مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی فراسودمند سین بیوتیک برپایهٔ جوانهٔ ترکیبی چاودار و ماش

پریسا شمسایی[۱]، ابراهیم حسینی [۱*]، غلام حسن اسدی[۱] ، انوشه شریفان[۱]

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰ /۱۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰

کلمات کلیدی:

ماش،

پری بیوتیک،

پروبیوتیک، چاودار،

آنتی اکسیدان.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.31

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.4.7

* مسئول مکاتبات:

ebhoseini@srbiau.ac.ir

چکیده

به دلیل محدودیت های پروبیوتیک های لبنی، تقاضای فزاینده ای برای مواد غذایی پروبیوتیک غیرلبنی وجود دارد. در این مطالعه، نوشیدنی سینبیوتیک از مخلوط ماش و جوانه چاودار تلقیح شده با *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* به میزان CFU.ml-1 108×3/1 تهیه شد. در این راستا، تأثیر پری بیوتیکهای افزوده شده (اینولین و اولیگوفروکتوز) و کشت استارتر بر روی زنده مانی پروبیوتیک در طول نگهداری در دمای دیخچال بررسی شد. علاوه بر این، اسیدیته قابل تیتراسیون، pH، محتوای فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی و ویژگی های حسی در طی ۲۸ روز مورد ارزیابی قرارگرفت. محصول به دست آمده زنده ماندنی خوبی را برای *L. casei* با مقدار CFU.ml-1 107 و *L. plantarum* با مقدار CFU.ml-1 106 پس از ٤ هفته نگهداری در شرایط یخچال نشان داد و هیچ گونه تغییری در کیفیت آن مشاهده نشد. پریبیوتیکهای اضافه شده به نوشیدنی منجر به کاهش قابل توجهی در محتوای فنلی شد ($p<0.05$)، و این احتمالاً به دلیل تعامل بین فیبرهای غذایی و ترکیبات فنلی بوده است. الیگوفروکتوز و اینولین امتیازات حسی را بهبود بخشیدند. تیمار حاوی هر دو پروبیوتیک و پری‌بیویک ها بالاترین امتیازات حسی را در طول مدت نگهداری نشان دادند ($p <0.05$). این نوشیدنی میتواند جایگزین خوبی برای نوشیدنیهای حاوی لبنیات و مواد آلرژی زا به لاکتوز و پروتئین باشد.

۱- مقدمه

مصرف موادغذایی رقیق‌شده و انواع مختلف مواد غذایی تخمیرشده توسط انسان‌ها در کل تاریخ وجود داشته است وجزئی از تمدن بشری می‌باشد. امروزه فرهنگ مصرف غذایی جوامع تغییر پیدا کرده و در پی آن نیاز به تولید فرآورده‌های متنوع و نوین بیشتر شده است. علاوه بر این در بسیاری از جوامع، نقش غذا در سلامت و تغذیه‌ی انسان از اهمیت بسیاری برخوردار است. به‌طوریکه نقش اولیه‌ی غذا بهعنوان منبع انرژی و رشد به نقش بیولوژیک اجزای آن بر سلامت انسان تغییر یافته و بازار تولید و مصرف مواد غذایی به سویفرآورده‌های غذایی فراسودمند رهنمون شده است. غذاهای فراسودمند یا عملگرا[1] در واقع غذاها و نوشیدنی‌هایی هستند که علاوه بر دارا بودن ارزش غذایی، دارای ویژگی سلامت بخش برای مصرف‌کننده هستندو فراتر از ارزش تغذیه‌ای، دارای ارزش دارویی بوده و درکاهش خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن تاثیرگذار هستند[۱]. غذاهای فراسودمند مجموعه متنوعی از مکمل‌های غذایی، غذاهای اختصاصی برای کودکان، غذاهای غنی‌شده با ویتامین‌ها و مواد معدنی، مواد غذایی حاوی آنتی‌اکسیدان، فیبر، پروتئین و سویا را شامل می‌شود.پروبیوتیک‌ها[2]، پری‌بیوتیک‌ها[3] و سین‌بیوتیک‌ها[4] بیشترین اهمیت را در بخش غذاهای فراسودمند دارند و می‌توانند باعث بهبود عملکرد دستگاه گوارش شوند [۲]. سین‌بیوتیک‌ها نوعی مکمل تغذیه‌ای حاوی ترکیبی از باکتری‌های پروبیوتیک و اجزاء غذایی پری‌بیوتیک هستند وزنده‌مانی پروبیوتیک را از طریق تحریک رشد در روده افزایش می‌دهند و موجب تعامل بهتر میکروب‌ها با یکدیگر می‌شوند[۳]. نتایج مطالعات نشان داده است که پس از مصرف پروبیوتیک یا سین‌بیوتیک‌ها، افزایش سطح و تعادل لاکتوباسیل و بیفیدوباکتریوم و میکروب بیوتین روده، پیشگیری از انتقال باکتری و کاهش موارد عفونت‌های بیمارستانی و کاهش سطح قندخون بالا مشاهده شده است. استفاده از غذاهای سین‌بیوتیک با فواید اضافه‌تری که علاوه بر مواد معدنی طبیعی و ویتامین‌ها به ماده‌ی غذایی می‌دهد، انگیزه خوبی برای مصرف این دسته از محصولات ایجاد می‌کند. امروزه گرایش به استفاده از ترکیبات سین‌بیوتیک در فرآورده‌های غیرلبنی، همچون آبمیوه‌ها و سبزی‌ها و سایر نوشیدنی‌های غیرلبنی به ویژه نوشیدنی‌های بر پایه غلات، توسط محققان و تولیدکنندگان، در سراسر جهان به طور چشمگیری رو به افزایش است. دانه‌ی چاودار*Secale cereale* یکی از مقاوم‌ترین غلات در برابر سرما و سازگار با شرایط آب و هوایی نامساعد، است. این دانه در مقایسه با گندم نسبتاً کشیده، قسمت فوقانی آن کمی پهن‌تر و انتهای آن قدری تیزتراست.چاودار نسبت به گندم پروتئین کمتریداشته و مقدار املاح آناز گندم بیشتر است[٤]. چاودار منبع فیبر، منیزیم، اسید فولیک، تیامین و نیاسین است و فیبر آن کاهش وزن را تسهیل می‌کند. این ماده با اتصال به سموم، به دفع آن‌ها از طریق دستگاه گوارش کمک کرده و با کاهش آسیب به سلول‌های روده، از ایجاد سرطان روده بزرگ جلوگیری می‌نماید. منیزیم موجود در آن فشار خون را کنترل می‌کند و برای سلامت قلب مفید است.یکی از بهترین منابع پروتئین گیاهی، ماش *Vigna radiata* می‌باشد. پروتئین‌های گلوبولین و آلبومین حدود ۸۵ درصد از مجموع اسیدآمینه‌های موجود در ماش را تشکیل می‌دهند. ماش شامل ویتامین‌ها و مواد معدنی است که برای حفظ سلامت بدن ضروری هستند. فولات موجود در این دانه نقش مهمی در سنتز ماده ژنتیکی، تعادل هورمونی، عملکردهای شناسایی بدن و تولید مثل دارد. همچنین منیزیم موجود در آن به ترمیم بافت‌های عضلانی و سلامت دستگاه گوارش کمک می‌کند. ماش به شکل جوانه، خواص دارویی و مفید بیشتری از دانه‌های معمولی دارد. جوانهٔ ماش دارای کالری کمتر و اسید آمینه‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان بیشتری است[۵]. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که ماش به فعالیت‌های بیولوژیکی از جمله آنتی اکسیدان، ضدمیکروبی، ضدالتهاب و اثرات ضد فشار خون و تومور کمک فراوان می‌کند. ماش به دلیل داشتن فیبر بالا، می‌تواند به بهبود فرآیند هضم کمک کند. ارزیابی نوشیدنی‌های سین‌بیوتیک گندم بر پایه شیر گندم تقویت شده با توت‌فرنگی، انبه، شکلات و تخمیر شده با پروبیوتیک‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس، بیفیدوباکتر مشاهده شد. این نوشیدنی

