳۸۷)، ویژگی‌های نوشیدنی پروبیوتیکی بر پایه ماء‌الشعیر حاوی چهار گونه لاکتوباسیلوس بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که ماء‌الشعیر در شرایطی که حاوی مخمر باشد بقا و ماندگاری چهار باکتری اسید لاکتیک بیشتر خواهد بود و این ماندگاری در شرایط دمایی اتمسفر بهتر است (۱۳). پوراگهای و همکاران (۱۳۸۹)، تاثیر مصرف نوشیدنی‌های میوه‌ای را بر پایه لبنی بر سلامت بررسی کردند و نتایج نشان داد که مصرف نوشیدنی حاوی پروبیوتیک به عنوان یک نوشیدنی سالم از طریق تثبیت فلور میکروبی طبیعی روده، تعادل اعمال متابولیک و تقویت سیستم ایمنی در رژیم غذایی افراد مختلف به صورت عامل پشتیبان و راهکاری درمانی، مناسب و موثر به ویژه برای گیاه‌خواران، افراد مبتلا به آلرژی نسبت به تولیدات لبنی، افراد مبتلا به بیماری‌های گوارشی و غیر گوارشی ارزشمند و مطلوب محسوب می‌گردد (۱۴). پیرا و همکاران (۲۰۱۰) بر روی آب سیب تخمیر شده پروبیوتیک تحقیق کردند و بیان کردند که لاکتوباسیلوس کازئی دارای بیشترین رشد در این محصول می‌باشد (۱۵). همچنین ایاسه و همکاران (۱۳۹۷) پژوهش‌هایی در مورد آب هویج پروبیوتیک، دولت آبادی و همکاران (۲۰۱۶) در مورد بقای پروبیوتیک‌ها در آب پرتقال پاستوریزه، زندگی و همکاران (۲۰۱۶) نوشیدنی‌های ترکیبی - تخمیری

مناسب که نشان دهنده رشد بود تحت شرایط هوازی گرمخانه گذاری شد. سپس جهت کشت مجدد هر کدام از کشت‌های فعال به داخل ۹۵ سی سی محیط کشت MRS broth منتقل و در گرمخانه قرار گرفت. بعد از پایان گرمخانه گذاری برای استخراج سلول‌ها، از محیط کشت به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ با سرعت ۱۵۰۰g در دمای محیط انجام شد و سلول‌ها پس از حذف رومانند دوبار با آب مقطر استریل شسته شدند. سوسپانسیون یک بخش برای میکروانکپسولاسیون (۱۵ گرم از هر نمونه) و بخش دیگر برای سلول‌های آزاد (۱۵ گرم برای هر نمونه) در آبمیوه صورت گرفت (۴).

میکروانکپسولاسیون پروبیوتیک‌ها: قسمت جدا شده هر سلول برای میکروانکپسولاسیون (تقریباً ۱۵ گرم برای هر نمونه)، با آب مقطر شسته شد و هر سلول در ۵ سی سی آب مقطر به صورت جداگانه ریخته و هر نمونه را با ۲۰ سی سی سدیم آلزینات ۲ درصد کاملاً مخلوط شد. مخلوط‌های حاصل در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه استریل گردید (توجه شود که دو نمونه کلرید کلسیم حاوی Tween80 نیز استریل گردد). سپس سوسپانسیون‌های سلولی را با سرنگ استریل که حاوی قطر سوزن ۰/۱۱ میلی‌متر می‌باشد، به داخل هر نمونه ۸۰ سی سی کلرید کلسیم ۰/۰۵ مولار استریل (محلول شامل ۰/۱ درصد Tween80) می‌باشد، تزریق گردید. بعد از نیم ساعت در دو نمونه حاوی کلرید کلسیم پدیده ژل صورت گرفت که دانه‌ها با آب مقطر شسته شدند و در آب مقطر در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به‌طور جداگانه نگهداری گردید (دو نمونه ۱۵ گرمی در آب مقطر تهیه شد). ۰/۴ گرم کیتوزان را با ۹۰ سی سی آب مقطر اسیدی شده (با ۰/۴ سی سی اسید استیک منجمد) حل گردید سپس آب مقطر اضافه شد تا به غلظت نهایی ۰/۴ درصد رسید. pH را با اضافه کردن سود ۱ مولار

اندازه‌گیری تنش برشی و گرانشی به صورت تابعی از سرعت برشی در یک فاصله زمانی ۱۰ دقیقه، سرعت برشی از $2 S^{-1}$ به $100 S^{-1}$ رسید.

اندازه‌گیری قند کل: اندازه‌گیری قند کل با روش الفسون^۱ انجام شد. بعد از فیلتراسیون آبمیوه‌ها، ۱۲/۵ میلی لیتر از آن‌ها با استونیتریل و آب مقطر (۵۰:۵۰) رقیق شد. نمونه‌ها به ستون C₁₈ Sep-Pak تزریق شدند. گلوکز، فروکتوز و ساکارز با دستگاه HPLC و دتکتور RI از شرکت Shimadzu ژاپن آنالیز شد. اندازه ستون فاز باند شده NH₂ قطبی، ۱۰ میکرومتر، دما ۴۳/۵ درجه سانتی‌گراد و فاز سیال استونیتریل با ۱۰ میلی مول سدیم فسفات با سرعت جریان ۱ میلی لیتر بر دقیقه تنظیم شد (۲۱).

