تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری کامبوجا با استفاده از چای سفید و قند مایع خرما حاوی سرکه سیب و زنجبیل

عزیزه حیدری[۱]، محمود رضازادباری[۲*]، صابرامیری[۳]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی صبا، ارومیه
۲. گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه
۳. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز

***نویسنده مسئول:** *m.rezazadehbari@urmia.ac.ir*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۳/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۲۵

چکیده

کامبوجا نوشیدنی تخمیری غیرلبنی است که ماده اولیه مورد استفاده در تولید آن معمولاً چای سیاه شیرین شده با شکر می‌باشد. هدف این مطالعه، تولید محصول جدید چای کامبوجا با استفاده از چای سفید و سرکه سیب، که دارای خواص ضد اکسایشی بالا هستند، می‌باشد. برای این منظور، اثر قند مایع خرما (۱۰۰-۴۰درصد وزنی/حجمی) به عنوان منبع کربن برای تخمیر کامبوجا، سرکه سیب (۱۵-۳۰ درصد) و زنجبیل (۰/۷۵ g/L - ۰/۲۵) برکیفیت میکروبی، خواص شیمیایی و ویژگی های تغذیه ای نوشیدنی کامبوجا در طول مدت زمان فرآیند تخمیر (۱ تا ۱۵روز) در قالب طرح Box-Behnken مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با گذشت زمان تخمیر وزن لایه سلولزی و اسیدیته نمونه‌ها افزایش ولیpH نمونه‌ها کاهش یافت که غلظت قند مایع خرما و مدت زمان فرآیند تخمیر بر این ویژگی‌ها معنی دار بود (P<۰/۰۵). همچنین بیشترین مقدار پلی فنل بر حسب گالیک اسید و قدرت آنتی اکسیدان برحسب درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در روز پانزدهم مشاهده شد که اثر مدت زمان فرآیند تخمیر بر این ویژگی‌ها معنی دار بود (P<۰/۰۵). بطور کلی نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در نوشیدنی کامبوجا تهیه شده از چای سفید و قند مایع خرما که حاوی زنجبیل و سرکه سیب بود، مدت زمان فرآیند تخمیر تنها عاملی بود که بر تمامی ویژگی‌های مورد مطالعه اثر معنی دار داشت (P<۰/۰۵). همچنین می‌توان نتیجه گرفت که به جز زنجبیل که باعث کاهش مخمرها شد (P<۰/۰۵)، سایر فاکتورهای مورد مطالعه تاثیر معنی داری بر ویژگی‌های چای کامبوجای تولیدی نداشتند (P>۰/۰۵).

واژگان کلیدی: کامبوجا، چای سفید، زنجبیل، سرکه سیب، قند مایع خرما.

مقدمه

چای کامبوجا یک چای تخمیری سنتی، با گذشته‌ای چندین هزار ساله در شرق است و امروزه در غرب نیز کاربرد آن کاملاً رایج شده است. در واقع نوشیدنی کامبوجا توسط همزیستی بین مخمر و باکتری طی فرایند تخمیر ۷ تا ۱۰ روزه از چای شیرین سیاه تولید می‌شود. مخمرها می‌توانند از منبع نیتروژن موجود در چای دم کرده استفاده نمایند و همچنین ساکارز موجود در چای توسط مخمر به گلوکز و فروکتوز هیدرولیز می‌شود، گلوکز توسط مخمر به اتانول و دی اکسید کربن تبدیل می‌گردد. در مرحله بعد اتانول توسط استوباکترها به اسید اسیتیک تبدیل می‌شود. طی تخمیر و اکسیداسیون مجموعه مخمرها و باکتری مواد با ارزشی نظیر اسید لاکتیک، اسید گلوکورونیک، اتانول، و ویتامین‌ها، آمینو اسیدها و سایر متابولیت‌ها را تولید می‌کند. غلظت اتانول در کامبوجا به ندرت به بیش از یک درصد می‌رسد. اگر مدت زمان تخمیر طولانی باشد مقدار اسید استیک می‌تواند به ۳ درصد افزایش یابد اما به طور معمول کمتر از یک درصد می باشد (Teoh et al., 2007; Sreeyaamulu et al., 2000). گزانتان و کافئین مربوط به چای دم کرده سنتز سلولز را از طریق تحریک باکتری‌ها، افزایش می دهند. نوشیدنی کومبوجا در واقع یک کشت پروبیوتیک حاوی اسید است که برای کمک به حفظ تعادل سوخت و ساز بدن و تقویت سیستم ایمنی کاربرد دارد. این نوشیدنی عملگرا تنها منبع غذایی شناخته شده حاوی اسید گلوکورونیک است که نقش مهمی در سم زدایی

بدن توسط کبد دارد (علی پـور عمروآبـادی و همکـاران، ۱۳۹۵؛Sreeyaamulu et al. 2000).

ایران همواره یکی از کشورهای برتر تولیدکننده خرما بوده و طبق آمار میزان تولید خرما در جهان نزدیک به ۷/۵ میلیون تن و برای ایران نزدیک به ۱میلیون می-باشد. در حدود ۳۰ درصد خرمای تولید شده در کشور به دلیل نامرغوب بودن مستقیماً جذب بازار مصرف خانگی نمی‌شود و باید به واحدهای صنایع تبدیلی به فراورده‌های با ارزشی تبدیل شود (گوهری اردبیلی و همکاران، ۱۳۸۴). شیره، کنسانتره و قندمایع خرما از محصولات جانبی خرما می‌باشند. از عصاره گیری خرما به وسیله آب گرم و تغلیظ آن، شیره خرما به دست می‌آید. این محصول در اثر افزودن آنزیم، شفاف سازی و رنگ بری به کنسانتره خرما تبدیل شد و کنسانتره خرما نیز در اثر یون زدایی به قند مایع خرما تبدیل می شود. غالب قندهای خرما قند اینورت (مقادیر تقریباً برابر گلوکز و فروکتوز) است. از نظر فیزیولوژی قند فروکتوز موجود در قند مایع خرما در بدن برای جذب به انسولین نیاز ندارد، بنابراین قند مناسبی برای بیماران دیابتی است. رنگ آن از قهوه‌ای تا زرد روشن متغیر می‌باشد. بریکس آن ۷۴-۶۸ و دارای ۷۳ درصد ماده قندی می‌باشد (آذرپور و همکاران، ۱۳۹۳).