1. Functional food
2. Probiotics
3. Prebiotics
4. Synbiotics

نیز از خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، میکروبیولوژیکی و حسی خاصی برخوردار است[۵]. اغلب مواد غذایی تخمیری در جهان بر پایه لبنیات بوده و تلاش‌های بسیار کمی در راستای توسعه و تولید غذاهای پروبیوتیک با سایر سوبستراها، نظیر غلات انجام شده است. موفقیت نوشیدنی‌های لبنی پروبیوتیک اغلب به دلیل چربی زیاد، کلسترول بالا و نگرانی ناشی از آلودگی یا زنده‌مانی کم سویه‌ها در حین ذخیره‌سازی محدود می‌شود. همچنین به دلیل گرایش مصرف‌کننده به طعم‌های متفاوت و جدید، حساسیت برخی افراد به محصولات لبنی و همچنین افزایش رژیم‌های گیاه‌خواری بین مصرف‌کننده‌ها، تقاضای مصرف فرآورده‌های پروبیوتیکی گیاهی روز به روز افزایش می‌یابد [۲]. استفاده از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک برای تخمیر نوشیدنی‌های بر پایه غلات می‌تواند باعث بهبود ارزش غذایی و خواص حسی این نوشیدنی‌ها شود. باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل حساسیت به شرایط سخت و دشوار موجود در محصولات غذایی و همچنین شرایط نامساعد دستگاه گوارش قابلیت زنده‌مانی کمی دارند که از مهم‌ترین چالش‌های موجود در زمینه تولید و فرآوری محصولات پروبیوتیکی به حساب می‌آید.در این راستا استفاده از مواد پری‌بیوتیک که تحریک‌کننده رشد پروبیوتیک‌ها در روده هستند و می‌تواند به زنده مانی بهتر آن‌ها در طی نگهداری محصول کمک کند، در تولید غذاهای پروبیوتیکی ضروری به نظر می‌رسند و برای تولید انبوه و اقتصادی محصولات پروبیوتیکی بسیار مناسب می‌باشند. ازجمله این ترکیبات می‌توان به اینولین و الیگوفروکتوز اشاره کرد[۳].بسیاری از محصولات تجاری حاوی دانه کامل غلات منبعی ازمواد مغذی از جمله آنتی‌اکسیدان، ویتامین‌ها، مواد معدنی وفیبر است که بسیاری از این ترکیبات تحت تاثیر فرآیند جوانه‌زنی قرار می‌گیرند. بنابراین جوانه‌ها بستر مناسبی جهت رشد پروبیوتیک‌ها می‌باشند و تخمیر سبب بهبود خواص محافظتی، غذایی وسلامت بخشی خواهد شد.ماش، چاودار، شبدر، یونجه، ذرت، برنج، گندم، جو، ذرت خوشه‌ای،جو دوسر و ارزن از جمله غلات‌هایی می‌باشند که از لحاظ اقتصادی در جهان مهم بشمار می‌آیند[٤]. غلات برخلاف فرآورده‌های لبنی، فاقد لاکتوز، ترکیبات حساسیت‌زا و کلسترول حیوانی بوده، همچنین در مقایسه با شیر دارای ویتامین‌های ضروری و فیبر رژیمی است. دلیل استفاده از غلات، افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها و دلیل احیاکننده بودن قند و ترکیبات آناست و رشد پروبیوتیک‌ها را به خوبی تشدید می‌کند[۳]. اگرچه در مطالعات قبلی، کارهای مختلفی انجام شده است، اما استفاده از جوانه چاودار و ماش به عنوان پایه‌ای جدید وارزان برای نوشیدنی سین‌بیوتیک با استفاده از پری‌بیوتیک‌های اینولین و الیگوفروکتوز و باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*[۱] *و کازئی*[۲] جهت تولید یک نوشیدنی فراسودمند رویکردی نو می‌باشد.با توجه به موارد گفته شده و ضرورت این پژوهش، هدف از مطالعه حاضر بررسی بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی فراسودمند سین‌بیوتیک برپایه جوانه ترکیبی ماش و چاودار می‌باشد.

۲-مواد و روش ها

۲-۱- آماده‌سازی کشت پروبیوتیکی

سویه‌های باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* (PTCC 1058) و *لاکتوباسیلوس کازئی* (PTCC 1058) با شماره دسته ی مشخص از مرکز تک ژن و محیط‌های MRS broth و MRS agar نیز از ایبرسکو تهیه شدند. جهت تهیه‌ی میزان تلقیح باکتریایی از کشت استوک، سویه‌های باکتری‌های پروبیوتیک در محیط کشت MRS brothدردمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت فعال گردیدند و مجددا کشت دوم از محیط کشت MRS brothبر روی براث دیگر به مدت ۲٤ ساعت و ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس لوله‌های استریل تهیه شده و به آن‌ها ۵ میلی‌لیتر از محیط مایع استریل اضافه شد و از کشت دوم مقادیر مختلفی به داخل کووت منتقل و با استفاده از اسپکتروفتومتری جذب نوری در طول موج ٦۰۰ نانومتر که طول موج مخصوص باکتری‌ها و منحنی رشد است، خوانده شد. سپس از این لوله‌های کووت جهت شمارش تعداد باکتری‌ها استفاده شد و در نهایت لوله‌ی کووت که دارای نیم مک فارلند، معادل $۱,۳\times۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی‌لیتر بود، جهت تهیه دوز تلقیح انتخاب شد. همچنین یک قطره از محتوای محیط کشت MRS broth در سطح محیط جامد MRS agarجهت گرفتن تک کلنی خالص کشت شد.

۲-۲- آماده‌سازی جوانه غلات (چاودار، ماش)

ماش و چاودار از بازار تهیه شدند. ۲۰۰ گرم از بذر هر یک از غلات در ۱۰۰۰میلی‌گرم از هیپوکلریت سدیم ٪۷ به مدت ۳۰ دقیقه خیسانده و سپس بذرها تا زمانیکه pH آنها خنثی گردد توسط آب مقطر شست و شو و آبکشی شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۵ ساعت در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر تحت فرآیند خیساندن قرار گرفتند و به آرامی هر نیم ساعت در آب مقطر هم‌زده شدند تا رطوبت به تمامی بخش‌ها برسد. در مرحله‌ی بعد، دانه‌های خیسانده شده پس از آبکشی تا زمان ظاهر شدن جوانه ها درون ظرف‌های مخصوص بر روی پارچه تنظیف قرار گرفته و به دستگاه ژرميناتور منتقل شدند و جهت جوانه‌زنی ۵ روز در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و هر ٢٤ ساعت نمونه‌ها بررسی شدند. برای مرحله‌ی خشک کردن، جوانه‌ها در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفتند. سپس در مرحله‌ی نقره‌ای رنگ شدن و قبل از پدیدار شدن رنگ سبز برگ جوانه، دانه‌های جوانه زده توسط آسیاب آزمایشگاهی (perten3100 ساخت کشور آلمان) آسیاب و از الک با مش ۱۰۰ عبور داده شدند و عصاره‌ی حاصل جدا گردید و مورد استفاده قرار گرفت [٤].

۲-۳- آماده‌سازی نوشیدنی سین‌بیوتیک

به منظور تهیه‌ی نوشیدنی سین‌بیوتیک، ابتدا عصاره‌ی چاودار و ماش، آب موجود در فرمولاسیون نوشیدنی با یک‌دیگر مخلوط شده و حدود ۲۰-۱۵ دقیقه هم‌زده شدند. مخلوط در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شده و پس از سرد کردن و تنظیمPH، نیم مک فارلند معادل $۱/۳\times۱۰^{۸}CFU.ml^{-1}$از باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی* (۱درصد) تحت شرایط استریل مطابق (جدول۱)به تیمارهای ۱ تا ۱۲ تلقیح شد. پس از افزودن میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک، نوشیدنی‌های تهیه شده دردمای۳۷ درجه سانتی‌گراد (دمای مناسب جهت رشد باکتری‌های لاکتیکی) به مدت یک ماه گرمخانه‌گذاری شدند. سپس در روزهای۰ (٢٤ ساعت) ١٤ و ۲۸تعداد کل باکتری‌های پروبیوتیک و خصوصیات حسی نوشیدنی سین‌بیوتیک مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اینولین و الیگو فروکتوز از مرکز آوا سلامت تهیه گردید و در غلظت‌های ۱/۵ و ۳ ٪ در فرمولاسیون نوشیدنی‌های پروبیوتیک برای بهبود قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک و جلوگیری از دو فازه شدن طی دوره نگهداری در یخچال، مورد استفاده قرار گرفتند[۵].