اندازه‌گیری ویتامین C: اندازه‌گیری ویتامین C با دستگاه HPLC ساخت شرکت Shimadzu ژاپن انجام شد. در این دستگاه از تجهیزات ستون فاز سیال معکوس 5C₁₈ AR و انژکتور نمونه Rheodyne7125 استفاده شد. فاز سیال شامل ۱۵ میلی مول محلول بافر فسفات هیدروژن سدیم و فسفات هیدروژن پتاسیم بود. سرعت سیال ۰/۳ میلی لیتر بر دقیقه بود (۲۲).

کدورت: میزان کدورت نمونه‌ها توسط دستگاه NTU meter (مدل 2020WE ساخت کمپانی LAMOTTE آمریکا) انجام شد (۲۳).

فعال‌سازی باکتری پروبیوتیک و آماده سازی نمونه‌های آبمیوه: هر کدام از باکتری‌های پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس) به طور جداگانه به داخل ۱۰ سی سی محیط کشت MRS broth جهت فعال‌سازی تلقیح شدند. لاکتوباسیلوس کازئی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای ۳ روز و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای ۲ روز و دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تا ظهور کدورت

1. Ellefson

انکپسوله برای همان روز استفاده شد. یک سی سی از دانه‌های انکپسولاسیون دو نمونه باکتری و یک سی سی از سوسپانسیون سلول آزاد دو نمونه باکتری به ۲۰۰ سی سی آبمیوه تتراپک که فرآیند پاستوریزاسیون را طی کرده بود اضافه گردید. سپس آبمیوه‌ها در بطری‌های استریل درب بندی گردیدند و در دمای یخچال طبق زمان طرح، آزمایش گردید (۴ و ۲۴).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات این پروژه با استفاده از سطح پاسخ با کرت خرد شده در قالب ۵۷ تیمار مطابق جدول ۱ انجام شد و آنالیز آن با نرم افزار SAS 4.5 صورت گرفت.

به ۵/۷-۶ تنظیم شد. سپس این ترکیب با کاغذ واتمن شماره ۴ تا حجم ۱۰۰ سی سی فیلتر شد. از این محلول دو نمونه تهیه شد. سپس محلول‌های ۱۰۰ سی سی را در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو گردید.

۱۵ گرم از دانه‌های (سلول‌ها) شسته شده مرحله قبل (در داخل آب ۴ درجه سانتی‌گراد) به محلول کیتوزان اضافه شد و به آرامی با سرعت ۱۰۰rpm به مدت ۴۰ دقیقه هم‌زده شد تا پدیده پوشش‌دهی صورت گیرد. کیتوزان پوشش داده شده با دانه‌ها (سلول‌ها) با آب مقطر شسته شد و در آب مقطر ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. این سلول‌های

جدول ۱- طرح آزمایشات برای تیمارهای مختلف

Table 1. Experimental design for different treatments

Plot type	Run Order	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
		A:Inulin	B:Time	C:Fruit type	D:Microbe type	E:Capsulated
		%	days			
i14	1	0	0	Apple	L.c ¹	Capsulated
i15	2	0	28	Sour cherry	L.a ² +L.c	Free
	3	0.35	28	Sour cherry	L.a	Capsulated
wp ³ caps	4	0.35	28	Apple	L.c	Capsulated
	5	0.35	0	Apple	L.a	Capsulated
	6	0	14	Apple	L.a+L.c	Capsulated
i8	7	0	28	Sour cherry	L.c	Capsulated
	8	0.175	14	Sour cherry	L.a	Free
wp l.c+l.a	9	0	28	Sour cherry	L.a+L.c	Free
	10	0.2625	14	Apple	L.a+L.c	Capsulated
i9	11	0.0875	21	Apple	L.a+L.c	Free
	12	0.175	14	Sour cherry	L.c	Capsulated
i10	13	0.35	0	Apple	L.c	Free
i11	14	0.35	28	Apple	L.a+L.c	Free
i12	15	0	0	Sour cherry	L.a+L.c	Capsulated
i13	16	0.0875	21	Apple	L.c	Capsulated
	17	0.0875	7	Sour cherry	L.a+L.c	Free
wp sour	18	0.35	28	Sour cherry	L.c	Free
	19	0	28	Sour cherry	L.a	Free