زنجبیل یا زنجفیل گیاهی است با نام علمی *Zingier officiniale* که به نام عمومی GINGER در دنیا مشهور است. کاربرد دارویی زنجبیل به هند و چین بر می‌گردد. از نام‌های دیگر آن می‌توان به جربیل و زنزبیل اشاره نمود (Zancan et al., 2002). تهوع و استفراغ از علایم بارداری در ۱۴ هفته اول که روی می دهد مصرف زنجبیل یکی از راه‌های بهبود این سندرم می‌باشد. از زنجبیل به عنوان یک گیاه دارویی و دارای ترکیبات پلی فنل که فعالیت ضد باکتری و ضد توموری می‌باشد (Stoilova et al., 2007).

کلمه سرکه از واژه فرانسوی *Vinaigre* به معنی ترش مشتق شده است. این محصول به روش‌های مختلف و با استفاده از مواد اولیه گوناگون قابل تولید است. از جمله تغییرات طبیعی که در آب میوه ها رخ می‌دهد، تخمیر الکلی توسط مخمرها و به دنبال آن اکسیداسیون الکل تولید شده به اسید استیک توسط باکتری‌های استیک است. چنانچه اسید استیک به اندازه کافی تولید شود محصول حاصل سرکه نامیده می‌شود. سرکه سیب یکی از فرآورده‌های سیب است که حاوی انواع فلاونوئیدها می‌باشد. سرکه سیب به عنوان ماده نگهدارنده و طعم دهنده در صنعت غذا دارای کاربردهای زیادی است (Deory et al. 2004).

چای سفید محصول فصلی است و از برگ های تازه جوان کنده می‌شود و بدون هیچ فرایند تخمیر توسط هوا خشک می‌گردد. چای سفید نقره‌ای و هنگام دم کردن زرد کم رنگ می‌باشد (Peiros et al., 2008). کافئین و تئین چای سفید از چای سبز کمتر است، در نتیجه طعم ملایم نسبت به چای سبز دارد، ضمن اینکه چند برابر بیشتر از چای سبز و سیاه حاوی پلی فنل‌های ضد اکسایشی است (Haily et al., 2007).

هدف از این پژوهش تولید نوشیدنی تخمیری کامبوجا بر پایه چای سفید با استفاده از جایگزین نمودن قند مایع خرما با ساکارز تولید شد و همچنین از یک سو فلور طبیعی سرکه سیب و همچنین تنظیم pH به وسیله آن که تاکنون استفاده نشده مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

- روش تولید نوشیدنی کامبوجا

برای تولید چای کامبوجا از روش احمدی گاولیقی و همکاران (۱۳۸۸)، استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا چای سفید و آب جوش را در یک ظرف شیشه‌ای ریخته و اجازه داده می‌شود مایع کاملاً خنک شود. سپس قند مایع خرما (۱۰۰-۴۰درصد وزنی/حجمی)، سرکه سیب (۱۵-۳۰ درصد) و زنجبیل (۰/۷۵ g/L-۰/۲۵) مطابق طرح آماری اضافه شد و قارچ کامبوجا (لایه کامبوجا) به میزان ۵ درصد (وزنی/حجمی) به

آرامی درون شیشه اضافه گردید. در ادامه درب شیشه با پارچه از جنس الیاف طبیعی پوشانده و با کش محکم بسته شد. نمونه در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد و دور از پرتو مستقیم خورشید به مدت ۱ الی ۱۵ روز مطابق طرح آماری جهت تخمیر نگه داشته شد.

- ارزیابی pH

pH نمونه ها پس از تخمیر بلافاصله با دستگاه pH متر الکترونی اندازه گیری شد (Malbasa et al., 2008a).

- اندازه‌گیری اسیدیته

اسیدیته با استفاده از تیتراسیون محلول استاندارد هیدروکسید سدیم (۰/۱ نرمال) و فنل فتالئین انجام گرفت (Malbasa et al., 200b8).

- اندازه گیری بیوفیلم کامبوجا

لایه جدید کامبوجای تشکیل شده از سطح مایع تخمیر شده برداشته شده و با آب مقطر شسته و توسط کاغذ صافی خشک شد. سپس‌لایه توسط ترازوی‌دیجیتالی با دقت یک‌هزارم گرم وزن شد(Malbas et al., 2008a).

- اندازه گیری پلی فنل کل

پلی فنل کل پس از تخمیر به روش فولین – سیوکالتیو انجام شد. ۰/۰۵ میکرولیتر از نوشیدنی کامبوجا با ۲/۵ میلی لیتر محلول فولین – سیوکالیتو، ۲ میلی لیتر کربنات سدیم مخلوط شد. جذب مخلوط پس از نیم ساعت در دمای اتاق و در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه گیری شد (Chu et al., 2006).

- ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی

فعالیت ضد اکسایشی نمونه بر اساس تاثیر فعالیت ضد اکسایشی بر روی رادیکال‌های آزاد DPPH انجام شد. ۲/۵ میلی لیتر از نوشیدنی کامبوجا با ۱ میلی لیتر DPPH مخلوط شد پس از نیم ساعت در دمای اتاق و در طول موج ۵۱۸ نانومتر اندازه گیری شد. لوله بدون نمونه به عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد (Chu et al., 2006).

درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH = $\frac{A-B}{A}\times 100$

A: جذب کنترل B: جذب نمونه

- شمارش مخمرها

شمارش مخمرها در نمونه ها پس از تخمیر به وسیله کشت سطحی با استفاده از محیط کشت سابورود دکستروز آگار (مرک، آلمان) با اضافه کردن ۵۰ mg/L کلرامفنیکل و به مدت ۷۲ ساعت و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد (Cvetković et al., 2008).

- شمارش باکتری اسید استیک

شمارش باکتری در نمونه‌ها پس از تخمیر به وسیله کشت سطحی با استفاده از محیط کشت مانیتول آگار (مرک، آلمان) با اضافه کردن ۵۰mg/d سیکلوهگزامید به مدت ۷-۵ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شد (Cvetković et al., 2008).

