

## تولید نوشیدنی پروبیوتیک غله‌ای بهینه‌شده به روش سطح پاسخ و بررسی ویژگی‌های آن

مهدی دسترس<sup>۱</sup>، مارال سلطان زاده<sup>۱</sup>، سید هادی پیغمبردوست<sup>۲</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز  
۲- استاد تکنولوژی مواد غذایی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز. پست الکترونیکی: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۴/۴

تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۱۷

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیشتر مواد غذایی پروبیوتیک در بازار جهانی بر پایه‌ی لبنیات بوده و تلاش‌های کمی برای تولید مواد غذایی پروبیوتیک با استفاده از دیگر سوبستراها مانند غلات انجام شده است. برنج می‌تواند به عنوان محیط پایه برای تولید بسیاری از مواد غذایی عملگرا استفاده شود، اما در ایران این غله سهم چندانی در تولید محصولات صنعتی ندارد. در این مطالعه از روش‌شناسی سطح پاسخ به منظور بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی برپایه برنج بر اساس ویژگی‌های حسی و فیزیکی‌شیمیایی استفاده گردید.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه در دو مرحله انجام شد. در مرحله‌ی نخست، فرمول بهینه بر اساس امتیاز ویژگی‌های حسی (بو، رنگ، طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی)، pH و بریکس نوشیدنی‌ها به دست آمد. متغیرهای مستقل در این پژوهش در ۵ سطح شامل عصاره برنج (۳۰-۷۰ ml)، کنسانتره پرتقال (۵-۱۵ gr) و عصاره‌های کنجد و مغز تخم‌کدو (۱۵-۰) بودند. بررسی فاکتورهای آزمایشی در قالب طرح آزمایشی مرکب مرکزی انجام شد. در مرحله‌ی دوم، فرمول بهینه تولید و باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس به آن تلقیح و محصول به مدت ۳ هفته در دمای ۴ °C نگهداری و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک بررسی گردید.

**یافته‌ها:** فرمول بهینه به صورت ۶۰ ml عصاره برنج، ۱۲/۳۳ gr کنسانتره پرتقال، ۱۱/۲۵ ml عصاره مغز تخم‌کدو و ۱۱/۲۵ ml عصاره کنجد به دست آمد. بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نشان داد که در انتهای دوره نگهداری در یخچال، همچنان تعداد باکتری‌ها بیش از میزان پیشنهادی برای تأمین اثرات سلامتی بخش ( $10^6 - 10^7$  cfu/ml) بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد چنین مطالعاتی می‌توانند روند توسعه‌ی محصولات جدید و عمل‌گرای غیرلبنی که به لحاظ تغذیه‌ای منحصربه‌فرد هستند را سرعت بخشد.

**واژگان کلیدی:** نوشیدنی عملگرا، روش سطح پاسخ

### • مقدمه

ژاپن رواج یافته است، به طوری که بیش از ۹۰ فرآورده پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتر بیفیدوم در سرتاسر جهان تولید می‌شود (۳).

اغلب مواد غذایی پروبیوتیک در بازار جهانی بر پایه‌ی شیر بوده و تلاش‌های بسیار کمی در راستای توسعه و تولید غذاهای پروبیوتیک با سایر سوبستراها، نظیر غلات، انجام شده است. توزیع گسترده و ارزش تغذیه‌ای بالای غلات، نگاه‌ها را به کاربرد آنها به عنوان مواد خام برای توسعه مواد غذایی عملگرای تخمیری به خود جلب کرده است (۴). به دلیل گرایش مصرف‌کننده به طعم‌های متفاوت و جدید، تعداد بالای گیاهخواران و نیز به این دلیل که برخی مصرف‌کنندگان

مصرف مواد غذایی و نوشیدنی‌های حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک به یک روند روبه رشد جهانی تبدیل شده است (۱). پروبیوتیک‌ها به عنوان مکمل‌های غذایی میکروبی زنده‌ای تعریف می‌شوند که اگر در مقادیر کافی مصرف شوند، فواید سلامت بخشی شامل تحریک سیستم ایمنی، ممانعت از رشد ارگانیسم‌های پاتوژن، پیشگیری از اسهال و سرطان، بهبود هضم پروتئین‌ها و چربی‌ها، سنتز ویتامین‌ها و سم‌زدایی را برای میزبان خواهند داشت (۲). همچنین یکی از کارهای موثر در پیشگیری یا حذف بیماری‌های قلبی و اغلب سرطان‌ها، مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک است که در کشورهای جهان به ویژه اروپا، آمریکا و

زیستی لاکتوباسیلوس پلانترام، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رتوتری را پس از عبور دادن از شرایط شبیه سازی شده شیره‌ی معده افزایش داد (۱۱).

تحقیقات بسیاری در زمینه‌ی تولید فرآورده‌های پروبیوتیک غله‌ای انجام شده است. جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس طی ۱۵ روز نگهداری در دمای ۵°C در نوشیدنی برنج (فاقد کنسانتره میوه و عصاره‌ی مالت) حدود ۱ log cfu/ml کاهش یافت (۱۲). بررسی زنده‌مانی باکتری‌های اسید لاکتیک در نوشیدنی عملگرای گندم سرخ نشان داد که پس از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴°C، جمعیت باکتری‌های لاکتوباسیلوس پلانترام و لاکتوباسیلوس رامنوس در حدود ۱ log cfu/ml کاهش یافت (۱۳). در پژوهشی دیگر با استفاده از لاکتوباسیلوس پلانترام و لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس سه آرد مالت، جو و مخلوط مالت- جو به منظور تولید نوشیدنی پروبیوتیک تخمیر شدند. پس از ۲۴ ساعت تخمیر، نتایج زنده‌مانی نشان داد که رشد لاکتیک اسید باکتری‌ها در محیط حاوی مالت، به دلیل ترکیب شیمیایی آن تقویت شده و موجب تولید مقادیر قابل توجهی اسید می شود (۱۴). در مطالعه‌ای برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه‌ی مالت، از گونه‌های بیفیدوباکتریوم استفاده شد. نتایج نشان داد که هر چهار گونه بیفیدوباکتریوم (*B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum*) مورد استفاده در این مطالعه به خوبی رشد کردند، هرچند افزودن یک تقویت کننده رشد "که در حالت ایده‌آل عصاره‌ی مخمر است" ضروری می‌باشد (۱۵).

در این مطالعه از کنسانتره‌ی پرتقال جهت ارتقای ویژگی‌های حسی نوشیدنی تولیدی استفاده شد. همچنین دانه‌های کنجد و کدو جهت افزایش ارزش تغذیه‌ای و نیز رشد بهتر باکتری‌های پروبیوتیک استفاده گردیدند.

هدف از این پژوهش، دستیابی به مطلوب‌ترین فرمولاسیون نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه برنج بر اساس ویژگی‌های حسی و فیزیکیوشیمیایی و بررسی قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نوشیدنی غله‌ای بهینه‌شده می‌باشد.

