



DOI: 10.22034/fr.2021.27009.1569

## بررسی ویژگی‌های شیمیایی و میزان اتانول در نوشیدنی کفیر حاوی طعم دهنده‌های سنتی طی دوره ماندگاری

اعظم پولادوند<sup>۱\*</sup>، بهروز اکبری<sup>۲</sup> و مانیا صالحی فر<sup>۳</sup>

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۹ تاریخ پذیرش: ۹۷/۸/۲۶

<sup>۱</sup> دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

<sup>۲</sup> دانشیار مرکز تحقیقات آزمایشگاهی غذا و دارو، سازمان غذا و دارو، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران

<sup>۳</sup> استادیار دانشکده کشاورزی واحد شهر قدس، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

\*مسئول مکاتبه: Email: a.poulad2006@gmail.com

### چکیده

**زمینه مطالعاتی:** از آنجایی که در ایران عرقیات گیاهی بعنوان طعم دهنده به دوغ اضافه می‌شود. هدف: تاثیر عرقیات گیاهی بر ویژگی‌های شیمیایی و میزان اتانول در نوشیدنی دوغ کفیر، مورد ارزیابی قرار گرفت. روش کار: در این تحقیق ۴ نمونه عرقیات طبیعی شامل نعنای، پونه، شوید و بیدمشک بعنوان افزودنیهای طبیعی و سنتی بکار رفت. هر یک از این عرقیات در چهار غلظت ۰/۵، ۰/۲، ۰/۱ و ۰/۰۵ درصد (حجمی/حجمی) به نوشیدنی کفیر اضافه شد، سپس این نمونه‌های طعم دار شده در یک دوره زمانی ۲۱ روزه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری گردید و سپس نمونه برداری لازم جهت تعیین میزان درصد اتانول در زمان ۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز به روش کروماتوگرافی گازی و انجام آزمایشات شیمیایی انجام شد. **نتایج:** در این بررسی مشخص گردید زمان نگهداری و غلظت‌های عرقیات باعث افزایش معنی دار ( $p < 0/05$ ) میزان اتانول در نمونه‌های کفیر شده است و بیشترین میزان اتانول در طی مدت نگهداری به عرق نعناع اختصاص یافت. **نتیجه گیری نهایی:** علیرغم تاثیر معنی دار ( $p < 0/05$ ) زمان نگهداری و غلظت‌های عرقیات، میزان اتانول در تمامی نمونه‌ها در محدوده استاندارد مشاهده شد.

**واژگان کلیدی:** اتانول، عرقیات گیاهی، کروماتوگرافی گازی، نوشیدنی کفیر

### مقدمه

در طی دوره ماندگاری هدایت نموده است. اتانول یکی از معروفترین مواد آسیب رسان بر بدن انسان می باشد اثرات آن همواره مدنظر محققان بوده و استفاده از آن به ویژه در غرب به صورت روز افزون گسترش یافته است که این خود جای بسی خوشبختی است که در کشور ما نظر به استحکام اعتقادات مذهبی، نوشیدن الکل شیوع اندکی دارد. یکی از مهمترین نقش‌های باکتری و مخمر در

امروزه با توجه به پیشرفت تکنولوژی و نیاز روز افزون جامعه در خصوص محصولات کفیر که دارای خواص سلامت بخش فراوان است و نظر به اهمیت و تنوع عرقیات گیاهی و سازگاری و نیاز آن برای افراد جامعه این موضوع محققان و تولید کنندگان مواد غذایی را به توجه و استفاده از عرقیات طبیعی با کاهش تولید اتانول

هاکوی (۲۰۱۳) در پژوهشی که شرایط تخمیر نوشیدنی شیر گردو با دانه های کفیر انکوبه شده را آزمایش کردند. نتایج این بررسی نشان داد که اثر فاکتور مدت تخمیر، دمای تخمیر و غلظت ساکاروز بر تخمیر شیر گردو بسیار قابل توجه است. افزودن عرقیات به محیط نوشیدنی های کفیر می تواند زمینه را برای افزایش اتانول تا حد بالاتر از سطوح استاندارد تقویت نماید که انجام این تحقیق می تواند با پاسخگویی مناسب به سئوالات تحقیق در بکارگیری و میزان افزودن هریک از عرقیات به نوشیدنی کفیر در صنایع راهگشا باشد. بدین ترتیب با دستیابی به نتایج این تحقیق می توان ضمن بهره گیری از آثار مطلوب و ارزشمند اینگونه عرقیات، از آثار سوء جانبی آن بر سلامت مصرف کننده جلوگیری کرد.

#### مواد و روش ها

مواد مصرفی: شامل نوشیدنی کفیر به همراه چهار طعم از عرقیات گیاهی با برند داخلی (نعناع، پونه، شوید و بیدمشک) استفاده شد. کلیه مواد شیمیایی مورد استفاده شامل اسید هیدروکلریدریک و هیدروکسید سدیم ساخت شرکت مرک آلمان بودند.

#### نحوه آماده سازی نمونه ها

طعم دار کردن نمونه های کفیر: چهارعرق (نعناع، پونه، شوید و بیدمشک) در چهار غلظت (۰/۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۵) درصد حجمی/حجمی) به نوشیدنی کفیر اضافه شده و طی دو دقیقه با همزن مخلوط گردید، و درب آن ها پرس و در دمای °C ۲۵ نگهداری شد. نمونه های طعم دار آماده شده در ۴ مقطع زمانی (۷، ۱۰، ۱۴ و ۲۱ روز) جهت آنالیز کروماتوگرافی گازی به منظور شناسایی و اندازه گیری اتانول به آزمایشگاه کروماتوگرافی ارسال شد.