Table 1 Formulation of beverages

Probiotic	Treatment Label	Rye sprout (% w/v)	Mung sprouts (% w/v)	Inulin (% w/v)	Oligofructose (% w/v)
L. plantarum	PL-Control	%50	%49	%0	%0
L. plantarum	PL-IN	%50	%46	%3	%0
L. plantarum	PL-OL	%50	%46	%0	%3
L. plantarum	PL-IN-OL	%50	%46	%5.1	%5.1
L. casei	CA-Control	%50	%49	%0	%0
L. casei	CA-IN	%50	%46	%3	%0
L. casei	CA-OL	%50	%46	%0	%3
L. casei	CA-IN-OL	%50	%46	%5.1	%5.1
L. plantarum /L. casei	PL-CA-Control	%50	%49	%0	%0
L. plantarum /L. casei	PL-CA-IN	%50	%46	%3	%0
L. plantarum /L. casei	PL-CA-OL	%50	%46	%0	%3
L. plantarum /L. casei	PL-CA-IN-OL	%50	%46	%5.1	%5.1
No probiotic	Control	%50	%50	%0	%0
No probiotic	IN	%50	%47	%3	%0
No probiotic	OL	%50	%47	%0	%3
No probiotic	IN-OL	%50	%47	%5.1	%5.1

۲-٤- شمارش باکتری‌های پروبیوتیک

ارزیابی جمعیت پروبیوتیکی در مورد یک محصول سین‌بیوتیک از ضرورت‌های همیشگی محسوب می‌شود تا مشخص گردد جمعیت پروبیوتیکی کل به واسطه وجود دو نوع باکتری پروبیوتیک در طول نگهداری چه تغییری می‌کند. آیا در پایان دوره نگهداری در حد استاندارد باقی مانده است یا خیر. بدین منظور برای بررسی زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های مورد استفاده از روش شمارش اختصاصی استفاده شد[۲].

۲-۵- شمارش باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم

برای شمارش سلول‌های زنده، از روش رقت‌سازی دهگانی و روش کشت پورپلیت[5] استفاده شد. برای تهیه رقت، مقدار ۱۰ سی‌سی از نمونه تولیدی همگن شده در کیسه‌های زیپ‌دار استریل حاوی ۹۰ میلی‌لیتر تری سدیم سیترات (۲گرم در ۱۰۰گرم) استریل توزین شدند و به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه استومکر همگن گردید. توسط سمپلر ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتری مقدار ۱ میلی‌لیتر جهت تهیه‌ی رقت‌های ۱۰تایی متوالی در لوله‌های شیشه‌ای محتوای ۹ میلی‌لیتر محلول استریل آب پپتونه ۰/۱ ٪ ریخته شد و سری رقت‌ها با افزایش۱ میلی‌لیتر از هر رقت به ۹میلی‌لیتر آب پپتون استریل تهیه شد. سپس از محتویات هر یک از لوله‌های تهیه‌ی رقت ۰/۱ میلی‌لیتر با سمپلر استریل برداشته و در سطح پلیت MRS agar جامد کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۷۲ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و شمارش تعداد کلنی‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم در نمونه‌های نوشیدنی پس از۱،۱٤ و ۲۸ روز پس از نگهداری در یخچال انجام شد. پلیت‌های دارای تعداد قابل شمارش از کلنی‌ها و به طور معمول پلیت‌های دارای ۳۰ الی ۳۰۰ کلنی انتخاب و کلنی‌های کروی شکل، مقعر با قطر ۱- ۱/۵ سانتی‌متر با لبه‌های صاف و واضح و یا بدون هاله در اطراف کلنی، شمارش شدند و تعداد کلنی‌های هر پلیت بعد از تعیین تعداد در هر میلی‌لیتر ثبت شد. محاسبه‌ی تعداد کلنی‌های رشد کرده روی آگار به شرح زیر انجام گرفت[۵]. رابطه (۱):

رقت فاکتور/ ۱ × تعداد کلنی = لیتر/ کلنی

۲-٦- شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی به روش پورپلیت و استاندارد صفحه‌ای بر روی محیط MRS agar انجام گرفت. ابتدا رقت‌های مناسب تهیه و بعد از کشت بر روی محیط MRS agar، محیط کشت به مدت ۷۲ساعت در ۳۷ درجه سانتی گراد گرماگذاری شد و شمارش کلنی صورتگرفت[۵].

۲-۷-خواص فیزیکوشیمیایی

۲-۷-۱- اندازه‌گیری اسیدیته

به منظور ثبات طعم محصول در طول نگهداری به طوری که محصول در روز اول که توسط مصرف کننده خریداری می‌شود و روز پنجم طعمی مشابه داشته باشد، باید تغییرات pH و اسیدیته مورد ارزیابی قرار گیرد و نمونه‌ای انتخاب گردد که کمترین میزان تغییرات را داشته باشد. برای اندازه‌گیری اسیدیته ، ابتدا دستگاه pH متر به ترتیب با محلول بافرهای استانداردpH ٤ و ۷ کالیبره شد. سپس ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر تازه جوشیده و سرد شده را در یک بشر ریخته و ۲۰ گرم از نمونه نوشیدنی به آن اضافه شد. یک عدد مگنت داخل بشر قرار داده و سپس بشر روی هم زن مغناطیسی گذاشته شد. الکترود pH متر به آرامی درون نمونه قرار گرفت. سپس با اضافه کردن محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH= ۸/۱ تیتر گردید و نتیجه بر حسب اسیدسیتریک در ۱۰۰ گرم نمونه بیان شد. اسیدیته طبق رابطه زیر محاسبه گردید[٦].

رابطه (۲):

$$\text{اسیدیته} = \frac{N \times 0.0064 \times 100}{S} \times \pi r^2$$

N: سود مصرفی بر حسب میلی‌لیتر

S: مقدار نمونه برداشت شده

۲-۷-۲-اندازه‌گیری pH

برای اندازه‌گیری pH از روش پتانسیومتری (pH متر) استفاده شد. ابتدا pH متر به ترتیب با محلول بافرهای استانداردpH ٤ و pH۷ کالیبره شد. سپس نمونه در یک بشر خشک وتمیز ریخته شد و الکترود pH متر به طول کامل در داخل نمونه قرار گرفت. دمای pH متر را با توجه به دمای نمونه تنظیم کردهو پس از ثابت شدن عدد pH متر، pH نمونه قرائت گردید [۷].

5. SPC

۲-۸-ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH[6] (دی فنیل پیکریل هیدرازیل)

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH تیمارها با استفاده از روش سانچز و همکاران توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در ۵۱۷ نانومتر تعیین شد. DPPH رادیکال چربی دوستی است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانی با دادن Hبه رادیکال‌های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول‌هایDPPH می‌گردند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. در نتیجه جذب کاهش می‌یابد.جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدارDPPH باقیمانده است. برای این منظور، ۲۳/۵ میلی‌گرم DPPH در۱۰۰ میلی‌لیتر متانول حل شد، سپس با متانول به نسبت۱ به ۱۰ رقیق گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره‌ها با غلظت‌های مختلف با ۳/۹ میلی‌لیتر از محلول متانولی ۰/۱ میلی‌مولار DPPH برای رسیدن به حجم ٤ میلی‌لیتر مخلوط و به مدت ۳۰ ثانیه با ورتکس (Stuart مدل SA7) هم زده شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه به منظور انجام واکنش در دمای اتاق در مکان تاریک قرار گرفت، سپس جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر در برابر بلانک حاوی متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد[۷].

رابطه (۳):

$$\%IP = (A_{control} - A_{sample} / A_{control}) \times 100$$

IPدرصد مهار رادیکال‌های آزاد. $A_{control}$ جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و A_{sample} جذب نمونه (حاوی حجم‌های مختلف عصاره‌ی گیاهی، متانول و محلول DPPH) است.