1. Lactobacillus Casei
2. Lactobacillus Acidophilus
3. Wide plot

Plot type	Run Order	Factor 1 A:Inulin	Factor 2 B:Time	Factor 3 C:Fruit type	Factor 4 D:Microbe type	Factor 5 E:Capsulated
	20	0.0875	21	Sour cherry	L.a+L.c	Capsulated
	21	0.35	28	Apple	L.a+L.c	Free
sp ^{la+1.c}	22	0.35	28	Sour cherry	L.a+L.c	Capsulated
i5	23	0.175	28	Apple	L.a	Free
i6	24	0.35	28	Sour cherry	L.a+L.c	Capsulated
	25	0.175	0	Apple	L.a+L.c	Free
sp ^l free	26	0.35	0	Sour cherry	L.a	Free
	27	0.175	14	Apple	L.c	Free
i7	28	0.175	0	Sour cherry	L.a	Capsulated
	29	0.35	0	Sour cherry	L.a	Free
	30	0	28	Apple	L.c	Free
	31	0.35	0	Apple	L.c	Free
Wp Free	32	0	0	Sour cherry	L.c	Free
	33	0	28	Sour cherry	L.a	Free
	34	0.35	14	Apple	L.a	Free
i1	35	0.2625	14	Apple	L.a+L.c	Capsulated
i2	36	0.35	0	Sour cherry	L.c	Capsulated
i3	37	0	0	Apple	L.a	Free
	38	0.35	28	Sour cherry	L.c	Free
	39	0	0	Apple	L.c	Capsulated
Wp L.c	40	0.35	0	Sour cherry	L.c	Capsulated
	41	0	0	Sour cherry	L.c	Free
	42	0.35	28	Apple	L.c	Capsulated
	43	0	0	Apple	L.a	Free
spApple	44	0	28	Apple	L.c	Free
	45	0	28	Sour cherry	L.c	Capsulated
	46	0	28	Apple	L.a	Capsulated
wpCaps	47	0.35	0	Apple	L.a	Capsulated
	48	0	14	Sour cherry	L.a	Capsulated
	49	0	14	Sour cherry	L.a	Capsulated
	50	0.35	14	Sour cherry	L.a+L.c	Free
sp sour	51	0.35	28	Sour cherry	L.a	Capsulated
	52	0	28	Apple	L.a	Capsulated
wpApple	53	0.35	14	Apple	L.a	Free
	54	0.175	0	Apple	L.a+L.c	Free
	55	0	14	Apple	L.a+L.c	Capsulated
	56	0.35	14	Sour cherry	L.a+L.c	Free
	57	0	0	Sour cherry	L.a+L.c	Capsulated

نتایج و بحث

بررسی عوامل موثر بر کدورت: جدول ۲ نتایج مربوط به تحلیل آماری کدورت را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از معنی‌دار بودن شاخص‌های مدل رگرسیونی مربوط به این پاسخ در سطح اطمینان ۵ درصد و معنی‌دار نبودن عدم برآزش برای این شاخص‌ها را نشان می‌دهد. آنالیز واریانس داده‌ها در سطح ۵ درصد نشان داد که به جز کدورت بقیه متغیرهای مستقل اثرات معنی‌دار ($P < 0.05$) بر متغیرهای وابسته در این پژوهش داشتند (جدول ۳، ۴ و ۵). شکل ۱ نیز اثرات متقابل نوع میوه، زمان‌نگهداری و انکپسولاسیون بر روی مقادیر کدورت آبمیوه سیب

و آلبالو نشان می‌دهد. نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد. همان طوری که در شکل ۱-الف مشخص است در میوه سیب با و بدون در نظر گرفتن انکپسولاسیون میزان کدورت تغییری نمی‌کند و ثابت است اما در آلبالو در حضور انکپسوله این مقدار ثابت ولی در حضور سلول‌های آزاد کدورت کاهش می‌یابد. در آلبالو چون محیط اسیدی است در انکپسولاسیون به علت محافظت میکروارگانسیم‌ها تغییری حاصل نمی‌شود و جمعیت آن‌ها به سرعت تکثیر می‌کند اما در حضور سلول‌های آزاد کدورت کاهش می‌یابد که علت آن از بین رفتن میکروارگانسیم‌ها در محیط اسیدی می‌باشد.

جدول ۲- تجزیه واریانس میزان کدورت

Table 2. Analysis of variance for Turbidity

Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F Value	p-value Prob > F	
Model	62.56	13	4.81	6.08	< 0.0001	significant
Inulin %	0.19	1	0.19	0.24	0.62	
Time days	0.12	1	0.12	0.16	0.68	
Fruit type	16.57	1	16.57	20.94	< 0.0001	
Probiotic type	0.71	2	0.35	0.45	0.63	
Capsulation	13.00	1	13.00	16.42	0.00	
Residual	34.03	43	0.79			
Lack of Fit	10.90	19	0.57	0.59	0.87	not significant
Pure Error	23.13	24	0.96			

جدول ۳- تجزیه واریانس میزان ویسکوزیته

Table 3. Analysis of variance for Viscosity

Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.02	1	0.02	21.34	< 0.0001	significant
Fruit type	0.02	1	0.02	21.34	< 0.0001	
Residual	0.05	54	0.00			
Lack of Fit	0.02	31	0.00	0.73	0.78	not significant
Pure Error	0.02	23	0.00			

جدول ۴- تجزیه واریانس میزان قند کل

Table 4. Analysis of variance for total sugar

Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F Value	p-value Prob > F
Model	495.88	1	495.88	63660000	< 0.0001 significant
Fruit type	495.88	1	495.88	63660000	< 0.0001
Residual	0	55	0		
Lack of Fit	0	31	0		