#### • مواد و روش‌ها

برنج، مغز تخم کدو و کنجد از فروشگاه‌های شهر تبریز خریداری شدند. کنسانتره‌ی پرتقال از شرکت کشت و صنعت نوشینه، عصاره‌ی مالت از شرکت نیرو مالت خراسان، مایه لیوفیلیز شده باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (LA-5) از شرکت CHR Hansen دانمارک، محیط کشت MRS Agar

مشکل عدم تحمل لاکتوز داشته و یا به پروتئین‌های شیر آلرژی دارند، علاقه به گسترش محصولات پروبیوتیک غیرلبنی در حال افزایش است (۵). علاوه بر این گزارش شده است که قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های بر پایه‌ی غلات بیشتر از فرآورده‌های لبنی است. از آن جا که فرآورده‌های لبنی از یک سو به دلیل اسیدیته‌ی بالا و pH پایین، محیط مناسبی برای حفظ جمعیت پروبیوتیک‌ها نیستند و از سوی دیگر به سبب اسیدی شدن و کاهش نسبی ظرفیت بافری آن‌ها، از توانایی محافظت از پروبیوتیک‌ها در این فرآورده‌ها در برابر اسید معده کاسته می‌شود. تحقیقات نشان داده‌اند فرآورده‌های پروبیوتیک بر پایه‌ی غلات از خواص حسی مطلوب برخوردارند و در مقایسه با فرآورده‌های لبنی از نظر برخی مواد مغذی نظیر ویتامین‌ها، فیبرهای رژیمی و املاح غنی‌ترند (۶).

برنج (*Oryza Satival.*) به عنوان یک محصول مهم زراعی در جهان با گندم رقابت می‌کند. با توجه به آمار FAO در سال ۲۰۰۴، در مقایسه با گندم و ذرت، برنج میزان بیشتری (۲۰٪) از کالری مصرفی انسان را تأمین می‌کند. بعد از فرآیند سفید کردن، قسمت‌هایی از برنج که حذف شده‌اند، مقادیر بسیار کمی نشاسته دارند، اما درصد بالایی روغن، پروتئین، ویتامین و مواد معدنی دارند. و بخش باقی مانده (آندوسپرم و برنج آسیاب شده) عمدتاً مرکب از کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌هاست (۷). دانه‌های کدوتنبل (*Cucurbita pepo*) غنی از چربی (۴۱٪) و پروتئین (۲۵٪) بوده و همانند روغن‌های سویا، آفتابگردان، کنجد، ذرت و پنبه دانه با توجه به پروفایل اسیدچرب آن در گروه لینولئیک-اولئیک قرار می‌گیرد (۸). کنجد (*Sesamum indicum L.*) از هزاران سال پیش جایگاه ویژه‌ای در غذای بشر داشته است. این دانه منبع مهمی از چربی (۵۸-۴۴٪)، پروتئین (۲۵-۱۸٪)، کربوهیدرات (۱۳/۵٪) و خاکستر (۵٪) است. دانه‌های روغنی کنجد منبع برخی فیتونوترینت‌ها مانند مواد معدنی، ویتامین‌ها، اسیدهای چرب امگا ۶، فلاونوئید، آنتی‌اکسیدان‌های فنولی و فیبرهای رژیمی با خواص ضد سرطانی و نیز بهبود دهنده‌ی سلامتی قوی می‌باشند (۹).

دلیل استفاده از عصاره‌ی مالت در این پژوهش، افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها به دلیل احیاکننده بودن قند می‌باشد. عصاره‌ی مالت که به دلیل شکست نشاسته طی مالت‌سازی از مالتوز بالایی برخوردار است، رشد پروبیوتیک‌ها را به خوبی تشدید می‌کند (۱۰). مطالعات حاکی از آن است که افزودن عصاره‌ی مالت به شیر پروبیوتیک تخمیری، قابلیت

۱۲۰ میلی لیتری منتقل و این بطری‌ها در حمام بن ماری (Memmert، آلمان) تحت تیمار حرارتی  $90^{\circ}\text{C}$  به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفته و در پایان نوشیدنی‌های حاصله در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند و سپس ارزیابی حسی انجام گردید (۱۶). **بریکس و pH:** بریکس با استفاده از رفرآکتومتر رومیزی (KERN، آلمان) و pH نمونه‌ها (pH سنج Hanna، ایتالیا) مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۲۶۸۵ اندازه‌گیری شدند (۱۷).

**تولید نوشیدنی پروبیوتیک بهینه‌شده:** این پژوهش در دو مرحله انجام شد. در مرحله اول تیمارها تهیه شده و پس از ارزیابی حسی و نیز اندازه‌گیری pH و بریکس آنها فرمول بهینه با استفاده از نرم افزار Design Expert 6.0.2 به دست آمد. سپس نوشیدنی بهینه‌شده تهیه و در مرحله دوم باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس پس از فعال‌سازی مطابق روش Sheehan و همکاران (۲۰۰۷) به میزان ۱٪ در محصول توزیع شد، به‌گونه‌ای که غلظت نهایی  $10^8 \times 7/5$  cfu/ml حاصل شد و سپس نوشیدنی‌ها در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳ هفته نگهداری و تعداد سلول زنده در فواصل زمانی سه هفته متوالی به روش Shah (۲۰۰۱) شمارش شدند (۱۹، ۱۸).

**آزمایشات بهینه‌سازی:** در این پژوهش برای بهینه‌سازی فرمولاسیون نوشیدنی بر پایه‌ی برنج از روش سطح پاسخ در قالب طرح آزمایشی مرکب مرکزی (Central Composite Design) و نرم افزار Design Expert 6.0.2 استفاده شد. فاکتورهای تعریف شده در این تحقیق و سطوح هر کدام از آن‌ها در جدول ۲ آورده شده‌اند. فرمول‌های ارائه شده توسط نرم افزار ۳۰ حالت بود (جدول ۱). در این پژوهش، بهینه‌یابی محصول به‌گونه‌ای انجام شد که کمترین امتیاز بو (به علت بوی خفیف آردی در برخی نوشیدنی‌ها)، بیشترین امتیاز رنگ، طعم، احساس دهانی، پذیرش کلی و pH و در محدوده قرار گرفتن مقدار بریکس حاصل شود. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را بر روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید که در فرمول ۱ قابل مشاهده می‌باشد. در این معادله  $Y_n$  متغیر وابسته یا پاسخ مدل،  $X_1, X_2, X_3, X_4$  متغیرهای مستقل،  $\beta_1, \beta_2, \beta_3$  و  $\beta_4$  ضرایب خطی معادله می‌باشند. همچنین  $\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}, \beta_{44}$  و  $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{14}, \beta_{23}, \beta_{24}$  و  $\beta_{34}$  ضرایب درجه دوم معادله می‌باشند. مدل درجه دوم برای پیشگویی رفتار پاسخ‌ها مدلی مناسب تشخیص داده شد، ولی در رابطه با پاسخ pH، مدل خطی بهتر

MRS Broth و پکتین (E440) از شرکت Merck آلمان تهیه شدند.