۲-۹- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی

تعیین کمی فنول کل با استفاده از روش طیف‌سنجی براساس واکنش با معرف فولین- سیوکالتیو[4] انجام شد. روش فولین- سیوکالتیو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی است. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷٦۰ نانومتر نشان می‌دهد. در این روش، ۰/۵ میلی‌لیتر نمونه نوشیدنی با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو ۰/۲ نرمال درون لوله‌ی آزمایش مخلوط شدند. پس از گذشت ۵ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول ۷۵ گرم بر لیتر سدیم کربنات به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. سپس میزان جذب رنگ نمونه‌ها بعد ۲ ساعت، توسط اسپکتروفتومتر در طول موج۷٦۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان کل ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی استاندارد اسیدگالیک (R^2=0.9912) به دست آمد. برای رسم نمودار اسیدگالیک، از غلظت‌های۴۰۰،۳۵۰،۳۰۰، ۲۵۰،۲۰۰،۱۵۰،۱۰۰،۵۰،۲۵ میلی‌گرم بر لیتر از این ماده استفاده شد و در نهایت نتایج به صورت میلی‌گرم اسیدگالیک به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه گزارش گردید[۸].

۲-۱۰- ارزیابی حسی نمونه‌ها

اثرات حسی ناشی از افزودن نسبت‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس کازئی به نمونه‌ی نوشیدنی با استفاده از آزمایش قابلیت پذیرش حسی مورد ارزیابی قرار گرفت. هر نمونه نوشیدنی دارای نسبت‌های مشخصی از هر دو باکتری بود که در ظروف شیشه‌ای ۱۰ میلی‌لیتری قرار داده شد و جهت جلوگیری از مخدوش شدن نتایج، ظروف به طور تصادفی کدگذاری شدند. ارزیابی حسی نمونه‌ها بعداز ۱ شب ذخیره‌سازی در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد توسط ۱۲ داور چشایی با استفاده از آزمون هدونیک[5]پنج امتیازی، انجام شد. از هر یک از اعضای ارزیاب ها خواسته شد که ارزیابی رنگ، طعم، بو، احساس دهانی و پذیرش کلی نوشیدنی سین‌بیوتیک را برای هر نمونه با تعدادی عبارات متناسب (۱) خیلی بد، (۲) بد، (۳) متوسط، (٤) خوب و (۵) خیلی خوب ارائه دهند[۸].

۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایش‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح تصادفی در سه تکرار انجام شد. یافتن تفاوت معنی‌دار میان میانگین داده‌های حاصل، با استفاده از آزمون نتایج آنالیز واریانس (ANOVA)، تست چند دامنه‌ای دانکن[7] با استفاده از نرم

6. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

7. Duncan

افزار SPSS22 صورت گرفت. در تمامی آنالیزهای آماری سطح معنی‌داری (p<۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱- اسیدیته و pH

طبق جدول ۲ با مقایسه میانگین، بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی دار مشاهده شد ($p\leq 0.05$). با افزایش میزان اینولین و الیگوفروکتوز در نوشیدنی میزان اسیدیته به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد و pH به صورت معنی داری کاهش پیدا کرد ($p \leq 0.05$). همچنین با گذشت زمان اسیدیته به صورت معناداری افزایش و pH به صورت معنی داری کاهش یافت ($p \leq 0.05$). پایین ترین میزان اسیدیته و بالاترین میزان pH مربوط به تیمارهای فاقد اینولین و الیگوفروکتوز (تیمارهای شاهد) و بالاترین میزان اسیدیته و پایین ترین میزان pH در نوشیدنی مربوط بهتیمار۱۱ (٤٦٪ جوانه ماش + ۰٪ اینولین +۳٪ الیگوفروکتوز+ ۱٪ لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم) بود. جدول ۲ میزان اسیدیته و pH در نوشیدنی های مختلف بر پایه پودر جوانه ماش و جوانه چاودار حاوی اینولین و الیگوفروکتوز را نشان می دهد. به طور کلی می توان گفت با افزودن اینولین و الیگوفروکتوز در نوشیدنی ها، میزان اسیدیته و pH در نوشیدنی ها تغییر پیدا کرده است.

Table 2 pH and titratable acidity in samples during refrigeration

Treatment	pH			acidity (%)		
	1st day	14th day	28th day	1st day	14th day	28th day
PL-Control	4/5±0/^{aA}016	4/2±0/^{abA}004	3/71±0/^{bcC}004	0/01±0/$^{b\ C}$2	0/07±0/$^{f\ B}$01	0/1±0/$^{g\ A}$06
PL-IN	4/1±0/^{cbA}002	3/91±0/^{cbAB}005	3/58±0/^{bcC}005	0/023±0/$^{a\ C}$01	0/13±0/$^{e\ B}$005	0/48±0/$^{f\ A}$04
PL-OL	4/13±0/^{bA}005	3/51±0/^{cdB}004	2/9±0/^{dC}005	0/024±0/$^{a\ C}$01	0/85±0/$^{c\ B}$015	1/22±0/$^{c\ A}$025
PL-IN-OL	4/12±0/^{bA}001	3/68±0/^{cdB}005	3/23±0/^{cdC}001	0/02±0/$^{a\ C}$015	0/45±0/$^{d\ B}$055	0/92±0/$^{d\ A}$051
CA-Control	4/51±0/^{aA}004	4/2±0/^{abA}05	3/71±0/^{bcC}004	0/01±0/$^{b\ C}$032	0/08±0/$^{e\ B}$025	0/12±0/$^{g\ A}$025
CA-IN	4/12±0/^{bA}002	3/91±0/^{bcA}002	2/72±0/^{dC}001	0/024±0/$^{a\ C}$02	0/15±0/$^{g\ B}$032	0/43±0/$^{e\ A}$032
CA-OL	4/14±0/^{bA}002	3/51±0/^{dB}01	2/9±0/^{dC}004	0/025±0/$^{a\ C}$04	0/92±0/$^{b\ B}$005	1/25±0/$^{c\ A}$005
CA-IN-OL	4/12±0/^{bA}0032	3/68±0/^{cdB}002	3/23±0/^{cdC}003	0/025±0/$^{a\ C}$015	0/43±0/$^{d\ B}$02	1±0/$^{cd\ A}$02
PL-CA-Control	4/49±0/^{aA}0025	4±0/^{abB}001	3/54±0/^{bcC}003	0/012±0/$^{b\ C}$01	0/15±0/$^{l\ B}$015	0/87±0/$^{d\ A}$015
PL-CA-IN	4/15±0/^{bA}004	3/62±0/^{cdB}004	3/31±0/^{cdC}008	0/021±0/$^{a\ C}$005	0/45±0/$^{d\ B}$64	1/39±0/$^{bc\ A}$064
PL-CA-OL	4/11±0/^{bA}002	3/23±0/^{deB}002	2/56±0/^{eC}003	0/023±0/$^{a\ C}$01	1/32±0/$^{a\ B}$01	2/2±0/$^{a\ A}$01
PL-CA-IN-OL	4/13±0/^{cbA}004	3/5±0/^{dB}004	3±0/^{cdB}003	0/026±0/$^{a\ C}$15	0/85±0/$^{c\ B}$005	1/89±0/$^{b\ A}$005
Control	4/31±0/^{cbA}007	4/4±0/^{aA}006	4/31±0/^{aA}003	0/011±0/$^{b\ C}$02	0/013±0/$^{g\ B}$01	0/014±0/$^{h\ A}$01
IN	4±0/^{bA}001	4/1±0/^{abA}005	4±0/^{abA}001	0/02±0/$^{a\ C}$032	0/025±0/$^{g\ B}$025	0/024±0/$^{h\ A}$025
OL	4/11±0/^{cbA}004	4/13±0/^{abA}05	4/11±0/^{abA}004	0/024±0/$^{a\ C}$02	0/031±0/$^{g\ B}$032	0/03±0/$^{h\ A}$032
IN-OL	4±0/^{dA}002	4/12±0/^{abA}002	4±0/^{abA}001	0/022±0/$^{a\ C}$04	0/02±0/$^{g\ B}$005	0/021±0/$^{h\ A}$005

Numbers are expressed as means±standard deviation. Different lowercase letters indicate significance in the column ($p<0.05$). Different capital letters indicate significance in the row ($p<0.05$).

