مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸ (ص ۳۵۳-۳۴۳) DOI: 10.22059/ijbse.2018.266578.665101

Production of Kombucha Using Black Mulberry and Grape Natural Syrups as Sweetener and Base of Fermentation in Green and Black Tea

MEHDI AHMADI[1], MOHAMMAD HOJJATI[2*], BEHZAD NASEHI[2,3]

1. MSc Graduated, Department of Food Science and Technology,Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahwaz, Iran
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Ahwaz, Iran
3. Associate Professor, Department of Agricultural Engineering and Technology, Payame Noor University (PNU), Mashhad, Iran

(Received: Oct. 2, 2018- Revised: Oct. 31, 2018- Accepted: Dec. 1, 2018)

ABSTRACT

The possibility of replacing sugar with grape and black mulberry syrups in the production of Kombucha and its effect on pH, acidity, polyphenols, flavonoids, antioxidant activity, glucose and organoleptic properties was investigated during 15 days fermentation. The results showed that the pH of all samples decreased significantly during fermentation. The amounts of the acidity, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid compounds of all samples increased during fermentation period, and the highest levels of them were observed in Kombucha samples containing mulberry syrup, mixed syrup, grape syrup and control, respectively. The glucose content decreased during the fermentation process and the highest reduction of glucose was observed in samples including natural syrups. Sensory analysis revealed that although Kombucha beverages made from syrups were slightly darker with sour taste than bright control sample, but based on panelists, Kombucha containing mulberry syrup was competitive with the control sample. The findings of this study indicate the potential of replacing 50% sugar with mulberry syrup to improve the functional Kombucha with less glucose and more amounts of antioxidants and organic acids.

Keywords: Kombucha, Antioxidant, Organic acid, Polyphenol

* Corresponding Author's E-mail: hojjati@asnrukh.ac.ir

تولید کامبوچا با استفاده از شیره‌های طبیعی شاه‌توت و انگور به عنوان شیرین‌کننده و بستر تخمیر بر پایه چای سبز و سیاه

مهدی احمدی[۱]، محمد حجتی[۲*]، بهزاد ناصحی[۲و۳]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

۲. دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز، ایران

۳. دانشیار، گروه مهندسی و فناوری کشاورزی، دانشگاه پیام نور، مشهد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۰/ ۷/ ۱۳۹۷- تاریخ بازنگری: ۸/۹/ ۱۳۹۷- تاریخ تصویب: ۱۰/ ۹/ ۱۳۹۷)

چکیده

امکان جایگزینی شکر با شیره‌های انگور و شاه‌توت و تاثیر آن بر pH، اسیدیته، پلی‌فنول، فلاونوئید، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گلوکز و ویژگی‌های حسی کامبوچا طی ۱۵ روز تخمیر بررسی شد. نتایج نشان داد که pH نمونه‌ها طی تخمیر کاهش معنی‌داری یافت. اسیدیته، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پلی‌فنول و فلاونوئیدها در همه نمونه‌ها طی تخمیر افزایش یافت که بیشترین مقدار آن‌ها به‌ترتیب در نمونه‌های حاوی شیره توت، مخلوط شیره‌ها، شیره انگور و شاهد بود. گلوکز نمونه‌ها طی روند تخمیر کاهش یافت و بیشترین کاهش گلوکز در نمونه‌های حاوی شیره‌های طبیعی مشاهده گردید. ارزیابی حسی نشان داد که نوشیدنی‌های کامبوچای تهیه شده از شیره‌ها کمی تیره و ترش مزه‌تر از نمونه شاهد روشن بودند ولی طبق نظر ارزیاب‌ها کامبوچای حاوی شیره توت قابل رقابت با نمونه شاهد بود. یافته‌ها نشان دهنده پتانسیل جایگزینی ۵۰٪ شکر با شیره توت به منظور بهبود نوشیدنی عملگرای کامبوچا با مقدار گلوکز کمتر و مقادیر بیشتر آنتی‌اکسیدان‌ها و اسیدهای آلی است.

واژه‌های کلیدی: کامبوچا، آنتی‌اکسیدان، اسید آلی، پلی‌فنول

مقدمه

کامبوچا نوشیدنی گازداراسیدی با اندکی طعم شیرین است که باتوجه به خواص سلامت‌بخشی که دارد قرن‌هاست در سرتاسر جهان به‌ویژه آلمان، روسیه و چین مصرف می‌شود (Greenwalt *et al.*, 2000). کامبوچا به‌واسطه داشتن ترکیبات پلی‌فنولی فراوان دارای خواص ضداکسایشی، ضدمیکروبی، ضدسرطانی و ضددیابتی بوده که در کاهش کلسترول و فشار خون و در درمان بسیاری از نارسائی‌ها و بیماری‌ها موثر می‌باشد و به‌همین دلیل مصرف رو به افزایشی داشته است (Chakravorty *et al.*, 2016; Jayabalan *et al.*, 2014). وجود مقادیر فراوان کاتچین به‌عنوان یکی از مشتقات پلی‌فنولی در برگ چای را از عوامل مهم در ایجاد ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطانی و پیشگیرانه در انواع بیماری‌ها توسط کامبوچا می‌دانند (Martínez Leal *et al.*, 2018). حاصل هم‌زیستی گونه‌های مختلف مخمر و استوباکترها در چای شیرین به مدت حدود دو هفته می‌باشد. این میکروارگانیسم‌ها در جریان تخمیر و اکسایش، از قند موجود در محیط تغذیه کرده و با رشد و تکثیر خود انواع اسیدهای آلی، قندهای ساده، اتانول، ترکیبات فرار و طعم‌دهنده، ویتامین‌ها، اسیدهای‌آمینه آزاد، پورین‌ها، هپارین، کافئین، تئوفیلین، تانن‌ها، آنزیم‌ها، آنتی‌بیوتیک، اسیدفولیک، پلی‌فنول‌ها و کاتچین‌ها و مواد معدنی را تولید می‌کنند. در تخمیر کامبوچا ابتدا مخمر موجود در محیط کشت، قند ساکارز را به گلوکز و فروکتوز تبدیل کرده و سپس با مصرف این قندها توسط مخمرها، اتانول و دی‌اکسیدکربن تولید می‌شود که در نوشیدنی باقی مانده و باعث می‌شود نوشیدنی، گازدار گردد. اگرچه غلظت اتانول غالبا به بیش از یک درصد نمی‌رسد ولی استوباکترها اتانول را به اسید استیک اکسیده کرده و گلوکز را نیز به گلوکونیک اسید تبدیل می‌کنند. طی این واکنش‌ها انواع اسیدهای آلی، پروتئین‌ها و ترکیبات مفید دیگری نیز حاصل می‌شود (Jayabalan *et al.*, 2007; Lobo *et al.*, 2017; Neffe-Skocińska *et al.*, 2017; Reiss, 1994; Watawana *et al.*, 2017). اگرچه چای سیاه و شکر سفید رایج‌ترین سوبسترا برای تهیه کامبوچا هستند ولی چای سبز هم در

* نویسنده مسئول: hojjati@asnrukh.ac.ir

تهیه کامبوچا به‌کار گرفته می‌شود (Jayabalan *et al.*, 2014). هم‌چنین میکروارگانیسم‌های موجود در کامبوچا قادر به استفاده از دیگر منابع قندی به‌غیر از شکر نیز هستند و تاکنون پژوهش‌هایی به منظور استفاده از لاکتوز، گلوکز و فرکتوز (Reiss, 1994)، شیره درخت پالم (Watawana *et al.*, 2017)، ملاس چغندر قند (Malbaša *et al.*, 2008)، عصاره واریته‌های مختلف سیب‌زمینی‌ترش (Lončar *et al.*, 2007)، آب انگور قرمز (Ayed *et al.*, 2017)، شیره خرما (Alipour Amroabadi *et al.*, 2016)، آب آلبالوی شیرین (Yavari *et al.*, 2010)، اینولین و الیگوفروکتوزهای حاصل از سیب‌زمینی ترشی (Balvardi *et al.*, 2011) به‌عنوان جایگزین شکر در تولید کامبوچا انجام و ویژگی‌های ترکیبات حاصل از تخمیر آن‌ها بررسی شده است. به‌طور کلی خصوصیات سلامت‌زایی نوشیدنی کامبوچا به میزان آنتی‌اکسیدان‌های فنلی آن وابسته است که آن‌هم به مقدار ترکیبات فنولی موجود در سوبسترای اولیه و میکروارگانیسم‌هایی که متابولیت‌های مختلف را تولید می‌کنند بستگی دارد(Jayabalan *et al.*, 2014). آب و عصاره میوه‌ها به خاطر داشتن ویتامین‌ها و ترکیبات مغذی در بین محیط‌های قابل تخمیر غنی از آنتی‌اکسیدان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند (Ayed and Hamdi, 2015).