آنالیز میزان اتانول موجود در دوغ کفیر طعم دار در سطح عرضه در سامانه کوپل فضای فوقانی با

#### کروماتوگرافی گازی

نمونه های طعم دار شده را در یک سینی ویال قرار داده و پس از آن بطور اتوماتیک در داخل یک دستگاه آون سامانه فضای فوقانی قرار گرفت. سیستم رباتیک دستگاه به گونه ای است که میکروسرنگ گازبندی شده

تولید نوشیدنی کفیر، تخمیر الکی است. با توجه به اینکه اتانول بوسیله مخمرهای موجود در کفیر تولید می شود (آیرنا باروکسیک و همکاران ۲۰۱۷). بسته به فرایند تخمیر، زمان، نوع استارتر و طعم دهنده بکار رفته در کشت میکروبی، میزان الکل تولید شده بین ۳ تا ۶ درصد در طی ذخیره سازی افزایش داشته است که این بر اساس استانداردهای مربوطه بیش از حد مجاز می باشد (یالماز ۲۰۰۶).

نوشیدنی کفیر مهمترین ماده اولیه تشکیل دهنده فرمولاسیون نوشیدنی کفیر طعم دار می باشد. به این علت که در ایجاد طعم مناسب و مطبوع مشارکت دارد و تاثیر مثبتی بر روی بو و ویژگی های حسی دارد. اهمیت طعم نوشیدنی کفیر در پذیرش مصرف کنندگان کاملاً مشخص شده است تغییر در مواد اولیه و فرآیند تولید سبب تغییر در بو، طعم، بافت محصول می شود. در مطالعه ای که به بررسی تاثیر مقادیر ترکیبات عطر و طعم در کفیر تهیه شده از شیر سویا پرداخته شد، نتایج این بررسی نشان داد که شیر سویای استریل حاوی ۲ درصد ساکارز و با ۲، ۳ و ۴ درصد دانه کفیر پس از انکوبه شدن در دمای ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد و نگهداری دو هفته ای در دمای ۴°C، ترکیبات عامل طعم و عطر ( شامل استالدئید، دی استیل، استوئین و اتانول) روندی کاهشی داشته است (پوراحمد ۲۰۱۱). بخشنده و همکاران (۱۳۹۱) ترکیبات عطر و طعم موجود در کفیر را مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که میزان استالدئید، دی استیل، استوئین و اتانول با بالا رفتن دما و افزایش آن بیشتر می شود ولی طی ذخیره سازی سرد از روز اول تا روز ۱۴ این روند کاهشی بوده و pH، اسیدیته در همه نمونه ها به ترتیب کاهش و افزایش یافته است. گوزل در سال ۲۰۰۰ برخی از اسیدهای آلی و مواد عامل طعم فرار در نوشیدنی کفیر در طی دوره تخمیر را مورد مطالعه قرار دادند. تولید اتانول ۵ ساعت پس از انکوباسیون آغاز شد و تولید استالدئید و استوئین در طی دوره تخمیر روندی افزایشی داشت (گوزل ۲۰۰۰).

بررسی اثرات متقابل نشان داد که اثر متقابل نوع عرقیات و زمان، اثر متقابل نوع عرقیات و غلظت معنی دار است ( $P < 0/05$ ). اثر متقابل غلظت و زمان و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات، غلظت و زمان اثر معنی داری ( $P < 0/05$ ) بر میزان اتانول نداشت.

ارزیابی اسیدیته: آنالیز رویه مدل خطی عمومی برای میزان اسیدیته نشان داد که اثرات اصلی زمان، غلظت و نوع عرقیات بر میزان اسیدیته معنی دار می باشد ( $P < 0/05$ ). بررسی اثرات متقابل نشان داد که اثر متقابل نوع عرقیات و زمان، اثر متقابل نوع عرقیات و غلظت، اثر متقابل زمان و غلظت و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات، غلظت و زمان اثر معنی داری ( $P < 0/05$ ) بر میزان اسیدیته داشت.

ارزیابی pH: آنالیز رویه مدل خطی عمومی برای میزان pH نشان داد که اثر اصلی غلظت بر میزان pH معنی دار ( $P < 0/05$ ) می باشد. بررسی نتایج نشان داد که هیچکدام از اثرات اصلی زمان، نوع عرقیات و اثرات متقابل زمان و غلظت، نوع عرقیات و زمان، نوع عرقیات و غلظت و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات و غلظت و زمان بر میزان pH معنی دار ( $P < 0/05$ ) نیستند.

همان طور که در نمودارهای شکل ۱ و ۲ نشان داده شده است. میزان اتانول در تمامی غلظت‌ها با افزایش مدت نگهداری افزایش پیدا می کند. بیشترین مقدار اتانول برای غلظت ۰/۵ درصد در روز ۲۱ ام و کمترین مقدار آن در روز ۷ ام برای غلظت ۰/۵ درصد مشاهده شد.

بر روی ظرف نمونه قرار گرفته با دقت از میان درپوش آلومینیومی عبور کرده و نوک سوزن سرنگ گازبندی شده در فضای فوقانی محلول نمونه قرار می گیرد و به مدت زمان حدود یک تا دو دقیقه نگه داشته می شود و پس از برداشت نمونه برای تزریق به سمت دستگاه کروماتوگرافی گازی حرکت کرد. در این پژوهش، آنالیز دستگاه کروماتوگرافی Shimadzu ۱۷ A مجهز به آشکارساز یونش شعله ای انجام شد و از ستون کاپیلاری CP-sil ۵CB بطول ۶۰ متر و قطر داخلی ۰/۳۲ میلی متر و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر و گاز حامل  $N_2$  و با سرعت جریان ۱۵ میلی لیتر بر دقیقه و با دمای دتکتور ۱۷۵ درجه سانتی گراد برای جداسازی استفاده گردید (برگر و همکاران ۱۹۹۹؛ برودی و همکاران ۱۹۶۶؛ بویجن و همکاران ۱۹۵۸؛ کولب و همکاران ۲۰۰۶؛ سرچیو و همکاران ۲۰۱۰؛ رانگانینا ۱۹۸۶؛ ویلی ۱۹۷۴؛ تینا ۲۰۱۰؛ سندرا ۱۹۸۶؛ زئو و همکاران ۲۰۰۵؛ و همکاران ۲۰۱۰).

