**مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران**
**سال سیزدهم، شماره 3، پاییز 1397، صفحات 46-39**

# تولید نوشیدنی مالت سین بیوتیک با استفاده از اینولین و برخی گونه های مختلف لاکتوباسیلوس

نیره زکی پور رحیم‌آبادی[1]، سارا سهراب وندی[2]، لیلا روزبه نصیرائی[1]

1- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد نور، دانشگاه آزاد اسلامی، نور، ایران
2- نویسنده مسئول: گروه تحقیقات علوم و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. پست الکترونیکی: sohrabv@sbmu.ac.ir

تاریخ دریافت: 96/7/15 تاریخ پذیرش: 96/11/4

## چکیده

**سابقه و هدف:** امروزه فرهنگ مصرف غذایی جوامع تغییر پیدا کرده و در پی آن نیاز به تولید فرآورده‌های متنوع و نوین مانند نوشیدنی های غنی شده بیشتر شده است. غنی‌سازی نوشیدنی‌ها با اجزای فراسودمند، نظیر پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها از پیشرفت‌های اخیر درزمینه تولید این نوع از نوشیدنی‌ها است.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه در ابتدا مقادیر مناسب اینولین به عنوان ماده پری‌بیوتیک انتخاب شد و سپس نوشیدنی‌های مالت تولید شده به‌وسیله سویه‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم*، مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته‌ها:** به‌طورکلی قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در محیط نوشیدنی مالت سین بیوتیک، طی دوره نگهداری یخچالی کاهش یافت؛ ولی همه تیمارها در محدوده استاندارد $>10^7$ بودند. در بین نمونه‌ها، کمترین و بیشترین قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک پس از 28 روز نگهداری، به ترتیب مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* بوده است. در اثر افزودن سویه‌های پروبیوتیک از pH نمونه‌ها کاسته شد. در این پژوهش با افزایش زمان نگهداری از میزان قند و بریکس نمونه‌ها کاسته شد. میزان تولید اتانول در تمامی نمونه‌ها کمتر از 0/1 درصد بود. میزان ترکیبات فنولی با گذشت زمان در تمامی نمونه‌ها به‌جز نمونه شاهد افزایش یافت که علت آن موضوع، به هیدرولیز ترکیبات فنولی گلیکوزیل و ایجاد فنول آزاد، نسبت داده شده است. نتایج بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها نشان داد که در طی تخمیر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها افزایش یافت.

**نتیجه‌گیری:** بهترین نمونه از نظر استاندارد مربوط به نمونه‌های با میزان 2/25% اینولین و 2/25% ساکارز بود. بعد از 28 روز نگهداری در دمای یخچال، باکتری‌های پروبیوتیک دارای در نوشیدنی مالت سین‌بیوتیک دارای زنده‌مانی مناسبی بودند. همچنین مشخص شد که نمونه‌های سین-بیوتیک حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در مقایسه با نمونه کنترل دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بهتری بودند. در کل نتایج این پژوهش نشان داد می‌توان با استفاده از سویه‌های پروبیوتیک مناسب، نوشیدنی مالت سین بیوتیک با خواص بیوشیمیایی و تغذیه‌ای مناسب تولید کرد.

**واژگان کلیدی:** نوشیدنی مالت، اینولین، پروبیوتیک‌ها، سین‌بیوتیک، خواص فیزیکوشیمیایی

## • مقدمه

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 به‌سوی فرآورده‌های غذایی فراسودمند رهنمون شده است. غذاهای فراسودمند درواقع غذاها و نوشیدنی‌هایی هستند که علاوه بر دارا بودن ارزش غذایی، می‌توانند در جلوگیری یا درمان یک بیماری نقش داشته باشند. نوشیدنی‌های فراسودمند، نسل جدیدی از فرآورده‌های تخمیری حاوی میکروارگانیسم‌ها با خواص درمانی هستند که از طریق افزایش ارزش تغذیه‌ای و

بهبود خصوصیات حسی- بافتی نقش مؤثری در سلامتی ایفا می‌کنند (1).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم های زنده‌ای هستند که مکان اصلی فعالیت آن‌ها دستگاه گوارش موجودات زنده، به‌ویژه روده بزرگ است. ازجمله مزایای آن‌ها می‌توان به پیشگیری از اختلالات دستگاه گوارش، افزایش سیستم ایمنی بدن، ویژگی‌های ضد سرطانی، کاهش کلسترول خون، بهبود بخشیدن بیماری‌های مفصلی، تولید طیف وسیعی از آنزیم‌ها، اثرات ضدمیکروبی و اصلاح و بهبود متابولیسم لاکتوز اشاره کرد. مواد غذایی حاوی پروبیوتیک‌ها در حال حاضر به‌عنوان برترین فرآورده‌های غذایی فراسودمند شناخته می‌شوند که این مزایای سلامتی بخش آن‌ها به‌وسیله پری‌بیوتیک‌ها افزایش می‌یابد. چراکه در برخی موارد یک پروبیوتیک واقعی بدون غذا (پری‌بیوتیک) در سیستم گوارشی قابلیت زیستی خوبی ندارند (2).