با توجه به نتایج به دست آمده در طی تخمیر، در نتیجه فعالیت سلولهای میکروبی، اسیدیته افزایش یافته است. باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم کازئی، اسید لاکتیک و مجموعه ای ازاسیدهای آلی مانند استیکاسید تولید می کند. کاهش pHو افزایش اسیدیته، با تولید اسیدهای آلی مرتبط است. طبق مطالعات گزارش شده است که pH در حدود ٤/٥-۳/٥ در فرمولاسیون غذا می تواند به کاهشpH دستگاه گوارش کمک می کند و در نتیجه سبب افزایش ثبات پروبیوتیک ها می گردد علاوه بر این از رشد میکروارگانیسم های بیماری زا جلوگیری می کند[۹]. با توجه به نتایج بدست آمده با تغییر در میزان جوانه های پایه مانند ماش و چاودار میزان اسیدیته افزایش می یابد که به دلیل امکان تخمیر بیشتر و تولید بالاتر اسید لاکتیک می باشد[۱۰].

در اثر افـزودن سـویه هـای مختلـف پروبیوتیک، از pH نمونه ها کاسته شده و اسیدیته نمونه ها افزایش یافته است که میتواند به

دلیل تخمیر قندها در نوشیدنی فراسودمند حاوی اینولین و الیگوفروکتوز باشد. تفاوت در مقدار اسید لاکتیک تولید شده توسط باکتریهای لاکتیک به تفاوت آنها در توانایی تخمیر قند بستگی دارد که این توانایی تخمیر، نهتنها در گونه های مختلف، بلکه در سویه های مختلف یکگونه نیز با یکدیگر متفاوت است. ثابت شده است که باکتری های اسید لاکتیک میتواند در دماهای یخچالی و در pH های پایین محصولات لبنی تخمیری، با سرعت بسیار بیشتری از سایر گونه ها باعث تخمیر قندها و تولید اسیدهای آلی در محیط شود[۱۰].

علت اصلی کاهش pH و افزایش اسیدیته طی دوره ماندگاری، تخمیر مداوم لاکتوز به وسیله باکتری های اسیدلاکتیک می باشد. همچنین افزایش اسیدیته ممکن است در اثر تجزیه اسیدهای آلی و تولید اسیدهای چرب کوتاه زنجیر باشد[۱۹]. در بررسی Shahو همکاران (۲۰۰۱) تاثیر پری بیوتیکهای لاکتولوز، اینولین و اولیگوفروکتوز درماست پروبیوتیک به نتایج مشابهی در خصوص اسیدیته و pH اشاره کردند[۱۱]. به طور مشابه، Irigoyen و همکاران (۲۰۰۲) نیز در بررسی ویژگیهای فیزیکوشیمیایی کفیر، به افزایش اسیدیته و کاهش pH طی دوره نگهداری اشاره نمودند[۱۲].

۳-۲- ترکیبات فنولیکو خاصیت آنتی اکسیدانی

تغییر در محتوای فنل کل و فعالیت آنتی اکسیدانی در نوشیدنی های تخمیر شده و شاهد که در دمای ٤ درجه به مدت ۲۸ روز ذخیره شده اند در جدول ۳ نشان داده شده است. اجزای زیست فعال در نوشیدنی های تخمیر شده پس از ٢٤ ساعت ذخیره سازی به طور قابل توجهی بیشتر بود ($p<0.05$). این می تواند به دلیل هیدرولیز ترکیبات فنلی گلیکوزیلیک و تولید ترکیبات فنلی آزاد از طریق تخمیر باشد[۱۳]. نمونه‌های نوشیدنی حاوی L. casei در مقایسه با تیمارهای حاوی ترکیبی از پروبیوتیک‌ها، محتوای فنلی کل بالاتری را نشان دادند. نوشیدنی پروبیوتیک حاوی*L. plantarum* کمترین فعالیتTPC[۸] را نشان داد ($p<۰,۵$).

اجزای فعال زیستی پس از ذخیره سازی به طور قابل توجهی کاهش یافت ($p < 0.05$)، با این حال، این کاهش برای نوشیدنی های تخمیری در مقایسه با نوشیدنی های غیر تخمیری شدیدتر بود. نتایج مشابهی نیز در طول ذخیره سازی نوشیدنی های تخمیری (لاکتوباسیلوس پلانتاروم) و غیرتخمیری به مدت ۲۸ روز مشاهده شد [١٤]. بنابراین، نتیجه فوق نشان می‌دهد که تخمیر نوشیدنی‌ها توسط LAB، جزء فعال زیستی نوشیدنی سین‌بیوتیک را حفظ می‌کند[۱۵]. علاوه بر این، نتایج نشان داد که نوشیدنی های تخمیر نشده حاوی اینولین و الیگو فروکتوز کمترینTPC را داشتند. اگرچه یک رژیم غذایی غنی از فیبر غذایی و پلی فنول ها اثرات مثبتی بر سلامت انسان دارد، اما فعالیت های زیستی آنها می تواند تحت تأثیر فعل و انفعالات مولکولی بین یکدیگر قرار گیرد[١٦]. مطالعات قبلی کاهش محتوای فنلی کل (١٦-٣٨٪) و ظرفیت آنتی اکسیدانی (٣٠-٤٨٪) عصاره رژیم غذایی میوه را با افزودن فیبر غذایی گندم گزارش کردند[۱۷].

فعالیت آنتی اکسیدانی روند مشابهی را نشان داد. محتوای فنلی کل نوشیدنی عملکردی با فعالیت آنتی اکسیدانی مطابق با جدول ۳ همبستگی مثبت داشت. کاهش در هر دو مورد در آب میوه تخمیر نشده بیشتر از آبمیوه تخمیری بود. نتیجه ارائه شده مطابق با Pereira و همکاران، ۲۰۱۲ است که تأثیر تخمیر اسید لاکتیک را بر روی آب سیب بادام هندی ارزیابی کردند [۱۸]. کاهش شدیدتر در نوشیدنی تخمیر شده می تواند به دلیل افزایش غلظت ترکیبات آنتی اکسیدانی مانند پلی فنل، فلاونوئید و بتا کاروتن در طی تخمیر توسط باکتری های اسید لاکتیک باشد[۱۹].

8. Total phenolic compounds

Table 3 Total phenolic content and percentage of DPPH measured for 28 days at 4 ° C