#### آزمونهای فیزیکیوشیمیایی دوغ کفیر طعم دار

میزان pH نوشیدنی کفیر طعم دار توسط pH متر اندازه گیری شد و همینطور میزان اسیدیته به روش تیتراسیون با استفاده از تیتراژ کردن ۵۰۰ میلی لیتر از نمونه با محلول هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال انجام شد (استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵، ۱۳۸۶).

#### تجزیه و تحلیل آماری

آمار توصیفی بصورت  $Mean \pm SD$  در چهار تکرار بیان شد و جهت تجزیه و تحلیل نتایج از رویه مدل های خطی عمومی (GLM) استفاده شد. جهت مقایسه بین گروه ها آزمون دانکن بکار رفت و سطح معنی داری  $Pvalue = 0/05$  در نظر گرفته شد. به منظور آنالیز های آماری و رسم نمودارها از نرم افزار SPSS = ۱۹ استفاده شد.

#### نتایج

ارزیابی اتانول: آنالیز رویه مدل خطی عمومی برای میزان اتانول نشان داد که اثرات اصلی زمان، غلظت و نوع عرقیات بر میزان اتانول معنی دار می باشد ( $P < 0/05$ ).

جدول ۱- اثرات زمان، غلظت، نوع عرقیات و متقابل نوع عرقیات و زمان، نوع عرقیات و غلظت، زمان و غلظت، نوع عرقیات و

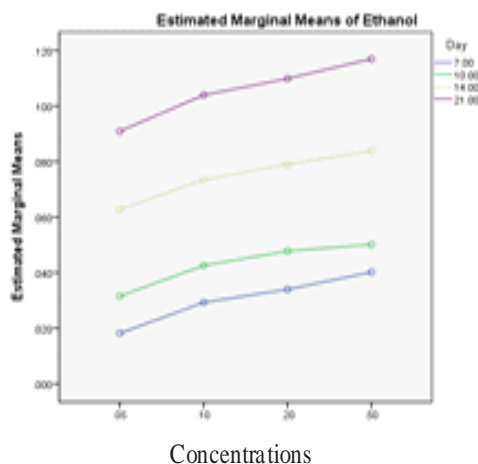
زمان و غلظت در طول بررسی میزان اتانول، pH و اسیدیته در نوشیدنی طعم دار براساس رویه مدل خطی عمومی

**Table 1- Checking the result of time, density, effects distillate type and interactive effects of time and type of distillates, interactive distillate types and density, interactive effects of density and time interactive effects of distillate types, time and studying the density during checking ethanol, pH and acidity amount according to general liner model method in flavored drink**

	Row	df	average of squares		F	P
Ethanol(%)	Modified model	63	0.006		71.48	0.000
	Fixed coefficient	1	1.028		12637.8	0.000
	Time	3	0.073		891.6	0.000
	Density	3	0.006		69.5	0.000
	Type distillates	3	0.039		475.9	0.000
	Density and time	9	2.988		0.368	0.949
	Type distillates and time	9	0.001		14.3	0.000
	Type distillates and density	9	0.000		3.91	0.000
	Type distillates and density and time	27	7.369		0.906	0.603
	General linear	192	8.137			
Acidity(%)	Modified model	63	0.6		40.2	0.000
	Fixed coefficient	1	231.72		15417.78	0.000
	Type distillates	3	1.46		97.73	0.000
	Time	3	1.86		124.31	0.000
	Density	3	4.34		289.04	0.000
	Type distillates and time	9	0.53		35.52	0.000
	Type distillates and density	9	0.2		13.35	0.000
	Time and density	9	0.22		14.62	0.000
	Type distillates and density and time	27	0.23		15.852	0.000
	General linear	192	0.015			
pH	Modified model	63	0.018	1.015	0.45	
	Fixed coefficient	1	2875.3	35958.35	0.000	
	Type distillates	3	0.003	0.039	0.99	
	Time	3	0.146	1.82	0.144	
	Density	3	0.263	3.28	0.022	
	Type distillates and time	9	0.018	0.224	0.991	
	Type distillates and density	9	0.025	0.317	0.969	
	Time and density	9	0.145	1.81	0.068	
	Type distillates and density and time	27	0.081	1.01	0.45	
	General linear	192	0.08			

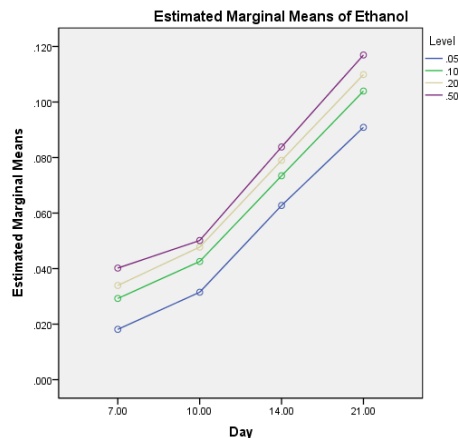
شکل ۱- مقایسه اثرات متقابل زمان و غلظت بر میزان اتانول

Figure 1- Comparing interactive effects of time and density on the amount of ethanol