- طرح آزمایشی و آنالیز آماری

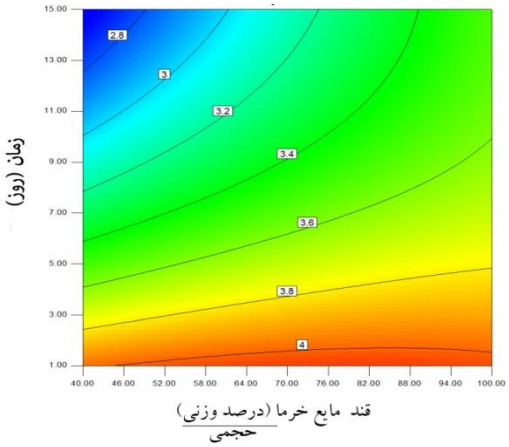
در مطالعه حاضر ۴ فاکتور درصد قند خرما، زنجبیل و سرکه سیب و همچنین مدت زمان تخمیر، هر کدام در سه سطح، با به کارگیری روش سطح پاسخ و در قالب طرح Box-Behnken مورد ارزیابی قرار گرفت. در این طرح ۲۶ نمونه همراه با ۵ نقطه مرکزی در طرح جهت برآورد عدم تطابق و تکرار پذیری در نظر گرفته شد. پس از انجام آزمایشات و گرداوری اطلاعات آزمون معنی داری فاکتورها و اثرات متقابل آنها با روش تجزیه و تحلیل واریانس(ANOVA) و توزیع فیشر سطح معنی داری α=۰/۰۵ انجام شد. برای آنالیز داده ها و رسم نمودارها از نرم افزار SAS نسخه ۹/۳ استفاده گردید.

نتایج

- تغییرات pH در فرآیند تخمیر

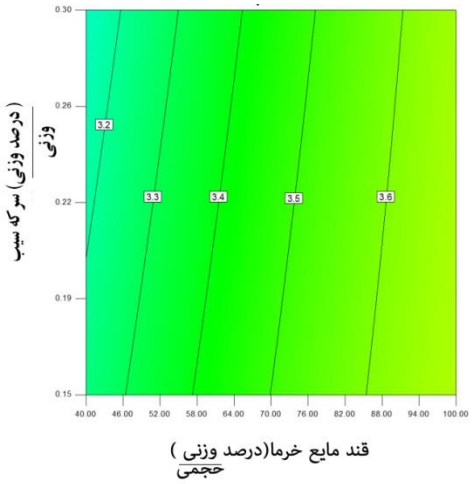
با توجه به شکل ۱ در مقدار ثابت قند مایع خرما، با افزایش زمان مقدار pH کاهش می‌یابد. چون مقدار سوبسترا در روزهای اولیه زیاد است توسط میکروارگانیسم‌ها به سرعت استفاده و اسید بیشتری تولید، pH کاهش می‌یابد و بعد از اتمام منبع کربن کاهش pH تقریباً ناچیز است.

در زمان ثابت با افزایش مقدار قند مایع خرما pH افزایش می‌یابد. علت کاهش آهسته‌تر pH با گذشت زمان اثر بافر ناشی از واکنش بین اسیدهای آلی منتشر شده و مواد معدنی سوبسترا مرتبط می‌باشد.



شکل ۱- تاثیر غلظت قند مایع خرما و زمان بر pH

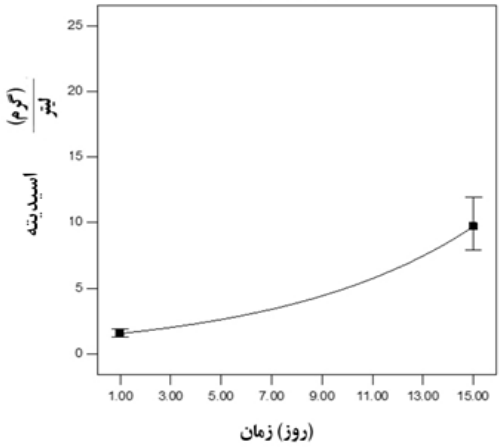
با توجه به شکل ۲ در طی تخمیر، در مقدار ثابت قند مایع خرما با افزایش سرکه سیب مقدار pH کاهش می‌یابد به دلیل اینکه سرکه سیب ترکیبی اسیدی می-باشد و اسیدهای آلی بیشتری تولید و pH کاهش می-یابد. با افزایش قند مایع خرما pH افزایش می‌یابد بیشترین مقدار pH در بیشترین مقدار قند مایع خرما مشاهده شد.



شکل ۲- تاثیر غلظت قند مایع خرما و سرکه سیب بر pH

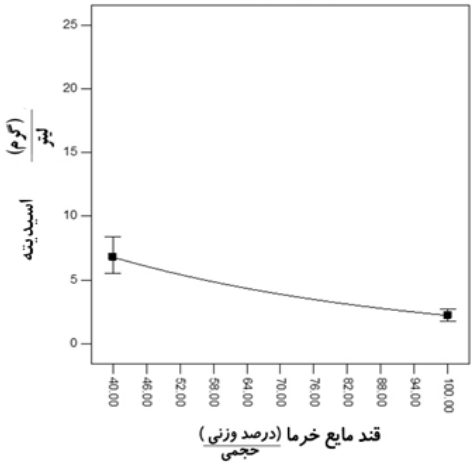
- تغییرات اسیدیته در فرآیند تخمیر

آنالیز آماری اختلاف معنی‌داری P<۰/۰۵ را در اسیدیته تیمارها نشان داد، به طوری که با گذشت زمان اسیدیته افزایش یافت که به دلیل تخمیرساکارز موجود در چای به گلوکز و فروکتوز توسط مخمرها می‌باشد.



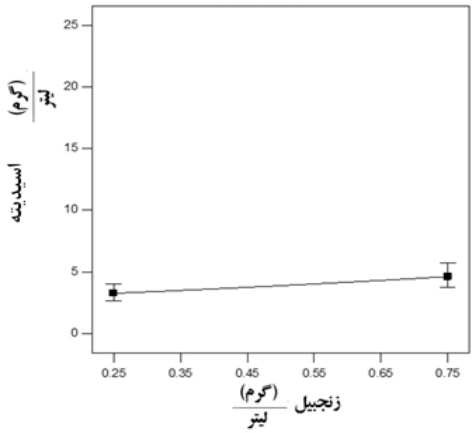
شکل ۳- تاثیر زمان بر اسیدیته

با توجه به شکل ۴ در طی تخمیر با افزایش قند مایع خرما اسیدیته کاهش می یابد. غلظت های پائین قند مایع خرما بیشترین اسیدیته را دارا بوده است.



