تولید نوشیدنی تخمیری فراسودمند بر پایه برنج حاوی شیرین‌کننده طبیعی عسل

علی ایزدی کندازی[1]، سهیلا زرین‌قلمی[2*]، علی گنجلو[2]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان
(تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۱۸)

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، تهیه نوشیدنی تخمیری فراسودمند بر پایه برنج، با استفاده از باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با سه نسبت ترکیبی متفاوت ۰-۱۰۰، ۱۰۰-۰ و ۵۰-۵۰ همراه با شیرین کننده طبیعی عسل به میزان ۵ درصد و بررسی ترکیبات زیست-فعال (فنل و فلاونوئید کل)، فعالیت ضداکسایشی، ویژگی‌های حسی و میزان زنده‌مانی باکتری‌ها در طول دوره نگهداری نوشیدنی‌ها به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس بود. نتایج نشان داد که نوشیدنی تهیه شده از ترکیب دو باکتری ترکیبات زیست-فعال، ویژگی‌های ضداکسایشی و حسی بالاتری در مقایسه با دو نوشیدنی دیگر که هرکدام دارای یک نوع از باکتری‌های مورد استفاده بودند، را داشته و در طی ۱۵ روز نگهداری نیز از ویژگی‌های حسی مطلوب و قابل قبولی برخوردار است. به علاوه با این که نوشیدنی تهیه شده با *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بیشترین زنده‌مانی را در طول دوره نگهداری نشان داد، اما در تمامی نمونه‌ها تعداد باکتری‌ها از حد تعیین شده برای غذاهای فراسودمند (حداقل 10^{7}-10^{6} واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر) بالاتر بود. بنابراین محصول تهیه شده از ترکیب دو باکتری را می‌توان به عنوان نوشیدنی فراسودمند در نظر گرفت.

کلید واژگان: نوشیدنی فراسودمند، برنج، عسل، *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*.

*مسئول مکاتبات: zaringhalami@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

۱- مقدمه

امروزه به دلیل افزایش تمایل مردم برای به دست آوردن و حفظ شرایط ایده‌آل سلامتی، مصرف مواد غذایی فراسودمند[1] روز به روز در حال افزایش است. مواد غذایی فراسودمند، علاوه بردارا بودن فواید غذاهای معمول مورد استفاده، در بردارنده بسیاری از موادزیست- فعال سلامت بخش نیز هستند. مواد غذایی و نوشیدنی‌های تخمیری و پروبیوتیک، مثال‌هایی از این دست بوده که به علت دارا بودن ترکیبات فعال بیولوژیکی نسبت به مواد غذایی و نوشیدنی‌های معمولی برتری پیدا کرده‌اند [۱]. این گروه از مواد غذایی در اثر فرایندهای مختلف شکل گرفته و شامل مواد غذایی غنی شده[2]، تقویت شده[3]، بهبود یافته[4] و تغییر داده شده[5] می‌باشند [۲]. به طور کلی غذاهای فراسودمند را می‌توان به انواع غذاهای پروبیوتیک و پری‌بیوتیک طبقه‌بندی کرد. غذاهای پروبیوتیک شامل میکروارگانیسم‌های زنده هستند و زمانی که به میزان کافی (حداقل 10^{7}-10^{6} CFU/ml) به مصرف برسند، موجب افزایش سلامت میزبان می‌شوند [۳]. مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که باکتری‌های پروبیوتیک اغلب همان اسیدلاکتیک باکتری‌ها هستند. ترکیبات پری‌بیوتیک نیز مواد غذایی غیر قابل هضم از جمله نشاسته، فیبرهای رژیمی، قندهای غیر قابل جذب، قندهای الکلی و الیگوساکاریدها معرفی شده‌اند که تحریک رشد و یا فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک، مهم‌ترین کارایی آنها است [٤].

بیشتر غذاهای تخمیری و پروبیوتیک تولید شده در جهان بر پایه شیر بوده و به تولید و توسعه غذاهای تخمیری بر پایه غلات توجه کمی شده است. این در حالی است که به دلیل حساسیت برخی از افراد به شیر و با افزایش تعداد افراد گیاه‌خوار، تقاضای مصرف فراورده‌های پروبیوتیکی گیاهی نیز روز به روز در حال افزایش است [۵].

غلات که حاوی فیبرهای رژیمی (ترکیبات پری‌بیوتیک)، پروتئین، انرژی، مواد معدنی و اکثر ویتامین‌ها و موادمعدنی مورد نیاز برای انسان هستند، در بیش از ٦۰ درصد تولید جهانی غذا نقش دارند.

به علاوه با توجه به فراوانی و در دسترس بودن انواع غلات، مطالعاتی روی خواص پری‌بیوتیکی و ترکیبات غیرقابل‌هضم و تاثیر این مواد بر خاصیت زنده‌مانی گونه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک انجام شده یا در حال انجام است تا از این ترکیبات به عنوان مواد اولیه برای تولید و توسعه غذاهای تخمیری و فراسودمند استفاده شود [۵، ٦]. غلات می‌توانند سوبسترایی مناسب و در دسترس جهت فرایند تخمیر باشند و قابلیت بهبود ارزش تغذیه‌ای توسط این فرایند را داشته باشند [۱]. گندم، برنج، ذرت، چاودار، جو، جو دوسر، ارزن و سورگوم از جمله غلاتی هستند که به طور گسترده‌ای در جهان مورد استفاده قرار می‌گیرند. علاوه بر این‌که این فراورده‌ها بخشی از رژیم غذایی انسان را تشکیل می‌دهند، غنی از ترکیبات مختلف افزایش دهنده سلامتی که اغلب به عنوان فیتوکمیکال یا مواد فعال زیستی گیاهی شناخته می‌شوند، نیز هستند [۷]. از سوی دیگر دانه کامل غلات حاوی دامنه وسیعی از ترکیبات با فعالیت ضداکسایشی از جمله ویتامین ای (بیشتر در ریشه)، فولات‌ها[6] ریزمغذی‌ها (آهن و روی)، عناصر کمیاب (منگنز، مس و سلنیوم)، کاروتنوئیدها، فیتیک‌اسید، لیگنین و ... می‌باشند [۸]. البته در اثر فرایند تخمیر در غلات، مقداری اسید نیز تولید می‌شود که باعث به تأخیر انداختن قابلیت هضم نشاسته، تنظیم pH و افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف می‌شود که در نتیجه موجب تغییر در ترکیبات زیست- فعال از جمله مواد معدنی و مواد شیمیایی گیاهی می‌گردد که در بیشتر موارد افزایش میزان فعالیت ضداکسایشی را به دنبال دارد [۹].