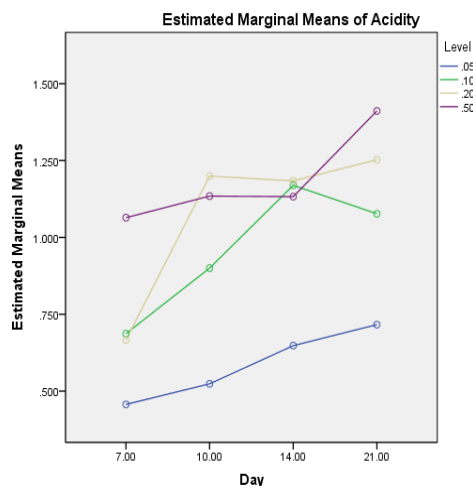
شکل ۱- مقایسه اثرات متقابل زمان و غلظت بر میزان اتانول

Figure 1- Comparing interactive effects of time and density on the amount of ethanol



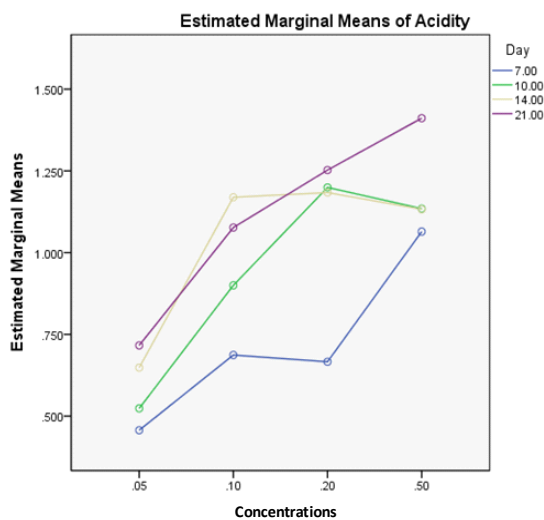
شکل ۲- مقایسه اثرات متقابل غلظت و زمان بر میزان اتانول

Figure 2- Comparing interactive effects of density and time on the amount of ethanol



شکل ۳- مقایسه اثرات متقابل زمان و غلظت بر میزان اسیدیته

Figure 3. Comparing interactive effects of the time and density on the amount Acidity

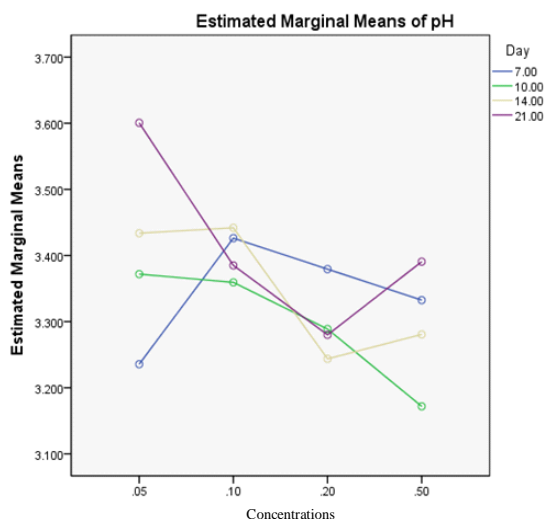


شکل ۴- مقایسه اثرات متقابل غلظت و زمان بر میزان اسیدیته

Figure 4- Comparing interactive effects of the density and the time on the amount Acidity

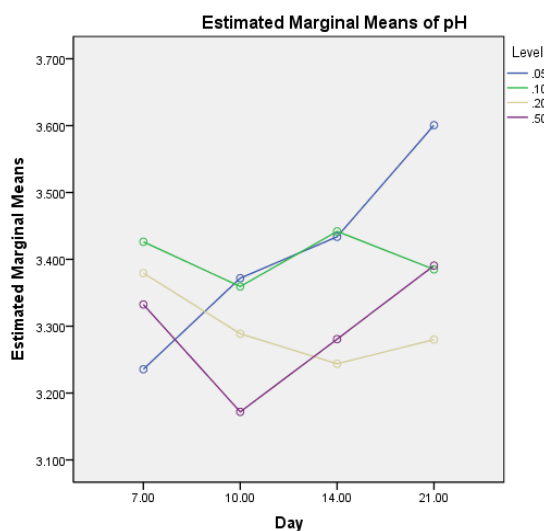
غلظت ۰/۰۵ درصد می باشد و کمترین مقدار pH در روز ۱۰ ام و برای غلظت ۰/۵ درصد گزارش شد.

همین طور که در نمودارهای شکل ۵ و ۶ مشاهده می شود بیشترین میزان pH در روز ۲۱ ام و برای



شکل ۵- مقایسه اثرات متقابل غلظت و زمان بر میزان pH

Figure 5- Comparing interactive effects of density and time on the amount pH



شکل ۶- مقایسه اثرات متقابل زمان و غلظت بر میزان pH

Figure 6- Comparing interactive effects of the time and the density on the amount pH

اختصاص دارد و نیز بیشترین میزان اسیدیته به روزهای ۱۴ ام و ۲۱ ام و کمترین آن مربوط به روزهای ۷ ام و ۱۰ ام اختصاص داشت. همچنین میزان pH در روز ۲۱ ام اختلاف آماری معنی داری با روز ۷ ام نداشت.