شکل ۴- تاثیر غلظت قند مایع خرما بر اسیدیته

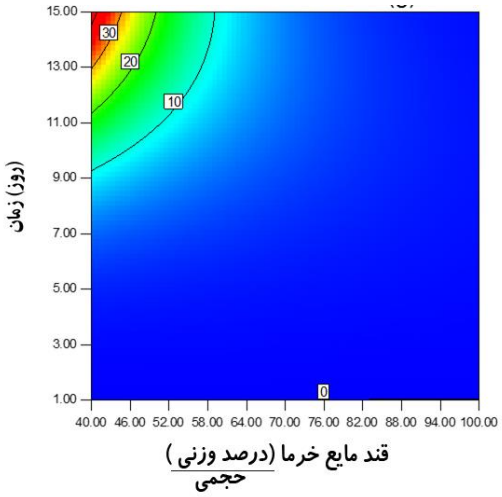
با توجه به شکل ۵ در طی تخمیر با افزایش مقدار زنجبیل تغییر معنی داری در مقدار اسیدیته مشاهده نشد و فقط با افزایش مقدار زنجبیل افزایش جزئی اسیدیته مشاهده گردید.



شکل ۵- تاثیر غلظت زنجبیل بر اسیدیته

- تغییرات لایه کامبوجا در طی فرآیند تخمیر

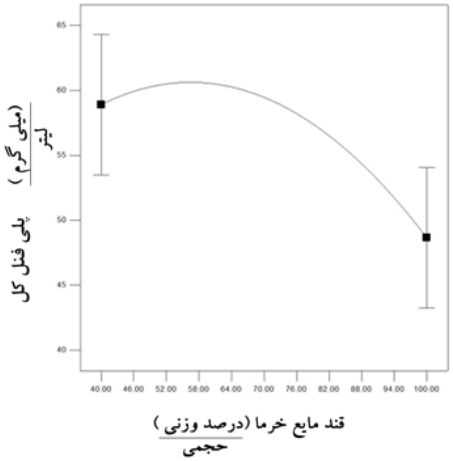
در شکل ۶ در نسبت‌های ثابت غلظت قند مایع خرما با گذشت زمان، جرم لایه کامبوجا افزایش یافته و این افزایش در غلظت‌های پایین قند مایع خرما بیشتر بوده است. یعنی با افزایش غلظت قند مایع خرما بیومس (بر حسب گرم)کاهش می‌یابد. لایه سلولزی کامبوجا طی زمان تخمیر رشد می‌کند.



شکل ۶- تاثیر غلظت قند مایع خرما و زمان بر لایه کامبوجا (بر حسب گرم)

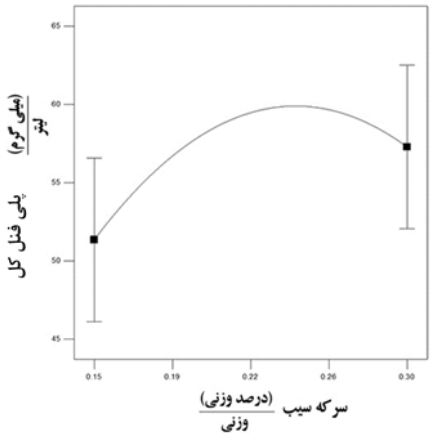
- تغییرات پلی فنل در طی فرآیند تخمیر

با توجه به شکل ۷ طی فرایند تخمیر با افزایش قند مایع خرما مقدار پلی فنل کل کاهش یافته است. بیشترین مقدار پلی فنل در مقدار پایین قند مایع خرما ۴۰ W/V مشاهده شد و کمترین پلی فنل در مقدار بالای قند مایع خرما ۱۰۰ W/V مشاهده گردید.

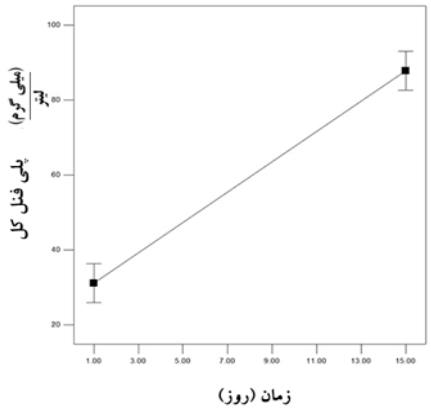


شکل ۷- تاثیر غلظت قند مایع خرما بر پلی فنل کل

با توجه به شکل ۸ طی فرایند تخمیر با افزایش سرکه سیب مقدار پلی فنل کل افزایش یافت. همچنین با توجه به شکل ۹ طی فرایند تخمیر با گذشت زمان مقدار پلی فنل کل سیر صعودی داشت و بیشترین مقدار پلی فنل کل روز پانزدهم مشاهده شد.



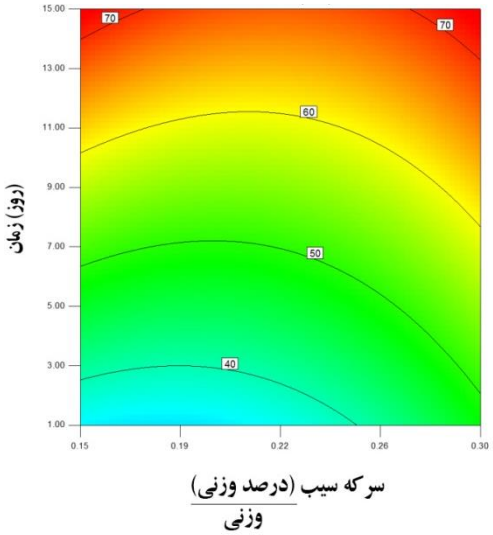
شکل ۸- تاثیر غلظت سرکه سیب بر پلی فنل کل