به دلایل ذکر شده، در سال‌های اخیر تحقیقات مختلفی در زمینه تولید فراورده‌های تخمیری فراسودمند بر پایه غلات انجام گرفته است که البته در کشور ما پژوهش‌های انجام شده در این زمینه بسیار اندک می‌باشد. یکی از غلات با ارزش غذایی نسبتا بالا که می‌تواند نقش مهمی در تولید غذاهای فراسودمند داشته باشد، برنج می‌باشد که بعد از گندم، مهم‌ترین منبع غذایی کشور ما است. مقدار تولید شلتوک کشور سالانه ۳/۱٦ میلیون تن است که با ضریب تبدیل ٦٤ درصد شلتوک به برنج سفید، حدود ۲/۲ میلیون تن برنج سفید تولید می‌شود که بیش از ۲۲ درصد آن

1. Functional foods
2. Enriched foods
3. Fortified foods
4. Enhanced commodities
5. Altered products

6. Folates

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

شکسته شده (خرده برنج) و خسارت زیادی بر اقتصاد کشور وارد می‌آورد. زیان ناشی از خرده برنج در کشور سالانه بیش از ۱۴۹۷ میلیارد ریال تخمین زده شده است که متاسفانه تا کنون کمتر به حل این مساله پرداخته شده است [۱۰]. در تحقیقات انجام شده در زمینه تولید نوشیدنی‌های پروبیوتیک و فراسودمند، کمتر از برنج به عنوان سوبسترا استفاده شده است، در حالی که این محصول می‌تواند منبع مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌ها و تولید غذاها و نوشیدنی‌های تخمیری و فراسودمند باشد. هدف از انجام پژوهش حاضر تولید نوشیدنی فراسودمند بر پایه برنج و ارزیابی ترکیبات زیست-فعال و ویژگی‌های ضداکسایشی و حسی آن است تا از این طریق بتوان جایگزینی مناسب برای انواع نوشیدنی‌های مضر رایج مورد مصرف پیدا کرد و راهی برای ایجاد تنوع در نوشیدنی‌های بازار ایران باز نمود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد خام

خرده برنج به صورت کاملاً تصادفی از نمونه‌های موجود در بازار زنجان انتخاب و خریداری شد. عسل بسته‌بندی شده (شرکت مهرام) نیز از فروشگاه خریداری شد و تا زمان استفاده به صورت درب بسته و در دمای محیط نگهداری گردید.

۲-۲-کشت‌های میکروبی آغازگر

برای انجام عمل تخمیر و تولید نوشیدنی از دو میکروارگانیسم *لاکتوباسیلوس پلانتاروم PTCC 1058* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس PTCC 1643* استفاده گردید که از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، بخش کلکسیون میکروبی، به صورت کشت فعال و زنده خریداری شد و تا قبل از استفاده، در یخچال نگهداری شدند.

۲-۳- مواد شیمیایی

تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده از نمایندگی‌های شرکت مرک یا فولیکا تهیه گردید.

۲-۴- تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه برنج

برای تهیه نوشیدنی برنج، ابتدا خرده برنج‌ها تمیز شد و در آب قرار گرفت و به مدت ۲ ساعت عمل خیساندن انجام شد. سپس، به نسبت ۳ به ۱ آب به برنج اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه عمل پخت انجام شد. با نشانه گذاری سطح آب و افزودن آب با همان دما در هنگام کاهش میزان آن، نسبت فوق، در طول پخت ثابت نگه داشته شد. سپس شیر برنج توسط صافی از خرده‌های برنج جدا شد و به آن به میزان ۵ درصد وزنی–وزنی عسل با درجه بریکس ۸۲ اضافه گردید [۱۱]. سپس فرایند تخمیر با تلقیح ۵ درصد از نسبت‌های ۰–۱۰۰، ۵۰–۵۰ و ۱۰۰–۰ میکروارگانیسم-های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در شیر برنج، انجام شد. برای تعیین مقدار کشت آغازگر (10^7 واحد لگاریتمی بر میلی‌لیتر) جهت اضافه کردن باکتری‌ها به نمونه شیر برنج، از استاندارد نیم مک‌فارلند استفاده گردید. سپس شیر برنج تهیه شده، تا دمای ۳۷ درجه سلسیوس سرد شد و به مدت ۱۶ ساعت در این دما عمل گرم‌خانه‌گذاری و تخمیر انجام گرفت. پس از طی این زمان جهت توقف فرایند تخمیر، محصول تا ۴ درجه سلسیوس سرد شد و به مدت ۱۵ روز در این دما نگهداری شد [۱۱ و ۱۲]. یک نمونه شاهد نیز با شرایط مشابه و بدون انجام عمل تخمیر تولید گردید تا با نوشیدنی‌های تخمیری مختلف مقایسه شود و مشخص گردد که فرایند تخمیر چه اثراتی بر میزان فنل و فلاونوئید کل، خواص ضداکسایشی، ویژگی‌های حسی و همچنین میزان pH و اسیدیته در مقایسه با نوشیدنی غیر تخمیری دارد.

۲-۵- بررسی زنده‌مانی میکروارگانیسم ها (شمارش سلول‌های زنده)

برای شمارش و تعیین سلول‌های زنده باکتری‌ها از کشت سطحی و به روش قطره‌ای استفاده گردید [۱۳]. ابتدا به منظور آماده-سازی، رقت 10^{-1} تا 10^{-6} از نمونه‌های شیر برنج تخمیر شده با محلول رینگر استریل تهیه شدند. سپس با استفاده از میکروپیپت به میزان ۱۲ میکرولیتر از محلول، روی پلیت حاوی محیط کشت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

MRS[7] آگار ، ریخته شد و به صورت کامل در تمام سطح پخش گردید. سپس پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در گرم‌خانه قرار گرفت. بعد از گذشت این مدت، کلنی‌های انفرادی در ناحیه‌های مختلف با استفاده از دستگاه کلنی‌کانتر (مدل GALLEN KAMP، آلمان) شمارش شدند. تعداد سلول‌های زنده به صورت CFU/ml محاسبه گردید و نتایج به صورت ارزش Log CFU/ml (واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر) بیان شد [۱۴].

$$A = \frac{(v_1 - v_2) \times 0.0015 \times 250 \times 100}{v_0 \times m}$$

۲-۶- اندازه‌گیری pH و اسیدیته قابل تیتردر طول نگهداری

برای بررسی فعالیت و تولید اسید توسط باکتری‌های اسید لاکتیک در طول مدت زمان نگهداری، pH نوشیدنی‌ها در دمای ۲۰ درجه سلسیوس توسط دستگاه pH متر (Consort, C863، دانمارک) اندازه‌گیری شد. همچنین اسیدیته قابل تیتر در طول دوره نگهداری با استفاده از روش تیتراسیون (عیارسنجی) اندازه‌گیری شد و به صورت گرم اسیدلاکتیک بر هر گرم نمونه بیان گردید [۱۵].

۲-۷- اندازه‌گیری درصد الکل

برای اندازه‌گیری الکل اتیلیک موجود در نوشیدنی تهیه شده بر پایه برنج از روش تقطیر استفاده شد. ۱۰ گرم نمونه را در یک بالن ۲۵۰ میلی‌لیتری ریخته و ۶۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه گردید. سپس ۱۰ میلی‌گرم پودر فنل‌فتالئین به آن اضافه و بعد از آن هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال به صورت قطره قطره تا ایجاد رنگ ثابت قرمز ارغوانی افزوده شد. بعد از آن چند دانه سنگ جوش درون بالن ریخته و آن را روی شوف بالن گذاشته و به دستگاه تقطیر متصل شد. یک بالن مدرج ۲۵۰ میلی لیتری انتخاب کرده و حجم ۱۰۰ میلی‌لیتری روی آن نشانه گذاری گردید. ۵۰ میلی لیتر آب مقطر درون این بالن ریخته شد و به دستگاه تقطیر وصل گردید. بالن تقطیر تحت تاثیر حرارت قرار گرفت و به جوش آمد و عمل تقطیر انجام گرفت و زمانی که محتوای بالن تا خط نشانه ۱۰۰ میلی‌لیتری رسید، عمل تقطیر متوقف و محتویات بالن تا رسیدن به دمای محیط نگهداری شد. سپس با آب مقطر به حجم رسید و عمل مخلوط کردن انجام گرفت. سپس در یک ارلن (شاهد) ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر و در ارلن دیگر(نمونه) ۱۰ میلی‌لیتر مایع تقطیر شده قرار گرفت. سپس به هر دو ارلن، ۱۰ میلی‌لیتر محلول نیتروکرومیک اضافه شد و در ارلن ها بسته و به مدت نیم ساعت در محل تاریک و در درجه حرارت ۲۰-۱۸ درجه سلسیوس نگهداری گردید. پس از طی این مدت، ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و سپس یک گرم یدورپتاسیم به هر دو ارلن اضافه شد و پس از گذشت یک دقیقه آن‌ها با تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال تا تغییر رنگ زرد به آبی زنگاری تیتر شد و درصد الکل-اتیلیک با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۱۹):

$$A = \frac{(v_1 - v_2) \times 0.0015 \times 250 \times 100}{v_0 \times m}$$

V_1: حجم مصرفی تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال برای محلول شاهد بر حسب میلی‌لیتر