جدول ۵- تجزیه واریانس میزان ویتامین C

Table 5. Analysis of variance for Vitamin C

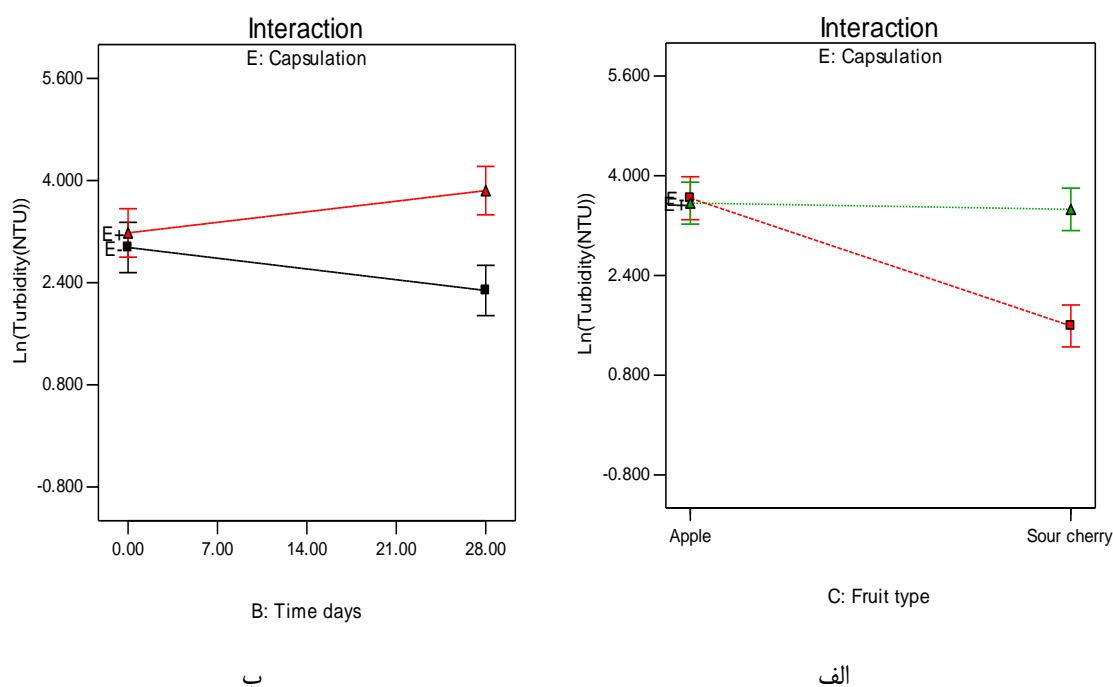
Source	Sum of Squares	df	Mean Squares	F Value	p-value Prob > F
Model	2673.75	1	2673.75	63660000	< 0.0001 significant
Fruit type	2673.75	1	2673.75	63660000	< 0.0001
Residual	0	55	0		
Lack of Fit	0	31	0		
Pure Error	0	24	0		

جهت بررسی رنگ، شفافیت و خواص حسی آب سیب بررسی کردند. نتایج نشان داد شفافیت بعد از ۶۰ روز نگهداری کاهش و کدورت افزایش یافت. پیرمحمدی و همکاران (۲۰۱۶) امکان تولید آبمیوه سیب موز سین بیوتیک را بعد از ۲۸ روز نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد با گذشت زمان در اثر فعالیت باکتری‌ها از میزان شفافیت نوشیدنی‌ها کاسته و بر شدت رنگ و کدورت آن افزوده می‌شود و دلیل این تغییرات را فعالیت باکتری‌ها، مصرف فیبر و در نتیجه تولید مواد اضافی در زمان‌های ابتدایی توسط باکتری‌ها می‌دانند که با نتایج این پژوهش منطبق است (۲۶). استیندل^۱ و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی نشان دادند که با افزایش pH در آبمیوه‌ها میزان کدورت کاهش پیدا می‌کند و در pH کم کاهشی صورت نمی‌گیرد که نتایج این پژوهش را تایید می‌کند. همچنین نشان داد که با افزایش pH میزان فسفر و نیتروژن کاهش می‌یابد (۲۷).

احتمالاً هر چه میکروارگانیسم‌ها در محیط بیشتر باشد باعث افزایش pH محلول شده و کدورت را ثابت یا افزایش می‌دهد. شکل ۱- ب تاثیر متقابل زمان ماندگاری و انکپسولاسیون را بر روی کدورت نشان می‌دهد. نتایج بیان می‌کند که در حضور انکپسولاسیون با افزایش زمان ماندگاری کدورت زیاد می‌شود که نتیجه رشد میکروارگانیسم‌ها می‌باشد و در عدم حضور انکپسولاسیون با گذشت زمان کدورت کاهش می‌یابد که علت آن از بین رفتن میکروارگانیسم‌ها در محیط می‌باشد.

مرتضوی و همکاران (۲۰۰۶) گزارش دادند که در آبمیوه‌ها گاهی کدورت ثانویه اتفاق می‌افتد که عامل‌های آن میکروارگانیسم‌ها، پروتئین، تانن، آرابان، نشاسته، پکتین، ساپونین و یون‌های فلزی (پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، مس، سولفور، فسفات و سولفات) می‌باشد و واکنش بین این‌ها می‌تواند باعث رسوب شود (۲۵).

شیخ قاسمی و همکاران (۱۳۹۲) در مطالعه‌ای تاثیر کپسوله کردن لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را



شکل ۱- تاثیر متقابل نوع میوه، زمان نگهداری و انکپسولاسیون بر روی مقادیر کدورت.