سین‌بیوتیک‌ها نوعی مکمل تغذیه‌ای حاوی ترکیبی از باکتری‌های پروبیوتیک و اجزاء غذایی پری‌بیوتیک هستند. پری‌بیوتیک‌ها، اجزای غذایی هضم ناپذیر یا هضم پذیر اندک، در برابر آنزیم‌های گوارشی بدن انسان هستند که رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک را به‌طور انتخابی تحریک می‌کنند و باعث بهبود سلامت میزبان می‌شوند. پری‌بیوتیک‌ها عمدتاً ترکیبات الیگوساکاریدی مانند فیبرهای محلول بوده که می‌توانند تعداد یا فعالیت پروبیوتیک‌ها را افزایش دهند. با توجه به نقش اثربخش این ترکیبات امروزه علاقه به مصرف مواد غذایی فراسودمند سین بیوتیک‌ها در حال افزایش است. (3). این ترکیبات در سال‌های اخیر به‌طور گسترده‌ای در صنعت لبنیات مورد استفاده قرارگرفته‌اند. از طرفی امروزه گرایش به استفاده از ترکیبات سین بیوتیک در فرآورده‌های غیر لبنی، همچون فرآورده‌های بر پایه‌ی غلات، آب‌میوه‌ها و سبزی‌ها و سایر نوشیدنی‌های غیر لبنی به‌ویژه نوشیدنی‌های بر پایه غلات، توسط محققان و تولیدکنندگان، در سراسر جهان به‌طور چشمگیری رو به افزایش است(4). در سال‌های اخیر مصرف نوشیدنی‌های بر پایه غلات، ازجمله نوشیدنی مالت مورد استقبال گروه‌های سنی مختلف جامعه قرارگرفته است. شواهد علمی متعددی بر فواید سلامتی بخش مصرف نوشیدنی‌های مالت دلالت دارند. بالا بودن ترکیبات فنولی با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش قابلیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما، از یک‌سو با کاهش اکسایش کلسترول بد مانع بروز سخت شدن رگ‌ها یا تصلب شرایین شده و از سوی دیگر با خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، احتمال ابتلا به سرطان را کاهش می‌دهند. همچنین در جلوگیری از رشد سلول‌های سرطانی پروستات، پستان، روده و خون نقش دارند. مسئله قابل‌توجه در این نوشیدنی‌ها، pH پایین و وجود ترکیب ضد میکروبی رازک می‌باشد که علاوه بر جلوگیری از رشد میکروارگانیسم های مضر، بر رشد و فعالیت باکتری های پروبیوتیک نیز اثر منفی داشته و برای این باکتری ها هم نقش ضد میکروبی خود را ایفا می کند که محیط مناسبی برای حفاظت از میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک فراهم نمی‌کند. باوجوداین، حضور ترکیبات پری‌بیوتیک، ممکن است بر قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها اثرات مثبت فراوانی داشته باشد که درخور توجه و پژوهش است و تاکنون موردبررسی قرار نگرفته است (5). اخیراً سالاری و همکاران به تولید نوشیدنی‌های سین‌بیوتیک بر پایه آرد مالت مالت با استفاده از گونه‌های *لاکتوباسیلوس دلبروکئی* و *پاراکازئی* پرداختند و عنوان نمودند که گونه *لاکتوباسیلوس دلبروکئی* دارای زنده‌مانی بالایی در نوشیدنی سین‌بیوتیک مالت بوده است (6). دریک تحقیق دیگر نیز محققین به تولید نوشیدنی مالت پروبیوتیک با استفاده از گونه‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و پلانتاروم پرداخته و عنوان نمودند که این نوشیدنی دارای مقبولیت خوبی نزد مصرف کننده بودند (7).

با توجه به مطالب ذکرشده، هدف مطالعه حاضر تولید نوشیدنی مالت سین بیوتیک با استفاده از اینولین به‌عنوان یک ماده پری‌بیوتیک و همچنین باکتری‌های پروبیوتیک مختلف و بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی تولیدی بوده است.

## • مواد و روش‌ها

**آماده‌سازی نوشیدنی‌های مالت:** در ابتدا با توجه به این مسئله که میزان ساکارز مورداستفاده در نوشیدنی مالت طبق استاندارد ملی ایران شماره 2279 میزان 4/5 % است (8) و با توجه به ارزیابی‌های اولیه، فرمول بهینه با 2/25 درصد ساکارز و 2/25 درصد اینولین برای فرمولاسیون نوشیدنی‌های مالت انتخاب گردید و برای تولید نوشیدنی‌های مالت در مراحل بعدی مورداستفاده قرار گرفت. به‌منظور تهیه نوعی نوشیدنی مالت سین‌بیوتیک و امکان‌سنجی بقای باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی مالت طی دوره 28 روزه نگهداری یخچالی (4°C)، سه باکتری *پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتارم*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس کازئی* زیرگونه پاراکازئی ($10^9$cfu/mL) به‌طور جداگانه به نوشیدنی مالت تولیدشده، حاوی 2/25 درصد ساکارز و 2/25 درصد اینولین

افزوده شدند و ویژگی‌های نمونه‌های تولیدی در طی زمان نگهداری بررسی گردیدند.