DPPH (%)			Total phenol (mg GAE/ 100 mL)			Treatment
28th day	14th day	1st day	28th day	14th day	1st day	
34/12±0/^{aA}12	32/1±0/^{aA}52	30±0/^{bA}52	27/12±0/^{aA}81	25/4±0/^{aA}66	23/98±0/^{bA}66	PL-Control
30/8±0/^{cdA}77	28/35±0/^{deA}84	26±0/^{dA}58	23±0/^{cdA}52	21/54±0/^{deA}57	19/51±0/^{dA}42	PL-IN
31/78±0/^{deA}71	28/06±0/^{efA}28	25/58±0/^{dA}27	22±0/^{deA}51	19/32±0/^{efA}57	19/9±0/^{dA}52	PL-OL
31±0/^{deA}5	27/6±0/^{eA}82	25/14±0/^{dA}85	22/98±1/^{deA}35	20/12±0/^{eA}59	19/8±0/^{dA}85	PL-IN-OL
34/42±0/^{aA}83	32±0/^{aA}62	31/4±0/^{bA}59	28/1±0/^{aA}7	25/75±0/^{aA}8	23/39±0/^{bA}59	CA-Control
30/96±0/^{deA}46	28/47±0/^{deA}79	25/8±0/^{cdA}43	23/1±1/^{deA}12	21/98±0/^{deA}62	20/51±1/^{cdA}03	CA-IN
31/54±0/^{cdA}93	28/04±0/^{efA}28	26/83±0/^{dA}38	23/1±0/^{cdA}435	19/89±0/^{efA}29	19/18±0/^{dA}87	CA-OL
31/4±0/^{cdB}51	28/666±0/^{cdA}21	25/36±0/^{cdA}61	23/48±1/^{cdB}005	21/12±0/^{cdA}52	20/71±0/^{cdA}63	CA-IN-OL
34/21±0/^{aB}9	32/05±0/^{bcA}89	32/45±0/^{aA}86	27/5±0/^{aB}9	24/65±0/^{bcA}14	23±1/^{aA}38	PL-CA-Control
30/12±0/^{cB}62	27/54±0/^{cdA}52	25/84±0/^{bcA}12	24/12±0/^{cB}509	22/12±1/^{cdA}08	22/1±0/^{bcA}63	PL-CA-IN
30/72±0/^{cdC}65	28/08±0/^{efA}92	25/05±0/^{dA}51	23/65±0/^{cdC}87	19/23±0/^{efA}91	19/32±1/^{dA}15	PL-CA-OL
30/2±0/^{aB}83	28/61±0/^{deA}21	26/95±0/^{cdA}33	23/48±1/^{aB}14	21/12±1/^{deA}16	20/19±0/^{cdA}75	PL-CA-IN-OL
34/94±0/^{bB}38	32/4±0/^{aA}82	31/04±0/^{aA}81	25/77±0/^{bB}53	25/1±0/^{aA}98	25/4±1/^{aA}21	Control
31/43±0/^{cdB}78	27/1±0/^{cdA}89	25/99±0/^{bcA}85	23/1±1/^{cdB}35	22/76±0/^{cdA}59	22/32±0/^{bcA}85	IN
31/61±0/^{efB}7	28/33±0/^{deA}21	26/13±0/^{cA}42	21/22±0/^{efB}7	21/54±0/^{deA}8	21/34±0/^{cA}59	OL
31±0/^{cdB}62	28/43±0/^{cA}82	25/11±0/^{bA}43	23/2±1/^{cdB}12	23/41±0/^{cA}62	23/1±1/^{bA}03	IN-OL

Numbers are expressed as means±standard deviation. Different lowercase letters indicate significance in the column ($p < 0.05$). Different capital letters indicate significance in the row ($p < 0.05$).

ترکیبات فنـولی در نمونه های حاویپری بیوتیک ها و باکتری های پروبیوتیک در ابتدا به مدت ۲ هفته افزایش معنی داری نداشت اما تا پایان دوره ی نگهداری افزایش معنی داری نشان داد. سایر نمونه های فاقد این ۲ ترکیب تا پایان دوره نگهداری در تمامی هفته های نگهداریافزایش معناداری داشتند اما نمونه های فاقد باکتری نیز تا پایان دوره ی نگهداری تغییرات معناداری نداشتند ($p < 0.05$). Siahو همکاران (۲۰۱۱) در مطالعه اثر بستهبندی و زمان بـررویترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی نوشیدنی سنتلا آسیاتیکاو کلیمچـاک و همکـاران (۲۰۰۷) دربررسی اثر دما و زمان بر محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی دو آب پرتقال تجـاری طـی نگهداری، نیز نتایج مشابهی را اعلام کردند[۲۰].

افزایش فنول کل طی فرآیند تخمیر و درنتیجه بهبود خاصیت آنتیاکسیدانی توسط بسیاری از محققین به اثبات رسیده است و علت آن به هیدرولیز ترکیبات فنولی گلیکوزیـل و ایجاد فنـول آزاد نسـبت داده شـده اسـت. میکروارگانیسـم هـای یادشده توانایی افزایش فنول را در طی فرآیند تخمیـر دارنـد. بـا این حال، در نمونه کنترل، میزان ترکیبات فنولی در طـی زمـان تغییر قابل ملاحظهای را از خود نشان نداده است که میتواند بـه دلیل عـدم انجـام تخمیـر در آن هـا و در نتیجـه آن عـدم انجـام هیدرولیز ترکیبات فنولی باشد. در پژوهشی مشابه، محققین بیانداشتند که محتوای فنول کل آب زغال اخته، انگور و توت فرنگی بعد از تخمیر با سراتیا واکسـینی[۲۱]،افـزایش معنیداری داشته، بهطوریکه پس از تخمیر توتفرنگی به مـدت ۵روز، مقدار فنل کل از ۳۸۵ به ۷۷۱ میلیگرم اسید گالیک، به ازای هـر لیتـر رسـیده اسـت[۲۲].محققـین دیگـر نیـز میـزان ترکیبات فنولیک در نوشیدنی مالت را برابر بـا ۰/۶۲ میلـی گـرم اسید در ۱۰۰ گرم نمونه عنوان نمودهاند که بیانگر ایـن موضـوع میباشد که میزان ترکیبات فنولیک در نمونههای سـین بیوتیـک تولیدی در مطالعه حاضر افزایش داشته است [۲۳].

۳-۳- شمارش باکتری های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم

شکل ۱، زنده مانی پروبیوتیک ها را در طی نگهداری سرد به مدت ۲۸ روز نشان می دهد. نتایجنشان دهنده ی بقای خوب *L. casei*در طول ذخیره سازی با شمارش $۹,۵ * ۱۰^{۷}$ CFU. ml^{-1} بود. با این حال در روز ۲۸ ، *L. plantarum* در طول نگهداری تا $۴,۵ * ۱۰^{۷}$ CFU. ml^{-1} کاهش یافته است. این موضوع می تواند به کاهش pH محیط و تجمع اسید آلی در نتیجه رشد و تخمیر باکتری ها مربوط باشد. در این راستا، Jayamanne و Adams (۲۰۰۹) کاهش قابل توجهی در تعداد زنده مانی *Bifidobacterium lactis* در محصولات در طول نگهداری سرد گزارش کردند[۱۳]. طبق نتایج، میزان پروبیوتیک ها در نوشیدنی تخمیر شده حاوی اینولین و آب الیگو فروکتوز در پایان هفته چهارم به حدود $۱۰^{۸}$CFU.mL^{-1} رسیده است که مطابق با حد استانداردهای بین المللی ($۱۰^{۸}$) برای باکتری های پروبیوتیک زنده در هر میلی لیتر از محصول در زمان مصرف است[۲٤].

مطالعات قبلی افزایش بقای سایر سویه های باکتری لاکتوباسیلوس را به دلیل وجود کربوهیدرات در آن گزارش کردند[۲۵].

افزودن پری بیوتیک ها (اینولین و اولیگو فروکتوز) زنده ماندن *L. casei*و*L. plantarum* را به طور قابل توجهی ($P<0.05$) در نوشیدنی های سین بیوتیک افزایش داد. اینولین و الیگو فروکتوز رشد و زنده ماندن *L. casei* و *L. plantarum* را در نوشیدنی تحریک کردند که می تواند سلامت روده را ارتقا دهد. اثر تحریک کننده پری بیوتیک ها در محصول با مطالعات مشابه مطابقت داشت [۲٦]. نمونه‌های نوشیدنی حاوی کشت مخلوط سویه‌ها در مقایسه با تیمارهای تک سویه، سلول‌های زنده به‌طور قابل‌توجهی بالاتری داشتند. این می تواند به اثر همزیستی تولید باکتری های پروبیوتیک ترکیبات مورد نیاز و ویتامین های B در محیط در حضور یکدیگر مرتبط باشد [۲۷]. نوری و همکاران (۲۰۱۷) گزارش داد که عصاره جوانه چاودار فعالیت پری بیوتیکی را نشان داد و رشد و بقای باکتری های پروبیوتیک را افزایش داد [۲۸].