**ارزیابی حسی نمونه‌ها:** ارزیابی حسی نمونه‌ها به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای انجام شد. برای بررسی خواص حسی نوشیدنی‌ها، یک گروه ۱۰ نفری پانلیست انتخاب شد که بر اساس ویژگی‌های حسی فرآورده (بو، رنگ، طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی) نظرات خود را مشخص کردند. برای این منظور فرم‌های ارزیابی حسی تهیه و تیمارهای نوشیدنی در اختیار ارزیاب‌ها قرار داده شد. بیشترین امتیاز ۵ و کمترین امتیاز ۱ در نظر گرفته شد (۱۶).

**آماده‌سازی عصاره‌ها و تولید نوشیدنی‌ها:** عصاره‌ها به روش Hassan و همکاران (۲۰۱۲) تهیه شدند (۱۲). برنج به مدت ۲ ساعت خیسانده و سپس آبکشی شد. پس از آن به نسبت ۱:۳ با آب مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه پخته و در نهایت پس از جداکردن عصاره و افزودن آب، عصاره برنج حاصل گردید. برای تهیه عصاره‌ی تخم کدو، مغز دانه‌های تخم کدو تحت عملیات آسیاب مرطوب (به‌وسیله آسیاب تفال مدل Prepline Coffee Grinder 8100) قرار گرفته (به نسبت ۱:۱ با آب) و سپس به‌وسیله الک و پارچه صافی، عصاره‌ی حاصله جدا شد. همچنین برای تهیه عصاره‌ی کنجد، دانه‌های کنجد پس از ۸ ساعت خیساندن، آبکشی شده و در مرحله بعد عملیات آسیاب مرطوب (به نسبت ۱:۱ با آب) انجام شد. سپس به‌وسیله الک و پارچه صافی، عصاره جدا شده و مورد استفاده قرار گرفت. متغیرهای مورد بررسی در این تحقیق عصاره برنج، عصاره مغز دانه کدو، عصاره کنجد و کنسانتره پرتقال بودند. همچنین عصاره مالت استفاده شده در این پژوهش به میزان ۶٪ (w/v) و پکتین به میزان ۰/۱ (w/v) بود که به ترتیب برای بهبود قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک و جلوگیری از دوفازه شدن طی دوره نگهداری در یخچال به نوشیدنی‌ها افزوده شد. حداکثر و حداقل مقادیر متغیرهای فوق بر اساس آزمون‌های حسی اولیه و کارهای تحقیقاتی انجام شده تعیین گردید. بعد از آماده‌سازی عصاره‌ها، نوشیدنی‌های غله‌ای بر پایه‌ی برنج با مخلوط کردن کنسانتره‌ی پرتقال، عصاره‌ی مالت، پکتین و عصاره‌های برنج، مغز تخم کدو و کنجد مطابق با طرح RSM (Response Surface Methodology) (جدول ۱) تهیه شدند. ابتدا عصاره‌ی مالت و پکتین با یکدیگر ترکیب و سپس کنسانتره پرتقال به آن‌ها اضافه شد. در مرحله بعد پس از افزودن عصاره‌ی برنج و عصاره‌های مغز تخم کدو و کنجد، مخلوط حاصله تا اختلاط کامل توسط همزن، هم زده شد و سپس به بطری‌های PET

آماري قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح خطای ۵٪ انجام شد. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel 2010 و Desing-Expert 6.0.2 رسم شدند.

### • یافته‌ها

**بو:** با توجه به نتایج، نمونه ۲۹ حائز کمترین امتیاز بو (۳) و نمونه ۳۰ بیشترین (۳/۷) امتیاز بو را کسب کرد. شکل ۱- الف تأثیر سطوح مختلف عصاره برنج و کنسانتره پرتقال بر امتیاز بوی نوشیدنی بر پایه برنج را نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود با افزایش مقدار کنسانتره در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها، امتیاز بو افزایش می‌یابد. انحنای منحنی با معنی دار بودن عبارت درجه دوم عصاره برنج و نیز کنسانتره تأیید می‌شود.

توانست رفتار این پاسخ را توصیف کند. نتایج آنالیز واریانس و مدل‌سازی اثر متغیرهای مستقل روی پاسخ‌های نوشیدنی بر پایه‌ی برنج در جدول ۳ آورده شده است. در مدل‌های گزینش شده، آزمون عدم برآزش در سطح احتمال ۹۵٪ برای تمام صفت‌ها معنی دار نبود. این مسئله بیانگر آن است که مدل‌های انتخابی به خوبی روند داده‌ها را نشان می‌دهند.

معادله ۱:

$$Y_n = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_4 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{44} X_4^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{14} X_1 X_4 + \beta_{23} X_2 X_3 + \beta_{24} X_2 X_4 + \beta_{34} X_3 X_4$$

**تجزیه و تحلیل آماری:** آزمایشات فیزیوشیمیایی و حسی نوشیدنی‌های بهینه و پروبیوتیک طی دوره نگه‌داری در قالب طرح کاملاً تصادفی و در حداقل سه تکرار انجام گرفت. نتایج به‌دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS 16.0 مورد تجزیه تحلیل