**تعیین ترکیب فیزیکوشیمیایی نمونه‌ها:** میزان مواد جامد محلول (بریکس) با استفاده از روش رفرکتومتری تعیین گردید. میزان قند نمونه‌ها شامل قند کل و قند احیا با استفاده از روش لین-آینون اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری اسیدیته با روش تیتراسیون انجام شد. pH نمونه‌ها با pH متر دیجیتال اندازه‌گیری شد. درنهایت میزان اتانول در نوشیدنی‌های تولیدی با استفاده از دستگاه سنجش اتانول (زمرد آزما، ایران، دقت 0/1 درصد) تعیین گردید.

**ارزیابی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک:** بررسی قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک با استفاده از محیط کشت MRS آگار بر اساس روش ذکرشده توسط روحی و همکاران انجام شد (9).

**اندازه‌گیری ترکیبات فنولی:** تعیین کمی فنول کل با استفاده از روش طیف‌سنجی بر اساس واکنش با معرف فولین-سیوکالتیو انجام شد (10). 0/2 میلی‌لیتر نمونه نوشیدنی با 0/05 میلی‌لیتر معرف فولین-سیوکالتیو، 0/5 میلی‌لیتر محلول 20 درصد سدیم کربنات و 4/25 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. تمام نمونه‌ها به مدت 30 دقیقه در تاریکی قرار گرفتند. سپس میزان جذب رنگ نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج 700 نانومتر اندازه‌گیری شد و میزان کل ترکیبات فنولی با استفاده از منحنی استاندارد اسید گالیک ($R^2$=0.9912) به دست آمد. برای رسم نمودار اسید گالیک از غلظت های 5 تا 50 میلی گرم بر لیتر از این ماده استفاده شد و در نهایت نتایج به صورت میلی گرم اسید گالیک به ازای 100 میلی گرم نمونه گزارش گردید.

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی اکسیدنی:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها از طریق ارزیابی قدرت آن‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد 2و 2′ – دی فنیل 1-پیکریل هیدرازیل (DPPH) سنجیده شد. بدین منظور 0/5 میلی لیتر از نمونه‌ها با 0/5 میلی لیتر از محلول 0/2 میلی مولار اتانولی DPPH مخلوط گردیده و به مدت 15 دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. در ادامه با استفاده از اسپکتروفتومتر میزان جذب در طول‌موج 515 نانومتر خوانده شد. درنهایت فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها به‌صورت مقادیر $EC_{50}$ گزارش گردید.

**آنالیز آماری:** به‌منظور مطالعه اثر فاکتورهای مختلف پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک و دما نگهداری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نوشیدنی مالت (متغیرهای وابسته)، طراحی آزمایش‌ها بر اساس طراحی ترکیبی و آنالیز داده‌های مرحله اول با استفاده از نرم‌افزار طراحی آزمایش‌ها (Design Expert) و در مرحله دوم با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 24 انجام شد. در تمامی آنالیزهای آماری سطح معنی‌داری ($P< 0.05$) در نظر گرفته شد.

## • یافته‌ها

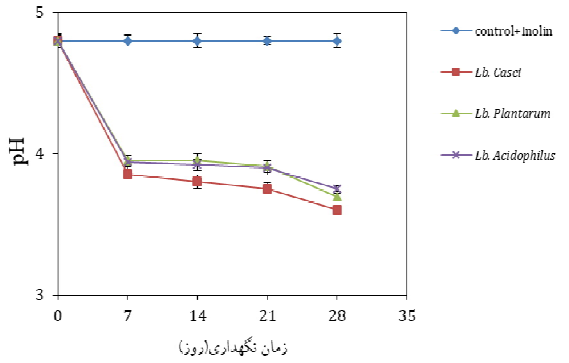
**قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها:** قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی مالت سین بیوتیک حاوی اینولین در جدول 1 نشان داده شده است. تغییرات قابل‌ملاحظه‌ای در قابلیت زیستی هر تیمار طی 28 روز نگهداری یخچالی مشاهده شد؛ به‌طوری‌که جمعیت نهایی پروبیوتیک ها در پایان دوره نگهداری یخچالی در تمامی تیمارها کمتر از روز صفر بود. بنابراین قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در نوشیدنی مالت سین بیوتیک به‌طورکلی طی دوره نگهداری یخچالی کاهش یافت. با توجه به این‌که میزان باکتری‌های پروبیوتیک در فرآورده‌های پروبیوتیک باید حداقل $10^7$ cfu/ml باشد، همه تیمارها از این نظر در محدوده استاندارد بودند. در بین نمونه‌ها، کمترین قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک پس از 28 روز نگهداری نیز مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بوده است.