V_2: حجم مصرفی تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال برای محلول نمونه بر حسب میلی‌لیتر

V_0: حجم مایع تقطیر شده مورد استفاده در آزمون بر حسب میلی لیتر

m: وزن نمونه مورد آزمون بر حسب گرم

A: الکل اتیلیک بر حسب گرم در صد گرم

۲-۸- تعیین محتوای فنل کل (TPC)[8]

محتوای فنل کل با استفاده از روش فولین‌سیوکالچو اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از نوشیدنی برنج بدست آمده به ۱/۵ میلی‌لیتر معرف تازه تهیه شده فولین سیوکالچو اضافه گردید (۱ به ۱۰ معرف فولین با آب مقطر). سپس به مدت ۵ دقیقه اجازه داده شد تا محلول به تعادل برسد. محلول بدست آماده با ۱/۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۶ درصد (حجمی/ حجمی) مخلوط شد و پس از نگهداری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت، جذب در ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل SPECORD 250 UV/ VIS، آلمان) اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر میلی-لیتر نوشیدنی برنج بیان گردید.

7. Man Rogosa and Sharpe

8. Total Phenolic Contents

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

از استاندارد گالیک‌اسید برای محاسبه‌ی میزان فنل کل استفاده گردید. منحنی جذب در برابر غلظت گالیک‌اسید (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) رسم شد و رابطه رگرسیونی بین غلظت و میزان جذب در فرمول زیر با ضریب تبیین ۰/۹۹ ارائه شده است [۱۸].

$y = ٤/٨٥٣٨\ x + ٠/١١٥١$

۲-۹- تعیین محتوای فلاوونوئید کل (TFC)[9]

محتوای فلاوونوئید کل توسط روش رنگ‌سنجی[10] اندازه‌گیری شد. میزان ۰/۲۵ میلی‌لیتر نمونه شیر برنج به یک لوله آزمایش حاوی ۰/۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید. سپس ۷۵ میکرولیتر محلول سدیم نیترات ۵ درصد نیز به مخلوط مورد نظر افزوده شد. مخلوط بدست آمده به مدت ٦ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد و بعد از این عمل، ۱۵۰ میکرولیتر آلومینیوم‌کلراید ۱۰ درصد افزوده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری گردید و در پایان ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم ۱ مولار و ۲۷۵ میکرولیتر آب اضافه شد و جذب نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید و محتوای فلاوونوئید کل نمونه با استفاده از فرمول بدست آمده از منحنی استاندارد محاسبه شد و معادل میکروگرم روتین در هر میلی‌لیتر نوشیدنی برنج گزارش گردید.

برای تعیین میزان فلاوونوئید کل، از استاندارد روتین برای تهیه منحنی استاندارد استفاده گردید. منحنی جذب در برابر غلظت استاندارد روتین (میکروگرم بر میلی‌لیتر) رسم گردید و رابطه رگرسیونی بین غلظت و میزان جذب با ضریب تبیین ۰/۹۸ در فرمول زیر آمده است [۱۸]:

$y = ٠/٠٠٠٤\ x + ٠/٠٨٤٤$

۲-۱۰- ارزیابی فعالیت ضداکسایشی

۲-۱۰-۱-اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی با استفاده از روش DPPH[11]

قبل از ارزیابی فعالیت ضداکسایشی، نوشیدنی‌ها به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ٤ درجه سلسیوس، با سرعت ۱۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس نمونه‌ها با استفاده از فیلتر استات سلولز ۰/٤۵ میلی‌متر صاف شدند. عصاره به دست آمده در یخچال و در دمای ٤ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگهداری گردید. جهت اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی ابتدا ۲۰۰ میکرولیتر از نمونه مورد آزمون در یک لوله آزمایش ریخته شد. سپس ۳/۹ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH ٦×١٠^{-٥} مولار به آن اضافه گردید و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در محیط تاریک نگهداری شد. بعد از این عمل، جذب در برابر شاهد (محلول عاری از نمونه) در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد [١٦]. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

درصد مهارکنندگی = $[(A_{control}-A_{sample})/A_{control}]\times100$

$A_{control}$: جذب نمونه کنترل (شامل همه چیز به جز ترکیب معرف آزمون)

A_{sample} : جذب ترکیب مورد آزمون.

۲-۱۰-۲- اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی با استفاده از روش H_2O_2

توانایی مهارکنندگی پراکسید هیدروژن با استفاده از روش راش و همکاران (۱۹۸۹) تعیین شد. ابتدا یک محلول از پراکسید هیدروژن (٤۰ میلی‌مولار) در بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار و pH=7) تهیه شد. سپس غلظت پراکسید هیدروژن از طریق جذب محلول آماده شده با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۲۳۰ نانومتر مشخص گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر از نمونه نوشیدنی برنج رقیق شده با آب (٦۰-۲۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) به محلول پراکسید هیدروژن اضافه گردید و بعد از ۱۰ دقیقه جذب آن در طول موج ۲۳۰ نانومتر در مقابل محلول بافر فسفات بدون پراکسید هیدروژن خوانده شد. درصد مهارکنندگی پراکسید هیدروژن با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید[۱۷]:

درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید =$[(A_i-A_t)/A_t]\times100$

A_i: میزان جذب نمونه شاهد A_t : میزان جذب نمونه مورد آزمایش.

9. Total Flavonoid Contents
10. Colorimetric assay
11. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

۲-۱۱- ارزیابی خصوصیات حسی نوشیدنی تخمیری بر پایه برنج

جهت انجام آزمون ارزیابی حسی نوشیدنی تخمیری بر پایه برنج، یک تیم هشت نفره ارزیاب نیمه آموزش دیده ویژگی‌های بو، مزه، رنگ، احساس دهانی، پس مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها را مورد بررسی قرار دادند. به این ترتیب که ابتدا ۲۵ میلی‌لیتر نمونه که دمای آن حدود ۱۰ درجه سلسیوس بود در اختیار ۸ نفر ارزیاب قرار گرفت تا نظرات خود را در فرم آماده شده و در قسمت ستون امتیازدهی علامت‌گذاری کنند. برای به حداقل رساندن اثرات حاصل از هر مرحله ارزیابی و شستشوی دهان، از آب و کراکر بدون نمک در فواصل بین مصرف نمونه‌ها استفاده شد. ارزیابی حسی در حین نگهداری نوشیدنی برنج به مدت ۱۵ روز نگهداری و در فواصل زمانی ۵ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس نیز انجام شد. امتیازها بر اساس روش هدونیک ۵ نقطه‌ای به صورت بسیار خوب (امتیاز ۵)، خوب (امتیاز ٤)، متوسط (امتیاز ۳)، بد (امتیاز ۲) و بسیار بد (امتیاز ۱) تعیین شد. و امتیاز ٤ به بالا برای هر ویژگی، امتیاز قابل قبول در نظر گرفته شد [۱۹].