جدول ۱. فرمولاسیون نوشیدنی‌ها بر اساس طرح مرکب مرکزی

تیمار	عصاره برنج (ml)	کنسانتره پرتقال (gr)	عصاره مغز تخم کدو (ml)	تیمار	عصاره کنجد (ml)	عصاره مغز تخم کدو (ml)	کنسانتره پرتقال (gr)	عصاره برنج (ml)	عصاره کنجد (ml)
۱	۶۰	۷/۵	۱۱/۲۵	۱۶	۱۱/۲۵	۱۱/۲۵	۷/۵	۵۰	۷/۵
۲	۶۰	۱۲/۵	۱۱/۲۵	۱۷	۱۱/۲۵	۱۱/۲۵	۱۲/۵	۴۰	۳/۷۵
۳	۵۰	۱۰	۷/۵	۱۸	۷/۵	۷/۵	۱۰	۴۰	۱۱/۲۵
۴	۳۰	۱۰	۷/۵	۱۹	۷/۵	۷/۵	۱۰	۵۰	۷/۵
۵	۶۰	۱۲/۵	۱۱/۲۵	۲۰	۳/۷۵	۱۱/۲۵	۱۲/۵	۵۰	۷/۵
۶	۵۰	۱۰	۷/۵	۲۱	.	۷/۵	۱۰	۶۰	۳/۷۵
۷	۴۰	۷/۵	۱۱/۲۵	۲۲	۱۱/۲۵	۱۱/۲۵	۷/۵	۵۰	۷/۵
۸	۷۰	۱۰	۷/۵	۲۳	۷/۵	۷/۵	۱۰	۴۰	۳/۷۵
۹	۴۰	۱۲/۵	۱۱/۲۵	۲۴	۱۱/۲۵	۳/۷۵	۱۲/۵	۶۰	۱۱/۲۵
۱۰	۶۰	۷/۵	۱۱/۲۵	۲۵	۳/۷۵	۱۱/۲۵	۷/۵	۵۰	۱۵
۱۱	۴۰	۷/۵	۱۱/۲۵	۲۶	۳/۷۵	۱۱/۲۵	۷/۵	۵۰	۷/۵
۱۲	۵۰	۵	۷/۵	۲۷	۷/۵	۷/۵	۵	۶۰	۳/۷۵
۱۳	۵۰	۱۰	۷/۵	۲۸	۷/۵	۷/۵	۱۰	۵۰	۷/۵
۱۴	۵۰	۱۰	۷/۵	۲۹	۷/۵	۷/۵	۱۰	۶۰	۱۱/۲۵
۱۵	۴۰	۱۲/۵	۱۱/۲۵	۳۰	۱۱/۲۵	۱۱/۲۵	۱۲/۵	۴۰	۳/۷۵

جدول ۲. متغیرهای مستقل و سطوح مورد استفاده آن‌ها در فرمولاسیون نوشیدنی‌های برنج

سطوح و کدها					نماد	متغیرهای مستقل
-۲	-۱	۰	+۱	+۲		
۳۰	۴۰	۵۰	۶۰	۷۰	X <sub>1</sub>	عصاره برنج (ml)
۵	۷/۵	۱۰	۱۲/۵	۱۵	X <sub>2</sub>	کنسانتره پرتقال (gr)
.	۳/۷۵	۷/۵	۱۱/۲۵	۱۵	X <sub>3</sub>	عصاره مغز تخم کدو (ml)
.	۳/۷۵	۷/۵	۱۱/۲۵	۱۵	X <sub>4</sub>	عصاره کنجد (ml)

جدول ۳. نتایج آنالیز واریانس و مدل سازی متغیرهای مستقل در پاسخ‌های نوشیدنی برنج

CV	R <sup>2</sup> <sub>adj</sub>	R <sup>2</sup>	مدل	آزمون
۲/۲۵	۰/۸۴۹۸	۰/۹۲۲۳	$Y_1 = +۳/۴۷ - ۰/۱۱ X_1 + ۰/۳۳ X_3 - ۰/۰۵۲ X_1^2 - ۰/۰۷۷ X_2^2 - ۰/۰۱۱ X_3^2 - ۰/۰۶۵ X_4^2$	بو
۱/۳۰	۰/۸۴۹۵	۰/۹۲۲۲	$Y_2 = +۳/۳۷ - ۰/۰۶۲ X_1 + ۰/۰۴۶ X_2 - ۰/۰۲۸ X_1^2 + ۰/۰۲۲ X_3^2 + ۰/۰۳۴ X_4^2$	رنگ
۳/۶۲	۰/۸۳۴۲	۰/۹۱۴۸	$Y_3 = +۳/۲۲ + ۰/۰۵۸ X_2 + ۰/۱۸ X_1^2 + ۰/۱۲ X_3^2 + ۰/۱۸ X_4^2$	طعم
۲/۷۹	۰/۸۱۴۹	۰/۹۰۴۳	$Y_4 = +۳/۲۳ + ۰/۰۹۲ X_2 + ۰/۰۵۰ X_4 + ۰/۰۹۶ X_1^2 + ۰/۰۹۶ X_2^2 + ۰/۰۷۱ X_3^2 + ۰/۱۲ X_4^2$	احساس دهانی
۲/۹۱	۰/۸۴۹۲	۰/۹۲۲۰	$Y_5 = +۳/۲۸ + ۰/۱۵ X_2 + ۰/۱۰ X_1^2 + ۰/۰۶۴ X_3^2 + ۰/۱۴ X_4^2$	پذیرش کلی
۲/۱۷	۰/۹۷۱۴	۰/۹۸۵۲	$Y_6 = +۱۳/۸۳ - ۰/۹۸ X_1 + ۱/۵۲ X_2 - ۰/۴۴ X_3 - ۰/۵۱ X_4 + ۰/۲۶ X_1^2$	بریکس
۰/۸۹	۰/۸۹۶۸	۰/۹۱۱۰	$Y_7 = +۳/۳۷ - ۰/۰۹۷ X_2$	pH

دارای کمترین (۳) امتیاز پذیرش کلی می‌باشند. همانطور که در شکل ۱- ت نیز مشاهده می‌شود با افزایش کنسانتره و عصاره‌ی کنجد در فرمولاسیون نوشیدنی‌ها امتیاز پذیرش کلی افزایش می‌یابد.

**بریکس:** نتایج اندازه‌گیری بریکس نوشیدنی‌ها نشان داد که بیشترین (۱۹) و کمترین (۱۱) مقدار بریکس به ترتیب مربوط به نمونه‌های ۲۳ و ۱۲ بود. شکل ۱- ج تأثیر سطوح مختلف عصاره‌ی برنج و کنسانتره‌ی پرتقال را بر روی بریکس نوشیدنی برنج نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود با افزایش مقادیر کنسانتره، میزان بریکس به‌طور خطی افزایش می‌یابد. تأثیر افزایش میزان کنسانتره بر افزایش مقدار بریکس امری روشن و واضح است، چرا که سایر متغیرهای فرمولاسیون عصاره‌های آبی بودند و فقط در صورت افزایش مقادیر کنسانتره، بریکس نوشیدنی‌ها افزایش پیدا می‌کند.

**pH:** کمترین (۳/۲) و بیشترین (۳/۵۳) مقادیر pH اندازه‌گیری شده به ترتیب برای نمونه‌های ۲۰ و ۱۲ بودند. همان‌طور که از شکل ۱- ح استنباط می‌شود با افزایش کنسانتره‌ی پرتقال، میزان pH کاهش می‌یابد که امری کاملاً بدیهی به نظر می‌رسد.