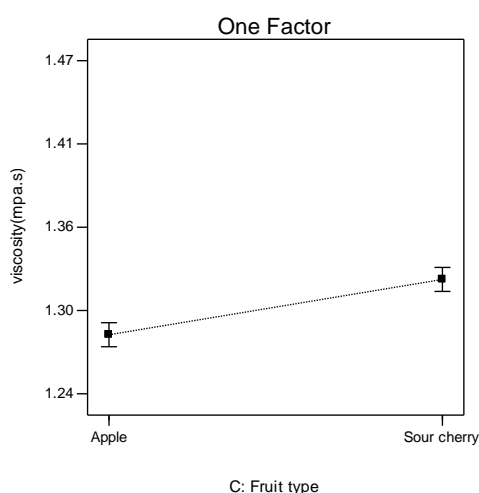
E^+ و E^- به ترتیب سلول‌های آزاد و انکپسوله را نشان می‌دهد.

Figure 1. Interaction of fruit type, storage time and encapsulation on turbidity values

E^- and E^+ shows free and encapsulatin cells (respectively).

افزایش ویسکوزیته می‌شود و خواص حسی را بهبود می‌بخشد. همچنین نشان دادند که فروکتوالیگوساکاریدها و اینولین باعث افزایش میزان رشد سویه‌های بیفیدوباکتریوم می‌شود که با این نتایج منطبق است (۲۸). فلاح و همکاران (۱۳۹۸) در پژوهشی بر روی اثر پلی دکستروز و گالاکتوفروکتوز بر زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی کفیر سین بیوتیک نشان دادند افزودن پلی دکستروز و گالاکتوفروکتوز باعث افزایش ویسکوزیته نمونه‌های تست در مقایسه با شاهد می‌گردد (۲۹).

تغییرات ویسکوزیته: جدول ۳ نتایج مربوط به تحلیل آماری ویسکوزیته را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از معنی دار بودن شاخص‌های مدل رگرسیونی مربوط به این پاسخ در سطح اطمینان ۵ درصد و معنی دار نبودن عدم برازش برای این شاخص را نشان می‌دهد. شکل ۲ نیز اثرات متقابل میوه سیب و آلبالو بر روی مقادیر ویسکوزیته نشان می‌دهد. نتایج بیانگر اختلاف معنی دار ($p < 0.05$) می‌باشد. این شکل نشان می‌دهد آب سیب حداقل ویسکوزیته و آب آلبالو از ویسکوزیته بالایی برخوردار است که وابسته به نوع ترکیب میوه و فرمولاسیون آن می‌باشد. گیسون و همکاران (۱۹۹۵) گزارش دادند که اینولین در ترکیبات مایع باعث

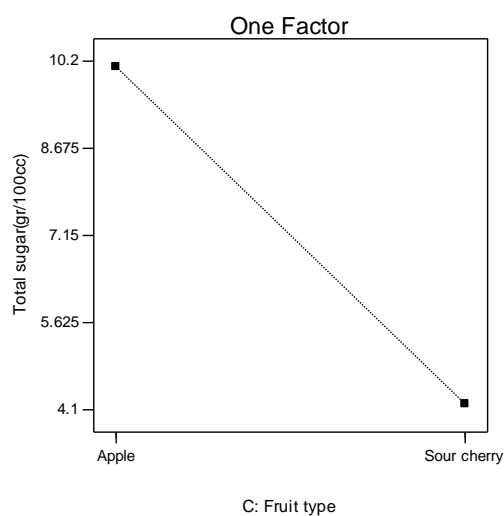


شکل ۲- تاثیر نوع میوه بر روی مقادیر ویسکوزیته

Figure 2. Effect of fruit type on viscosity values

با افزایش زمان نگهداری کاهش پیدا کرده و تیمار حاوی درصد بیشتر باکتری لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس نسبت به باکتری لاکتوباسیلوس کازئی کاهش قند بیشتری داشته است (۳۰). سهراب‌وندی و همکاران (۲۰۱۵) اثر برخی پروبیوتیک‌ها را بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب پرتقال رژیمی به مدت ۳ ماه در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل نمونه‌ها طی نگهداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافته طوری که بیشترین کاهش میزان قند کل مربوط به تیمار ۳ درصد اینولین و ۳ درصد ساکارز بود (۳۱). زندگی و همکاران (۲۰۱۶) تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی بررسی نمودند. زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در زمان‌های بعد از تخمیر و در طی ۲۸ روز نگهداری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفت. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها تعداد باکتری پروبیوتیک به دلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در آب میوه‌ها افزایش یافت و با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت (۲۰).