جدول ۲ مقایسه میزان اتانول، اسیدیته و pH را در زمان های مختلف نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود میزان اتانول و اسیدیته در زمان های مختلف تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را نشان می دهد که بیشترین میزان اتانول متعلق به روز ۲۱ ام و کمترین آن به روز ۷ ام

جدول ۲- مقایسه میانگین اتانول و اسیدیته، pH در زمان‌های مختلف بررسی در نوشیدنی طعم دار

Table 2- Comparing Ethanol, Acidity and also pH average in flavoured kefir in different times of study

Day	Ethanol	Acidity	pH
7	0.03±0.02 <sup>a</sup>	0.71±0.036 <sup>a</sup>	3.34±0.3 <sup>ab</sup>
10	0.04±0.03 <sup>b</sup>	0.93±0.34 <sup>b</sup>	3.29±0.26 <sup>a</sup>
14	0.07±0.02 <sup>c</sup>	1.03±0.38 <sup>bc</sup>	3.35±0.24 <sup>ab</sup>
21	0.1±0.02 <sup>d</sup>	1.11±0.40 <sup>bc</sup>	3.41±0.31 <sup>b</sup>

\* Non-similar letters in each column indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ) based on the Duncan test. \*\* Mean  $\pm$  standard deviation in four replications

غلظت ۰/۰۵ درصد اختصاص دارد و نیز بیشترین میزان اسیدیته به غلظت ۰/۵ درصد و کمترین آن به غلظت ۰/۰۵ درصد اختصاص داشت. و نیز بیشترین میزان pH به غلظت های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد و کمترین آن به غلظت های ۰/۲ و ۰/۵ درصد اختصاص دارد.

جدول ۳ مقایسه میزان اتانول، اسیدیته و pH را در غلظت های مختلف نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود میزان اتانول، اسیدیته و pH در غلظت های مختلف تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را نشان می دهد که بیشترین میزان اتانول متعلق به غلظت ۰/۵ درصد و کمترین آن به

جدول ۳- مقایسه میانگین اتانول و اسیدیته، pH در غلظت های مختلف بررسی در نوشیدنی طعم دار

Table 3- Comparing Ethanol, Acidity and pH average in flavoured drink in different density of study

Density	Ethanol	Acidity	pH
0.05	0.05±0.035 <sup>a</sup>	0.58±0.27 <sup>a</sup>	3.41±0.30 <sup>b</sup>
0.1	0.062±0.038 <sup>b</sup>	0.95±0.4 <sup>b</sup>	3.4±0.29 <sup>b</sup>
0.2	0.067±0.039 <sup>bc</sup>	1.07±0.38 <sup>c</sup>	3.2±2.61 <sup>a</sup>
0.5	0.072±0.038 <sup>c</sup>	1.18±0.23 <sup>d</sup>	3.29±0.25 <sup>a</sup>

\* Non-similar letters in each column indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ) based on the Duncan test. \*\* Mean  $\pm$  standard deviation in four replications

به عرق شوید اختصاص دارد و نیز بیشترین میزان اسیدیته به عرق بیدمشک و کمترین آن به عرق نعناع اختصاص داشت. میزان pH در نوع عرقیات مختلف تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را نشان نداد.

جدول ۴ مقایسه میزان اتانول، اسیدیته و pH را در نوع عرقیات مختلف نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود میزان اتانول و اسیدیته در نوع عرقیات مختلف تفاوت معنی داری ( $P < 0.05$ ) را نشان می دهد که بیشترین میزان اتانول متعلق به عرق نعناع و کمترین آن

جدول ۴- مقایسه میانگین اتانول و اسیدیته، pH در نوع عرقیات مختلف بررسی در نوشیدنی طعم دار

Table 4- Comparing Ethanol, Acidity and pH average in different distillates types flavoured drink of study

Type distillates	Ethanol	Acidity	pH
Mint	0.088±0.024 <sup>d</sup>	0.8±0.01 <sup>a</sup>	3.35±0.035 <sup>a</sup>
Pennyroyal	0.08±0.036 <sup>c</sup>	0.85±0.01 <sup>b</sup>	3.34±0.035 <sup>a</sup>
Dill	0.04±0.032 <sup>a</sup>	1±0.01 <sup>c</sup>	3.34±0.035 <sup>a</sup>
Pussy	0.044±0.035 <sup>b</sup>	1.14±0.01 <sup>d</sup>	3.36±0.035 <sup>a</sup>

\* Non-similar letters in each column indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ) based on the Duncan test. \*\* Mean  $\pm$  standard deviation in four replications



## نتایج و بحث

مطابق نتایج بدست آمده میزان اتانول کمتر از حد استاندارد قرار داشت. طبق استانداردهای بدست آمده از نظر شرع اسلام، میزان مجاز اتانول در افزودنی‌های غذایی، بیشینه ۰/۵ درصد است. (کانتوکس، ۲۰۰۳؛ (استاندارد کدکس، ۱۹۹۹)؛ (ماگالاس و همکاران، ۲۰۱۱). مطابق استاندارد انجمن غذا و تغذیه اسلامی آمریکا (FDA) میزان ۰/۱ درصد الکل را بعنوان ناخالصی پذیرفته است (اف دی ای ۲۰۱۲). همان طور که در جدول (۱) آنالیز آماری برای میزان اتانول نشان می‌دهد اثرات اصلی زمان، غلظت، نوع عرقیات و اثرات متقابل نوع عرقیات و زمان، نوع عرقیات و غلظت بر میزان اتانول معنی دار ( $P < 0.05$ ) می‌باشد. بررسی متقابل نشان داد که اثر متقابل غلظت، زمان و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات، غلظت، زمان اثر معنی داری ( $P < 0.05$ ) بر میزان اتانول ندارد. همچنین جدول (۲) نشان می‌دهد بیشترین میزان اتانول در زمان‌های مختلف مربوط به روز ۲۱ ام و کمترین آن روز ۷ ام نمونه برداری است. با توجه به جدول (۳) بیشترین میزان اتانول در غلظت‌های مختلف مربوط به غلظت ۰/۲ درصد و کمترین آن در غلظت ۰/۰۵ درصد نمونه برداری نشان داده شد. همان طور که در جدول (۴) ملاحظه می‌شود بیشترین میزان اتانول در نوع عرقیات مختلف مربوط به عرق نعناع و کمترین میزان اتانول در عرق شویید بررسی شد. وثوق و همکاران (۱۳۸۸) طی مطالعه‌ای سطوح ۱ و ۲ درصد عرق کاکوتی در دوغ‌های با طعم کاکوتی در طی مدت زمان ۹ هفته نگهداری در یخچال مور بررسی قرار دادند آن‌ها این گونه بیان کردند بین انواع دوغ از لحاظ زمان، سطوح و طعم اختلاف معنی داری ( $P < 0.05$ ) وجود دارد. همچنین پژوهش‌های دیگری از جمله بخشنده و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند افزودن غلظت‌های طعم‌های مختلف در روزهای نگهداری به دوغ کفیر باعث روند افزایشی مقدار الکل شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. همین طور با توجه به مطالعات انجام شده هاکوی (۲۰۱۳) اثر فاکتور مدت، دمای تخمیر، غلظت ساکارز بر تخمیر شیر گردو بسیار قابل توجه بود که با نتایج به دست آمده از تحقیق