**جدول 1.** مقایسه قابلیت زیستی پروبیوتیک ها در تیمارهای مختلف طی 28 روز نگهداری یخچالی

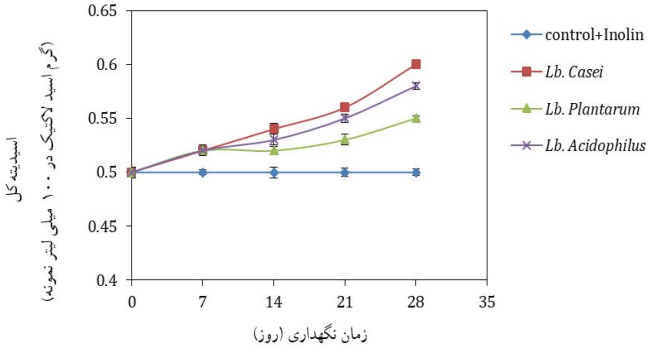
| تیمارها | قابلیت زیستی (log cfu/mL) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | روز صفر | روز 7 | روز 14 | روز 21 | روز 28 |
| نمونه شاهد حاوی اینولین | $0\pm0^{aB}$ | $0 \pm 0^{aD}$ | $0 \pm 0^{aD}$ | $0 \pm 0^{aD}$ | $0 \pm 0^{aD}$ |
| نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* | $9 \pm 0/1^{aA}$ | $8/5 \pm 0/01^{cB}$ | $8/72 \pm 0/04^{bB}$ | $8/49 \pm 0/03^{cB}$ | $8/40 \pm 0/01^{dB}$ |
| نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* | $9 \pm 0/1^{aA}$ | $9/06 \pm 0/02^{aA}$ | $8/96 \pm 0/04^{aA}$ | $8/94 \pm 0/02^{aA}$ | $7/80 \pm 0/02^{bA}$ |
| نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* | $9 \pm 0/1^{aA}$ | $8/38 \pm 0/05^{bC}$ | $8/14 \pm 0/06^{cC}$ | $7/60 \pm 0/04^{dC}$ | $7/40 \pm 0/02^{eC}$ |

میانگین‌هایی که با حروف کوچک و بزرگ متفاوت نشان داده‌شده‌اند، به ترتیب نشان‌دهنده تفاوت‌های معنی‌داری میان میانگین‌ها در سطرها و ستون‌ها هستند ($p<0.05$).

**تغییرات pH و اسیدیته:** تغییرات pH و اسیدیته نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک به ترتیب در شکل 1 و 2 نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل‌ها نشان داده شده، در اثر افزودن سویه‌های مختلف پروبیوتیک، از pH نمونه‌ها کاسته شده و اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافته است. بر اساس استاندارد ملی ایران، مقادیر pH نوشیدنی‌های مالت طعم دار باید بین 2/8 الی 3/8 باشد (8). بنابراین همه نمونه‌های نوشیدنی سین‌بیوتیک تولیدی دارای مقادیر pH مطابق با استاندارد بوده‌اند. علاوه بر این مقادیر استاندارد اسیدیته کل باید بین 0/35 – 0/1 باشد که نمونه‌ها ازنظر اسیدیته مطابق استاندارد بوده‌اند (6). مطابق با نتایج به‌دست‌آمده، نمونه شاهد (بدون افزودن پروبیوتیک) هیچ‌گونه تغییری در شاخص‌های pH و اسیدیته از خود نشان نداد. بنابراین تنها عامل ایجاد تغییرات بیوشیمیایی در نوشیدنی‌های سین بیوتیک تولیدی، تخمیر توسط میکروارگانیسم های پروبیوتیک تلقیح شده است. هم‌چنین در مطالعه حاضر مشخص شد بیشترین افزایش معنی دار اسیدیته و کاهش pH به ترتیب مربوط به سویه‌های پروبیوتیک باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بوده است.

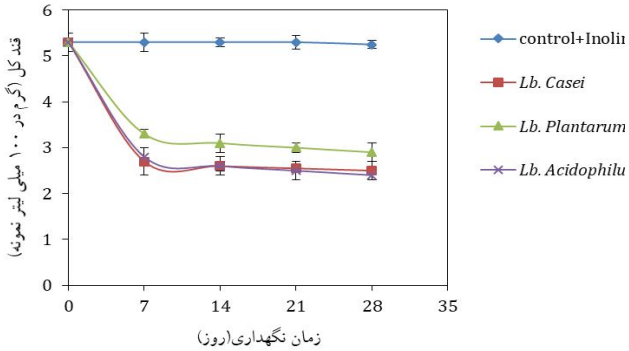



**شکل 1.** تغییرات pH نمونه‌های نوشیدنی مالت سین‌بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال

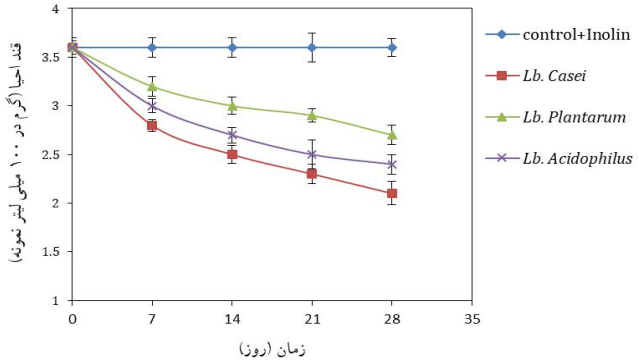



**شکل 2.** تغییرات اسیدیته نمونه‌های نوشیدنی مالت سین‌بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال

**میزان قند کل و قند احیا:** با رشد میکروارگانیسم ها میزان قند کل و قند احیاء کاهش می‌یابد؛ چراکه این میکروارگانیسم ها برای رشد، نیاز به منبع کربن داشته و قندها را به‌عنوان یکی از بهترین منابع کربن مصرف می‌کنند. همان‌گونه که در شکل 3 و 4 آورده شده است، با رشد میکروارگانیسم ها میزان قند کل و قندهای احیاء، کاهش یافته و این کاهش با شدت رشد میکروارگانیسم ها رابطه مستقیم داشته است. باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تقریباً به یک میزان سبب کاهش قند کل شده‌اند، یا به عبارتی به یک میزان قند مصرف کرده‌اند و باکتری *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* میزان مصرف قند کمتری داشته است. در بین این سه باکتری، به ترتیب نمونه‌های حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس کازئی*، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* نیز دارای بیشترین میزان مصرف قند احیاء بوده است.