.[۱۹]

۲-۱۲- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

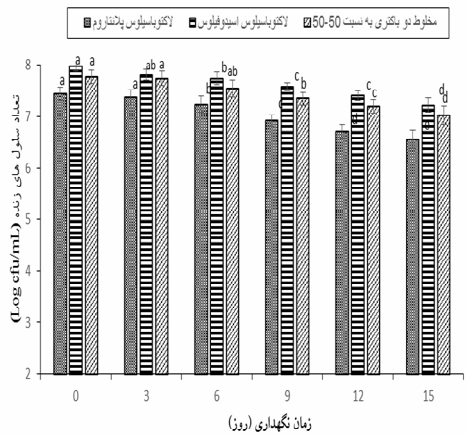
تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار Minitab 16 و با آزمون آنالیز واریانس یک طرفه صورت گرفت. مقایسه میانگین‌های حاصل از سه تکرار، به روش توکی در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول نگهداری

نتایج حاصل از زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در سه نوشیدنی تهیه شده در شکل ۱ آمده است. مطابق نتایج، در طول دوره نگهداری، در تمامی نمونه‌ها تغییراتی در روند زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک مشاهده می‌شود. که این تغییرات در پایان دوره نگهداری (روز پانزدهم) در تمامی نمنه‌ها کاهش معنی‌داری را نشان داده است ($P<$۰/۰۵). یکی از دلایل کاهش در تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در طول دوره نگهداری، تولید اسید بیشتر و در نتیجه کاهش pH، تولید هیدروژن پراکسید و باکتریوسین‌ها توسط این باکتری‌ها است [۱۱و۲۰]. از طرفی در حضور اکسیژن ممکن است پراکسیدهای سمی تولید شوند یا رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون ایجاد گردند که برای سلول‌های پروبیوتیک سمی محسوب می‌شوند [۲۱]. اما با وجود کاهش در تعداد میکرارگانیزم‌ها، استاندارد میزان سلول‌های زنده در غذاهای فراسودمند پروبیوتیکی ($۱۰^{۷}$-$۱۰^{۶}$ واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر) در هر سه نوشیدنی تا پایان دوره نگهداری حفظ شده است. همچنین مشاهده شد که بشترین زنده‌مانی باکتری‌ها در پایان دوره نگهداری به ترتیب مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، (۰/۰۹±۷/۲۲)، مخلوط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به نسبت ۵۰:۵۰ (۰/۱٤± ۷/۰۲) و لاکتوباسیلوس پلانتاروم (۰/۱۳± ٦/۵۵ واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر) بود. نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر تا حدودی مشابه نتایج کودا و همکاران در سال ۲۰۱۱ است که نوعی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک از دو باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس SP1* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم 6E* به صورت جداگانه و مخلوط این دو باکتری بر پایه جو تولید کردند و نتایج نشان داد که باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در کنار باکتری *لاکتوباسیلوس رامنوسوس* دارای زنده‌مانی بیشتری در طول نگهداری می‌باشد [۲۲]. همچنین نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج یون و همکاران در سال ۲۰۱۳ که میزان زنده‌مانی چهار باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس دلبروکی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* را در آب گوجه فرنگی در طول دوره نگهداری در دمای یخچال به مدت ۳۰ روز، مورد ارزیابی قرار دادند و نشان دادند که بیشترین زنده‌مانی مربوط به باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* است که علت آن را تحمل بالای این باکتری در برابر pH پایین نسبت دادند.

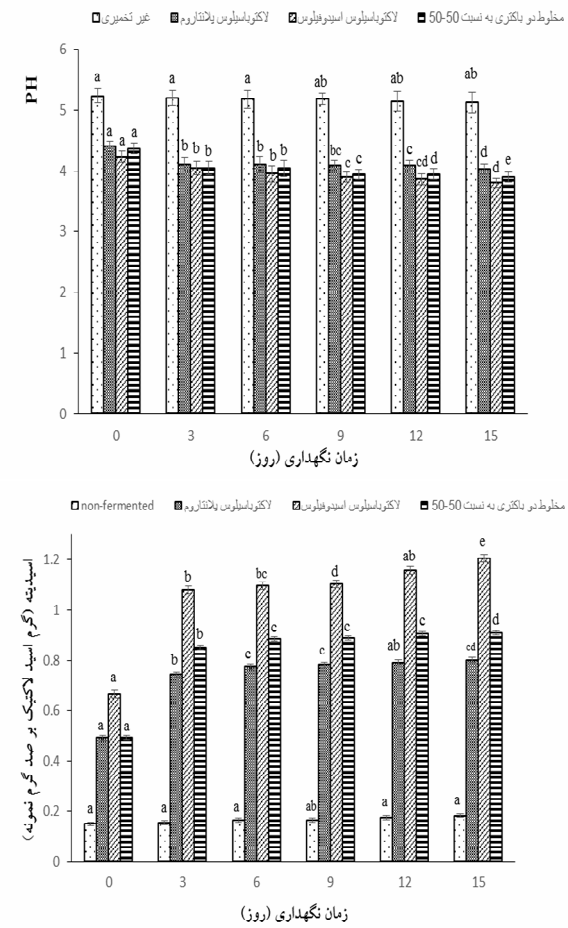
[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]



شکل ۱ تغییرات در زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه برنج در طول دوره نگهداری به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس. اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند(آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد).

۳-۲- تغییرات pH و اسیدیته در طول نگهداری

نتایج اندازه‌گیری تغییرات pH و اسیدیته نوشیدنی‌ها در طول ۱۵ روز نگهداری در دمای ٤ درجه سلسیوس و در فواصل زمانی ۳ روز، در شکل ۲ آمده است. مطابق این نتایج با افزایش زمان نگهداری، pH نوشیدنی‌های تخمیری در مقایسه با نمونه غیر تخمیری (کنترل) به طور معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در حال کاهش و بالعکس میزان اسیدیته قابل تیتر در حال افزایش بود به طوری که تمام نوشیدنی‌های تخمیری در پایان دوره نگهداری (روز پانزدهم) از کمترین میزان pH و بیشترین میزان اسیدیته برخوردار بودند. همچنین اختلاف معنی‌داری($P<۰/۰۵$) در میزان pH و اسیدیته در تمام نوشیدنی‌های تخمیر شده، در طول دوره نگهداری وجود داشت. به علاوه مشاهده شد که نوشیدنی تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در روز پانزدهم از بیشترین میزان اسیدیته (۱/۲۰ گرم اسیدلاکتیک بر صد گرم) و کمترین میزان pH (۳/۸) برخوردار بود. از این‌رو انتظار می‌رود که در بین سه ترکیب میکروبی، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از فعالیت بیشتری در طول دوره تخمیر و نگهداری برخوردار باشد. همچنان که تودوروو و هولزاپفل در سال ۲۰۱٤ و شوری در سال ۲۰۱٦فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک را از مهم‌ترین دلایل افزایش در میزان اسیدیته در طول دوره نگهداری، گزارش کرده‌اند [۲٤]. آکپینار و همکاران در سال ۲۰۱۰ در بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی تخمیری بوزا[12] [۲۵]. علت افزایش میزان اسیدهای آلی در طول نگهداری غذاهای تخمیری بر پایه غلات را فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک و تولید اسیدهای آلی به خصوص اسید لاکتیک گزارش دادند [۲٦].