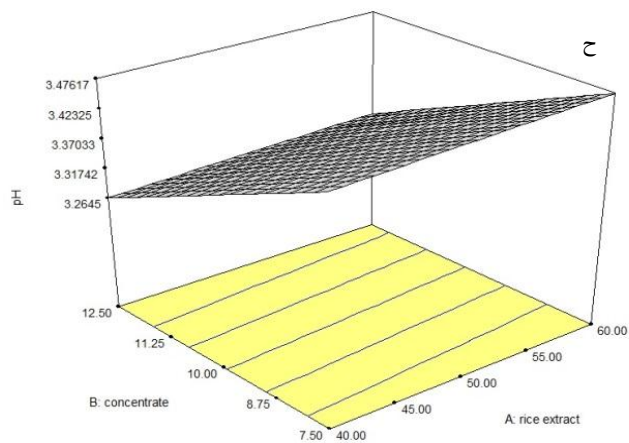
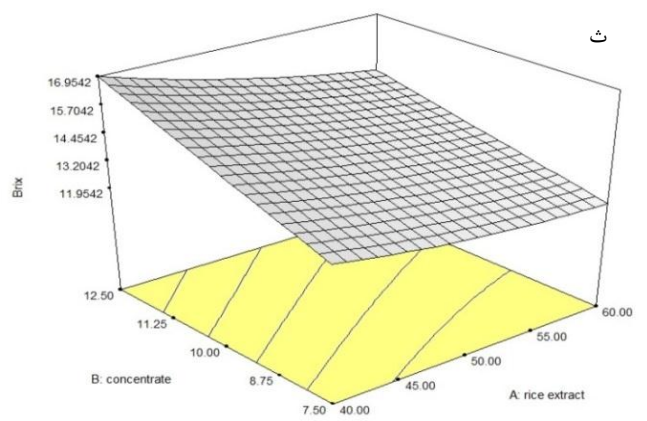
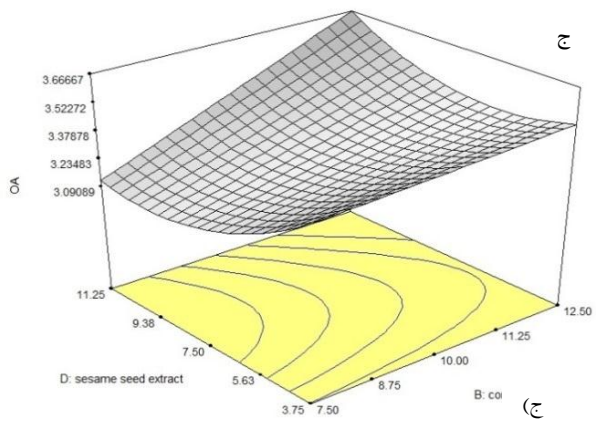
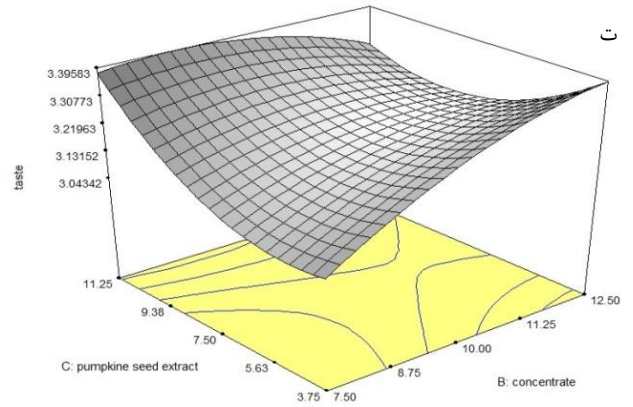
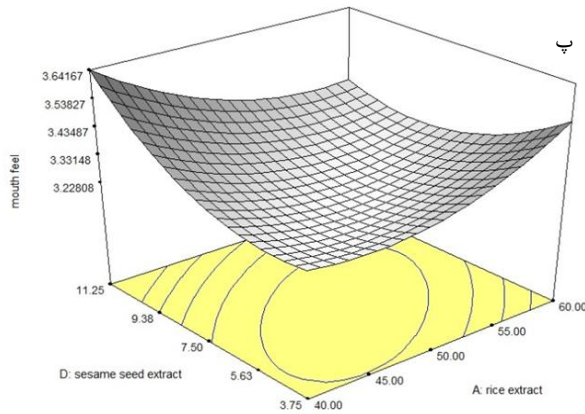
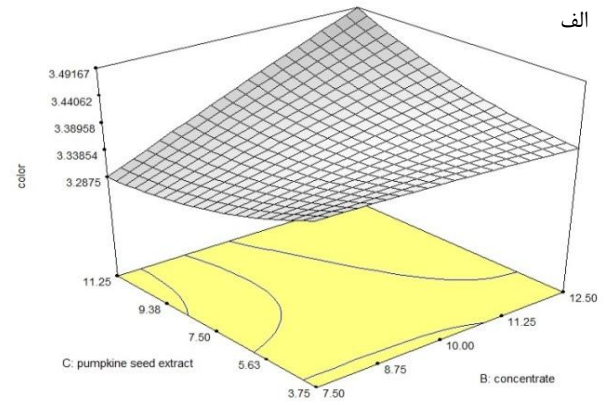
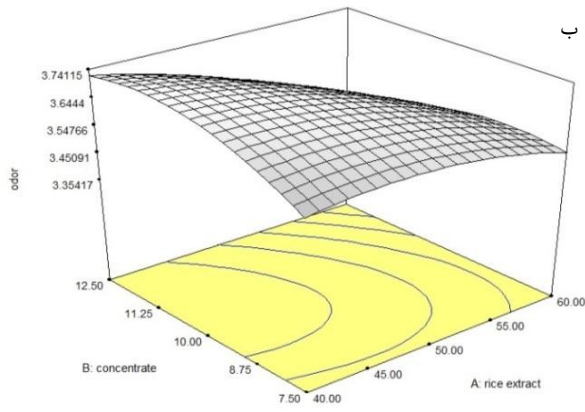
**تعیین فرمولاسیون بهینه:** فرمول بهینه پیشنهادی توسط نرم‌افزار که بالاترین مطلوبیت را داشت، دارای ۶۰ ml عصاره‌ی برنج، ۱۲/۳۳ gr کنسانتره‌ی پرتقال، ۱۱/۲۵ ml عصاره‌ی مغز تخم کدو و ۱۱/۲۵ ml عصاره‌ی کنجد بود. بر این اساس با بکارگیری این مقادیر می‌توان با اطمینان ۷۶ درصد به فرمولاسیون نوشیدنی میوه‌ای بر پایه‌ی برنج با ویژگی‌های حسی بهینه دست یافت. در مرحله دوم این پژوهش پس از تهیه فرمولاسیون بهینه، باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس /سیدوفیلوس به آن تلقیح و زنده‌مانی این باکتری طی سه هفته بررسی شد که نتایج آن در ادامه آورده شده است.

**رنگ:** نتایج نشان داد که بیشترین امتیاز رنگ (۳/۶) مربوط به نمونه شماره ۳۰ و کمترین امتیاز آن (۳/۱) مربوط به نمونه ۱۰ می‌باشد. همان‌گونه که در شکل ۱- ب مشخص است با افزایش میزان کنسانتره‌ی پرتقال، امتیاز رنگ نوشیدنی‌ها افزایش می‌یابد.