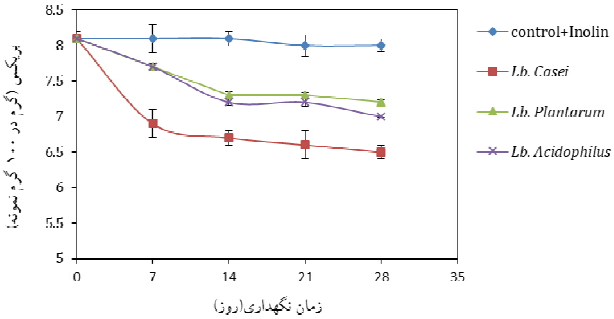

**شکل 3.** تغییرات قند کل در نمونه‌های نوشیدنی مالت سین‌بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال




**شکل 4.** تغییرات قند احیا در نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال

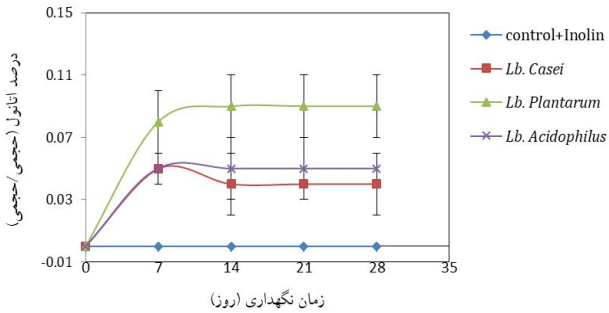
**تغییرات بریکس:** مقادیر بریکس نمونه‌های مختلف نوشیدنی سین بیوتیک در شکل 5 نشان داده شده است. با افزایش زمان تخمیر از بریکس نمونه‌ها کاسته شده که این موضوع به دلیل

مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی است. بیشترین کاهش بریکس در نمونه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* مشاهده شد. همچنین بیشترین بریکس مربوط به نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بوده که این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده از بخش قندها که در بالا آورده شده است، هم‌خوانی دارد. در یک تحقیق انجام شده توسط محققین دیگر که به تولید نوشیدنی مالت پروبیوتیک با استفاده از گونه‌های *لاکتوباسیلوس* پرداختند نیز مشخص شد که میزان بریکس نمونه‌های نوشیدنی در طی زمان به دلیل تخمیر قند کاهش یافته است (6).



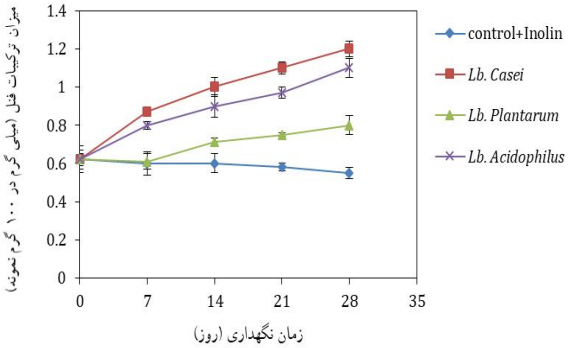

**شکل 5.** تغییرات بریکس نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال.

**میزان اتانول:** شکل 6 میزان تولید اتانول در نمونه‌ها طی نگهداری را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بیشترین میزان الکل را طی فرآیند تخمیر، تولید کرده است و دو باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، از این نظر با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشته‌اند. همچنین میزان تولید الکل در تمامی نمونه‌ها کمتر از 0/1 درصد بوده است که میزان قابل قبولی است. تولید اتانول بیشتر توسط *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* می تواند به دلیل زنده مانی بیشتر این باکتری در طی نگهداری باشد.