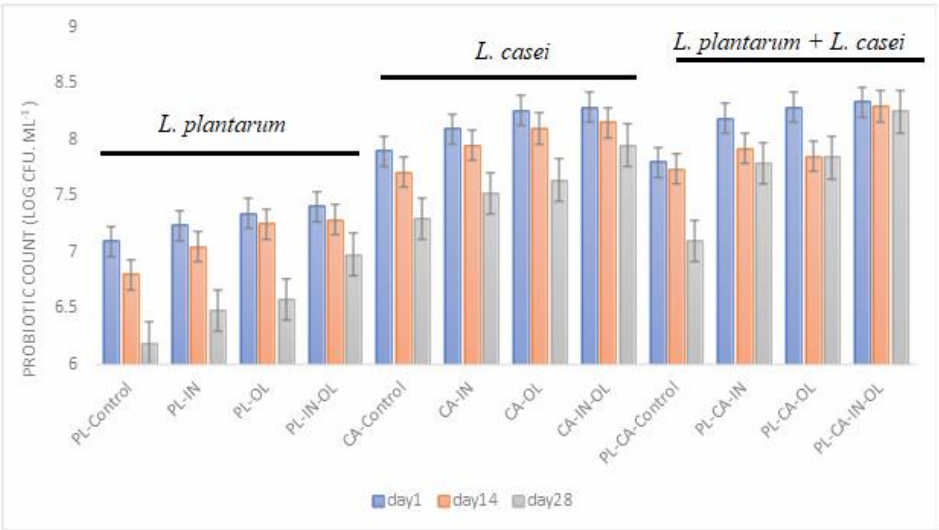

Fig 1 Survival of probiotic bacteria in beverages during storage

۳-٤- ویژگی های حسی

شکل ۲امتیازات ارزیابی حسی نمونه های نوشیدنی را در طول مدت نگهداری نشان می دهد. ارزیاب ها تغییر حسی قابل توجهیرا در نمونه های مختلف طی ۲۸ روز گزارش کردند. نمونه‌های نوشیدنی حاوی اینولین و اولیگوفروکتوز علاوه بر تلقیح با *L. casei* و *L. plantarum* امتیازهای حسی بالاتر و در نتیجه پذیرش بالاتری داشتند. با افزایش افزودن اینولین و الیگوفروکتوز در نوشیدنی امتیاز طعم به صورت معنی داری افزایش پیدا کرد ($p\leq ۰/۰۵$). همچنین با گذشت زمان امتیاز طعم به صورت معناداری کاهش یافت ($p\leq ۰/۰۵$). مطالعات قبلی اثر پرکننده‌ها را در بهتر کردن حس شنی نوشیدنی تخمیر شده با پروبیوتیک‌ها گزارش کرده‌اند[۲۹]. نمرات حسی برای بو در مقایسه با طعم کمتر بود که می تواند به دلیل بوی اسیدینمونه ها باشد. استفاده از افزودنی ها به عنوان طعم دهنده به طور قابل توجهی خواص حسی نوشیدنی ها را ارتقا می دهد.

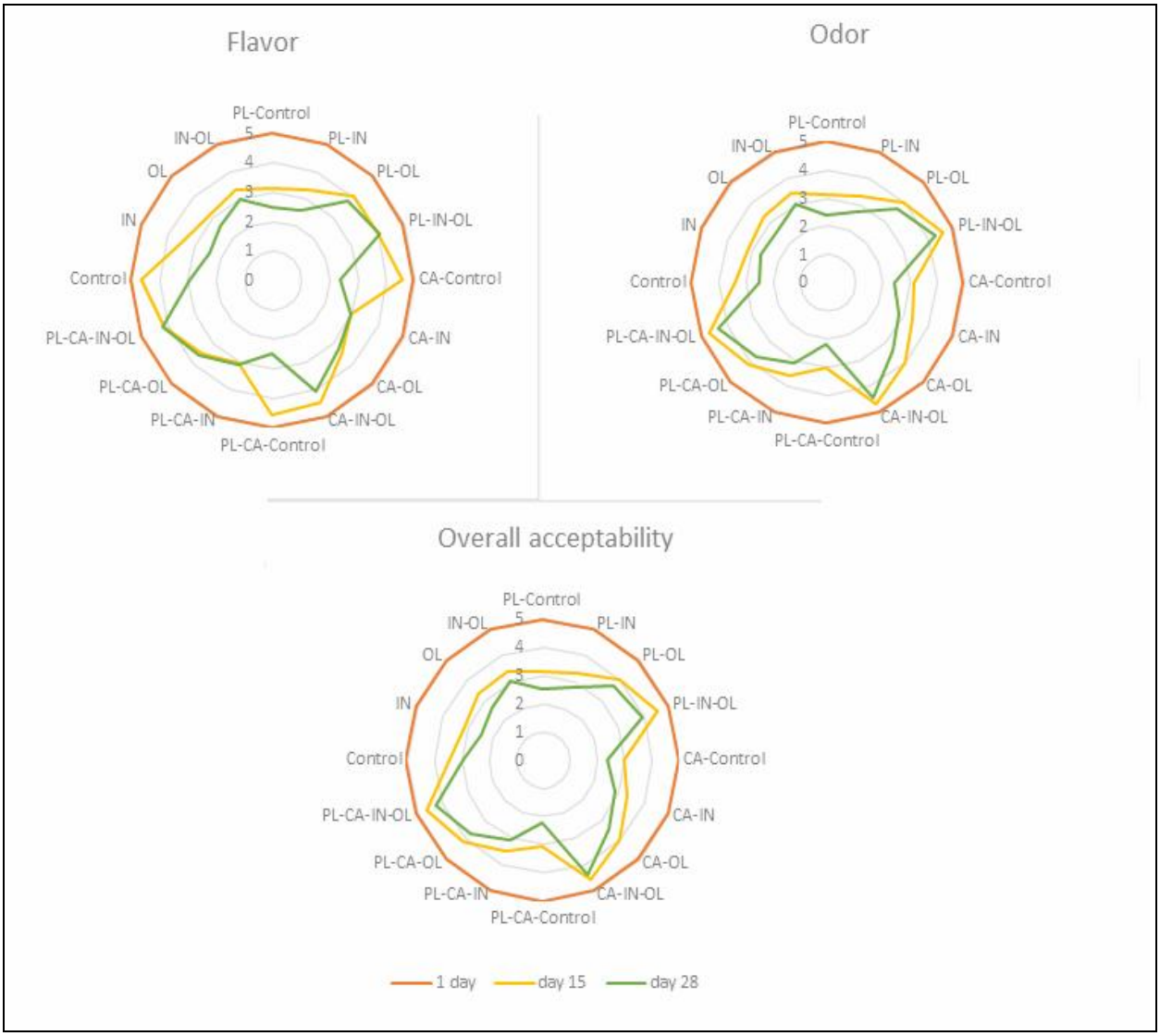

Fig 2 Average sensory test scores during storage

٤- نتیجه گیری

یک نوشیدنی سین‌بیوتیک جدید برپایه ی ماش و جوانه چاودار برای ارزیابی فواید ترکیبی پروبیوتیک‌های *L. casei* و *L. plantarum* و خاصیت پری بیوتیکی اینولین و الیگوفروکتوز علاوه بر فواید تغذیه‌ای ماش و جوانه چاودار تولید شد. *L. casei* بقای خوبی ($CFU.ml-1۰^{۷}$) در طول ذخیره‌سازی ارائه کرد و *L. plantarum* در سطوح کافی تا روز ۲۸ زنده ماند. اینولین و اولیگوفروکتوز به طور مثبت بر زنده‌مانی و خواص حسی نوشیدنی در طول ذخیره‌سازی تأثیر گذاشتند. علاوه بر این. محصول به دست آمده دارای خواص حسی قابل قبولی بود. بنابراین، نوشیدنی سین‌بیوتیک فرموله شده می‌تواند به عنوان یک محصول آماده بعنوان نوشیدنی فراسودمند استاندارد استفاده شود.

٥-منابع

[1] Setta, M.C., Matemu, A. and Mbega, E.R., 2020. Potential of probiotics from fermented cereal-based beverages in improving health of poor people in Africa. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(11), pp.3935-3946.

[2] Yeap, S.K., Beh, B.K., Ho, W.Y., Mohd Yusof, H., Mohamad, N.E., Ali, N.M., Jaganath, I.B., Alitheen, N.B., Koh, S.P. and Long, K., 2015. In vivo antioxidant and hypolipidemic effects of fermented mung bean on hypercholesterolemic mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2015*.

[3] Meyer, D., 2007. Inulin for product development of low GI products to support weight management. *Dietary fibre components and functions. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers*, pp.257-269.