شکل ۹- تاثیر زمان بر پلی فنل کل

- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدان در طی فرآیند تخمیر

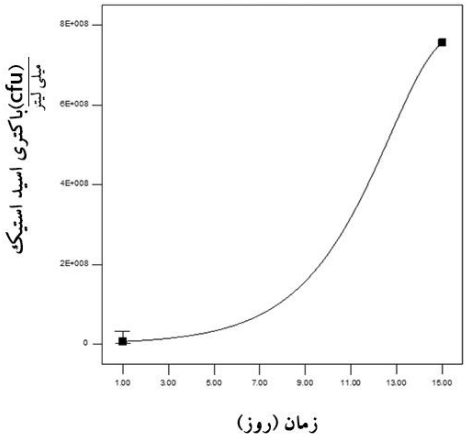
آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH، یکی از مهم ترین آزمون جهت فعالیت ضد اکسایشی می‌باشد. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار است که می‌تواند یک الکترون و یا رادیکال هیدروژنی قبول کند و به یک مولکول خنثی (DPPH -H) و پایدار تبدیل شود. در تمام نمونه‌ها تغییر رنگ از بنفش (رادیکال) به زرد (خنثی) مشاهده شد. با توجه به شکل ۱۰ در طی تخمیر با گذشت زمان خاصیت ضد اکسایشی افزایش می‌یابد زیرا چای سفید خود دارای ترکیبات ضد اکسایشی زیادی میباشد. اگر چه فعالیت ضد اکسایشی بالا به زمان بستگی دارد ولی زمان طولانی توصیه نمی‌شود زیرا باعث از بین رفتن اسیدهای آلی می‌شود. افزایش فعالیت ضد اکسایشی به زمان، نوع مواد چای و کشت میکروبی طبیعی کامبوجا بستگی دارد.



شکل ۱۰- تاثیر غلظت سرکه سیب و زمان بر درصد مهار رادیکال-های آزاد DPPH

- تغییرات باکتری اسید استیک طی فرآیند تخمیر

با توجه به شکل ۱۱ در طول تخمیر با گذشت زمان میزان رشد باکتری‌های اسید استیک افزایش می‌یابد. به دلیل اینکه طی زمان تخمیر pH کاهش و محیط اسیدی می‌شود در نتیجه شرایط برای رشد باکتری‌های اسید استیک مهیا می‌شود.

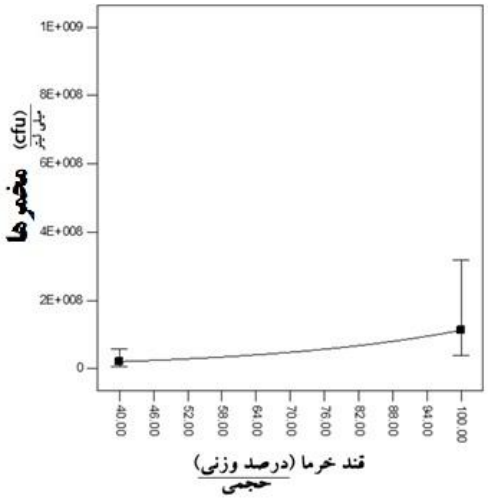


شکل ۱۱- تاثیر زمان بر میزان باکتری‌های اسید استیک

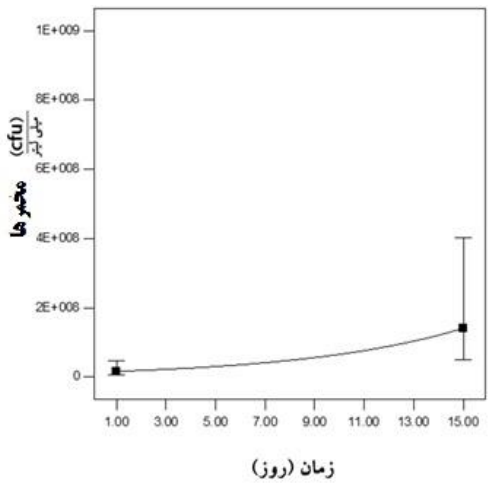
- تغییرات مخمرها طی فرآیند تخمیر

مخمرها برای رشد و ازدیاد به دمای مناسب، رطوبت کافی وجود قندهایی نظیر گلوکز، ساکاروز، لاکتوز نیاز دارند. مطابق شکل ۱۱با افزایش قند مایع خرما به رشد مخمرها به صورت جزئی افزایش می‌یابد طوری‌که کم-ترین شمارش مخمرها در کم‌ترین مقدار قند مایع خرما مشاهده شد. به دلیل اینکه قند مایع خرما سوبسترای مناسب برای رشد و تکثیر مخمرها می‌باشد.

مطابق شکل ۱۳ در طی تخمیر با گذشت زمان مخمرها به صورت جزئی افزایش می‌یابد و بیشترین تعداد مخمر در روز پانزدهم مشاهده شد.

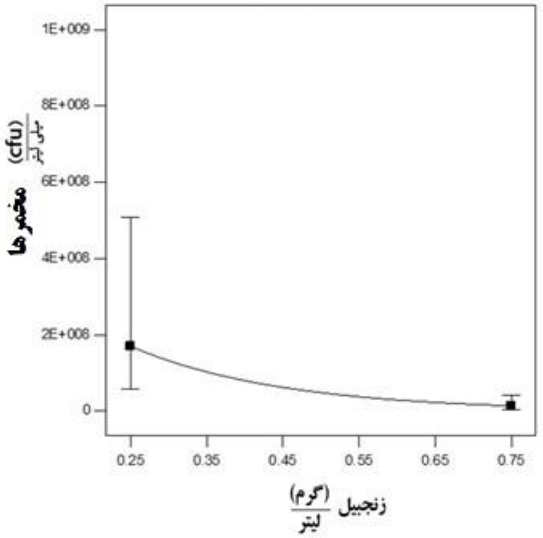


شکل ۱۲- تاثیر غلظت قند مایع خرما بر میزان مخمرها



شکل ۱۳- تاثیر زمان بر میزان مخمرها

با توجه به شکل ۱۴ در طی تخمیر با افزایش زنجبیل از (۰/۲۵ تا ۰/۷۵ g/N) تعداد مخمرها کاهش می‌یابد و بیشترین تعداد مخمرها در مقدار ۰/۲۵ g/L مشاهده شد. احتمالاً به دلیل مواد موجود ضد اکسایشی مانند جینجرول در زنجبیل می‌باشد.