شکل ۲ تغییرات در میزان pH و اسیدیته در نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه برنج در طول دوره نگهداری به مدت ۱۵ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس. اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند(آزمون توکی در سطح آماری ۵ درصد.

۳-۳- تعیین محتوای فنل کل

همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود فرایند تخمیر باعث افزایش معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) در میزان فنل کل شده است. به علاوه نتایج نشان داد که کمترین میزان فنل کل مربوط به

12. Boza

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

نوشیدنی غیر تخمیری (۰/۰۶± ۹/۶ میلی‌گرم گالیک‌اسید بر میلی‌لیتر نمونه) بود و بیشترین میزان این ترکیب را نمونه تخمیر شده توسط ترکیب دو باکتری (۰/۰۵± ۱۴/۲۸ میلی‌گرم گالیک-اسید بر میلی‌لیتر نمونه) به خود اختصاص داده است (جدول ۱). مطالعات پیشین نشان داده‌اند که نوع تخمیر، تاثیر مهمی در میزان ترکیبات زیست–فعال به خصوص ترکیبات فنلی دارد. علت آن را تفاوت در میزان pH محصول دانسته و گزارش کرده‌اند که هرچه pH برای فعالیت میکروارگانیسم‌ها جهت آزادسازی آنزیم‌های تخریب کننده دیواره سلولی و به دنبال آن شکستن اتصال بین ترکیبات فنلی با قندها و یا گلیکوزیدها، به میزان بهینه نزدیک‌تر باشد، میزان ترکیبات فنلی محصول نهایی نیز بیشتر است [۳۲، ۳۳].

۳-۴- تعیین محتوای فلاوونوئید کل

تغییرات در میزان فلاوونوئید کل نوشیدنی‌های تولیدی در اثر فرایند تخمیر در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان می‌دهد که فرایند تخمیر توسط هر سه ترکیب میکروبی، تاثیر افزایشی معنی-داری ($P<0/05$) بر میزان فلاوونوئید کل نوشیدنی‌ها داشته است. به طوری که بیشترین میزان فلاوونوئید مربوط به نوشیدنی تخمیر شده با مخلوط دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بوده است. در طول فرایند تخمیر، ترکیبات زیست–فعال متعددی در اثر شکست ساختار دیواره سلولی غلات، آزاد و یا سنتز می‌شوند. باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل سنتز بتاگلوکوزیداز باعث افزایش در میزان ایزوفلاوون‌ها، جنیستئین[13] و دایدزین[14] که زیر مجموعه فلاوونوئیدها هستند، می‌شوند. در هنگام انجام فرایند تخمیر، قندها به عنوان یک منبع کربوهیدرات مورد مصرف باکتری‌های اسید لاکتیک قرار می-گیرند و موجب سنتز آگلیکون‌های فلاوونوئیدها می‌شوند و در نتیجه محتوای فلاوونوئید کل نیز افزایش می‌یابد [۲۰، ۳۳]. برخی از ترکیبات فنلی بزرگ‌تر مانند تانن‌ها و استرهای گالات نیز ممکن است توسط آنزیم‌های باکتریایی مانند تاناز، دکربوکسیلاز، استراز و ردوکتاز متابولیزه شوند و تبدیل به اسیدهای فنولیک، فلاوانول، مشتقات بنزیل الکل و فلاوونول شده و میزان فلاونوئید کل را افزایش دهند [۳۰].

13. Genistein
14. Daidzein

۳-۵- فعالیت ضد اکسایشی

جدول ۱ تغییرات در میزان فعالیت ضد اکسایشی به روش DPPH و H_2O_2 را در نوشیدنی‌های پروبیوتیک تخمیر شده توسط سه ترکیب کشت آغازگر در مقایسه با نوشیدنی غیر تخمیری بر پایه برنج نشان می‌دهد. با توجه به جدول مشاهده می‌شود که تخمیر تاثیر معنی‌داری بر افزایش میزان مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) داشت ($P<0/05$). از طرف دیگر نیز اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) بین میزان درصد بازدارندگی رادیکال‌ها در نمونه‌های تخمیر شده توسط سه نوع ترکیب میکروبی وجود داشت و بیشترین میزان در هر دو روش به توشیدنی تیه شده از مخلوط دو باکتری تعلق داشت.

گزارش شده است که یکی از علل تفاوت در میزان مهارکنندگی رادیکال‌ها توسط کشت‌های آغازگر مختلف در غذاهای تخمیری، میزان اسید لاکتیک تولید شده و همچنین حداکثر تعداد زنده‌مانی میکروارگانیسم‌های آن‌ها می‌باشد که هر چقدر این دو عامل افزایش یابد، تجزیه دیواره سلولی بیشتر صورت گرفته و در نتیجه ترکیبات فنلی بیشتری آزاد می‌شود که موجب افزایش در میزان فعالیت ضد اکسایشی می‌گردد [۲۷]. در طول فرایند تخمیر، بسیاری از میکروارگانیسم‌ها به خصوص باکتری‌های اسید لاکتیک به دلیل فعالیت NADH پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز سبب تخریب هیدروژن پراکسید می‌شوند. بنابراین میزان این رادیکال‌ها را کاهش می‌دهند [۲۸]. همچنین گروه تیول پروتئین‌ها دارای خاصیت ضداکسایشی بوده و می‌تواند سبب تجزیه و کاهش هیدروژن پراکسید می‌گردد [۲۹]. در پژوهشی، ژائو و شه در سال ۲۰۱۴ اثر تخمیر توسط چهار گونه از لاکتوباسیلوس‌ها (*لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس پاراکازئی*، *لاکتوباسیلوس زئی* و *لاکتوباسیلوس رامنوسوس*) را بر محتوای فنل و فلاوونوئید کل و در نتیجه میزان فعالیت ضد اکسایشی شیر سویا، در سه pH مختلف (۴/۵۵، ۴/۱۵ و ۳/۸۵) ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که فرایند تخمیر سبب افزایش ظرفیت ضد-اکسایشی می‌شود. همچنین نتایج آن‌ها نشان داد که بیشترین ظرفیت ضداکسایشی مربوط به نمونه تخمیر شده توسط باکتری لاکتوباسیلوس رامنوسوس و در pH برابر ۳/۸۵ می‌باشد. آن‌ها

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

ادعا کردند که عامل فعالیت ضداکسایشی در این نمونه، مربوط به ترکیبات فنلی آزاد شده در طی فرایند تخمیر و همچنین ترکیبات آبدوست از جمله ویتامین ب، ویتامین ث، فنولیک اسیدها و ایزوفلاوون و ترکیبات چربی دوست مانند ویتامین ای است [٣٠].

همچنین مشخص شده است که تناسب بالایی بین فعالیت‌های پروتئولیتیک میکروارگانیسم‌ها و میزان فعالیت ضداکسایشی در مواد غذایی وجود دارد.

به طوری که برخی از فنولیک اسیدها و فلاوونوئیدها به اسیدهای آمینه از جمله لیزین، سیستئین و تریپتوفان متصل شده‌اند و در اثر فعالیت میکروارگانیسم‌ها، کمپلکس‌های پروتئینی-فنلی شکسته می‌شود و منجر به آزاد شدن و در دسترس قرار گرفتن ترکیبات فنلی می‌گردد [٣١].