حاضر کاملاً هم خوانی داشت. در بررسی‌های مشابه دیگری روند تولید ترکیبات فرار را بر روی نوشیدنی‌های پایه کفیر و شیر سنتی کفیر قرار دادند که این روند برای آلدئیدها، استالدئیدها و برخی استرها مشابه افزایشی بود (ماگالاس و همکاران ۲۰۱۱). نتایج مریم نجفیان و همکاران (۲۰۱۵) نشان داد که خاصیت ضد مخمری اسانس‌های شویید و نعناع را در محصول دوغ ایرانی مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت آنها نتیجه گرفتند خاصیت ضد مخمری اسانس شویید بیشتر از اسانس نعناع است. با توجه به اینکه در مطالعه حاضر میزان اتانول کفیر با طعم شویید کمتر از کفیر با طعم نعناع می‌باشد. به نظر می‌رسد علت اصلی تولید اتانول کمتر در کفیر با طعم شویید به علت رشد کمتر مخمرها نسبت به کفیر با طعم نعناع است. طبق نتایج بدست آمده جدول (۱) برای میزان اسیدپتیه نشان داد که تمامی اثرات اصلی زمان، غلظت، نوع عرقیات و اثرات متقابل نوع عرقیات و زمان، متقابل نوع عرقیات و غلظت، متقابل زمان و غلظت و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات، غلظت و زمان اثر معنی داری ( $P < 0.05$ ) بر میزان اسیدپتیه داشت. با توجه به جدول (۲) بیشترین میزان اسیدپتیه در زمان‌های مختلف مربوط به روزهای ۱۴ ام و ۲۱ ام و کمترین آن در روزهای ۷ ام و ۱۰ ام نمونه برداری می‌باشد. همچنین جدول (۳) نشان می‌دهد بیشترین میزان اسیدپتیه در غلظت‌های مختلف مربوط به غلظت ۰/۵ درصد و کمترین آن در غلظت ۰/۰۵ درصد نمونه برداری نشان داده شد. همان طور که در جدول (۴) ملاحظه می‌شود بیشترین میزان اسیدپتیه در نوع عرقیات مختلف مربوط به عرق بیدمشک و کمترین آن در عرق نعناع بررسی گردید. در پژوهشی که گوزل در سال ۲۰۰۰ انجام دادند، تولید اسیدهای آلی و مواد عامل طعم فرار در کفیر طی دوره تخمیر روندی افزایشی مشاهده کردند که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. سوکولینسکا و همکاران (۲۰۰۸) طی مطالعات انجام شده نشان دادند با گذشت زمان نگهداری مقدار اسیدهای چرب آزاد در نمونه‌های کفیر به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) افزایش داشته‌اند که با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر هم خوانی داشت.

### نتیجه گیری کلی

نتایج آزمایش نشان داد که اثرات زمان، غلظت و نوع عرقیات بر میزان اتانول و اسیدیته معنی دار ( $P < 0/05$ ) می باشد. در حالی که برای میزان pH فقط غلظت های مختلف اثر معنی داری ( $P < 0/05$ ) داشت. در عین حال بیشترین میزان اتانول در زمان های مختلف برای روز ۲۱ ام نمونه برداری و بیشترین میزان اتانول در غلظت های مختلف برای غلظت ۰/۲ درصد بدست آمد. در بین عرقیات مختلف عرق نعناع بیشترین میزان اتانول را به خود اختصاص داد. بیشترین میزان اسیدیته در زمان های مختلف برای روزهای ۱۴ ام و ۲۱ ام و در غلظت های مختلف برای غلظت ۰/۵ درصد نشان داده شد. بین نوع عرقیات مختلف بیشترین میزان اسیدیته را عرق بیدمشک نشان داد. بیشترین میزان pH در زمان های مختلف در روزهای ۷ ام و ۱۴ ام مشاهده شد و این میزان pH در غلظت های مختلف برای غلظت های ۰/۵ و ۰/۱ درصد بدست آمد. با توجه به نتایج پژوهش حاضر می توان نتیجه گرفت محصولی را می توان تولید کرد که ویژگی های شیمیایی و میزان اتانول آن با استاندارد ها و مقررات ملی مربوطه مطابقت دارد.