شکل ۱۴- تاثیر غلظت زنجبیل بر میزان مخمرها

بحث

مالباسا و همکاران درسال ۲۰۰۸، درنمونه‌های تخمیری تهیه شده با منبع قندی ساکارز و ملاس به این نتیجه رسیدندکه باگذشت زمان، pH کاهش پیدا کرد و کاهش pH در ۳ روز اول شدید بود و بعد از ۳ روزکاهش pH آهسته‌تر شد. در نمونه‌های تخمیری تهیه شده با ملاس این کاهش مشاهده گردید که علت آن به دلیل ترکیب شیمیایی ملاس می‌باشد (Malbasa et al., 2008a). جایابالان و همکاران در سال ۲۰۰۸، درنمونه‌های تخمیری با چای سیاه، چای سبز و ضایعات چای که به مدت ۱۸ روز تهیه کردند به این نتیجه رسیدند که pH کاهش یافت وکاهش pH در ۳ روز اول بیشترین و بعد از ۳ الی ۱۸ کاهش pH کمتر مشاهده گردید که به علت تغلیظ اسیدهای آلی در طی تخمیر می‌باشد که pH از ۵ به ۳ رسید. به دلیل دارا بودن ظرفیت بافری درطی تخمیر CO_2 تولید می‌شود که CO_2 در روزهای اول آهسته و بعد از ۳ الی ۱۸روز سریع تولید می‌شود (Jayabalan et al., 2007). نتایج مالباسا و همکاران در سال ۲۰۰۸ با یافته‌های حاصل از این پژوهش مطابقت دارد.

مالباسا و همکاران در سال ۲۰۰۸، نمونه‌های تخمیری تهیه شده با ملاس در مقادیر ۷۰ g/L، ۵۰g/L، g/L ۳۵ تهیه کردند و به این نتیجه رسیدندکه باگذشت زمان pH کاهش یافت و بیشترین pH در مقدار قندی بالاتر یعنی (۷۰ g/L) و کمترین pH درمقدار قندی کمتر (۳۵ g/L) مشاهده شد (Malbasa et al., 2008b). گلوکز در ابتدا به وسیله مخمرها به اتانول و دی‌اکسیدکربن تبدیل می‌شود. در مرحله بعد اتانول توسط استوباکترها به اسیداتیک تبدیل می‌گردد و به طور معمول مقدار اسیداتیک کمتر از یک درصد می‌باشد (Green Walt et al., 2000). مالباسا و همکاران در سال ۲۰۰۸، نیز درنمونه‌های تخمیری تهیه شده با منبع قندی ساکارز و ملاس به این نتیجه رسیدند که با گذشت زمان، اسیدیته افزایش یافت، به خصوص در ملاس افزایش اسیدیته بیشتر مشاهده شد که به علت ترکیب شیمیایی ملاس (دارا بودن اسیدآلی مانند لاکتیک، بوتریک، پروپیونیک، استیک، سیتریک) می‌باشد. شمارش اسیدیته کل بستگی به فعالیت متابولیسم و باکتری اسیداستیک دارد که اسیداستیک تولید می‌کند که با یافته‌ها حاصل از این تحقیق

مطابقت داشت (Malbasa et al., 2008a). یکی از علل کاهش اسیدیته با افزایش قند مایع خرما، احتمالاً ناشی از کاهش فعالیت مخمرها در نتیجه فشار اسمزی محلول می باشد (Jayabalan et al., 2008). مالباسا و همکاران در سال ۲۰۰۸، بر روی نمونه‌های تخمیری تهیه شده با ملاس که در مقادیر متفاوت ۷۰g/L، ۵۰ g/L و ۳۵ g/L تهیه کردند، به این نتیجه رسیدند که با افزایش قند کاهش اسیدیته مشاهده شد که به ترکیب شیمیایی منبع قندی (اسیدچرب آزاد، اسیدآلی، مقدار کمی اسید لاکتیک و قندانورت) بستگی دارد. بر اساس نتایج این تحقیق بیشترین مقدار در کاهش اسیدیته در بیشترین مقدار قند مایع خرما مشاهده شد (Malbasa et al., 2008a). زنجبیل به علت داشتن جینجرول که خاصیت ضد اکسایشی و ضد میکروبی دارد مانع از رشد مخمرها و باکتری‌ها شده و در نتیجه از تولید اسیدیته جلوگیری می‌شود (Zancan et al., 2002). به علت خصوصیات بافری نوشیدنی کامبوجا، تفاوت در اسیدیته قابل تغییر بین نمونه‌ها بیشتر از تغییرات در pH است. از این رو اسیدیته قابل تغییر به جای مقدار pH به عنوان پارامتر بحرانی، پایان تخمیر کامبوجا را تعیین می‌کند (Malbasa et al., 2008b).

نشان داده شده که ترکیبات این لایه بر اساس منبع آن متفاوت است که احتمالاً به دلیل تنوع فلور میکروبی موجود در نمونه‌های مختلف لایه سلولزی می‌باشد (Jayabalan et al., 2008). مالباسا وهمکاران در سال ۲۰۰۸، درنمونه‌های تخمیری تهیه شده با ملاس در مقادیر ۷۰g/L ، ۵۰g/L، ۳۵ g/L مقدار لایه کامبوجا را به ترتیب ۲۶۰gr، ۱۰۰gr، ۸۵ gr مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند که با افزایش مقدار قند، افزایش جرم لایه کامبوجا مشاهده شده است که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت ندارد. افزایش جرم لایه کامبوجا طی تخمیر به ماهیت سوبسترا بستگی دارد که ۲ درصد از جرم کل لایه کامبوجا را نیتروژن (اسید آمینه آزاد، پیرولیدون، اسید کربوکسیلیک) تشکیل دهد (Dosenovic, 2004).

دلیل اینکه لایه سلولزی با گذشت زمان افزایش می-یابد، به ترکیبات موجود در چای دم کرده مثل گزانتان و کافئین مربوط می‌شود که سنتز سلولز را به وسیله باکتری‌ها تحریک می‌کنند. ولی اگر مقدار کافئین خیلی زیاد و بیشتر از ۴ برابر مقدار معمول باشد، می-تواند از رشد میکرو ارگانیسم های موجود در کامبوجا جلوگیری کند (Green Walt et al., 2000). مالباسا و همکاران در نمونه‌های تخمیری تهیه شده با منبع قندی ساکارز و ملاس به این نتیجه رسیدند که با گذشت زمان جرم لایه کامبوجا افزایش پیدا کرد و در نمونه‌های تخمیری تهیه شده با ملاس، افزایش جرم لایه کامبوجا بیشتر از نمونه تهیه شده باساکارز می باشد زیرا ملاس دارای نیتروژن بالا می‌باشد (Malbasa et al., 2008a).