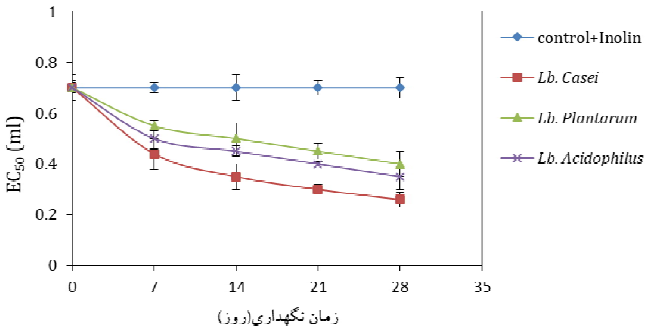

**شکل 6.** میزان اتانول نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال

**میزان ترکیبات فنولی:** شکل 7 نشان می‌دهد مقدار ترکیبات فنولی کل در نمونه شاهد بدون فعالیت تخمیری به‌طور معنی‌داری کمتر از نمونه‌های تخمیری است. در میان نمونه‌های حاوی باکتری‌های تخمیری پروبیوتیک، میزان ترکیبات فنولی نمونه حاوی باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی* بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. از طرفی مقدار ترکیبات فنولی در نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*، بیشتر از نمونه حاوی *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* بود. هم‌چنین نتایج نشان داد که ترکیبات فنولی با گذشت زمان در تمامی نمونه‌ها به‌جز نمونه شاهد افزایش یافته است که این افزایش میزان ترکیبات فنولی در هفته اول نگهداری، بیشتر بود و با گذشت زمان از شدت افزایش این ترکیب کاسته شده است که می تواند به دلیل فعالیت زیستی بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک در هفته اول باشد.




**شکل 7.** میزان ترکیبات فنولی نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال.

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** شکل 8، میزان تغییرات $EC_{50}$ را طی 28 روز نگهداری نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که مانند بخش اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* ایجاد شد و نمونه‌های حاوی باکتری‌های *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* و *لاکتوباسیلوس پلانتاروم* از این نظر به ترتیب در جایگاه دوم و سوم قرار داشتند. در اینجا نیز در هفته اول مقدار $EC_{50}$، با شدت بیشتری نسبت به هفته‌های بعد، در هر سه نمونه تخمیری کاهش یافت که این موضوع نشان‌دهنده رشد بیشتر باکتری‌ها در هفته اول است.




**شکل 8.** مقادیر EC50 نمونه‌های نوشیدنی مالت سین بیوتیک طی نگهداری در دمای یخچال

## • بحث

**قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها:** مهم‌ترین شاخص‌ها که برای کاهش توانایی ماندگاری باکتری‌های پروبیوتیک که مورد بحث قرار گرفته‌اند، کاهش pH محیط و افزایش اسیدهای آلی به‌عنوان نتیجه رشد و تخمیر است. بنابراین، توانایی بقاء کشت‌های لاکتیکی یک عامل بسیار مهم در طول نگهداری در یخچال است (11). در بین نمونه‌ها، کمترین قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک پس از 28 روز نگهداری، مربوط به *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* بوده است. حساسیت پروبیوتیک ها به عوامل نامساعد محیطی آبجو، تاکنون در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است. مطالعات نشان داده است که pH پایین فرآورده‌های تخمیری از مهم‌ترین عوامل مؤثر در افت قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها به شمار می‌آید. آبجو دارای انواع ترکیبات گوناگون با خواص ضد باکتری همچون ترکیبات فنولی، مشتقات رازک و انواع اسیدهای آلی بوده که ممکن است سبب افزایش افت قابلیت زیستی پروبیوتیک ها طی نگهداری یخچالی شوند (4، 5). دلیل دیگر برای کاهش قابلیت زیستی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی مالت می‌تواند به دلیل وارد آمدن شوک تنش محیطی، پس از تلقیح باشد (12).

**تغییرات فیزیکوشیمیایی:** در اثر افزودن سویه‌های مختلف پروبیوتیک، از pH نمونه‌ها کاسته شده و اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافته است که می‌تواند به دلیل تخمیر قندها در نوشیدنی مالت 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 گونه‌های مختلف، بلکه در سویه‌های مختلف یک‌گونه نیز با یکدیگر متفاوت است. ثابت شده است که *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* می‌تواند در دماهای یخچالی و در pH های پایین محصولات لبنی تخمیری، با سرعت بسیار بیشتری از سایر گونه‌ها باعث تخمیر قندها و تولید اسیدهای آلی در محیط شود (13). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که *لاکتوباسیلوس کازئی* دارای قدرت بالای تخمیر در دمای یخچالی است. ضمن اینکه خاصیت پروتئولیتیک این گونه، باعث رشد و بقای بیشتر آن نسبت به سایر گونه‌ها و در پی آن تخمیر بیشتر قندها می‌شود (14).

با رشد باکتری‌ها میزان قند کل و قندهای احیاء به دلیل مصرف قندها توسط باکتری‌های پروبیوتیک کاهش یافته است. بااین‌حال، در انتهای فرآیند میزان قند کل و قند احیاء مطابق با استاندارد نوشیدنی مالت طعم دار بوده است، زیرا که طبق قوانین مربوط به این استاندارد، میزان قند کل باید حداکثر تا 9 گرم در صد میلی‌لیتر و میزان قند احیاء باید حداقل 1/2 گرم بر میلی‌لیتر باشد (8).

با افزایش زمان نگهداری از بریکس نمونه‌های نوشیدنی کاسته شده است. نتایج حاصل از پژوهش حاضر، با نتایج محققین دیگر مطابقت دارد که به بررسی بریکس نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر مبنای مخلوط آب آناناس، سیب و انبه پرداختند و بیان نمودند که به دلیل مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی از مقادیر بریکس نمونه‌ها کاسته شده است (15).