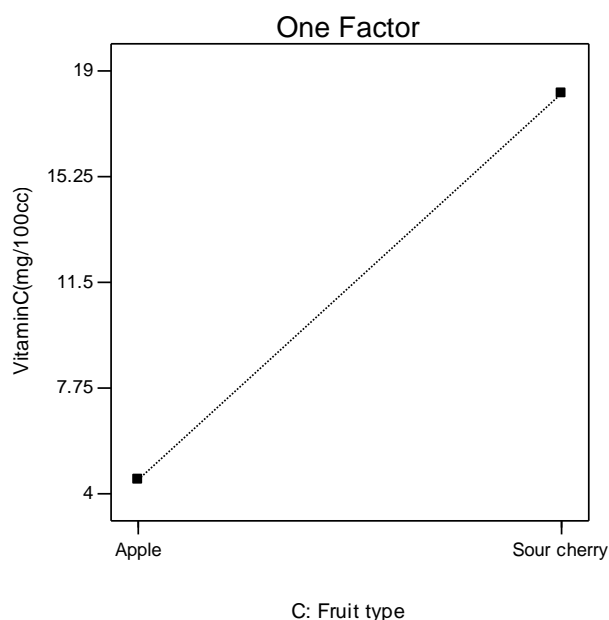
تغییرات قند کل: جدول ۴ نتایج مربوط به تحلیل آماری تغییرات قند کل آبمیوه را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از معنی‌دار بودن شاخص‌های مدل رگرسیونی مربوط به این پاسخ در سطح اطمینان ۵ درصد و معنی‌دار نبودن عدم برازش برای این شاخص را نشان می‌دهد. شکل ۳ نیز اثرات متقابل میوه سیب و آلبالو بر روی مقادیر قند کل را نشان می‌دهد. نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد. این شکل نشان می‌دهد که سیب دارای قند بیشتری نسبت به آلبالو می‌باشد پس در مقادیر اسیدیته، pH و رشد میکروارگانیسم‌ها این موارد را تحت تاثیر قرار می‌دهد. همان طوری که مشخص است قند کل سیب ۱۰/۲ درصد و آلبالو ۴/۱ درصد را دارا می‌باشد که این دامنه زیاد قند مربوط به خواص ذاتی و ترکیبی میوه است. نتایج نشان داد تراکم و نسبت باکتری‌ها اثر کاملاً معنی‌داری بر مقدار قند کل داشته و دلیل کاهش قند کل، مصرف قند توسط باکتری‌ها بوده است. توتونچی و همکاران (۲۰۱۵) امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس La-5 را طی ۴ هفته نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل



شکل ۳- تاثیر نوع میوه بر روی مقادیر قند کل
Figure 3. Effect of fruit type on total sugar values

می‌دهد. شکل ۴ نیز اثرات متقابل میوه سیب و آلبالو بر روی مقادیر ویتامین C را نشان می‌دهد. نتایج بیانگر اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) می‌باشد. در این شکل مشاهده می‌شود که سیب کمترین و آلبالو بیشترین مقدار ویتامین C را دارا می‌باشد.

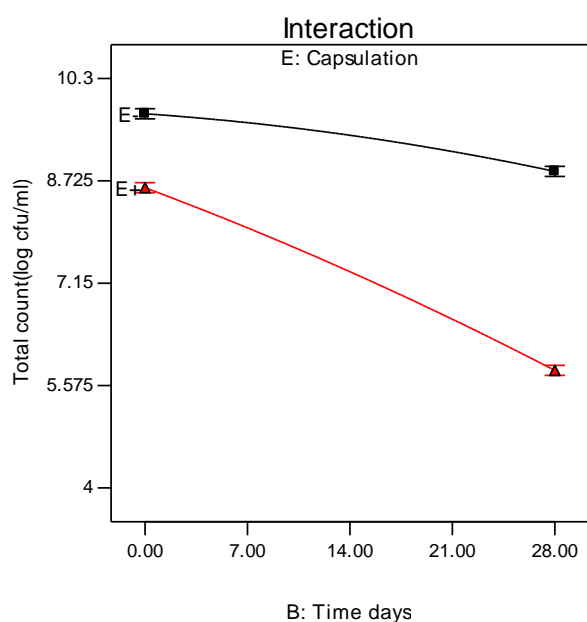
تغییرات ویتامین C: جدول ۵ نتایج مربوط به تحلیل آماری تغییرات ویتامین C آبمیوه را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از معنی‌دار بودن شاخص‌های مدل رگرسیونی مربوط به این پاسخ در سطح اطمینان ۵ درصد و معنی‌دار نبودن عدم برازش برای این شاخص را نشان



شکل ۴- تاثیر نوع میوه بر روی مقادیر ویتامین C
Figure 4. Effect of fruit type on vitamin C values

دهنده‌ها و طعم دهنده باشند که می‌تواند موجب کاهش زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها شوند (۱۳). از بین رفتن لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس در طول نگهداری می‌تواند مربوط به پایین بودن pH آب سیب (pH=۳/۸۳) و ترکیبات آمیوه باشد. وقتی که سلول‌ها در محیطی با pH پایین قرار می‌گیرند. برای حفظ pH درون سلولی خود، نیاز به مصرف انرژی بالایی دارند. لذا سایر وظایف اصلی سلولی تحت تاثیر استرس کمبود ATP قرار گرفته و سلول‌ها نمی‌توانند زنده بمانند (۳۳). اولیواریس و همکاران (۲۰۱۹) و پاتل و همکاران (۲۰۱۷) انکپسولاسیون سلول‌های باکتری لاکتوباسیلوس پلانناروم با ترکیب صمغ‌ها را بررسی کردند و نشان دادند که انکپسولاسیون نقش حفاظت‌کنندگی بیشتر و به تبع تأثیر مثبت بیشتری روی زنده‌مانی آن‌ها در مقایسه با کاربرد هر یک از صمغ‌ها به تنهایی دارد. نتایج حاصله دلالت بر مقاومت بالاتر سلول‌های باکتریایی انکپسوله شده در شرایط اسیدی آب آناناس در مقایسه با نوع آزاد دارد و کاهش جمعیت پروبیوتیک‌های انکپسوله شده کمتر از باکتری‌های پروبیوتیک آزاد بود که به خصوص در تیمارهای ترکیبی، تحت تأثیر اثر هم افزایی صمغ‌ها رخ داد. در واقع لایه پوششی ایجاد شده توسط ترکیب پلی ساکاریدهای کیتوزان و کتیرا با داشتن ساختاری فیزیکی و چند کاتیونی علاوه بر استحکام ساختار انکپسولاسیون، نقش محافظتی برای آن‌ها ایفا کرده و زنده‌مانی و مقاومت باکتری‌های پروبیوتیکی را در برابر شرایط اسیدی آب میوه/دستگاه گوارش افزایش می‌دهند (۲۹ و ۷).