جایابالان و همکاران در سال ۲۰۰۸، مقدار پلی فنل کل ۳ نمونه تخمیری تهیه شده با چای‌سیاه، سبز و ضایعات چای را در مدت ۱۸ روز باهم مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که با گذشت زمان تخمیر، مقدار پلی فنل کل در هر ۳ نمونه افزایش یافت. افزایش پلی فنل کل نمونه تخمیری تهیه شده با چای سبز بیشتر از هر دو نمونه تخمیری دیگر بود. مطابق نتایج جایابالان و همکاران (۲۰۰۷)، تجربه زیستی اپی گالوکاتچین گالات به اپی گالوکاتچین و اپی کاتچین گالات به اپی کاتچین توسط آنزیم‌های تولیدی از میکروارگانیسم‌های کامبوجا و آزاد شدن کاتچین‌ها می‌تواند دلیل افزایش مقدار پلی فنل‌ها باشد (Jayabalan et al., 2008).

چو و همکاران در سال ۲۰۰۶، پلی فنل کل ۸ نمونه تخمیری کامبوجا را در ۱۵ روز با هم مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که با گذشت زمان در همه نمونه‌ها افزایش پلی فنل کل به صورت خطی بود. ایشان عنوان کردند که احتمالا از بین رفتن تئاروبیگین با گذشت زمان باعث افزایش پلی فنل در طی تخمیر

شده است (Chu et al., 2006). فراوانترین انواع پلی فنل‌های موجود در رژیم غذایی فلاوونوئیدها هستند که اثرات ضد اکسایشی، ضد حساسیت و ضد میکروبی دارند (Green Walt et al., 2000).

چو و همکاران در سال ۲۰۰۸، درصد فعالیت ضد اکسایشی نمونه تخمیری کامبوجا را با هم مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که در هر ۸ نمونه با گذشت زمان افزایش فعالیت ضد اکسایشی مشاهده کردند و تفاوت ظرفیت ضد اکسایشی این ۸ نمونه به میکروب طبیعی در نمونه تخمیری بستگی داشت (Chu et al., 2008). جایابالان و همکاران در سال ۲۰۰۸، فعالیت ضد اکسایشی ۳ نمونه تخمیری تهیه شده با چای سیاه، سبز و ضایعات چای را با هم مقایسه کردند. ایشان ۳ روز اول افزایش آنتی اکسیدان و بعد از ۳ الی ۶ روز کاهش فعالیت ضد اکسایشی و از روز ۶ الی ۱۸ افزایش فعالیت ضد اکسایشی مشاهده کردند و به این نتیجه رسیدند که چای سبز (۸۸ درصد) دارای بیشترین فعالیت ضد اکسایشی می باشد. آنها نتیجه گرفتند که پلی فنل وکاتچین مسئول اصلی ظرفیت آنتی اکسیدان می‌باشد (Jayabalan et al., 2008).

علی پور و همکاران در سال ۱۳۹۵، تولید نوشیدنی کامبوجا از طریق جایگزینی شکر، با خرما بررسی و روند رشد میکروبی در نمونه‌ها را با هم مقایسه کردند و به این نتیجه رسیدند که تفاوت آماری معنی داری بین میانگین تعداد مخمرها در روز پانزدهم در بین نمونه-های کامبوجا با آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد وجود نداشت. در روزهای اول، سی‌ام، چهل و پنجم و شصتم تفاوت معنی داری تعداد مخمرها در نمونه‌ها وجود داشت. در این تحقیق با توجه به نتایج به دست آمده از آزمون کشت مخمر که نشان دهنده رشد بهتر و بیشتر مخمرها در کامبوجای تولیدی با شیره خرما است که با توجه به وجود قند گلوکز در این نمونه مشخص می‌گردد که مخمرهای کامبوجا قند گلوکز را بهتر و راحت تر استفاده نموده و رشد کردند (علی پور و هکاران، ۱۳۹۵). سریمولا و همکاران در سال ۲۰۰۰ در طی تخمیر بعد از ۶ روز تعدادی باکتری را Log CFU/ml ۵/۳ و مخمرها را Log CFU/ml ۴/۴۸ گزارش کردند و به این نتیجه رسیدند که برای چای کامبوجا هیچ استاندارد میکروبی وجود ندارد. زانکن و همکاران در سال ۲۰۰۲، گزارش کردند که مواد آنتی اکسیدان استخراج شده از زنجبیل اثر ضد میکروبی قوی دارد (Zankan et al.,2002).

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده نشان داد، در نوشیدنی کامبوجای تولیدی با استفاده از چای سفید و قند مایع خرما حاوی سرکه سیب و زنجبیل، محتوای پلی فنل کل و قدرت آنتی اکسیدان با گذشت زمان افزایش می‌یابد ولی زمان بیشتری توصیه نمی‌شود چرا که باعث کاهش اسیدهای آلی می‌شود. فعالیت ضد اکسایشی به زمان تخمیر، نوع چای و کشت میکروبی کامبوجا بستگی دارد. مقدار پلی فنل کل با گذشت زمان و با افزایش غلظت سرکه سیب و قند مایع خرما به بیشترین مقدار خود حدود mg/L ۷۹ رسید. بیشتر خاصیت ضد اکسایشی با گذشت زمان حاصل شد که تقریباً ۷۰ درصد می‌باشد ولی افزایش غلظت سرکه سیب بر روی خاصیت ضد اکسایشی تاثیر معنی داری نداشت. بیشترین شمارش باکتری در روز یازدهم مشاهده شد که با افزایش غلظت قند مایع خرما و گذشت زمان شمارش مخمرها به صورت جزئی افزایش یافت ولی با افزایش میزان زنجبیل شمارش مخمرها کاهش یافت. زیرا زنجبیل بدلیل داشتن جینجرول از رشد میکروارگانیسم‌ها جلوگیری می‌کند. با توجه به اینکه مصرف کنندگان به دنبال محصولات حاوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌باشند، چای کامبوجا با خاصیت ضد اکسایشی بالا می‌تواند مورد استقبال مصرف کنندگان قرار گیرد. از آنجا که میکروارگانیسم‌های موجود در کامبوجا جزو میکروب-های مفید هستند مقاومت بالایی در شرایط اسیدی

دارنـــد و مـــی‌توانـــد در دســـتگاه گـــوارش جـــایگزین میکروارگانیســـم‌هـــای مضـــر شـــوند. از اینـــرو کامبوجـــا محصولی با خواص پروبیـوتیکی و فراسـودمند محسـوب می‌گردد.