جدول ١ فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنل کل و فلاوونوئید کل نوشیدنی‌های غیر تخمیری و نخمیری پروبیوتیک بر پایه برنج

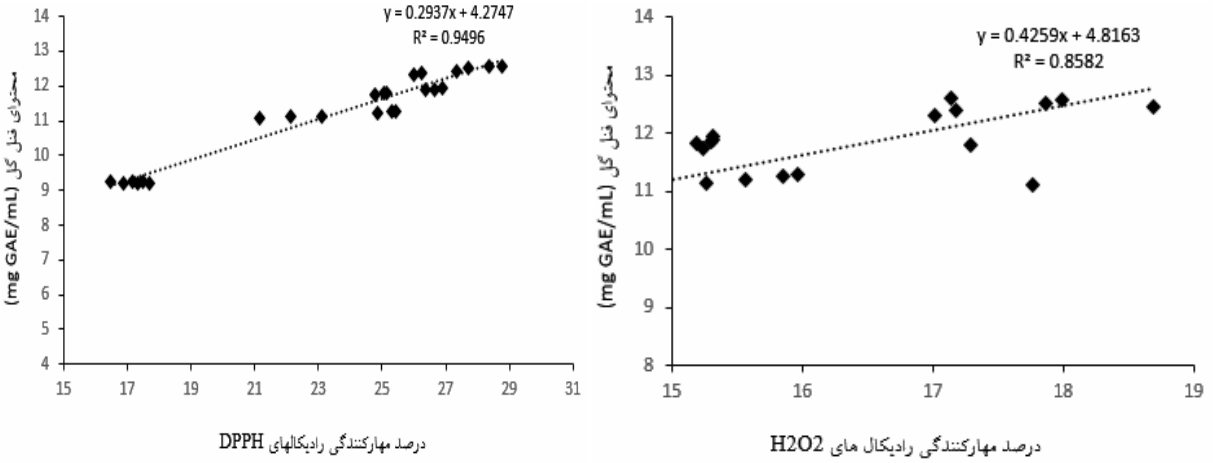
	تخمیر شده توسط مخلوط دو باکتری	تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*	تخمیر شده توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*	نمونه غیرتخمیری
درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH	٣٢/٣±٠/٩a	٣٠/٧±٠/٨٨b	٢٧/٣±٠/٥٦c	١٨/٤±٠/٥١d
درصد مهارکنندگی رادیکال‌های H_2O_2	١٦/٢±٠/١٤a	١٥/٨±٠/١٣ab	١٤/٤٤±٠/٢٥b	٨/٩±٠/١c
محتوای فنل کل (میلی‌گرم گالیک اسید بر میلی‌لیتر نمونه)	١٤/٢٨±٠/٠٥a	١٢/٢٣±٠/٠٩b	١١/٤٢±٠/٠٨c	٩/٦±٠/٠٦d
محتوای فلاوونوئید کل (میکروگرم روتین بر میلی‌لیتر نمونه)	١٩٢/٣±٣/١a	١٦٧/٥±٣/٢b	١٦٥/٦±٢/٩b	١٤٢/٤±٢/٨c

داده ها نشان دهنده میانگین ± انحراف استاندارد درسطح احتمال ٥درصد می باشد. اختلاف در حروف لاتین کوچک در هر سطر نشان دهنده اختلاف معنی دار بین میانگین حاصل از تخمیر نوشیدنی توسط کشت‌های آغازگر مختلف در مقایسه با نمونه غیر تخمیری می باشد.

٣-٦- ضریب همبستگی میان فعالیت ضد اکسایشی و ترکیبات فنلی

ضریب همبستگی بین فعالیت ضد اکسایشی (میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و H_2O_2) و ترکیبات فنلی موجود در نوشیدنی‌های تخمیری تولید شده در تحقیق حاضر، در شکل ٣ آمده است. با توجه به نتایج مشاهد می‌شود که همبستگی نسبتا بالایی بین ترکیبات فنلی و میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و H_2O_2 وجود دارد (به ترتیب ٠/٩٤ = R^2، ٠/٨٥ = R^2). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ترکیبات فنلی از عوامل اصلی مهارکنندگی این رادیکال‌ها به ویژه رادیکال-های DPPH هستند. تحقیقات نشان داده است که گروه‌های هیدروکسیل، پیوند دوگانه و گروه‌های کربونیل موثر در ساختار ترکیبات فنلی، پتانسیل بالایی در انتقال الکترون و مهار رادیکال-های آزاد DPPH دارند. در طول فرایند تخمیر، ترکیبات فنلی درگیر در ساختار سایر ترکیبات از جمله اسیدهای آمینه مثل لیزین، سیستئین و تریپتوفان آزاد می‌شوند و توانایی اهدای الکترون در آنها افزایش پیدا می‌کند و خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH آن‌ها بهبود می‌یابد [٣٠]. لازم به ذکر است که بعضی دیگر از ترکیبات فنلی همانند فرولیک اسید نیز دارای خاصیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد H_2O_2 هستند [٣٤]. نتایج حاضر با نتایج حاصل از تحقیق اسروکا و سیسوسکی در سال ٢٠٠٣ که تاثیر فنولیک اسیدها را روی درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH و H_2O_2 مورد ارزیابی قرار دادند، مشابهت دارد. به طوریکه نتایج آن‌ها نشان داد که ضریب همبستگی نسبتا بالایی بین فنولیک اسیدها و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد DPPH وجود دارد (٠/٨٣ = R^2) و بیان کردند که میزان این همبستگی در مورد رادیکال‌های آزاد هیدروژن پراکسید نسبت به DPPH کاهش می‌یابد (٠/٦٨ = R^2). آنها دلایل قابلیت مهار شدن رادیکال‌ها توسط این ترکیبات را مربوط به گروه‌های کربونیل و استیل فنولیک اسیدها و گروه‌های هیدروکسیل متصل شده به حلقه‌های آروماتیک آنها گزارش کردند [٣٥].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]



شکل۳ ضریب همبستگی بین فعالیت ضد اکسایشی (میزان درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و H2O2) و ترکیبات فنلی موجود در نوشیدنی‌های تخمیری پروبیوتیک بر پایه برنج.