لپکویسکی و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند که میکروارگانیسم‌ها ویتامین C را تخریب می‌کنند که به علت اکسیداسیون مستقیم می‌باشد که در شرایط بی‌هوای برای میکروارگانیسم‌ها اتفاق می‌افتد (۱۸). تغییرات بار میکروبی آمیوه: شکل ۵ تاثیر متقابل زمان نگهداری و انکپسولاسیون را بر روی شمارش کلی نشان می‌دهد. با افزایش زمان نگهداری و با در نظر گرفتن انکپسولاسیون در مراحل اولیه رشد میکروارگانیسم‌های انکپسوله کمتر از میکروارگانیسم‌های غیر انکپسوله (آزاد) می‌باشد که علت آن تکثیر و رشد سریع میکروارگانیسم‌های آزاد در محیطی است که با آن سازگار هستند و اختلاف بین آن‌ها معنی‌دار است. منحنی نشان می‌دهد که محصول از نوع سلامت بخش است به طوری که تعداد سلول در هر میلی‌لیتر برابر 10^7 - 10^6 است. در آمیوه‌ها سطح میکروب‌های پروبیوتیک باید بالاتر از مقدار تضمینی باشد تا بیشترین سود را در بدن داشته باشد که سطح بحرانی آن را عموماً 10^6 سلول در هر میلی‌لیتر در نظر گرفته‌اند. پاتل و همکاران (۲۰۱۷) در گزارشی نشان دادند در دو دمای نگهداری ۲۵ و ۵ درجه سانتی‌گراد در تمام تیمارهای آزاد و انکپسوله در طول ۶۰ روز نگهداری تعداد میکروارگانیسم‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۷). حسینی و همکاران (۱۳۹۶) ثابت کردند زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محیط‌های اسیدی پایین است (۳۳). همچنین حسین پور و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی مشخص کردند که آب میوه‌ها ممکن است دارای مواد آنتی میکروبی طبیعی یا مواد افزودنی هم چون رنگ



شکل ۵- اثرات متقابل گذر زمان و انکپسولاسیون بر روی مقادیر شمارش کلی (E^+ و E^- به ترتیب سلول‌های آزاد و انکپسوله را نشان می‌دهد).

Figure 5. Interaction of encapsulation, storage time on total count values. (E^- and E^+ shows free and encapsulatin cells respectively).

حداکثر زمان انقضا با توجه به آنالیز فیزیکوشیمیایی را یک ماه در نظر گرفت. نمونه‌هایی که حاوی میکروارگانیسم‌های انکپسوله هستند، زمان نگهداری و خواص ارگانولپتیکی بهتری نسبت به بقیه را دارا می‌باشد. همچنین در میوه‌های اسیدی این زمان کمتر می‌شود که از روز بیست و یکم به بعد آنالیز فیزیکوشیمیایی آبمیوه تغییرات محسوسی می‌یابد.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با مطالعه متغیرهای مورد بحث در این مقاله، به جز ویتامین C، بقیه مقادیر در سلول‌های انکپسوله بیشتر از آزاد بود که به علت تخمیر کمتر توسط میکروب‌ها انجام شد. لذا می‌توان معرفی آبمیوه سین بیوتیک به عنوان یک محصول جدید با فرهنگ سازی جامعه برای زمان مصرف آن مثل گروه لبنیات برنامه‌ریزی کرد و

References

- Betoret, E., Betoret., N., Vidal, D. And Fito, P. 2011. Functional foods development: Trends and Technologies. Trends in Food Science & Technology, 22(9), 498-508.
- Aspri, M., Papademas, P., and Tsaltas, D. 2020. Review on non-dairy probiotics and their use in non-dairy based products. Fermentation, 6-30.
- Rezaei, R. 2011. The effect of inulin and some gums on physicochemical, sensory and viability properties of probiotics in frozen yogurt. Food Science Thesis, Gorgan University.
- Bornet, F.R.J., Brouns. F., Tashiro. F., and Duvillier, V. 2002. Nutritional aspects of short-chain fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Digestive and Liver Disease, 34 (2): 111-120.
- Nguyen, B.T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A.T.M., Rezessy-Szabo, J.M., Prasad, R., and Nguyen, Q.D. 2019. Probiotic beverage from pineapple juice fermented