انگور سرشار از ترکیبات مغذی است که نقش تغذیه‌ای، دارویی و درمانی آن و فرآورده‌هایش کاملا شناخته شده است. ایران با تولید بیش از ۲/۴ میلیون تن انگور در سال ۲۰۱۶، از عمده تولیدکنندگان این محصول ارزشمند در جهان محسوب می‌گردد (Faostat, 2017). شیره انگور یکی از فرآورده‌های انگور است که عمدتاً از انگورهای به‌دست‌آمده در اواخر فصل برداشت و یا از کشمش تهیه می‌شود. شیره انگور فرآورده‌ای تخمیر نشده است ولی قابلیت تخمیر شدن را دارد که حاوی مقادیر بالایی مونوساکاریدهای با قابلیت هضم سریع، مواد معدنی، گروه‌های مختلف ویتامین، اسیدهای آلی و ترکیبات فنولی می‌باشد و کاربرد آن به‌عنوان شیرین‌کننده در فرمولاسیون فرآورده‌های غذایی در مقایسه با ساکارز دارای مزایایی از جمله قدرت شیرین‌کنندگی بالاتر نسبت به ساکارز، کاهش کالری و در نهایت ویژگی‌های سلامت‌زایی می‌باشد (Castilla *et al.*, 2006; Day et al., 1997; Demir, 2014).

شاتوت از جمله میوه‌های بومی ایران است و حاوی انواع قندها، ویتامین‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، اسیدهای آلی، ریزمغذی‌ها و از جمله ترکیبات فنولیک فراوانی است که ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی منحصر بفردی داشته و به واسطه پتانسیل خوبی که در پیش‌گیری و درمان بیماری‌ها دارد مورد توجه می‌باشد (Ahlawat *et al.*, 2017; Kamiloglu *et al.*, 2013; Qin *et al.*, 2010).

بر اساس مطالعات انجام گرفته تاکنون گزارشی در خصوص به‌کارگیری شیره انگور و شیره شاتوت به‌عنوان جایگزین شکر در تهیه نوشیدنی کامبوچا منتشر نشده است. هدف از انجام این تحقیق استفاده از شیره‌های طبیعی دو میوه ارزشمند انگور و شاتوت به‌عنوان منبع قندی در تولید کامبوچای حاصل از ترکیب چای سیاه و سبز به‌منظور تولید یک نوشیدنی فراسودمند می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد

قارچ کامبوچا از شرکت برنا کامبوچا (شیراز، ایران)، چای سبز و سیاه از مزارع چای شمال کشور و از شرکت چای رفاه (لاهیجان، ایران)، شکر سفید (شرکت دیپون آریانا، تهران، ایران) از فروشگاه محلی، شیره‌های انگور و شاتوت از تولیدکنندگان محلی (بروجرد، لرستان) که عاری از هرگونه افزودنی و شکر افزوده بود تهیه گردیدند. مواد جامد محلول شیره‌های میوه انگور و شاتوت خریداری شده به‌ترتیب ۷۱ و ۶۹ درصد بودند و مقدار شیره‌های مورد نیاز از طریق تقسیم مقدار شکر نمونه شاهد بر مواد جامد محلول شیره انگور و شیره شاتوت حاصل شد. DPPH, و ABTS از شرکت Sigma-Aldrich آمریکا، فنول و پرسولفات پتاسیم از شرکت سامچون کره، اسید سولفوریک از شرکت رویالکس کشور هندوستان و سایر مواد شیمیایی مورد استفاده در این تحقیق با خلوص بالا از شرکت Merck آلمان تهیه گردیدند.

فرآیند تولید کامبوچا

برای تولید کامبوچا از روش (Jayabalan *et al.*, 2010) استفاده شد. بدین طریق که پس از اتوکلاو ظروف در ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه، ۱/۲٪ (وزنی/حجمی) از مخلوط چای سبز و سیاه به مقدار مساوی به آب مقطر در حال جوش اضافه و به مدت ۷ دقیقه جوشانده شد. سپس تفاله‌های چای بوسیله صافی‌های با مش ریز از مایع جداسازی گردیدند. مقدار اختلاط شکر در نمونه شاهد به مقدار۱۰٪ بود. برای نمونه‌های بعدی که از شیرین‌کننده‌هایی غیر از شکر استفاده می‌شد از رابطه زیر استفاده گردید (Alipour Amroabadi *et al.*, 2016):

$$\text{مقدار شیرین کننده جایگزین شکر} = \frac{\text{مقدار شکر}}{\text{ماده محلول جامد شیرین‌کننده}}$$

تمامی تیمارها بعد از خنک شدن تا دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد، به طور کاملا مساوی در ظروف دهان‌گشاد شیشه‌ای استریل

ریخته و تلقیح قارچ به مقدار ۳٪ به عنوان استارتر و ۱۰٪ از کامبوچای قبلی به عنوان تنظیم کننده pH و غنی‌سازی میکروارگانیسم‌ها به محصول اضافه شد. نمونه‌ها بعد از تلقیح به مدت ۱۵ روز در گرمخانه ۲۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری و تخمیر شدند. آزمون‌ها به فواصل سه روزه و از روز اول تولید تا روز پانزدهم انجام پذیرفت. نمونه‌ای که فقط از شکر به‌عنوان شیرین کننده استفاده شده بود و شیره هیچ میوه‌ای در آن اضافه نشده بود به‌عنوان نمونه شاهد در نظر گرفته شد. هم‌چنین نمونه‌ای که شامل مخلوط شیره میوه‌ها بود به نسبت مساوی ۱ به ۱ از هر دو شیره را دربرداشت. برای انجام آزمون‌های هر دوره از هر تیمار سه ظرف از انکوباتور خارج و آزمون‌ها روی هر کدام به صورت جداگانه انجام شدند.

آزمون‌های شیمیایی

pH و اسیدیته

برای اندازه‌گیری pH از دستگاه pH متر Metrohom/۸۲۷ ساخت کشور سوئیس استفاده شد و میزان اسیدیته قابل تیتر نمونه‌ها با روش آزمون شماره ۲۲/۰۶۰ انجمن شیمی آمریکا محاسبه شد (AOAC, 1995). بدین منظور ۲ میلی‌لیتر کامبوچا با آب مقطر به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH=۸/۱ تیتر و در نهایت مقدار اسیدیته کل برحسب درصد اسید استیک محاسبه گردید.