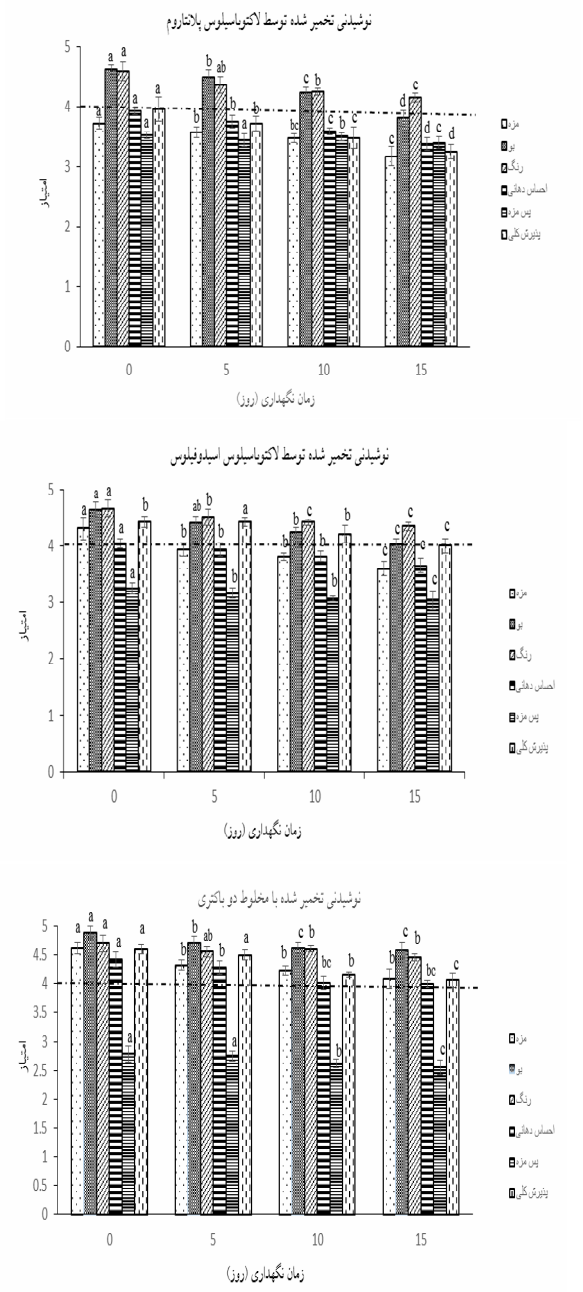
۳-۷- ویژگی‌های حسی

با توجه به این که هدف از این تحقیق تولید نوشیدنی تخمیری فراسودمند بوده است، ارزیابی حسی بین سه نوشیدنی تخمیری تولید شده، انجام گرفت. نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌ها (مزه، بو، رنگ، احساس دهانی، پس‌طعم و پذیرش کلی) در طول دوره نگهداری به مدت ۱۵ روز در شکل ٤ آورده شده است. امتیاز ٤ به بالا به عنوان امتیاز قابل قبول در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده نشان داد که با افزایش زمان نگهداری، ویژگی‌های حسی به طور معنی‌داری در حال کاهش است ($P<۰/۰۵$). به طوری که در پایان دوره نگهداری (روز پانزدهم)، کمترین امتیاز در ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های تخمیری توسط کشت‌های آغازگر مختلف مشاهده گردید. از طرفی دیگر، در بین نوشیدنی‌های تولیدی، نوشیدنی حاصل از مخلوط دو باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* در طول دوره نگهداری ویژگی‌های حسی بالاتر و قابل قبولی را داشته است. بنابراین این نوشیدنی به عنوان بهترین نمونه از لحاظ ویژگی‌های حسی در نظر گرفته شد. *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* یک باکتری هموفرمنتاتیو[15] است که در هنگام تخمیر، کربوهیدرات‌ها را از طریق مسیر (EMP)[16] گلیکولیز و عمده محصول نهایی آن اسید لاکتیک می‌باشد. اما *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* هتروفرمنتاتیو[17] است و علاوه بر اسید لاکتیک، ترکیباتی دیگر از جمله استات (از طریق مسیر پنتوز فسفات) تولید می‌نماید که باعث ایجاد ویژگی‌های حسی متفاوت در محصول تولیدی توسط این دو باکتری می‌شود [٦]. نتایج مشابهی در این زمینه گزارش شده است. راثور و همکاران در سال ۲۰۱۲ نشان دادند که غذاهای پروبیوتیک به دست آمده از یک کشت آغازگر، به سختی توسط مصرف کننده پذیرفته می‌شود و کشت‌های مخلوط از قابلیت پذیرش بالاتری برخوردارند. دلیل اصلی این امر، مزه‌های متنوع و متفاوت ایجاد شده توسط میکروارگانیسم‌های مختلف موجود در یک نوع محصول تخمیری می‌باشد. همچنین ممکن است که در اثر تعامل بین دو میکروارگانیسم، متابولیت‌های مختلفی توسط یک میکروارگانیسم تولید شود و این متابولیت‌ها توسط دیگری متابولیزه شود و به

15. Homofermentative
16. Embden–Meyerhof–Parnas
17. Heterofermentative

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

ترکیبات دیگری تبدیل شود که در نتیجه باعث بهبود ویژگی‌های حسی شود [٦و١١].



شکل ٤ تغییرات در ویژگی‌های حسی (مزه، بو، رنگ، احساس دهانی، پس‌مزه و پذیرش کلی) نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه برنج در طول دوره نگهداری به مدت ١٥ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس. اعداد حداقل با یک حروف مشابه از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند(آزمون توکی در سطح آماری ٥ درصد.

٣-٨- درصد الکل

نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تمام نوشیدنی‌های تخمیری تولید شده فاقد الکل بودند و مشخص شد که فرایند تخمیر توسط لاکتیک اسید باکتری‌ها و همچنین نگهداری به مدت ١٥ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس، بر فرایند تولید الکل بی تأثیر بوده است. از آنجا که درصد الکل موجود در غذاهای تخمیری بر پایه غلات، بستگی به زمان تخمیر دارد و با افزایش زمان تخمیر میزان الکل موجود در محصول نیز افزایش می‌یابد، احتمال می‌رود که ١٥ روز دوره نگهداری، برای تولید الکل کافی نبوده است [٢٥]. از طرفی کاپلیس و فیتزگرالد در سال ١٩٩٩ نیز گزارش کردند که درصد الکل تولید شده به خصوص اتانول در محصولات تخمیر شده توسط لاکتیک اسید باکتری‌ها بسیار ناچیز است و نقش آن به عنوان یک عامل ضد باکتری و شاخص‌های کیفی ناچیز می‌باشد [٣٧].

٤- نتیجه‌گیری

در تحقیق حاضر، نوشیدنی تخمیری بر پایه برنج با استفاده از باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با سه نسبت ترکیبی متفاوت ٠-١٠٠، ١٠٠-٠ و ٥٠-٥٠ تولید و ترکیبات زیست-فعال، ویژگی‌های ضداکسایشی، حسی و میزان زنده‌مانی باکتری‌ها در طول دوره نگهداری نوشیدنی‌ها به مدت ١٥ روز در دمای ٤ درجه سلسیوس بررسی شد. نتایج نشان داد که باکتری‌ها پس از ١٥ روز نگهداری نوشیدنی‌های تخمیری پروبیوتیک در یخچال، زنده‌مانی خود را تا حد میزان تعریف شده برای غذاهای فراسودمند پروبیوتیکی (10^{7}-10^{6} واحد لگاریتمی در هر میلی‌لیتر) حفظ نمودند. همچنین مشخص شد که فرایند تخمیر باعث افزایش در محتوای فنل کل، فلاوونوئید کل، فعالیت ضداکسایشی (مهار رادیکال‌های DPPH و H_2O_2) در هر سه نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک می‌شود. اما نوشیدنی تهیه شده از مخلوط دو باکتری مورد استفاده، نسبت به دو نوع دیگر که تنها با یک باکتری تولید شده بودند، افزایش بیشتری را در این ویژگی‌ها نشان داد. ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های پروبیوتیک تخمیر شده توسط مخلوط دو باکتری نیز در طول دوره نگهداری، توسط داوران بالاتر از بقیه نمونه‌ها

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

گزارش شد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک، می‌تواند به عنوان یک نوشیدنی مفید و فراسودمند جایگزین نوشیدنی‌های مضر موجود در بازار باشد.

۵- منابع

[1] Rivera-Espinoza, Y., & Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. Food Microbiology, 27(1), 1-11.