بررسی نتایج آنالیز جدول (۱) برای میزان pH نشان داد که اثر اصلی غلظت بر میزان pH معنی دار ( $P < 0/05$ ) میباشد. بررسی نتایج نشان داد که هیچکدام از اثرات اصلی زمان، نوع عرقیات و اثرات متقابل زمان و غلظت، نوع عرقیات و زمان، نوع عرقیات و غلظت و نیز اثرات متقابل نوع عرقیات و غلظت و زمان بر میزان pH معنی دار ( $P < 0/05$ ) نیستند. همچنین جدول (۲) نشان می دهد میزان pH در طی دوره ماندگاری اختلاف آماری معنی داری ( $P < 0/05$ ) نداشت. همان طور که ملاحظه می شود میزان pH روز ۷ ام اختلاف معنی داری با روز ۲۱ ام نشان نداد. با توجه به جدول (۳) بیشترین میزان pH در غلظت های مختلف مربوط به غلظت های ۰/۵ و ۰/۱ درصد و کمترین آن در غلظت های ۰/۲ و ۰/۵ درصد نمونه برداری نشان داده شد. همان طور که در جدول (۴) ملاحظه می شود میزان pH در هیچکدام از نوع عرقیات مختلف تفاوت معنی داری نداشت. در مطالعه ای که در سال ۲۰۰۶ توسط یالماز بر روی کفیر نشان داده شد با افزایش زمان ماندگاری و غلظت ها و طعم های افزوده شده pH کاهش می یابد (یالماز ۲۰۰۶) و این طور می توان بیان کرد که میزان غلظت با مطالعه انجام شده مطابقت دارد.

### منابع مورد استفاده

- بخشنده ت و پوراحمد ر، ۱۳۹۰، ارزیابی ترکیبات عطر و طعم موجود در کفیر. مجله کشاورزی شیمی مواد غذایی. شماره ۱، صفحه های ۱۱-۱۸.
- بی نام ۱۳۸۶، استاندارد ملی ایران شماره ۲۶۸۵، انتشارات سازمان استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران. آب میوه ها - روش های آزمون.
- پوراحمد ر ۱۳۹۰، ارزیابی میزان عطر و طعم و ترکیبات آروماتیک در کفیر سویا. مجله علمی کاربردی جهان. شماره ۱۵، صفحه های ۶۷۳-۶۷۶.
- و ثوق آ ۱۳۸۸، ماندگاری بیفیدوباکتریوم لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در دوغ حاوی عصاره کاکوتی. فصلنامه علوم و صنایع غذایی دوره ۶، ص ۴.
- نجفیان م، کریمی ه و زند ن، ۱۳۹۴، اثرات ضد میکروبی اسانس نعناع و شویید روی مخمر کلایورومایسس در دوغ ایرانی، مجله پژوهش های زیست شناسی، ۲، ۶۹-۷۴.

America Food Association Standard and Islamic Nutrition, 2012. some general guidelines.

Berger K, Ajani U and Kase C, 1999. Light-to-moderate alcohol consumption and risk of stroke among U. S. male physicians, N Engl J Med, Vol. 341 No. 21. p. 57-64.

- Bovijn L, Pirotte J and Berger A, 1958. GAS chromatography (Amsterdam symposium). London J Science 310-320.
- Brody SS and Chaney JE, 1966. Flame photometric detector. the application of a specific detector for phosphorus and for sulfur compounds-sensitive to subnanogram quantities, J. Gas Chromatogr, Vol. 4. p. 42-46.
- Cantox Health Sciences International, 2003. Toxicity and risk assessment of acetaldehyde exposure from cosmetic products.
- Codex Stand 206, 1999. General Standard for fermented milks.
- Guzel-Seydim ZB, 2000. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. J Chemistry Food 103: 1449-1456.
- Huacui Xi, 2013. Fermentation conditions of walnut milk beverage in co-cultured with kefir grains. Science, 50: 349-352.
- Irena B, Gracin L, Jambrak A and Bozanic R, 2017. Comparison of chemical, rheological and sensory properties of kefir produced by kefir grains and commercial kefir starter. Mliekarstvo. 67(3), 169-176.
- Kolb B and Leslie E, 2006. Static headspace chromatography. Science, 69-75.
- Magalhaes A and Gomes J, 2011. Fut2-null mice display an altered glycosylation profile and impaired BabA-mediated Helicobacter pylori adhesion to gastric mucosa. J Pumed. 19: 1525-1536.
- Ranganina S, 1986. Hand book of analysis and quality control for fruit and vegetable products, second ed.
- Sergio J and Perez O, 2010. Determination of aldehydes as pentafluorobenzyl derivatives in grape pomace Distillates by HS-SPME GC/MS. J Agric Food Chem. 24: 976-985.
- Sandra, P. (1986). Sample introduction in capillary gas chromatography, Alfred Huthig Heidelberg, Vol; 2, p. 213-226.
- Svkvlynska, F., and George, M. (2008). Systems Biology and Mode of Action Based Risk Assessment. J Agric Food Chem, 319, 906-907.
- Tian, J. (2010). Application of static headspace gas chromatography for determination of acetaldehyde in beer. J Agric Food Chem, 23, 475-479.
- Viley, D.J. (1974). Gas chromatographic detectors. New York J Pergamon, 14, 27-38.
- Yilmaz, L., (۲۰۰۶). The Sensory Characteristics of Berry-Flavoured Kefir. Czech J Food Sc, 24, 26-32.
- Zhang, M., Pan, Q., and Yan, G. (2010). Exploratory analysis of the volatile profile of beers by HS-SPME-GC. J Agric Food Chem, 10, 83-90.
- Zhu, J.Y., and Chai, X.S. (2005). Current Analytical Chemistry Some Recent Developments in Headspace Gas Chromatography Science, 7, 89-96.