پلی‌فنول و فلاونوئید کل

به منظور اندازه‌گیری مقدار پلی‌فنول کل نمونه ها از روش (Singleton *et al.*, 1999) با اندکی تغییرات استفاده شد. بدین منظور ۰/۵ میلی‌لیتر از کامبوچا که به نسبت ۱:۵۰ با آب مقطر رقیق شده بود با ۲/۵ میلی‌لیتر فولین‌سیکالچو مخلوط و به مدت سه دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و پس از افزودن ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ ٪، با آب مقطر به حجم ۱۰ میلی‌لیتررسانده شد و میزان جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۵۰ نانومتر قرائت و برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره، محاسبه گردید. مقدار فلاونوئید کل نمونه‌ها به روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم ارائه شده توسط (Chang et al., 2002) با اندکی تغییرات بررسی شد. مقداری از نمونه کامبوچا با متانول به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق و سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن با ۰/۱ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیوم ۱۰٪ و ۰/۱ میلی‌لیتر محلول استات پتاسیم ۰/۱ میلی‌مولار مخلوط و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب آن در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده و مقدار فلاونوئید کل برحسب میلی‌گرم بر اکی والان کوئرستین ارائه شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی کامبوچا با استفاده از میزان جذب رادیکال‌های DPPH و ABTS مورد بررسی قرار گرفت. آزمون DPPH براساس روش (Brand-Williams *et al.*, 1995) با اندکی تغییرات انجام شد. در این آزمون ۰/۱ میلی‌لیتر کامبوچا با ۲/۹ میلی لیتر از DPPH ۰/۱ میلی مولار در متانول، مخلوط و در دمای اتاق و مکان تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد. سپس میزان جذب نمونه‌ها در مقابل نمونه شاهد در طول موج ۵۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Cary 100 Bio Varian, Palo Alto, USA)اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بر حسب درصد بازدارندگی از طریق رابطه زیر محاسبه گردید:

$$\%\text{بازدارندگی} = \frac{(A515\ blank - A515\ sample}{(A515\ blank)} \times 100$$

مقدار جذب رادیکال‌های ABTS طبق روش (Re *et al.*, 1999) اندازه‌گیری شد. برای تهیه‌ی رادیکال ABTS·محلول ۷ میلی‌مولار ABTS در آب، به‌وسیله محلول ۲/۵۴ میلی‌مولار پرسولفات پتاسیم (به نسبت مولی ۱ به ۰/۵) در یک مکان تاریک به مدت ۱۲-۱۶ ساعت اکسید شد. سپس محلول رادیکال ABTS· با محلول بافرفسفات ۵ میلی‌مولار (pH=۷/۴) رقیق شد تا جذب آن در طول موج ۷۳۴ نانومتر به ۰/۷ ±۰/۰۲ برسد، در مرحله بعد ۴۰ میکرولیتر نمونه با یک میلی‌لیتر معرف ABTS· افزوده شد و جذب در ۷۳۴ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه درصد بازدارندگی رادیکال‌های ABTS از فرمول استفاده شده در آزمون DPPH استفاده شد.

مقدار گلوکز

به منظور اندازه‌گیری گلوکز از روش (Dubois *et al.*, 1956) استفاده شد. بدین منظور ابتدا نمونه کامبوچا به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به همراه یک میلی‌لیتر فنول ۵٪ محلول در آب و ۹۰۰ میکرولیتر آب مقطر مخلوط و پس از نگهداری نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در داخل بن‌ماری ۲۵ درجه سانتی‌گراد مقدار جذب آن‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

بررسی ویژگی های حسی

به منظور ارزیابی حسی نمونه‌های کامبوچا در طی دوره تخمیر از ۹ ارزیاب نیمه آموزش دیده (چهار مرد و پنج زن) دارای محدوده سنی ۲۱ تا ۳۱ سال شاغل در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان استفاده گردید. طعم، ترشی، شیرینی، آروما، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها به‌عنوان ویژگی‌های حسی در چهارچوب آزمون هدونیک ۱۱ نقطه‌ای (نمره دهی از صفر تا ده بطوریکه نمره صفر کمترین و ده بیشترین امتیاز را داشت) مورد

ارزیابی قرار گرفتند.

روش‌های تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۳ برای ویندوز(SAS Institute Inc, Cary, NC) انجام گرفت و نمودارها با نرم‌افزار اکسل رسم گردید. میانگین نتایج داده‌ها در مراحل تخمیر از طریق آنالیز واریانس ANOVA یک طرفه ONE WAY صورت پذیرفت. در مرحله ارزیابی تغییرات شیمیایی و ویژگی‌های تخمیر، از روش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی استفاده گردید. میانگین‌ها در هر مرحله با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪ مقایسه گردیدند.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته

مقایسه میانگین pH و اسیدیته قابل تیتراسیون نمونه‌های کامبوچا در جدول ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌گردد با افزایش زمان تخمیر pH تمامی نمونه‌ها کاهش یافت که دلیل آن فعالیت باکتری‌ها و مخمرها طی فرایند تخمیر و مصرف قندهای موجود در محیط و تولید اسیدهای آلی مختلف است (Jayabalan *et al.*, 2007). البته شدت کاهش pH اولیه در نمونه‌هایی که حاوی شیره توت، انگور و مخلوط مساوی از این شیره‌ها بودند نسبت به نمونه شاهد به طور معنی‌داری بیشتر مشاهده گردید ($p<0.05$). نتایج نشان داد که pH نمونه شاهد در روز اول نسبت به سایر نمونه‌ها کمتر بود و طی دوره تخمیر از ۳/۱۱ به ۲/۷۶ رسید که به طور معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها بود در حالی‌که بیشترین pH در روز اول در نمونه کامبوچای حاوی شیره انگور مشاهده گردید. اگرچه در طی روند تخمیر pH همه نمونه‌ها از روز اول تا آخر کاهش یافت ولی پس از روز نهم در نمونه‌های حاوی شیره انگور و مخلوط شیره‌ها و از روز دوازدهم در نمونه‌های شاهد و حاوی شیره توت این روند کاهشی تا روز پانزدهم اختلاف معنی‌داری نداشت ($P<0.05$). این تحقیق با نتایج سایرین که از آب انگورقرمز، شیره درخت پالم و ملاس چغندرقند در تولید کامبوچا استفاده کرده و تغییرات معنی‌داری را در pH از روز هشتم به بعد مشاهده نکرده بودند مطابقت داشت (Ayed *et al.*, 2017; Malbaša *et al.*, 2008; Watawana *et al.*, 2017). عدم تغییر معنی‌دار در pH کامبوچا پس از چند روز تخمیر نتیجه یک اثر بافری است که به وسیله سنتز اسیدهای آلی و واکنش آن‌ها با مواد معدنی چای ایجاد می‌شود. در طول فرآیند تخمیر، دی‌اکسیدکربن ابتدا به آرامی و پس از چند روز بسیار سریع‌تر آزاد می‌شود. در محلول کامبوچا با زیاد شدن دی‌اکسیدکربن و واکنش آن‌ها، یون‌های هیدروکربنات آمفوتری (HCO_3) تولید می‌شوند که به سادگی با یون‌های هیدروژن (H^+) اسیدهای آلی واکنش داده و از تجمع و افزایش یون‌های (H^+) جلوگیری به عمل می‌آورد و با این روند خاصیت بافری را در سیستم پدید می‌آورد (Ayed *et al.*, 2017; Jayabalan *et al.*, 2014; Neffe-Skocińska *et al.*, 2017).