[2] Spence, S. H., Holmes, J. M., March, S., & Lipp, O. V. (2006). The feasibility and outcome of clinic plus internet delivery of cognitive-behavior therapy for childhood anxiety. Journal of Consulting and Clinical Psychology,74(3), 614

[3] Reid, G., Jass, J., Sebulsky, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. Clinical Microbiology Reviews,16(4), 658-672.

[4] Kaur, S., & Das, M. (2011). Functional foods: an overview. Food Science and Biotechnology, 20(4), 861-875.

[5] Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review.International Journal of Food Microbiology, 79(1), 131-141.

[6] Rathore, S., Salmerón, I., & Pandiella, S. S. (2012). Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. Food Microbiology, 30(1), 239-244.

[7] Slavin, J. (2010). Whole grains and digestive health. Cereal Chemistry, 87(4), 292-296.

[8] Fardet, A., Rock, E., & Rémésy, C. (2008). Is the in vitro antioxidant potential of whole-grain cereals and cereal products well reflected in vivo? Journal of Cereal Science, 48(2), 258-276.

[9] Blandino, A., Al-Aseeri, M. E., Pandiella, S. S., Cantero, D., & Webb, C. (2003). Cereal-based fermented foods and beverages. Food Research International, 36(6), 527-543.

[10] Portal of Rice Research Institute (1389). http //: Berenj.areo.ir.

[11] Hassan, A., Aly, M., & El–Hadidie, S. (2012). Production of cereal–based probiotic beverages. World Applied Sciences Journal, 19, 1367–1380.

[12] Angelov, A., Gotcheva, V., Kuncheva, R., & Hristozova, T. (2006). Development of a new oat-based probiotic drink. International Journal of Food Microbiology, 112(1), 75-80.

[13] Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M., 1989. Counting microorganism. In: Collins, C.H., Lyne, P.M., Grange, J.M. (Eds.), Microbiological Methods. Butterworth-Heinemann, Oxford, UK, pp. 127-140.

[14] Blaiotta, G., La Gatta, B., Di Capua, M., Di Luccia, A., Coppola, R., & Aponte, M. (2013). Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic Lactobacillus strains under gastrointestinal tract conditions. Food Microbiology, 36(2), 161-169.

[15] AOAC - Association of Official Analytical Chemist, 2000. In: AOAC (Ed.), Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist, seventeenth ed. Washington.

[16] Sharma S, Kori S, Parmar A. (2015).

Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices. Food Chemistry 185, 284‑288.

[17] Ruch, R. J., Cheng, S. J., & Klaunig, J. E. (1989). Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis, 10(6), 1003-1008.

[18] Al-Saeedi, A. H., & Hossain, M. A. (2015). Total phenols, total flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds crude extracts of pigeon pea traditionally used in Oman for the treatment of several chronic diseases. Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 5(4), 316-321.

[19] National standard of Iran No.2685, 1st. revision. 1386. Fruit juices – Test methods.

[20] Mousavi, Z. E., Mousavi, S. M., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., & Kiani, H. (2013). Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 27(1), 123-128.

[21] Tripathi, M. K., & Giri, S. K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. Journal of Functional Foods, 9, 225-241.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

[22] Coda, R., Rizzello, C. G., Trani, A., & Gobbetti, M. (2011). Manufacture and characterization of functional emmer beverages fermented by selected lactic acid bacteria. Food Microbiology, 28(3), 526-536.
[23] Yoon, S. J., Park, J. M., Gu, J. G., Lee, J. S., An, J. H., Kim, S. H., & Yang, C. Y. (2013). Establishment of quality criteria and estimate of shelf-life for yogurt beverage and stirred-type yogurt in Korea. Food Science and Biotechnology, 22(2), 477-483.
[24] Shori, A. B. (2016). Influence of food matrix on the viability of probiotic bacteria: A review based on dairy and non-dairy beverages. Food Bioscience, 13, 1-8.
[25] Akpinar-Bayizit, A., Yilmaz-Ersan, L., & Ozcan, T. (2010). Determination of boza's organic acid composition as it is affected by raw material and fermentation. International Journal of Food Properties, 13, 648–656.
[26] Todorov, S. D., & Holzapfel, W. H. (2014). Traditional cereal fermented foods as sources of functional microorganisms. Advances in Fermented Foods and Beverages: Improving Quality, Technologies and Health Benefits, 123.
[27] Shobharani, P., Nanishankar, V. H., Halami, P. M., & Sachindra, N. M. (2014). Antioxidant and anticoagulant activity of polyphenol and polysaccharides from fermented Sargassum sp. International Journal of Biological Macromolecules, 65, 542-548.
[28] Wang, Y. C., Yu, R. C., & Chou, C. C. (2006). Antioxidative activities of soymilk fermented with lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiology, 23(2), 128-135.
[29] Lin, M. Y., & Yen, C. L. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47(4), 1460-1466.
[30] Zhao, D., & Shah, N. P. (2014). Changes in antioxidant capacity, isoflavone profile, phenolic and vitamin contents in soymilk during extended fermentation. LWT-Food Science and Technology, 58(2), 454-462.
[31] Dorđević, T. M., Šiler-Marinković, S. S., & Dimitrijević-Branković, S. I. (2010). Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. Food Chemistry, 119(3), 957-963.
[32] Juan, M. Y., & Chou, C. C. (2010). Enhancement of antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of black soybeans by solid state fermentation with Bacillus subtilis BCRC 14715. Food Microbiology, 27(5), 586-591.
[33] Wang, C. Y., Wu, S. J., & Shyu, Y. T. (2014). Antioxidant properties of certain cereals as affected by food-grade bacteria fermentation. Journal of Bioscience and Bioengineering, 117(4), 449-456.
[34] Paździoch-Czochra, M., & Wideńska, A. (2002). Spectrofluorimetric determination of hydrogen peroxide scavenging activity. Analytica Chimica Acta, 452(2), 177-184.
[35] Sroka, Z., & Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. Food and Chemical Toxicology, 41(6), 753-758.
[36] Salmerón, I., Thomas, K., & Pandiella, S. S. (2015). Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. Journal of Functional Foods, 15, 106-115.
[37] Caplice, E. and Fitzgerald, G. F. (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. International Journal of Food Microbiology, 50: 131-149.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]

Production of rice based functional fermented beverage contain honey natural sweetener

Izadi Kondazi, A. [1], Zarringhalami, S. [2*], Ganjloo, A. [2]

1. MS.c Student, Dept. of Food Science and Technology, College of agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2. Assistant prof, Dept. of Food Science and Technology, College of agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

(Received: 95/2/1 Accepted: 95/8/18)

The current research was conducted to produce rice based functional fermented beverage using *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* probiotic bacteria with three different combinations (0-100, 100-0 and 50-50 ratio) and with addition of 5% of honey as natural sweetener and evaluation of its bioactive compounds (total phenols and total flavonoids), antioxidant activity, sensory characteristics and bacterial viability during 15 days of storage at 4ºC. The results indicated that the beverage which produced using combination of two bacteria possess higher bioactive compounds, antioxidant activity and sensory characteristics compared to other beverages that contain one type of used bacteria and also showed desirable and acceptable sensory characteristics during 15 days of storage. In addition, the beverage which produced with *Lactobacillus Acidophilus* showed the highest bacterial viability during storage but bacterial population in all samples were higher than determined bacterial population for functional foods (at least 10^6-10^7 CFU/ml). So, the product which produced using combination of two bacteria can be considered as functional beverage.

Keywords: Functional beverage, Rice, Honey, *Lactobacillus Plantarum, Lactobacillus Acidophilus.*

* Corresponding Author E-Mail Address: zaringhalami@znu.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-01-28]