**طعم:** با توجه به نتایج امتیازات داوران حسی، بیشترین (۴/۱) و کمترین (۳) امتیاز طعم به ترتیب مربوط به نمونه‌های ۲۶ و ۲۰ بودند. با بررسی شکل ۱- پ نیز می‌توان این مطلب را بیان نمود که در مقادیر ثابت عصاره‌ی مغز تخم کدو، با افزایش کنسانتره‌ی پرتقال امتیاز طعم نوشیدنی‌ها افزایش پیدا می‌کند. Najafi و Mohebbi (۲۰۰۴) بیان کردند که کنسانتره‌ی پرتقال موجب پوشاندن طعم نوشیدنی بر پایه‌ی آب پنیر شد و ویژگی‌های حسی این نوشیدنی را بهبود بخشید (۲۰). نوشیدنی‌های تولیدی در تحقیق حاضر به دلیل فرمولاسیون خاص آنها و نیز وجود عصاره‌ی مالت در ترکیب آنها، طعم متفاوت و مطلوبی داشتند که رضایت ارزیاب‌ها را کسب کرد.

**احساس دهانی:** با بررسی امتیازات داوران حسی، مشخص شد نمونه ۱۵ بیشترین (۴/۱) و نمونه ۱۳ کمترین (۳/۱) امتیاز احساس دهانی را به خود اختصاص داده‌اند. شکل ۱- ت اثر متقابل عصاره‌ی برنج و عصاره‌ی کنجد را بر روی امتیاز احساس دهانی نوشیدنی برنج نشان می‌دهد. همان‌گونه که مشاهده می‌شود در مقادیر ثابت عصاره‌ی کنجد با افزایش عصاره‌ی برنج امتیاز احساس دهانی نوشیدنی‌ها افزایش می‌یابد. انحنای منحنی با معنی دار بودن عبارات درجه دوم عصاره‌ی برنج و عصاره‌ی کنجد تأیید می‌شود. مشخص است که وجود عصاره‌ی برنج غنی از نشاسته در فرمولاسیون، به هنگام مصرف موجب ایجاد احساس دهانی و قوام مطلوب در نوشیدنی‌ها می‌شود که باعث رضایت ارزیاب‌ها گردید.

**پذیرش کلی:** با در نظر گرفتن نتایج ارزیابی حسی داوران مشخص می‌شود که نمونه ۲ دارای بیشترین (۴) و نمونه ۱۸



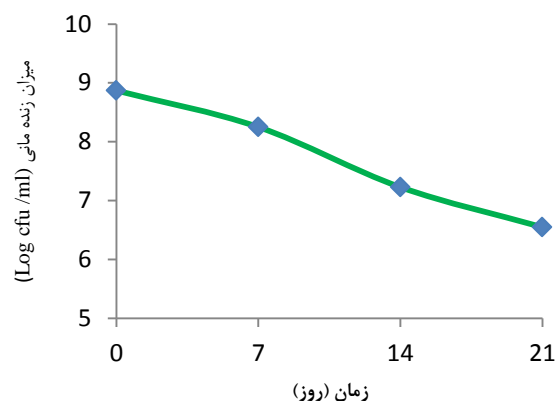
شکل ۱. نمایش نمودار سه بعدی اثر همزمان متغیرهای مستقل (عصاره برنج، کنسانتره پرتقال، عصاره مغز تخم کدو و کنجد) بر روی ویژگی‌های حسی و فیزیکی-شیمیایی نوشیدنی برنج (بو، رنگ، طعم، احساس دهانی، پذیرش کلی، بریکس و pH)

(۲۳). اما با توجه به حالت شیری رنگ عصاره‌ی برنج و رنگ سبز و سفید عصاره‌های مغز تخم کدو و کنجد و ترکیب آن‌ها با کنسانتره‌ی پرتقال، از شدت رنگ مطلوب و مورد نظر نوشیدنی‌ها کاسته شد، به گونه‌ای که بیشترین امتیاز رنگ مربوط به نمونه شماره ۳۰ بود. از نظر محققان، برای تولید نوشیدنی غله‌ای که قادر به کسب رضایت مصرف کنندگان باشد، باید آن را با آب میوه‌ها مخلوط کرد (۲۴). Mohebbi و Najafi (۲۰۰۴) بیان کردند که کنسانتره‌ی پرتقال موجب پوشاندن طعم نوشیدنی بر پایه‌ی آب پنیر شد و ویژگی‌های حسی این نوشیدنی را بهبود بخشید (۲۰). نوشیدنی‌های تولیدی در تحقیق حاضر به دلیل فرمولاسیون خاص آنها و نیز وجود عصاره‌ی مالت در ترکیب آنها، طعم متفاوت و مطلوبی داشتند که رضایت ارزیاب‌ها را کسب کرد.

آب میوه‌ها به خوبی می‌توانند ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های جدید را بهبود بخشند. Valim و Elizeu (۲۰۰۳) مطالعه‌ای جهت بررسی مقبولیت حسی نوشیدنی شیر سویا بر پایه‌ی آب پرتقال انجام دادند. نتایج نشان داد اضافه کردن آب پرتقال به شیر سویا باعث افزایش طعم، آروما و پذیرش کلی خواهد شد و مقبولیت ارزیاب‌ها را کسب کرد (۲۵).

همان گونه که ذکر شد اسیدیته این نوشیدنی نیز در ابتدا ۰/۶۶۵٪ بود که در پایان زمان نگهداری در یخچال با افزایشی معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) به ۰/۷۲۷٪ افزایش یافت که با یافته‌های Shaykhgaseemi و Zomorodi مطابقت داشت (۲۶). چنین روند کاهشی pH توسط دیگر محققان نیز بیان شده است (۲۷ و ۲۸). نتایج اندازه‌گیری تغییرات pH آب پرتقال و آب سیب تلقیح شده با باکتری‌های آزاد لاکتوباسیلوس-اسیدوفیلوس طی ۶ هفته نشان داد که میزان pH آب پرتقال و آب سیب به ترتیب از مقدار اولیه ۲/۸۱ و ۲/۹۵ به مقدار نهایی ۲/۵۷ و ۲/۴ کاهش یافت (۲۹). در این ارتباط Yanez و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که pH پایین محیط می‌تواند منجر به کاهش سرعت رشد حداکثر و افزایش زمان فاز تأخیری گردد (۳۰). در پژوهشی که توسط Hassan و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفت، عصاره‌های برنج و ارزن با سویه تجاری مخلوط باکتری‌های پروبیوتیک ABT-2 (*L. S. acidophilus and Bifidobacterium BB-12 thermophilus*) تلقیح شدند. نتایج بررسی زنده‌مانی باکتری‌ها نشان داد که در نوشیدنی برنج، تعداد باکتری‌های *S. thermophilus* پس از ۱۵ روز نگهداری در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد از  $9/68 \log \text{cfu/ml}$  به  $8/01 \log \text{cfu/ml}$  کاهش

**بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و تغییرات pH و اسیدیته طی دوره نگهداری:** نمودار ۱ بیانگر روند تغییرات تعداد باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نوشیدنی بر پایه‌ی برنج طی نگهداری در یخچال می‌باشد. نتایج نشان داد این محصول بعد از گذشت ۲۱ روز نگهداری در یخچال همچنان توانست پروبیوتیک بماند و تعداد باکتری‌های پروبیوتیک آن از میزان استاندارد ( $10^7 - 10^6 \text{cfu/ml}$ ) بالاتر باشد. میزان باکتری تلقیح شده به نوشیدنی‌های بر پایه برنج حدود  $7/5 \times 10^8 \text{cfu/ml}$  بود که پس از سه هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، به تعداد  $3/6 \times 10^6 \text{cfu/ml}$  کاهش یافت. همچنین pH اولیه نوشیدنی بر پایه‌ی برنج ۳/۷۵ بود که پس از ۲۱ روز نگهداری در یخچال تغییر معنی‌داری نموده ( $p < 0/05$ ) و به ۳/۶۹ رسید. اسیدیته این نوشیدنی نیز در ابتدا ۰/۶۶۵٪ (برحسب اسید سیتریک) بود که در پایان زمان نگهداری در یخچال با افزایشی معنی‌دار ( $p < 0/05$ ) به ۰/۷۲۷٪ افزایش یافت.



نمودار ۱. زنده‌مانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نوشیدنی بر پایه برنج

## • بحث

Jozedaemi و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه خود بیان کردند که کنسانتره پرتقال به دلیل داشتن ترپن‌های با آستانه بویایی ۱۰ ppb به خوبی می‌تواند بوی نوشیدنی بر پایه‌ی آب ماست را پوشش دهد که در این پژوهش نیز این امر مشاهده شد (۲۱). در دو دهه اخیر به دلیل اثر ویژه کنسانتره پرتقال در بهبود عطر و طعم عصاره‌ها، استفاده از مقادیر مختلف آن (۲۰-۵٪) جهت تولید نوشیدنی‌های بر پایه‌ی آب پنیر گزارش شده است (۲۲). رنگ زرد مرجع برای ارزیابی رنگ نوشیدنی‌ها بر اساس تعریف Krasaekoopt و Kitsawad (۲۰۱۰) به صورت "درجه‌ای که نمونه رنگ زرد کدر را داراست" و شدیدترین حالت آن که رنگ انبه رسیده می‌باشد، تعریف شد

یافت (۳۱). نتایج پژوهشی دیگر نشان داد که تعداد باکتری‌های *L. acidophilus* در ماست پروبیوتیک پس از ۸ هفته نگهداری در یخچال از  $6/84$  به  $4/43 \log \text{ cfu/ml}$  کاهش یافت (۳۲). از آنجایی که لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس یک باکتری اسیددوست است، با توجه به نتایج حاصله به نظر می‌رسد که محیط نوشیدنی‌ها (از لحاظ pH)، برای باقی ماندن جمعیت میکروبی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در حد قابل قبول ( $10^6 - 10^7 \text{ cfu/ml}$ ) مناسب است.

این مطالعه امکان و قابلیت تازه‌ای برای تولید یک محصول عمل‌گرای جدید، که عمدتاً بر پایه برنج می‌باشد را نشان داد. در این نوشیدنی خواص تغذیه‌ای عصاره‌های مورد استفاده (برنج، مغز تخم‌کدو و کنجد) و نیز خواص سلامتی‌بخش باکتری‌های پروبیوتیک باهم ادغام و ترکیب گردید. این نوشیدنی‌ها می‌توانند جایگزینی مناسب برای افراد دچار عدم تحمل لاکتوز و حساس به پروتئین‌های شیر باشند. بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نشان داد که این محصولات می‌توانند محیط مناسبی برای حفظ بقای باکتری‌های پروبیوتیک باشند و چنین مطالعاتی می‌توانند روند توسعه‌ی محصولات جدید و عمل‌گرای غیرلبنی که به لحاظ تغذیه‌ای منحصربه‌فرد هستند را سرعت بخشد.

یافت. چنین روند کاهش در مورد *L. acidophilus* و *Bifidobacterium* نیز مشاهده شد (۱۲). مقایسه نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های محققان ذکر شده نشان می‌دهد که زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در محصول دارای عصاره تخم‌کدو و کنجد (علیرغم pH پایین‌تر محصول) تقریباً مشابه بوده است. کاهش تعداد باکتری‌های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در طی نگهداری در یخچال ممکن است به دلیل تولید مواد آنتی‌میکروبی نظیر باکتریوسین‌ها،  $\text{H}_2\text{O}_2$  یا اسیدهای آلی باشد. بررسی زنده‌مانی باکتری *L. plantarum* طی دوره ۲۱ روزه نگهداری نوشیدنی برپایه جو دوسر در دمای یخچال نشان داد که تعداد باکتری از میزان اولیه  $10/4 \log \text{ cfu/ml}$  به  $9/5 \log \text{ cfu/ml}$  کاهش یافت (۲۷). در پژوهشی مشابه سه آرد گندم سرخ، آرد ژلاتینه شده گندم سرخ و مالت گندم سرخ توسط باکتری‌های لاکتیک اسید تلقیح شدند. پس از ۳۰ روز نگهداری نوشیدنی مالت گندم سرخ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، تعداد باکتری *Lb. plantarum 6E* از  $2/9 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$  به  $1/3 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$  کاهش یافت. اما تعداد *Lb. rhamnosus SPI* از میزان اولیه  $5/1 \times 10^9 \text{ cfu/ml}$  به  $8 \times 10^8 \text{ cfu/ml}$  کاهش یافت (۱۴). نتایج پژوهش انجام‌یافته توسط Mousavi و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد که تعداد *L. plantarum* و *L. debrueckii* پس از ۱۴ روز نگهداری آب انار در یخچال حدود ۳ سیکل لگاریتمی کاهش