جدول ۱. تاثیر افزودن شیره توت و انگور بر pH و اسیدیته کامبوچا طی مدت تخمیر

ویژگی/ تیمار Characteristic/ Treatment	زمان تخمیر نمونه‌ها (روز) Samples fermentation time (day)					
	روز اول Day 1	روز سوم Day 3	روزششم Day 6	روزنهم Day 9	روزدوازدهم Day 12	روزپانزدهم Day 15
pH						
شاهد Control	۳/۱۱±۰/۰۰ Ad	۳/۰۱±۰/۰۲ Bd	۲/۹۴±۰/۰۳ Cd	۲/۸۸±۰/۰۱ Dd	۲/۷۴±۰/۰۴ Eb	۲/۷۶±۰/۰۳ Ec
شیره توت mulberry syrup	۳/۶۱±۰/۰۱ Ac	۳/۴۰±۰/۰۴ Bc	۳/۱۱±۰/۰۲ Cc	۳/۰۱±۰/۰۱ Da	۲/۸۸±۰/۰۴ Ea	۲/۸۸±۰/۰۰ Eb
شیره انگور grape syrup	۳/۷۶±۰/۰۲ Aa	۳/۴۹±۰/۰۲ Ba	۳/۱۴±۰/۰۶ Ca	۲/۹۳±۰/۰۹ Dc	۲/۹۲±۰/۰۲ Da	۲/۹۴±۰/۰۱ Da
مخلوط شیره ها mix of syrups	۳/۷۱±۰/۰۵ Ab	۳/۴۲±۰/۰۵ Bb	۳/۰۶±۰/۰۰ Cb	۲/۹۵±۰/۰۹ Db	۲/۹۲±۰/۰۶ Da	۲/۹۵±۰/۰۱ Da
اسیدیته (٪ اسید استیک) Acidity (% acetic acid)						
شاهد Control	۰/۴۰±۰/۰۲ Fc	۰/۵۳±۰/۰۱ Ec	۰/۵۷±۰/۰۰ Dd	۰/۶۴±۰/۰۱ Cd	۰/۸۶±۰/۰۳ Bd	۰/۹۳±۰/۰۰ Ad
شیره توت mulberry syrup	۰/۵۵±۰/۰۷ Fa	۰/۹۶±۰/۱۱ Ea	۱/۵۴±۰/۱۶ Da	۲/۸۵۰±۰/۰۸ Ca	۳/۳۳±۰/۰۷ Ba	۳/۶۵±۰/۰۶ Aa
شیره انگور grape syrup	۰/۴۵±۰/۰۷ Fb	۰/۸۵±۰/۰۷ Eb	۱/۱۲±۰/۰۴ Dc	۱/۴۷±۰/۰۶ Cc	۱/۸۷±۰/۰۵ Bc	۲/۳۱±۰/۰۱ Ac
مخلوط شیره ها mix of syrups	۰/۴۴±۰/۰۵ Fb	۰/۸۶±۰/۰۶ Eb	۱/۴۶±۰/۰۴ Db	۱/۹۱±۰/۰۳ Cb	۲/۰۶±۰/۰۲ Bb	۲/۴۲±۰/۰۱ Ab

حروف بزرگ و کوچک یکسان به ترتیب در هر ردیف و ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ ٪ می‌باشند

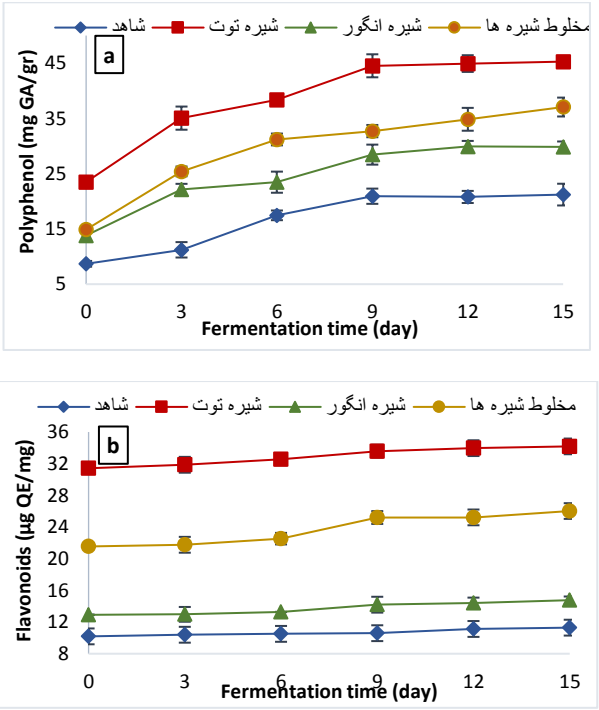
جدول ۱ نشان می‌دهد که با افزایش زمان تخمیر در همه نمونه‌ها، اسیدیته به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p<0.05$). میزان اسیدیته نمونه شاهد طی تخمیر از ۰/۴۰ به ۰/۹۳ درصد استیک اسید رسید که در مقایسه با نمونه‌های دیگر در روز اول و آخر نگهداری از اسیدیته کمتری برخوردار بود ($p<0.05$). این روند افزایشی بیانگر تاثیر مثبت و معنی‌دار افزودن شیره‌های طبیعی میوه‌ای بکار رفته بر سنتز اسیدهای آلی در کامبوچا می‌باشد که با نتایج محققین دیگری که از آب انگور قرمز، آب آلبالوی شیرین، ملاس چغندر قند و شیره خرما در تهیه کامبوچا استفاده کرده و افزایش معنی‌دار اسیدیته را نسبت به نمونه شاهد مشاهده کرده بودند مطابقت داشت (Alipour Amroabadi *et al.*, 2016; Ayed *et al.*, 2017; Malbaša *et al.*, 2008; Yavari *et al.*, 2010). در ابتدای تخمیر، فعالیت میکروارگانیسم‌ها در جهت تبدیل دی‌ساکاریدها به قندهای ساده محدود می‌شود و تولید اسید در محیط‌هایی هم‌چون آب‌میوه‌ها که سرشار از مونوساکاریدها و ترکیبات مغذی است با سرعت بیشتری صورت می‌پذیرد، چون میکروارگانیسم‌ها به دلیل وجود ترکیبات مختلف مغذی در محیط و سهولت مصرف مونوساکاریدها رشد و نمو سریعتری کرده و متابولیت‌هایی از جمله انواع اسیدهای آلی را بیشتر تولید می‌کنند (Ayed et al., 2017; Ayed and Hamdi, 2015; Watawana *et al.*, 2017). تولید انواع اسیدهای آلی نظیر سیتریک، گلوکونیک، گلوکورونیک، استیک، لاکتیک، مالیک، تارتاریک، مالونیک، اگزالیک، سوکسینیک، پیرورویک و اوسنیک در کامبوچا از ویژگی‌های کیفی این نوشیدنی محسوب می‌شود که در عطر و طعم نهایی محصول نقش مهمی را ایفا می‌کنند و با افزایش زمان تخمیر و نوع منبع کربنی در دسترس میکروارگانیسم‌ها، سنتز این اسیدها بیشتر می‌شود (Ayed *et al.*, 2017; Jayabalan *et al.*, 2007; Yavari *et al.*, 2010). اسیدگلوکورونیک موجود در نوشیدنی کامبوچا ویژگی منحصر بفردی دارد که با اتصال به ترکیبات بیگانه‌زیست[1] و دفع آن‌ها موجب سم‌زدایی کبد می‌گردد (Ayed *et al.*, 2017). افزایش اسیدیته نمونه‌های حاوی شیره توت و انگور پس از حدود دوهفته نگهداری می‌تواند بیانگر میزان بالای اسیدگلوکورونیک در کامبوچا و در نتیجه عملگرا بودن این نوشیدنی باشد. محققین با جایگزینی تنها چند درصد آب آلبالوی شیرین و آب انگور در کامبوچا، پس از دو هفته مقدار اسیدگلوکورونیک موجود در این نوشیدنی را چندین برابر زمانی‌که فقط از شکر به‌عنوان شیرین کننده استفاده کرده بودند گزارش کردند (Yavari *et al.*, 2010; Yavari *et al.*, 2011).