- with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Frontiers in Nutrition*, 9: 6-54.
6. Roberfroid, M.B. 2005. Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93(1): 13-25.
 7. Patel, A.R. 2017. Probiotic fruit and vegetable juices-recent advances and future perspective. *International Food Research Journal*, 24(5): 1850-1857.
 8. Ghazavi, N., Moshtaghi, H., Bonyadian, M., and Abedi, R. 2018. Using *Lactobacillus acidophilus* in production of probiotic pomegranate juice. *Journal of Food Science and Technology*, 77(15):99-107 [In Persian].
 9. Sabbaghpour Langaroudi, S., Nouri, L., and Azizi, M.H. 2021. Production of probiotic pineapple juice with encapsulation of *Lactobacillus plantarum* by chitosan and tragacanth gums. *Journal of Food Science and Technology*, 118(18): 1-12.
 10. Kyung, Y.Y., Woodams, E.E. and Hang, Y.D. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Bioresource Technology*, 97: 1427-1430.
 11. Dana, M., Moraru, M., Bleoanca, I. and Segal, R. 2007. Probiotic vegetable juices. *Food Technology*, 87-91.
 12. Krasaekoopt, W, and Chea, P. 2007. Probiotication of fruit juices. *Faculty of Biotechnology*, 57.
 13. Khalkhali, S., Fazeli, M.R., Nourozi, J. and Salehi, M. 2009. Investigation of probiotic enrichment of beer drink using four species of *Lactobacillus*. *Microbiological knowledge*, 59-63.
 14. Pouragahi, S. and Fazeli, M.R. 2009. Evaluation of probiotic enrichment of dairy-based fruit drinks under fermentation and non-fermentation conditions using the probiotic microorganism *Lactobacillus fermentum*. *Microbiological knowledge*, 5(2): 40-55.
 15. Pereira, A., Maciel, T., and Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food Technology Department*, 44-60.
 16. Ayaseh, A., Taban, H., and Yari Khosroshahi, A. 2017. Production of probiotic carrot juice with using of *Lactococcus lactis*. *Journal of Food Industry Research*. 27(4):183-191[In Persian].
 17. Babaei, M., Hashemiravan, M., and Pourahmad, R. 2018. Production of probiotic beverage based on tomato juice and mixture of sweet pepper, celery and coriander juices. *Journal of Food Science and Technology*. 47(5): 331-341 (In Persian).
 18. Ellefson, W. 2002. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry: HPLC of Mono- and Disaccharide Using Refractive Index Detection*. John Wiley & Sons Inc, E1.2.1–E1.2.9.
 19. King, V.A., Huang, Hui and Tsen. Jen. 2006. Fermentation of tomato juice by cell immobilized *Lactobacillus acidophilus*. *Journal of Medicine*, 12(1): 1-6.
 20. Zandi, M., Hashemiravan, M., and Berenji, S.H. 2016. Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juices. *Journal of Paramedical Sciences*, 7(3):17- 23 (In Persian).
 21. Dowlatabadi, M., Mokhtarian, M., Mortazavi, S.A., and Elhami Rad, A.H. 2016. Investigation of multilayer encapsulation by method of external gelation on the survival of probiotic bacteria undergoing orange juice pasteurization. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 11(3): 93-102 (In Persian).
 22. Brune, S.N. and Bobbit, D.R. 1992. *Anal. Chemistry*. 64: 166.
 23. Godward, G. and Kailasapathy, K. 2003. Viability and survival of free, encapsulated and co-encapsulated probiotic bacteria in yoghurt. *Milk Science International*, 58: 396-399.
 24. Sheikhghasemi, S.H., and Zomorodi, S.H. 2014. The effect of maintenance temperature on free and encapsulated *Lactobacillus* in apple juice. *Food Technology and Nutrition*, 11(3): 81-90 (In Persian).
 25. Mortazavi, A., and Ziaolhagh, H.R. 2006. Citrus fruit types product. Ferdowsi Mashhad University Publish, 20(53-54), 379.
 26. Pir Mohammadi, R., Ashrafi Yurqanlu, R., Yar Hosseini, M., Kakeh Mohammadi, M. and Kaki, S. 2016. Investigating the possibility of producing apple banana

- syrup juice. 3rd International Conference on Science and Engineering [In Persian].
27. Steindl, R.J. 2010. Clarification of cane juice for fermentation. *Sugar Cane Technology*, 23: 263-268.
 28. Gibson, G.R., Beahy, E.R., Wang, X., and Cummings, J.H. 1995. Selective Stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *American Gastroent Association*, 108: 975-982.
 29. Livares, A., Soto, C., Caballero, E., and Altamirano, C. 2019. Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42:42-48.
 30. Tutunchi, P., Hesari, J., Moradi, M. and Fathi Achachlui, B. 2015. Assess the possibility of producing probiotic red grape juice using *Lactobacillus casei* 431 and *Lactobacillus acidophilus* La-5. *Journal of Food Industry Research*, (4) 25: 655- 666 [In Persian]
 31. Sohrab Vandi, S., Mortazavian, S.M., Jahani, H., Eyvani, M.J., Neamatollahi, A. and Komeili Fanood, R. 2015. Investigating the effect of some prebiotics on the physicochemical and sensory properties of diet orange juice. *Hakim Seyed Ismail Jorjani Magazine*, Third Year, 3: 1-11 [In Persian].
 32. Lepkovsky, S., and Hart, E.F. 2013. The effect of fermentation with specific microorganism on the vitamin C content of orange and tomato juice. *Origin Journal*, 32(2): 1-6.
 33. Hosseini, M., Rezazad Bari, M., and Alizadeh Khaledabad, M. 2017. Production of synbiotic juice: study on the effect pH, Brix, Formalin index and Rheological. *Journal of Food Science and Technology*, 63(14): 73- 81 [In Persian].
 34. Hosseinpour, A., Shahsavari, S., and Mahmoudi, R. 2019. Chemical, sensory and survival properties of *Lactobacillus Plantarum* in peach juice. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences*, 23(4): 342-351 [In Persian].