## • References

- Verbeke W. Consumer acceptance of functional foods: socio-demographic, cognitive and attitudinal determinants. *Food Qual Preference*. 2005 Jan 31;16(1):45-5.
- Heller KJ. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. *Am J Clin Nutr*. 2001 Feb 1;73(2):374s-9s.
- Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz AG, Faria JA. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2010 May 1;9(3):292-302.
- Angelov A, Gotcheva V, Kuncheva R, Hristozova T. Development of a new oat-based probiotic drink. *Int J Food Microbiol*. 2006 Oct 15;112(1):75-80.
- Prado FC, Parada JL, Pandey A, Soccol CR. Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Res Int*. 2008 Dec 31;41(2):111-23.
- Caplice E, Fitzgerald GF. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *Int J Food Microbiol*. 1999 Sep 15;50(1):131-49.
- El-Hissewy AA, Laila FR, Hanaa AD. Effect of degree of milling on the chemical composition and nutritional value of the milled rice. *Egypt J Agric Res*. 2002;80(1):341-53.
- Gohari Ardabili A, Farhoosh R, Haddad Khodaparast MH. Chemical composition and physicochemical properties of pumpkin seeds (*Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var. *Styriaca*) grown in Iran. *J Agri Sci Technol*. 2011 Sep 22;13:1053-63.
- Nzikou JM, Matos L, Bouanga-Kalou G, Ndangui CB, Pambou-Tobi NP, Kimbonguila A, Silou T, Linder M, Desobry S. Chemical composition on the seeds and oil of sesame (*Sesamum indicum* L.) grown in Congo-Brazzaville. *Adv J Food Sci Technol*. 2009 Dec 1;1(1):6-11.
- Marhamatizadeh MH, Karmand M, Farokhi AR, Rafatjou R, Rezazadeh S. The effects of malt extract on the increasing growth of probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in probiotic milk and yoghurt.
- Helland MH, Wicklund T, Narvhus JA. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria, in maize porridge with added malted barley. *Int J Food Microbiol*. 2004 Mar 15;91(3):305-13.
- Hassan AA, Aly MM, El-Hadidie ST. Production of cereal-based probiotic beverages. *World Appl. Sci. J*. 2012; 19:1367-80.

13. Coda R, Rizzello CG, Trani A, Gobbetti M. Manufacture and characterization of functional emmer beverages fermented by selected lactic acid bacteria. *Food Microbiol.* 2011 May 31;28(3):526-36.
14. Rathore S, Salmerón I, Pandiella SS. Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. *Food Microbiol.* 2012 May 31;30(1):239-44.
15. Rozada-Sánchez R, Sattur AP, Thomas K, Pandiella SS. Evaluation of *Bifidobacterium* spp. for the production of a potentially probiotic malt-based beverage. *Process Biochem.* 2008 Aug 31;43(8):848-54.
16. Meilgaard MC, Carr BT, Civille GV. Sensory evaluation techniques. CRC press; 2006 Dec 13.
17. Institute of Standards and Industrial Research of Iran. Fruit juices-Test methods. ISIRI no 2685. 1st revision, Karaj: 2007 [In Persian].
18. Sheehan VM, Ross P, Fitzgerald GF. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Sci. Emerg Technol.* 2007 Jun 30;8(2):279-84.
19. Shah NP. Functional foods from probiotics and prebiotics. *J Food Technol.* 2001.
20. Mohebbi M, Najafi MBH. Optimization of production, sustainability and quality of fruity whey drink. *Agri Sci Technol J.* 2004; 2: 1-11. [In Persian].
21. Jozedaemi F, Am J Clin Nutr Ghorbani M, Sadeghi Mahonak AR, & Hagh Nazari S. Evaluation of sensory and physico-chemical properties of fruit beverage prepared by yoghurt whey. *Electron J Food Process Preserv.* 2010; 1(4): 63-78 [In Persian].
22. Jeličić I, Božanić R, Tratnik L. Whey based beverages-new generation of dairy products. *Mljekarstvo.* 2008 Jan 1;58(3):257-74.
23. Krasaekoopt W, Kitsawad K. Sensory Characteristics and Consumer Acceptance of Fruit Juice Containing Probiotics Beads in Thailand. *AU J Technol.* 2010; 14(1): 33-38.
24. Molin G. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr.* 2001 Feb 1;73(2):380s-5s.
25. Valim MF, Rossi EA, Silva RS, Borsato D. Sensory acceptance of a functional beverage based on orange juice and soymilk. *Braz J Food Technol.* 2003 Jul; 6(2):153-6.
26. Shaykhasemi S, Zomorodi S. Effect of storage temperature on survival of free and encapsulated *Lactobacillus acidophilus* in apple juice. *J Food Res.* 2014; 24(1): 143-154. [In Persian].
27. Gupta S, Cox S, Abu-Ghannam N. Process optimization for the development of a functional beverage based on lactic acid fermentation of oats. *Biochem Eng J.* 2010 Nov 15;52(2):199-204.
28. Shah NP. Some beneficial effects of probiotic bacteria. *Bioscience and Microflora.* 2000;19(2):99-106.
29. Ding WK, Shah NP. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *Int Food Res J.* 2008 Nov;15(2):219-32.
30. Yáñez R, Marques S, Gírio FM, Roseiro JC. The effect of acid stress on lactate production and growth kinetics in *Lactobacillus rhamnosus* cultures. *Process Biochem.* 2008 Apr 30;43(4):356-61.
31. Mousavi ZE, Mousavi SM, Razavi SH, Emam-Djomeh Z, Kiani H. Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World J Microbiol Biotechnol.* 2011 Jan 1;27(1):123-8.
32. Olson DW, Aryana KJ. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage. *LWT Food Sci Technol.* 2008 Jun 30;41(5):911-8.

## Production of Cereal-based Probiotic Beverage Optimized by Response Surface Methodology and Investigation of Its Properties

Dastras M<sup>1</sup>, Soltanzadeh M<sup>1</sup>, Peighambardoust S.H<sup>2\*</sup>

1- MSc in Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz

2- \*Corresponding author: Professor of Food Technology, Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran. email: peighambardoust@tabrizu.ac.ir

Received 6 Apr, 2018

Accepted 25 Jun, 2018

**Background and Objectives:** In general, most probiotic products are dairy-based and a few efforts have been made to develop probiotic products using other substrates such as cereal grains. Rice can be used as a basis for the production of many functional foods. However, rice in Iran is mostly consumed as plate food rather than in the formulation of relevant functional foods. In this study, the response surface methodology (RSM) was used to optimize the formulation of rice drink based on sensory and physico-chemical properties.

**Materials and Methods:** This study was conducted in two phases. First, the optimal formula of beverage was determined based on the scores of the organoleptic characteristics (odor, color, taste, mouth feel and overall acceptance) and the measurement of pH and Brix. Independent variables in this study in 5 levels were rice extract (ranging from 30 to 70 ml), orange juice concentrate (ranging from 5 to 15 g), sesame extract, and pumpkin seed extract (both ranging from 0 to 15 ml). The results were investigated using the central composite design (CCD). In the second stage, the optimal formula for production of rice beverage was proposed. The probiotic bacteria, *Lactobacillus acidophilus* were inoculated in the beverage, and the viability of the bacteria was assessed during 21 days of storage at 4 °C.

**Results:** According to the results, the optimal values of independent variables in production of rice-based beverage were obtained to be 60 ml rice extract, 12.3 g orange concentrate, 11.3 ml pumpkin seed extract and 11.3 ml sesame extract. Investigation of bacterial survival showed that the number of probiotic bacteria at the end of the storage period was still over bid for provision of health effects ( $>10^6$  cfu/ml).

**Conclusion:** The results showed that such studies can accelerate the development of new and non-dairy functional products with unique nutritional properties.

**Keywords:** Functional beverage, Response surface method