میزان پلی‌فنول و فلاونوئید کل

نتایج مقایسه میانگین پلی‌فنول و فلاونوئید کل نمونه‌های کامبوچا در شکل ۱ نشان داده شده است. میزان پلی‌فنول و فلاونوئید کل همه نمونه‌های تخمیر شده با گذشت زمان افزایش یافته است ولی این افزایش در تیمار شاهد کمتر از سایر تیمارها بود. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌گردد در پایان دوره تخمیر، کمترین و بیشترین میزان پلی‌فنول‌کل به ترتیب با مقادیر ۲۱/۲۱ و ۴۵/۲۸ میلی‌گرم برحسب گالیک اسید در هر گرم عصاره در نمونه‌های شاهد و شیره توت بود. در حالی‌که میزان پلی‌فنول کل در انتهای مدت تخمیر در هر گرم از نمونه‌های حاوی شیره انگور و مخلوط شیره‌ها به‌ترتیب ۲۹/۸۳ و ۳۷/۰۶ میلی‌گرم برحسب گالیک اسید بود. همان‌طور که شکل ۲ نشان می‌دهد میزان فلاونوئید در هر میلی‌گرم نمونه شاهد در روز اول ۱۰/۳۹ میکروگرم برحسب کوئرستین بود که در آخرین روز نگهداری به مقدار ۱۱/۲۹ رسید که در مقایسه با نموه‌های دیگر به‌طور معنی‌داری کمتر بود ($p<۰/۰۵$). مقایسه میانگین مقدار فلاونوئید نمونه‌ها نشان داد که از ابتدا تا انتهای تخمیر کامبوچای حاوی شیره توت بیشترین مقدار را داشته است به‌طوریکه میزان فلاونوئید هر میلی‌گرم از آن در روز آخر معادل ۳۴/۱۸ میکروگرم برحسب کوئرستین بود و پس از آن به ترتیب نمونه‌های حاوی مخلوط شیره‌ها و شیره انگور قرار داشتند. نتایج نشان داد که تغییر بستر تخمیر با شیره‌های توت و انگور موجب افزایش مقادیر فنول و فلاونوئیدکل طی مدت تخمیر گردید. افزایش میزان پلی‌فنول و فلاونوئیدکل طی روند تخمیر که در این تحقیق اتفاق افتاد با نتایج سایر محققین کاملاً مطابقت داشت (Ayed *et al.*, 2017; Chakravorty *et al.*, 2016; Jayabalan *et al.*, 2010; Jayabalan *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2015; Watawana *et al.*, 2017). هم‌چنین سایر محققین با افزودن آب انگور قرمز و آب گندم جوانه‌زده به کامبوچا افزایش میزان فنول‌کل را پس از دو هفته تخمیر مشاهده کردند (Ayed *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2015). با ادامه روند تخمیر، با توجه به افزایش اسیدیته محیط و هم‌چنین فعالیت بیشتر میکروارگانیسم‌ها که با تولید آنزیم‌های مختلف همراه است، ترکیبات پیچیده فنولی و فلاونوئیدهای موجود در محیط کامبوچا نظیر اپی‌کاتچین تحت تاثیر شرایط اسیدی و فعالیت آنزیم‌ها شکسته شده و به مولکول‌های کوچک‌تر تبدیل می‌گردند که در نهایت منجر به افزایش مقدار پلی‌فنول و فلاونوئید کل در کامبوچا طی روند تخمیر می‌شوند (Chu and Chen, 2006; Jayabalan *et al.*, 2007). میکروارگانیسم‌هایی از قبیل *کاندیدا تروپیکالیس*

1. xenobiotics

که به وفور در کامبوچا یافت می‌شوند با تولید آنزیم‌هایی نظیر کاتالازها توانایی تبدیل مولکول‌های پیچیده و بزرگ پلی‌فنول‌ها و یا فلاونوئیدها به مولکول‌های کوچک‌تر را دارند (Chu and Chen, 2006). از طرفی آنتوسیانین‌ها که ترکیبات غالب فنولی موجود در توت و انگور می‌باشند به محیط اسیدی مقاوم می‌باشند (Burin *et al.*, 2010; Butkhup *et al.*, 2013; Qin *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2015) و به همین دلیل نمونه‌های کامبوچای حاوی شیره این دو میوه از میزان پلی‌فنول بالاتری نسبت به نمونه شاهد برخوردار هستند. از آنجایی‌که میزان ترکیبات فنولی در شاه توت بیشتر از انگور است (Burin *et al.*, 2010; Qin *et al.*, 2010) بنابراین بالاتر بودن مقدار پلی‌فنول کل موجود در کامبوچای حاوی شیره توت نسبت به نمونه‌های حاوی شیره انگور و یا مخلوط این دو شیره توجیه‌پذیر است.

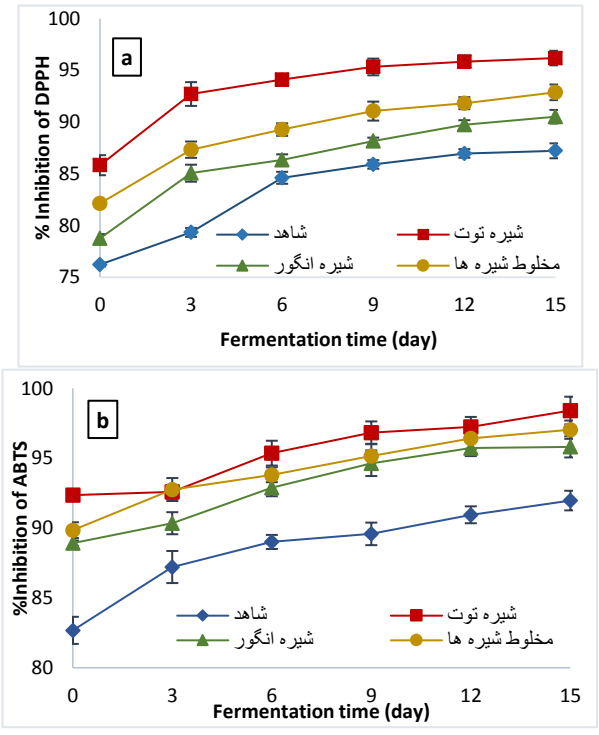


شکل ۱. تاثیر افزودن شیره توت و انگور بر میزان پلی‌فنول و فلاونوئید کل کامبوچا طی مدت تخمیر