منابع

۱. آذرپور، احمد.، بزرگی، حبیـب. (۱۳۹۳). تکنیـک تولیـد نوشیدنی فراسودمند چای کامبوجا، اولیش همایش ملی چای، ۱۴ اسفند ۱۳۹۲.

۲. احمـدی گـاولیقی، حسـن.، عزیـزی، محمـد حسـین.، جهانیان، لیدا.، امیرکـاوئی، شـیوا. (۱۳۸۸). بررسـی اثـر جایگزین قند مایع خرما با قند انورت در کیـک لایـه‌ای. مجله علوم و صنایع غذایی، دوره ۸، شماره ۱؛ صـفحات ۶۴-۵۷.

۳. علی‌پور عمرآبادی، مهتـاب.، حجـت الاسـلامی، محمـد.، نجـاتی، فاطمـه. (۱۳۹۵). تولیـد نوشـیدنی کامبوجـا از طریق جایگزینی شـکر بـا شـیره خرمـا. مجلـه علـوم و صنایع غذایی، دوره ۱۳، شماره ۵۶؛ صفحات ۲۳-۳۳.

۴. گـوهری اردبیلـی، اشـرف.، حبیبـی نجفـی، محمـدباقر.، حدادخداپرست، محمد حسـین. (۱۳۸۴). بررسـی تـاثیر بررسی تأثیرجایگزینی شکر با شیره خرما بر ویژگی‌های فیزیکـی و حسـی بسـتنی نـرم. پـژوهش‌هـای علـوم و صـنایع غـذایی ایـران، دوره ۱، شـماره ۲ (نیمـه دوم)؛ صفحات ۲۳-۳۲.

5. Zancan, K.C., Marques, M.O., Petenate, A.J., and Meireles, M.A.A. 2002. Extraction of ginger (Zingiber officinale Roscoe) oleoresin with CO_2 and co-solvents: a study of the antioxidant action of the extracts. The J Supercrit Fluids 24(1): 57-76.
6. Chu, S.C., and Chen, C. 2006. Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. Food Chem. 98(3): 502-507.
7. Cvetković, D., Markov, S., Djurić, M., Savić, D., and Velićanski, A. 2008. Specific interfacial area as a key variable in scaling-up Kombucha fermentation. J Food Eng. 85(3): 387-392.
8. Deory, I., Romero, L.E., and Cantero, D. 2004. Operation in semi-conations with a closed pilot scale acetifier for vinegar prodiction. J Food Eng. 63: 39-45.
9. Dosenovic, I. 2004. Development of methods for biotin determination in molasses. Ph.D. Thesis, university of novisad, Faculty of Technology, No Vi sad.
10. Green Walt, C., Steinkraus, K., and Ledford, R. 2000. Kombucha. The fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. J Food Prot. 63(1): 916-987.
11. Hilal, Y., and Engelhardt, U. 2007. Characterisation of white tea– Comparison to green and black tea. J Verbrauch Lebensm 2(4): 414-421.
12. Jayabalan, R., Marimuth, V., and Swaminathan, K. 2007. Changesign content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. Food Chem. 109 (1): 227-234.
13. Jayabalan, R., subathradevi, P., marimuth, S., Sathishkumar, M., and Swaminathan, K. 2008. Changes free-radical scavenging ability of kombucha tea during fermentation. Food Chem. 109(1): 227-234.
14. Malbasa, R., Loncar, E., Djoric, M., and Dosenovic, I. 2008a. Effect of sucrose concentration on the products of kombucha Fementation on molasses. Food Chem. 108: 926-932.
15. Malbasa, R., Loncar, E., and Djovic, M. 2008b. Comparison of the products of kumbucha fermentation on sucrose and molasses. Food Chem. 106 (3): 1039-1045.

18. Stoilova, I., Krastanov, A., Stoyanova, A., Denev, P., and Gaegova, S. 2007. Antioxidant activity of a ginger extract (Zingiberofficinale). Food Chem. 102: 164-170.
19. Teoh, A.L., Heard, G., and Cox J. 2004. Yeast ecology of kombucha fermentation. Int J Food Microbiol. (65): 119-126.
16. Peiros, G. M., Blanco, M., and Pere, Z. 2014. Modeling extraction of white tea polyphenols the influence of temperature and ethanol concentration. Antioxidants. 3: 684-699.
17. Sreeyaamulu, G, Zhu, Y., and Knol, W. 2000. Kombucha fermentation and its antimicrobial activity. J agri Food Chem. 48(6): 2589-2599.

Production of functional fermented Kombucha drink using white tea and date syrup contains apple vinegar and ginger

Heidari A[1], Rezazad Bari M[2*], Amiri S[3]

1. Graduate Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Saba Institute of Higher Education, Urmia

2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia

3. PhD Candidate of Food Biotechnology, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

***Corresponding author:** *m.rezazadehbari@urmia.ac.ir*

Received: 18 Jun 2017 Accepted: 18 March 2018

Abstract

Kombucha is a non-dairy fermented drinks which the raw material for its production usually is sweetened black tea with sugar. The aim of the present study was to produce a new product from white tea and apple vinegar, which has high antioxidant properties. For this purpose, effect of date syrup (40-100%W/V) as a carbon source of Kombucha fermentation, apple vinegar (15-30%) and ginger (0.25-0.75 g/L) on microbial quality, chemical properties and nutritional characteristics of Kombucha during fermentation period (1-15 days) using Box-Behnken design was investigated. The results showed that acidity and cellulosic layer increased during the fermentation period but pH decreased which statistically affected by date syrup concentration and fermentation time ($p<0.05$). Moreover, the maximum polyphenol content and antioxidant activity were observed in 15th day that the effect of the fermentation time was statistically significant ($p<0.05$). The results of this study showed that the fermentation time was only factor that had significant effect on all characteristics of the Kombucha beverage that produced by white tea and date syrup, which contains ginger and apple cider vinegar ($p<0.05$). Also, it can be concluded that except ginger, which reduced yeast count ($p<0.05$), other factors had no significant effect on the characteristics of Kombucha tea ($p>0.05$).

Keywords: Kombucha, White tea, Ginger, Apple vinegar, Date Syrup.