طی فرآیند تخمیر، مقداری اتانول تولید می‌شود که در برخی فرآورده‌ها میزان تولید اتانول با محدودیت همراه است. در ایران تولید فرآورده‌های با میزان اتانول بالا، قابل قبول نیست و برای فرآورده‌های مختلف حدود معینی مشخص شده است. به‌عنوان‌مثال طبق قوانین استاندارد ملی، نوشیدنی مالت طعم دار نباید بیش از 0/5 گرم در صد میلی‌لیتر اتانول داشته باشد. نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش حاضر نشان می‌دهد که این فرآورده تخمیری از این لحاظ مطابق با استاندارد ملی است. در یک پژوهش مشابه، محققین با استفاده از *لاکتوباسیلوس ها*، یک فرآورده پروبیوتیک بر پایه غلات را تولید نموده و بیان داشتند که هم‌زمان با رشد این میکروارگانیسم ها، اتانول نیز تولید می‌شود و میزان تولید اتانول متناسب با سرعت رشد است، به‌طوری‌که هر چه سرعت رشد میکروارگانیسم ها بیشتر باشد میزان تولید اتانول نیز بیشتر خواهد بود (16). همچنین عنوان نمودند که حداکثر میزان تولید اتانول در این فرآورده، کمتر از 2 درصد بوده است که بسیار بیشتر از میزان اتانول تولیدی در این پژوهش است. احتمالاً این اختلاف در میزان تولید اتانول وابسته به نوع گونه *لاکتوباسیلوس* مورداستفاده و نوع پیش ماده مصرفی توسط این باکتری‌ها است.

**ترکیبات فنولی:** 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 گلیکوزیل و ایجاد فنول آزاد نسبت داده شده است.، میکروارگانیسم‌های یادشده توانایی افزایش فنول را در طی فرآیند تخمیر دارند. با این حال، در نمونه کنترل، میزان ترکیبات فنولی در طی زمان تغییر قابل ملاحظه‌ای را از خود نشان نداده است که می‌تواند به دلیل عدم انجام تخمیر در آن‌ها و در نتیجه آن عدم انجام هیدرولیز ترکیبات فنولی باشد. در پژوهشی مشابه، محققین بیان

داشتند که محتوای فنول کل آب زغال اخته، انگور و توت فرنگی بعد از تخمیر با *سراتیا واکسینی (Serratia vaccinii)*، افزایش معنی‌داری داشته، به‌طوری‌که پس از تخمیر توت‌فرنگی به مدت 5 روز، مقدار فنل کل از 385 به 771 میلی‌گرم اسید گالیک، به ازای هر لیتر رسیده است (17). محققین دیگر نیز میزان ترکیبات فنولیک در نوشیدنی مالت را برابر با 0/62 میلی گرم اسید در 100 گرم نمونه عنوان نموده‌اند که بیانگر این موضوع می‌باشد که میزان ترکیبات فنولیک در نمونه‌های سین‌بیوتیک تولیدی در مطالعه حاضر افزایش داشته است (18).

**فعالیت آنتی‌اکسیدانی:** ویژگی جذب رادیکال‌های آزاد را می‌توان به فرآیند تخمیر و مواد اولیه موجود در ساختار نوشیدنی مالت ربط داد که این موضوع توسط بسیاری از محققین تأییدشده است. نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که ازجمله عوامل مؤثر در کاهش مقدار $EC_{50}$، ترکیبات فنولی موجود محیط نوع اسیدآمینه‌ها و پروتئین‌های موجود در عصاره مالت، افزایش محتوای فنول آزاد طی فرآیند تخمیر و فعالیت آنزیم‌های ترشح‌شده توسط میکروارگانیسم است (17). با توجه به نتایج گزارش‌شده توسط محققین دیگر و نتایج به‌دست‌آمده در این پژوهش، می‌توان بیان داشت که مقدار فنول کل، تأثیر قابل‌توجهی روی افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی و به دنبال آن کاهش $EC_{50}$ دارد. زیرا که فعالیت میکروارگانیسم‌ها در نوشیدنی مالت سبب آزاد شدن ترکیبات فنولی و به دنبال آن افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

در کل، از این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که نوشیدنی مالت می‌تواند محیط مناسبی برای رشد پروبیوتیک‌ها باشد و با استفاده از سویه‌های پروبیوتیک مناسب می‌توان نوشیدنی مالت سین بیوتیک با خواص بیوشیمیایی مطلوب به همراه افزایش در محتوای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تولید نمود.