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

تاثیر افزودن شیره‌های انگور و توت بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ی کامبوچا طی مدت زمان تخمیر به صورت میزان درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش زمان تخمیر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی تمامی نمونه‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<0.05$). نتایج نشان داد که افزودن به‌ترتیب شیره توت، مخلوط شیره‌ها و شیره انگور بیشترین تاثیر را در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های کامبوچا داشته است. به‌طوریکه در پایان دوره تخمیر درصد مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS در نمونه شاهد به‌ترتیب به ۸۷/۲ و ۹۱/۹، در کامبوچای شیره توت به ترتیب ۹۵/۸٪ و ۹۸/۴، در کامبوچای مخلوط شیره‌ها ۹۱/۸٪ و ۹۷٪ و در کامبوچای شیره انگور ۸۹/۷٪ و ۹۵/۸ رسید که نشان از تاثیر معنی‌دار افزودن شیره انگور و توت در بالا بردن خاصیت آنتی-اکسیدانی کامبوچا بود. نتایج این تحقیق مبنی بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های کامبوچا طی مدت زمان تخمیر با گزارش سایر محققین مطابقت داشت (Chakravorty *et al.*, 2016; Chu and Chen, 2006; Jayabalan *et al.*, 2007; Malbaša *et al.*, 2008; Sun *et al.*, 2015). ویژگی آنتی‌اکسیدانی از جمله فواید مصرف کامبوچا است که به واسطه جذب رادیکال-های آزاد در پیش‌گیری بسیاری از بیماری‌ها و ناهنجاری‌ها موثر واقع گردیده است (Jayabalan *et al.*, 2014). این افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی کامبوچا به عوامل مختلفی مثل زمان تخمیر، نوع سوبسترا و فلور میکروبی اولیه بستگی دارد که همگی بر متابولیت‌های ثانویه تولیدی طی فرایند تخمیر تاثیرگذار می‌باشند. از جمله متابولیت‌های ثانویه‌ای که طی فرایند تخمیر در کامبوچا تولید می‌شود انواع ترکیبات هیدروکسیلی نظیر مشتقات فنولیکی است که به‌واسطه دادن هیدروژن، خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارند که تحت تاثیر عوامل ذکر شده می‌باشند (Ayed *et al.*, 2017; Jayabalan *et al.*, 2014). از طرفی وجود برخی ترکیبات موجب اثر تشدیدکنندگی خاصیت آنتی‌اکسیدانی کامبوچا می‌گردند به‌طوریکه تحقیقات نشان داده افزودن آب انگور به دلیل داشتن مقادیر زیادی آنتوسیانین (Ayed *et al.*, 2017) و هم‌چنین آب گندم جوانه زده به دلیل داشتن ترکیبات فنولیک فراوان(Sun *et al.*, 2015) به کامبوچا موجب افزایش چشم‌گیر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن گردیده که ناشی از افزایش مقادیر ترکیبات هیدروکسیل و مشتقات فنلی می‌باشد. بلوردی و همکاران بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی کامبوچای حاوی اینولین حاصل از غده سیب‌زمینی نسبت به کامبوچایی که فقط از شکر جهت تخمیر آن استفاده شده بود را به تفاوت در تولید متابولیت‌های ثانویه توسط میکروارگانسیم‌ها نسبت دادند (Balvardi *et al.*, 2011). توت و انگور حاوی ترکیبات مختلف فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا هستند(Ahlawat *et al.*, 2017; Butkhup *et al.*, 2013; Castilla *et al.*, 2006; Kamiloglu *et al.*, 2013) و اثر تشدیدکنندگی آن‌ها می‌تواند دلیلی بر تاثیر مثبت و معنی‌دار افزودن شیره توت و انگور بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کامبوچا باشد. نتایج به‌دست‌آمده از آزمون‌های فعالیت آنتی‌اکسیدانی ثابت می‌کند که تغییر بستر تخمیر با شیره انگور و توت در افزایش توانایی خواص

آنتی‌اکسیدانی کامبوچا بسیار مؤثر بوده است که علاوه بر وجود ترکیبات فنولیک در شیره‌های افزوده شده، افزایش کلنی میکروارگانیسم‌ها و تنوع آن‌ها در محصول و تولید متابولیت‌های ثانویه جدیدی که نقش مهمی در افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی دارند را نیز می‌توان از دلایل دیگر فرض کرد (Balvardi *et al.*, 2011; Chakravorty *et al.*, 2016). تحقیقات نشان داده که همبستگی شدیدی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و مقدار ترکیبات پلی‌فنولیک و فلاوونوئیدی وجود دارد(Brand-Williams *et al.*, 1995; Chu and Chen, 2006; Sun *et al.*, 2015; Watawana *et al.*, 2017) و با توجه به اشکال ۱ و ۲، بالاتر بودن بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی کامبوجای حاوی شیره توت نسبت به نمونه حاوی شیره انگور را می‌توان به بالاتر بودن ترکیبات فنولیک موجود در شیره توت نسبت داد. سیانیدین-۳-روتینوزید و سانیدین-۳-گلیکوزید که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی هستند بیش از ۹۸٪ آنتوسیانین‌های توت را تشکیل می‌دهند(Qin *et al.*, 2010) و به همین دلیل کامبوچای حاوی شیره توت میزان فنل به مراتب بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشته (شکل ۱) و به طبع آن از خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار است.

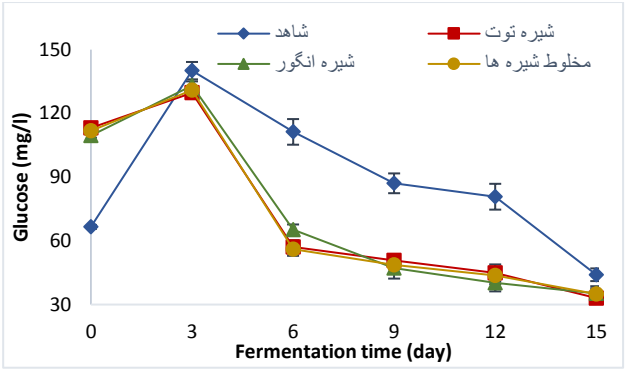


شکل ۲. تغییرات درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH (a) و ABTS (b) کامبوچا طی مدت تخمیر

مقدار گلوکز

تغییرات مقدار گلوکز موجود در کامبوچا طی مدت زمان تخمیر در شکل ۳ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌گردد مقدار گلوکز در تمامی نمونه‌ها در انتهای زمان تخمیر نسبت به روز اول کاهش چشمگیری داشته است که این کاهش در نمونه‌هایی که از شیره میوه به‌عنوان سوبسترای تخمیر استفاده شده است بیشتر بوده است. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌گردد کمترین مقدار اولیه گلوکز (۶۶/۵۶ میلی‌گرم در لیتر) مربوط به نمونه شاهد بود، در حالیکه مقادیر اولیه گلوکز در هر لیتر از نمونه‌های حاوی شیره توت، شیره انگور و مخلوط شیره‌ها به‌ترتیب ۱۱۳/۰۹، ۱۰۹/۵۵ و ۱۱۱/۷۶ میلی‌گرم بود. این اختلاف اولیه مربوط به بالا بودن مقادیر مونوساکارید گلوکز و فروکتوز در شیره توت و انگور است به‌طوریکه این میوه‌ها حاوی مقادیر کمی ساکارز می‌باشند(Ahlawat *et al.*, 2017; Ayed *et al.*, 2017; Burin *et al.*, 2010; Qin *et al.*, 2010) و بالاتر بودن مقدار گلوکز اولیه آن‌ها توجیه‌پذیر است. در شکل ۳ مشاهده می‌گردد که میزان گلوکز همه نمونه‌ها در روز سوم افزایش داشته است ولی با ادامه روند تخمیر مقدار آن‌ها کاهش یافته است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که با ادامه روند تخمیر میزان گلوکز علی‌رغم افزایشی که در روزهای ابتدایی دارد کاهش می‌یابد که با گزارش سایرین کاملا مطابقت داشت (Balvardi *et al.*, 2011; Chakravorty *et al.*, 2016; Kallel *et al.*, 2012; Malbaša *et al.*, 2008). محققینی که از اینولین حاصل از سیب‌زمینی ترشی و آب انگور و آب آلبالو در تهیه کامبوچا استفاده کرده بودند میزان گلوکز کمتری را در کامبوچا نسبت به نمونه‌های شاهد در انتهای دوره تخمیر مشاهده کردند که منطبق با نتایج حاضر می‌باشند (Balvardi *et al.*, 2011; Yavari *et al.*, 2010; Yavari *et al.*, 2011). افزایش مقدار گلوکز در روزهای ابتدایی تخمیر به علت تجزیه ساکارز به گلوکز و فروکتوز توسط مخمرهاست و از آن‌جا که مقدار ساکارز موجود در نمونه‌های حاوی شیره کمتر از نمونه شاهد بوده بنابراین این افزایش در نمونه شاهد مشهودتر بود. با ادامه تخمیر، مونوساکاریدهای موجود در محیط توسط مخمرها به اتانول تبدیل می‌شوند که در ادامه توسط استوباکترها به استیک اسید تبدیل می‌گردند ولی باقیمانده گلوکز موجود توسط باکتری‌ها اکسیده شده و به گلوکونیک اسید و سلولز تبدیل می‌شود (Chakravorty *et al.*, 2016; Kallel *et al.*, 2012). کاهش میزان مونوساکاریدها به‌ویژه گلوکز در کامبوچا از اهمیت خاصی برخوردار است چون گلوکز افزایش قند خون در مبتلایان به دیابت را در پی دارد، بنابراین کامبوچای با مقادیر گلوکز و ساکارز کم می‌تواند توسط این دسته از بیماران مصرف شود (Balvardi *et al.*, 2011). با توجه به عدم وجود ساکارز در این نوشیدنی که گزارش مربوط به روند کاهش ساکارز در این‌جا بیان نشده است ولی مقدار ساکارز در همه نمونه‌ها تا قبل از روز دوازدهم به حدود صفر رسیده بود تائید کننده کم کالری بودن