*Journal of Food Researches/vol.30 No.4/ 2021/pp 39-51*  
<https://foodresearch.tabrizu.ac.ir>  
DOI: 10.22034/fr.2021.27009.1569

## **Studying about chemical Properties and the rate of ethanol in kefir beverage with traditional flavourings through durability period**

**A Pouladvand<sup>1\*</sup>, B Akbari<sup>2</sup> and M Salehi far<sup>3</sup>**

Received: April 29, 2018

Accepted: November 17, 2018

<sup>1</sup>MSc Graduated, Department of Food Science and Technology Faculty of Agriculture, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Associate Laboratory Research Center Food and Drug Administration, FDA, Ministry Education, Tehran, Iran

<sup>3</sup> Assistant Professor, Faculty of Agriculture, Shahr-e-Qods Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: a.poulad2006@gmail.com

**Introduction:** Now a Days, along with technology improvement and Increasing need to the kefir products which has much healthful effects and also considering to importance and varieties of herbal distillates and their compatibility and then its social necessities for being healthy people, this stimulant has led manufacturers and researches of food fields to use and promote the natural distillates through decreasing ethanol production through food stuff shelf life. Among food additives, flavouring the most importation position, many food manufacturers have considered to using natural flavouring in food stuffs due to being attractive, improving marketability, stimulating consumers, appetite, encouraging customer to buy and also creating perfume and smell, but these flavours can be effective in fermented beverages and ethanol is one of the harmful material for human body. Its effects have been considered by researchers. This behavior material has been used increasingly in west countries but in our country has been decreased because of strong religious behaves. One of the most important role of the bacteria and yeast through kefir beverages production, is its alcoholic fermentation. Since ethanol is produced by yeasts existed in kefir, and herbal distillates are added to yogurt beverage, as flavourings, then doing this research is very important and necessary. The goal of doing this research is to evaluate herbal distillates effects on chemical characteristics of kefir beverages and also on the level of ethanol and caused suitable and tasty flavour and also has positive influence on scent and sensitive features. The importance of kefir beverage on consumer acceptance is obvious completely. In a study they consider to the influence of distillates and flavour combination in kefir beverages prepared from soy milk. The result of this study showed that sterile soy contains, and 2, 3, 4 kefir seeds Sakarouz after being incubated in 22 to 25 centigrade temperature and being preserved two weeks in 4 °C. Flavour forming compounds (includes acetaldehyde, de steel, acetoin and ethanol) has been a declining trend (poor ahmad 2011). Bakhshandeh and et., al (1391) examined the taste and aroma compounds in kefir. The results of the study showed that the level of acetaldehyde, di steel, acetoin and ethanol has raised through temperature rising and this process has been decreasing one along with cold storage from the first day for two weeks (up to 14<sup>th</sup> days) and the level of pH, Acidity has decreased and increased in all samples, respectively. Gozal has studied some of organic acids and volatiles flavouring agents in kefir beverages during fermentation period. Ethanol production began 5 hours after incubation, and production of acetaldehyde and acetoin increased during the fermentation period. (Gozal 2000). Hakoi (2013) have studied an examination of fermentation conditions of walnut milk drink incubated with kefir grains. The result of this study showed that fermentation period and temperate rate and also sucrose concentration has remarkable effect on the

Fermentation of walnut milk. Adding distillates to the environment of kefir drinks can increase ethanol levels beyond standard levels. doing this research along with answering to research questions can facilitate properly using the right amount of each distillates to kefir drink. Then through achieving results of this research while taking advantage of the desirable and valuable effects of such distillates, its adverse effects on the health of the consumer can be prevented.

**Materials and methods:** In this research 4 kinds of distillates (mint, pennyroyal, dill and pussy) in 4 densities (0.5, 0.2, 0.1 and 0.05 volumetric percentage) has been added to the kefir beverage and has been mixed by a mixer through 2 minutes. Then their caps Has been pressed and conserved in 25 Centigrade temperature, in four time period (7, 10, 14 and 21 day) the flavoured samples have been sent to chromatography lab laboratory to analyze and identify ethanol. The flavoured samples was put in a vial tray and automatically was put in the upper space system oven. The robotic system of the device is in a shape that carbonated micro syringe was put on sample container then passed carefully through aluminum cap in a way that the carbonated syringe needle tip has been placed in upper space of sample solution and maintenance from one to two minutes, after taking sample, moved to inject toward Gas chromatography device. In this research the chromatography A Shimadzu 17 equipped with a flame on detector was analyzed and capillary column, Cp-5 CB in length 60 meter and 0.32 inner diameter and 0.25 static phase thickness and N<sub>2</sub> carrier gas and 15 Milliliter in a minute flow velocity and by 175 Centigrade of detector temperature has been used for separating. The kefir beverage pH level was measured and the level of acidity was measured by titration method through titrating 500 milliliter sample by sodium hydroxide 0.1 Normal.

**Results and discussion:** Through this research we found that the keeping time and the concentrations of distillates has increased the level of ethanol significantly. About Ethanol level, we found that time, concentration and the kind of distillates has significant effect on Ethanol level ( $p < 0.05$ ). Through studying mutual effects of the time and concentration and also the kind of distillates concentration and time, we found that time and concentration don't have significant effects on ethanol level ( $p < 0.05$ ). This research showed that the main effects of time, concentration and the kind of distillates on pH level is significant ( $p < 0.05$ ). we found through mutual effects that the mutual effects of the kind of distillates and the time, the kind of distillates and concentration and the mutual effect of the time and concentration and the effects of distillates kind concentration and the time, has had significant effect of Acidity level in this research. The main effect of concentration on pH level is significant. Through studying the result, we found that none of main effect of the time, the kind of distillates, mutual effects of the time and concentration, the kind of distillates and the concentration and the time on pH level are not significant ( $p < 0.05$ ). And the most amount of the Ethanol through keeping time has allocated to mint distillates.

**Conclusion:** In spite of the significant effect ( $p < 0.05$ ) the keeping time, the distillate, concentrations, Ethanol level has been observed in the standard level, eventually the approach of using natural additives in place of synthesized additives has improved healthy levels of society and is correspondent with Iranian taste.

**Keywords:** Ethanol, Herbal distillates, Gas chromatography, Kefir beverages