[4] Mohammadi, M., Nouri, L. and Mortazavian, A.M., 2021. Development of a functional synbiotic beverage fortified with different cereal sprouts and prebiotics. Journal of food science and technology, 58(11), pp.4185-4193.

[5] Chaturvedi, S. and Chakraborty, S., 2022. Optimization of extraction process for legume-based synbiotic beverages, followed by their characterization and impact on antinutrients. International Journal of Gastronomy and Food Science, 28, p.100506.

[6] Dhewa, T., Pant, S. and Mishra, V., 2014. Development of freeze dried synbiotic formulation using a probiotic strain of Lactobacillus plantarum. *Journal of food science and technology*, *51*(1), pp.83-89.

[7] Sánchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura‐Calixto, F., 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture, 76(2), pp.270-276.

[8] Filannino, P., Bai, Y., Di Cagno, R., Gobbetti, M. and Gänzle, M.G., 2015. Metabolism of phenolic compounds by Lactobacillus spp. during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food microbiology*, *46*, pp.272-279.

[9] Garro, M.S., de Valdez, G.F., Oliver, G. and de Giori, G.S., 1998. Growth characteristics and fermentation products of Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus casei and L. fermentum in soymilk. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A*, *206*(1), pp.72-75.

[10] Hernández, T., Estrella, I., Pérez-Gordo, M., Alegría, E.G., Tenorio, C., Ruiz-Larrrea, F. and Moreno-Arribas, M.V., 2007. Contribution of malolactic fermentation by Oenococcus oeni and Lactobacillus plantarum to the changes in the nonanthocyanin polyphenolic composition of red wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(13), pp.5260-5266

[11] Shah, N., 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics.Food

Technology.55.46-53.

[12] Irigoyen, A., Arana, I., Castiella, M., Torre, P. and Ibanez, F.C., 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. Food chemistry, 90(4), pp.613-620.

[13] Jayamanne, V.S. and Adams, M.R., 2009. Modelling the effects of pH, storage temperature and redox potential (Eh) on the survival of bifidobacteria in fermented milk. *International journal of food science & technology*, *44*(6), pp.1131-1138.

[14] Kalpa, R.E., Sreejit, V., Preetha, R. and Nagamaniammai, G., 2021. Synbiotic microencapsulation of Lactobacillus brevis and Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis using oats/oats brans as prebiotic for enhanced storage stability. *Journal of Food Science and Technology*, pp.1-10.

[15] Khalil, R., El-Halafawy, K., Mahrous, H., Kamaly, K., Frank, J. and El Soda, M., 2007. Evaluation of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from faeces of breast-fed infants in Egypt. *African Journal of Biotechnology*, *6*(7).

[16] Kumar, A. and Kumar, D., 2016. Development of antioxidant rich fruit supplemented probiotic yogurts using free and microencapsulated Lactobacillus rhamnosus culture. *Journal of food science and technology*, *53*(1), pp.667-675.

[17] Markowiak, P. and Śliżewska, K., 2018. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut pathogens*, *10*(1), pp.1-20.

[18] Pereira ALF, Maciel TC, Rodrigues S. Probiotic beverage from cashew applejuice fermented with Lactobacillus casei. Food Res Int 2011; 44: 1276– 1283.

[19] Pan, X.D., Chen, F.Q., Wu, T.X., Tang, H.G. and Zhao, Z.Y., 2009. Prebiotic oligosaccharides change the concentrations of short-chain fatty acids and the microbial population of mouse bowel. *Journal of Zhejiang University SCIENCE B*, *10*(4), pp.258-263.

[20] Siah, W.M., Faridah, H., Rahimah, M.Z., Tahir, S.M. and Zain, D.M., 2011. Effects of packaging materials and storage on total phenolic content and antioxidant activity of Centella asiatica drinks. J. Trop. Agric. and Fd. Sc, 39(1), pp.1-7.

[21] Quirós-Sauceda, A.E., Ayala-Zavala, J.F., Sáyago-Ayerdi, S.G., Vélez-de La Rocha, R., Sañudo-Barajas, A. and González-Aguilar, G.A., 2014. Added dietary fiber reduces the antioxidant capacity of phenolic compounds extracted from tropical fruit. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, *87*.

[22] Shakerian, M., Razavi, S.H., Ziai, S.A., Khodaiyan, F., Yarmand, M.S. and Moayedi, A., 2015. Proteolytic and ACE-inhibitory activities of probiotic yogurt containing non-viable bacteria as affected by different levels of fat, inulin and starter culture. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(4), pp.2428-2433.

[23] Sharma, M., Mridula, D. and Gupta, R.K., 2014. Development of sprouted wheat based probiotic beverage. *Journal of food science and technology*, *51*(12), pp.3926-3933.

[24] Tewari, S., Dubey, K.K. and Singhal, R.S., 2018. Evaluation and application of prebiotic and probiotic ingredients for development of ready to drink tea beverage. *Journal of food science and technology*, *55*(4), pp.1525-1534.

[25] Towo, E., Matuschek, E. and Svanberg, U., 2006. Fermentation and enzyme treatment of tannin sorghum gruels: effects on phenolic compounds, phytate and in vitro accessible iron. *Food Chemistry*, *94*(3), pp.369-376.

[26] Wu, S.C., Su, Y.S. and Cheng, H.Y., 2011. Antioxidant properties of Lactobacillus-fermented and non-fermented Graptopetalum paraguayense E. Walther at different stages of maturity. *Food Chemistry*, *129*(3), pp.804-809.

[27] Mirzaei, D., Pedram Nia, A. and Jalali, M.,

2021. Effect of inulin and date syrup from Kaluteh variety on the qualitative and microbial properties of prebiotic ketchup. *Journal of food science and technology*, *58*(11), pp.4127-4138.

[27] Soni, R., Jain, N.K., Shah, V., Soni, J., Suthar, D. and Gohel, P., 2020. Development of probiotic yogurt: Effect of strain combination on nutritional, rheological, organoleptic and probiotic properties. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(6), pp.2038-2050.

[28] Noori, N., Hamedi, H., Kargozari, M. and Shotorbani, P.M., 2017. Investigation of potential prebiotic activity of rye sprout extract. *Food bioscience*, *19*, pp.121-127.

[29] Rouhi, M., Mohammadi, R., Mortazavian, A.M. and Sarlak, Z., 2015. Combined effects of replacement of sucrose with d-tagatose and addition of different probiotic strains on quality characteristics of chocolate milk. *Dairy Science & Technology*, *95*(2), pp.115-133.

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimizing the formulation of a beneficial symbiotic drink based on the combined sprout of rye and mung bean

Shamsaie, P. [1], Hoseini, E. [2*], Asadi, Gh. [2], Sharifan, A. [2]

1. Ph.D student of Food Science & Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.
2. Department of Food Science & Technology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 03/ 06
Accepted 2022/ 06/ 20

Keywords:

Mung bean,
Prebiotic,
Probiotic,
Rye,
Symbiotic,
Antioxidant

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.31
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.4.7

*Corresponding Author E-Mail:
Ebhoseini@srbiau.ac.ir

ABSTRACT

There is an increasing demand for nondairy probiotic food due to the constraints associated with dairy probiotics. In this study, symbiotic drink was prepared from a mixture of mung bean, and rye sprouts inoculated with 1.3 * 108 CFU.ml-1 of Lactobacillus plantarum, and a Lactobacillus casei. In this regard, the effect of added prebiotics (inulin and oligofructose), and starter culture investigated on the probiotic viability during cold storage Furthermore, titrable acidity, pH, phenolic content, antioxidant activity and sensory attributes were assessed during 28 days. Resultant product showed good viability for L.casei (107 CFU.ml-1), and L.plantarum (106 CFU.ml-1) after 4 weeks under refrigerated conditions without any comprise in the quality. Prebiotics added to beverage resulted in the significant decrease in phenolic content ($p < 0.05$), probably because of the interaction between dietary fibers and phenolic compounds. Oligofructose and inulin improved the sensory scores. Treatments containing both probiotics and prebiotics showed the highest sensory scores during storage ($p < 0.05$).This drink could be a nutritious alternative to the existing lactose-intolerant and protein allergic, dairy-based beverages.