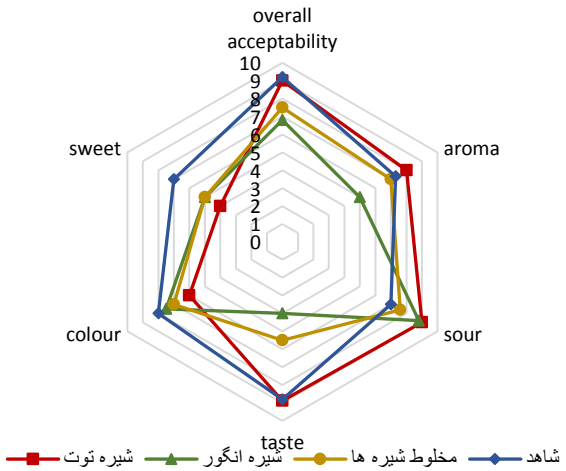
این نوشیدنی هم‌چون سایرین بود (Chakravorty *et al.*, 2016; Kallel *et al.*, 2012; Malbaša *et al.*, 2008). نتایج این تحقیق بیانگر مقادیر کمتری از گلوکز در نوشیدنی کامبوچای حاوی شیره توت و انگور بود که این نوشیدنی را برای افراد چاق و دیابتی توصیه می‌کند.



شکل ۳. تغییرات میزان گلوکز کامبوچا طی مدت تخمیر

ویژگی‌های حسی

نتایج مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف حسی نمونه‌های کامبوچا با تغییر در بستر تخمیر در مقایسه با نمونه شاهد در روز آخر تخمیر در شکل ۴ نشان داده شده است. ارزیاب‌ها رنگ ظاهری نمونه شاهد و شیره انگور را بهتر از سایرین تشخیص دادند و کمترین امتیازها را به کامپوچای حاوی مخلوط شیره‌ها و شیره توت دادند. شاید دلیل آن را بتوان کدر و تیره بودن رنگ شیره توت و مقاوم بودن رنگدانه‌های آن در شرایط اسیدی و حفظ رنگ تیره تا انتهای تخمیر دانست(Kamiloglu *et al.*, 2013) زیرا رنگ کامبوچا طی روند تخمیر با تجزیه ترکیبات مختلف قهوه‌ای روشن‌تر می‌گردد (Ayed *et al.*, 2017; Malbaša *et al.*, 2008). ارزیاب‌ها بهترین طعم را نیز به نمونه شاهد و مخلوط شیره‌ها نسبت دادند در حالی که کمترین امتیاز طعم به نمونه کامبوچای حاوی شیره انگور تعلق داشت که علت آن را می‌توان اثرات ناشی از طعم تند اسیدسیتریک دانست که سوزش گلو را به همراه داشت. Ayed *et al.*, 2017 نیز کم‌ترین امتیاز طعم را در کامبوچای حاوی آب انگور قرمز تخمیر شده مشاهده و دلیل آن‌را مقدار بالای اسیدسیتریک با ادامه روند تخمیر گزارش کردند. از لحاظ ترشی، نمونه کامبوچای شیره توت بیشترین و نمونه شاهد، کمترین امتیاز را به خود اختصاص دادند که با نتایج اسیدیته و pH محصول (جدول ۱) هم‌راستا می‌باشد. امتیازات شیرینی محصول کاملاً خلاف نتایج ترشی بود و در آن نمونه شاهد به دلیل تبدیل کمتر قند به اسید، بیشترین شیرینی و کامبوچای شیره توت که کمترین مقدار گلوکز را نسبت به بقیه داشت، کمترین امتیاز مقدار شیرینی را در ارزیابی‌های حسی به خود اختصاص داد که توجیه این موضوع با نتایج ارائه شده در شکل ۳ امکان‌پذیر است. از نظر پذیرش کلی، نمونه‌های شاهد و کامبوچای حاوی شیره توت بیشترین امتیازا را داشتند و مخلوط شیره‌ها و با اختلاف بیشتری از همه کامبوچای حاوی شیره انگور کمترین امتیاز را کسب کردند که می‌تواند به طعم اسیدی زیادی باشد که نمونه‌های حاوی شیره انگور به واسطه مقدار زیاد اسید سیتریک دارند. از نظر آروما نمونه حاوی شیره توت بالاترین امتیاز را داشت و نمونه حاوی انگور بوی نافذ و زننده‌ای را داشت که مورد پسند ارزیاب‌ها نبود. عطر و طعم و رنگ نهایی کامبوچا تحت تاثیر مواد موجود در بستر تخمیر اولیه قرار می‌گیرند. Malbaša *et al.*, 2008 مشاهده کردند که کامبوچای حاصل از افزودن ملاس چغندر قند رنگی تیره‌تر، اندکی گازدارتر، طعمی کاراملی و بوی متداول ملاس دارد. Ayed *et al.*, 2017 نیز طعم اسیدی و آرومای بیشتری را از کامبوچای حاوی آب انگور قرمز گزارش کردند. Alipour Amroabadi *et al.*, 2016 رنگ کامبوچای تهیه شده از شیره خرما را نسبت به نمونه تهیه شده از شکر پس از سی روز دوره تخمیر، بهتر ارزیابی کردند در حالیکه نمونه شاهد عطر و طعم به مراتب بهتری داشت (Alipour Amroabadi *et al.*, 2016). طبق نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، مشاهده شد که با افزودن شیره توت، محصول نهایی تیره رنگ‌تر و طعم ترش منحصر به فردی تولید می‌کند که از نظر مقبولیت کلی هم‌چون نمونه شاهد مورد پذیرش مصرف کنندگان است ولی افزودن شیره انگور اگرچه رنگی روشن‌تر دارد ولی به‌واسطه طعم کمتری که دارد کمتر مورد پذیرش واقع شد، اما در رابطه با شیره انگور، طعم ترش و سرکه‌ای شدید با رنگی روشن و شفاف ولی غلیظ‌تر از نمونه شاهد به دست آمد.



شکل ۴. تاثیر افزودن شیره‌های توت و انگور بر ویژگی‌های حسی کامبوچا در انتهای تخمیر

نتیجه‌گیری

کامبوچا یک نوشیدنی تخمیری است که چای شیرین شده با شکر، بستر فعالیت انواع مخمر و باکتری‌ها را بوجود می‌آورد. در

این تحقیق مشاهده شد که با جایگزینی شکر با شیره‌های انگور و توت و مخلوط آن‌ها به‌طور مساوی برخی خصوصیات کامبوچا طی پانزده روز تخمیر تغییراتی می‌کند. نتایج نشان داد که pH و اسیدیته همه نمونه‌ها در طول تخمیر به‌ترتیب کاهش و افزایش معنی داری یافت. افزودن شیره‌های میوه موجب افت معنی‌دار pH و افزایش میزان اسیدیته طی روند تخمیر گردید و بیشترین اثر را شیره توت نشان داد. هر دو روش مهار رادیکال‌های DPPH و ABTS نشان دادند که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها طی فرایند تخمیر افزایش معنی‌داری یافته است و افزودن شیره‌های میوه این روند را تسریع نموده‌اند، به‌طوریکه بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه حاوی شیره توت مشاهده گردید. نتایج نشان داد که ترکیبات پلی‌فنولی و مقدار فلاونوئید طی دوره تخمیر افزایش داشته است و تغییر بستر تخمیر با استفاده از شیره توت و انگور تاثیر معنی‌داری در افزایش میزان این ترکیبات مفید کامبوچا در پایان تخمیر داشته است. مقدار گلوکز نمونه‌ها طی روند تخمیر کاهش یافت و بیشترین کاهش گلوکز در نمونه‌های حاوی شیره‌های طبیعی در مقایسه با نمونه شاهد مشاهده گردید و به همین دلیل، کامبوچا یک نوشیدنی مناسب با خواص آنتی‌کسیدانی مطلوب و مقدار مواد قندی پائین است. بررسی ویژگی‌های حسی نشان داد که اگرچه نوشیدنی‌های کامبوجای تهیه شده از شیره‌ها کمی تیره و ترش مزه‌تر از نمونه شاهدی بودند که که روشن‌تر و کم‌تر ترش مزه بود ولی از نظر ارزیاب‌ها کامبوچای حاوی شیره توت قابل رقابت با نمونه شاهد بود. با توجه به خواص تغذیه‌ای و سلامت‌زایی شیره شاه توت، پیشنهاد می‌گردد از این شیره جهت تولید کامبوچا به‌منظور تولید یک نوشیدنی تخمیر فراسودمند استفاده گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت مالی این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