## References


1. Nematollah, A, Sohrabvandi S, Mortazavin Farsani AM, Berarnejad Bariki I. Application of fruit and vegetable for the production of non-dairy-based probiotic drink. Iranian J Nutr Sci Food Technol 2013; 7: 73-81 (Persian).
2. Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM, Hassan FA. Prebiotics as functional foods: A review. J Funct Food 2013; 5: 1542-1553.
3. Granato D, Branco GF, Nazzaro F, Cruz A, Faria JA. Functional foods and nondairy probiotic food development: trends, concepts, and products. Compre Rev Food Sci Food Safety 2010; 9: 292-302.
4. Sohrabvandi S, Mousavi SM, Razavi SH, Mortazavian AM, Rezaei K. Alcohol-free beer: Methods of production, sensorial defects, and healthful effects. Food Rev Int 2010; 26: 335-352.
5. Sohrabvandi S, Mortazavian AM, Rezaei K. Health-related aspects of beer: a review. International J Food Pro 2012; 15: 350-373.
6. Salari M, Razavi SH, Gharibzahedi SM. Characterising the synbiotic beverages based on barley and malt flours fermented by Lactobacillus delbrueckii and paracasei strains. Quality Assu. Safety. Crop. Foods. 2014; 12; 7(3):355-61.
7. Salmerón I, Thomas K, Pandiella SS. Effect of potentially probiotic lactic acid bacteria on the physicochemical composition and acceptance of fermented cereal beverages. J. Funct. Foods. 2015; 31;15:106-15.
8. Anonymous, 2011. Institute of Standard and Industrial Researches of Iran (ISIRI), No: 2279, Malt beverages-Specifications.
9. Rouhi M, Taslimi A, Sarlak Z, Mohammad R, Shadnoosh M, Mortazavian AM, Sabour S. Sucrose and D-tagatose fermentation profile by different probiotic strains and its effect on physical properties of chocolate milk. Koomesh 2015; 17: 239-249 (Persian).
10. Solgajová M, Ivanisová E, Nôzková J, Francáková H, Tóth Z, Dráb S. Antioxidant activity and polyphenol content of malt beverages enriched with bee pollen. J Microbiol Biotech Food Sci 2014; 3: 281-284.
11. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. J Applied Microbiol 2006; 100: 1171-1185.
12. Nagpal R, Kumar A, Kumar M, Behare PV, Jain S, Yadav H. Probiotics, their health benefits and applications for developing healthier foods: a review. FEMS Microbiol Lett 2012; 334: 1-15.
13. Shah NP, Lankaputhra WE, Britz ML, Kyle WS. Survival of Lactobacillus acidophilus and Bifidobacterium bifidum in commercial yoghurt during refrigerated storage. Int Dairy J 1995; 5: 515-521.
14. Pereira ALF, Almeida FDL, de Jesus ALT, da Costa JMC, Rodrigues S. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. Food Bioprocess Technol 2013; 6: 3155-3165.
15. Mashayekh S, Hashemiravan M, Mokhtari FD. Study on Chemical and Sensory Changes of probiotic fermented beverage based on mixture of pineapple, apple and mango juices. J Chem Pharm Res 2015; 7: 1132-1137.
16. Kedia G, Wang R, Patel H, Pandiella SS. Use of mixed cultures for the fermentation of cereal-based substrates with potential probiotic properties. Process Biochem 2007; 42: 65-70.
17. Vuong T, Martin L, Matar C. Antioxidant activity of fermented berry juices and their effects on nitric oxide and tumor necrosis factor-alpha production in macrophages 264.7 gamma no (–) cell line. J. Food Biochem 2005; 30: 249–268.
18. Debebe A, Chandravanshi BS, Abshiro MR. Total contents of phenolics, flavonoids, tannins and antioxidant capacity of selected traditional Ethiopian alcoholic beverages. Bull. Chem. Soc. Ethiopia. 2016; 30(1):27-37.

# Production of Synbiotic Malt Beverage Using Inulin and Different Probiotic Strains of Lactobacillus Bacteria

*Zakipour Rahimabadi N[1],Sohrabvandi S[2], Roozbeh Nasiraie L[3]*

*1- Department of Food Science and Technology ،Nour Branch ،Islamic Azad University ،Nour ،Iran*

*2-*Corresponding author: National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran Email: sohrabv@sbmu.ac.ir r*

**Received 7 Oct, 2017** **Accepted 24 Jan, 2018**

**Background and Objectives:** Today, the food consumption culture has changed in societies, and as a result, the need to produce a variety of new products such as enriched beverages has increased. Enrichment of beverages with functional components like probiotics and prebiotics is a recent progress in the field of beverage production.

**Materials and Methods:** In this study, suitable amount of inulin as a prebiotic compound was used, and the malt beverages produced by probiotic bacteria including *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum* were investigated.

**Results:** In general, the viability of probiotic bacteria in synbiotic malt beverage decreased but remained in the standard range $>10^7$ during the refrigerated storage. After 28 days of storage, *Lactobacillus acidophilus* had the lowest count among the prebiotic bacteria. pH and acidity of the samples were decreased and increased, respectively due to the addition of probiotic strains. The results showed that the amount of sugar and Brix of the samples decreased with increasing of storage time. The amount of ethanol was lower than 0.1% in all samples. Moreover, the content of phenolic compounds was increased in all samples except the control counterpart during the storage time due to the hydrolysis of glycosylic phenolic compounds and production of free phenols. The results of antioxidant tests revealed that the antioxidant activity of samples also improved during fermentation.

**Discussion:** The sample containing 2.25% inulin and 2.25% sucrose was selected as the optimum sample. After 28 days storing of the synbiotic malt beverages at a refrigerated temperature, the probiotic bacteria showed a standard viability. Moreover, samples containing probiotic bacteria had a higher antioxidant activity in comparison with the control sample. In general, the results of this research proposes that we can produce a synbiotic malt beverage with appropriate biochemical and nutritional properties by using proper probiotic strains.

**Keywords**: Malt beverage, Inulin, Probiotics, Synbiotic, Physicochemical properties