REFERENCES

Ahlawat, T.R., Patel, N.L., Agnihotri, R., Patel, C.R., and Tandel, Y.N. (2017). Black mulberry (*Morus nigra*). *In "Underutilized fruit crops: importance and cultivation."* (S.N. Ghosh, A. Singh and A. Thakur, eds.), pp. 195-212. JAYA Publishing House, Delhi

Alipour Amroabadi, M., Hojatoleslamy, M., Keramat, J., and Nejaty, F. (2016). Production of Kombucha by replacing sugar by date syrup. *Iranian ournal of Food Science and Technology* 13, 23-33. (In Farsi)

AOAC (1995). "Official Methods of Analysis, 16th edition, *Association of Official Analytical Chemists*," Gaithersburg. MD

Ayed, L., Abid, S.B., and Hamdi, M. (2017). Development of a beverage from red grape juice fermented with the Kombucha consortium. *Annals of Microbiology* 67, 111-121

Ayed, L., and Hamdi, M. (2015). Manufacture of a beverage from cactus pear juice using "tea fungus" fermentation. *Annals of Microbiology* 65, 2293-2299

Balvardi, M., Safari, M., Habibi Rezaei, M., Hosseini, S.M.H., Rezaei, K., and Mousavi Movahedi, A.A. (2011). Kombucha production using extracted inulin from jerusalam artichoke tber. *Journal of Food Science and Technology* 8, 89-100. (In Farsi)

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology* 28, 25-30

Burin, V.M., Falcão, L.D., Gonzaga, L.V., Fett, R., Rosier, J.P., and Bordignon-Luiz, M.T. (2010). Colour, phenolic content and antioxidant activity of grape juice. *Food Science and Technology* 30, 1027-1032

Butkhup, L., Samappito, W., and Samappito, S. (2013). Phenolic composition and antioxidant activity of white mulberry (*Morus alba* L.) fruits. *International Journal of Food Science and Technology* 48, 934-940

Castilla, P., Echarri, R., Dávalos, A., Cerrato, F., Ortega, H., Teruel, J.L., Lucas, M.F., Gómez-Coronado, D., Ortuño, J., and Lasunción, M.A. (2006). Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects–. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84, 252-262

Chakravorty, S., Bhattacharya, S., Chatzinotas, A., Chakraborty, W., Bhattacharya, D., and Gachhui, R. (2016). Kombucha tea fermentation: Microbial and biochemical dynamics. *International Journal of Food Microbiology* 220, 63-72

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10, 178-182

Chu, S.C., and Chen, C. (2004). Effects of origins and fermentation time on the antioxidant activities of kombucha. *Food Chemistry* 98, 502-507

Day, A., Kemp, H., Bolton, C., Hartog, M., and Stansbie, D. (1997). Effect of concentrated red grape juice consumption on serum antioxidant capacity and low-density lipoprotein oxidation. *Annals of Nutrition and Metabolism* 41, 353-357

Demir, M. (2014). Effect of the replacement of sugar with spray dried grape pekmez (pekmez powder) on some properties of cookies. *Quality Assurance*

and Safety of Crops and Foods 6, 229-235

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.T., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28, 350-356

Faostat, F. (2017). Statistical databases. Food and Agriculture Organization of the United Nations

Greenwalt, C., Steinkraus, K., and Ledford, R. (2000). Kombucha, the fermented tea: microbiology, composition, and claimed health effects. *Journal of Food Protection* 63, 976-981

Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S., and Sathishkumar, M. (2014). A review on kombucha tea microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13, 538-550

Jayabalan, R., Malini, K., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., and Yun, S.E. (2010). Biochemical characteristics of tea fungus produced during kombucha fermentation. *Food Science and Biotechnology* 19, 843-847

Jayabalan, R., Marimuthu, S., and Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. *Food Chemistry* 102, 392-398

Kallel, L., Desseaux, V., Hamdi, M., Stocker, P., and Ajandouz, E.H. (2012). Insights into the fermentation biochemistry of Kombucha teas and potential impacts of Kombucha drinking on starch digestion. *Food Research International* 49, 226-232

Kamiloglu, S., Serali, O., Unal, N., and Capanoglu, E. (2013). Antioxidant activity and polyphenol composition of black mulberry (*Morus nigra* L.) products. *Journal of Berry Research* 3, 41-51

Lobo, R., Dias, F., and Shenoy, C. (2017). Kombucha for healthy living: evaluation of antioxidant potential and bioactive compounds. *International Food Research Journal* 24, 541-546.

Lončar, E. S., Malbaša., R. V., and Kolarov, L. A. (2007). Kombucha fermentation on raw extracts of different cultivars of jerusalem artichoke. *Acta Periodica Technologica*, 37-44

Malbaša, R., Lončar, E., and Djurić, M. (2008). Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses. *Food Chemistry* 106, 1039-1045

Martínez Leal, Jessica, Lucía Valenzuela Suárez, Rasu Jayabalan, Joselina Huerta Oros, and Anayansi Escalante-Aburto. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA-Journal of Food.* 16(1), 390-399.

Neffe-Skocińska, K., Sionek, B., Ścibisz, I., and Kołożyn-Krajewska, D. (2017). Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties. *CyTA-Journal of Food* 15, 601-607

Qin, C., Li, Y., Niu, W., Ding, Y., Zhang, R., and Shang, X. (2010). Analysis and characterisation of anthocyanins in mulberry fruit. *Czech Journal of Food Science* 28, 117-126

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine* 26, 1231-1237

Reiss, J. (1994). Influence of different sugars on the metabolism of the tea fungusEinfluß verschiedener Zucker auf den Stoffwechsel des Teepilzes. *Zeitschrift fuÈr Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 198, 258-261

Singleton, V., Orthofer, R., and Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Fo-253. *Czech Journal of Food Sci*ence 4, 242-253

Sun, T.-Y., Li, J.-S., and Chen, C. (2015). Effects of blending wheatgrass juice on enhancing phenolic compounds and antioxidant activities of traditional kombucha beverage. *Journal of Food and Drug Analysis* 23, 709-718

Watawana, M. I., Jayawardena, N., Ranasinghe, S. J., and Waisundara, V. Y. (2017). Evaluation of the effect of different sweetening agents on the polyphenol contents and antioxidant and starch hydrolase inhibitory properties of Kombucha. *Journal of Food Processing and Preservation* 41

Yavari, N., Assadi, M. M., Larijani, K., and Moghadam, M. B. (2010). Response surface methodology for optimization of glucuronic acid production using kombucha layer on sour cherry juice. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 4, 3250-3256

Yavari, N., Assadi, M. M., Moghadam, M. B., and Larijani, K. (2011). Optimizing glucuronic acid production using tea fungus on grape juice by response surface methodology. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences* 5, 1788-1794