Food Research Journal

Online ISSN: 2676-5691 Print ISSN: 2008-515X

https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Formulation of probiotic dairy fermented drink based containing rice bran extract

Atefeh Hamdani[1] and Maryam Azizkhani[2]✉

[1]MSc Student, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

[2]PhD, Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

✉ Corresponding author: m.azizkhani@ausmt.ac.ir

ARTICLE INFO

Article type:

Research Article

Article history:

Received: February 20, 2023

Accepted: August 28, 2023

Published: February 29, 2024

Keywords:

extract, prebiotic, probiotic, rice bran, dairy beverage

ABSTRACT

Background: In the consumers' community the use of probiotic foods, especially probiotic dairy products is more popular than probiotic products that are offered in the form of pharmaceuticals, therefore; the development of probiotic food products seems necessary.

Aims: The objective of this study was to produce probiotic fermented milk drink containing Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus casei and rice bran extract.

Methods: Survival of probiotic bacteria, chemical and physical characteristics, content of phenolic compounds (TPC), antiradical activity and sensory properties of the product were evaluated.

Results: The results showed that enrichment a probiotic drink by rice bran extract increases the activity of bacteria in acid production and reducing pH. The activity of *Bifidobacterium bifidum* in acid production was higher than that of Lactobacillus casei and the samples containing bran extract and *Bifidobacterium bifidum* had lower pH and higher acidity. Samples containing *Bifidobacterium bifidum* showed lower levels of total solids and viscosity than samples containing Lactobacillus casei, which indicates more activity in the production of substrate-degrading enzymes in the environment. TPC and radical scavenging potential in probiotic drinks increased during the storage period, and its amount was higher in drinks containing *Bifidobacterium bifidum* (74%) than samples containing Lactobacillus casei (70%). Adding bran extract to the milk medium increased the survival of both bacteria by higher than 20% due to the prebiotic activity of the extract.

Conclusion: The results of this study showed that rice bran extract acts as a prebiotic in the presence of probiotic bacteria and this synbiotic product has a high potential to be provided to the market as a food item.

Food Research Journal, 2024,33(4):11-28

DOI: 10.22034/FR.2023.54238.1858

Extended Abstract

Introduction: Introduction: Dairy food products are often considered suitable carriers for probiotics because probiotic strains survive well in the milk environment. Among the bacteria with probiotic activity, especially in fermented dairy products, the genera Bifidobacterium and Lactobacillus are recognized. For example, Lactobacillus casei and Bifidobacteria are used in dairy products such as yogurt and fermented dairy drinks due to their probiotic activity and industrial processing, adaptability to environmental stresses, and ease of processing (Klajn et al., 2021). They are also used in non-dairy food products such as chocolate (Moharrampour and Najafabadi Medicine 1402), green tea drink (Nasirvand et al. 1401) and quinoa drink (Ebrahimi Jam et al. 1398. In recent years, many researches have been done to invent and formulate new products, especially products based on fermented dairy products in combination with fruits and grains. In this regard, cereals such as wheat, rice, barley and oats, which are important sources of nutrients and contain proteins (high level of lysine), unsaturated fatty acids, phytochemical compounds and fibrous components necessary to balance are human diet, they have received attention (Zhang, Guo, Zhu, Peng, and Zhou, 2015). In addition, the brain and bran of these seeds are known as a source of beta-glucan and antioxidants, especially phenolic compounds (Wang, He, and Chen, 2014). Cereals are suitable options to produce superfoods because they can be used as a fermentable substrate for the growth of probiotic microorganisms. Useful dairy or non-dairy foods are produced using a combination of water-soluble oat extract, whey and probiotics, which in addition to having a high nutritional value and a fiber content of more than 55%, also bring health benefits. (S Fuller, Beck, Salman, and Tapsell, 2016; Klajn et al., 2021). The use of probiotic foods, especially probiotic dairy products, in the consumers community is much preferred rather than probiotic pharmaceutical products, therefore, the development of probiotic food products seems necessary. The aim of this study was to produce probiotic fermented dairy beverage containing Bifidobacterium bifidum, Lactobacillus casei, and rice bran extract. Survival of probiotic bacteria, chemical and physical properties, content of phenolic compounds (TPC), antiradical activity, and sensory properties were evaluated.

Materials and methods: The formulation of dairy drink containing rice bran extract was prepared using the following components: 50% (v/v) skim milk containing 5% (w/v) sucrose and 0.5% (w/v) Low methoxylation pectin, 20% (v/v) whey and 30% (v/v) rice bran extract. In formula A, bacterial culture only contains starter cultures (Streptococcus thermophilus and Lactococcus lactis, 0.01% volume/volume) and in formulas B and C, including probiotic culture (Lactobacillus casei or Bifidobacterium bifidum) was 0.01 percent volume/volume and the final population was 7 logcfu/ml. The control sample was prepared without adding rice bran extract (Issara and Rawdkuen, 2014; Klajn et al., 2021). After preparing the base formulation and before adding the bacterial culture, the thermal process was performed at 90 degrees Celsius for 5 minutes and cooling to 42 degrees Celsius. The starter culture was added and mixed, cooled to 37 degrees Celsius, and then probiotic bacteria were added. The formulation was placed in the incubator at 37 degrees Celsius for 3-4 hours until the pH reached 4.5. In the next step, homogenization was done with a mixer to break the clots. Beverages were stored in 250 ml glass bottles with lids at refrigerator temperature (4°C) for 21 days and tested at 7-day intervals (Klajn et al., 2021). Pourplate method was used to check the survival of probiotics. First, the samples were diluted with sterile normal saline solution. Dilutions were cultured for counting Lactobacillus casei in MRS agar medium and for counting Bifidobacterium bifidum in TPY agar. After incubation in anaerobic conditions at 37°C for 48 hours, colony counting was done (López-Rubio, Sanchez, Wilkanowicz, Sanz, and Lagaron, 2012).

Determination of pH (or using pH meter model MTT65, Tovana Lab Company, Iran) and acidity of the samples was done according to

the AOAC method (AOAC, 2014). The solid content of the samples was measured using a refractometer (HSR-500 model, Atago, Japan) according to the AOAC method. The viscosity of the samples immediately after leaving the refrigerator using a Brookfield viscometer (Brookfield engineering labs Inc., United States). The stability of the drink samples was checked by pouring the sample into a 10 ml graduated cylinder. Then, the sample was observed and recorded to monitor the stability at 4 degrees Celsius and the rate of sediment formation in 7-day intervals (Issara and Rawdkuen, 2014). The total phenolic content of the sample was determined by Folin-Ciocalteo method. Briefly, 0.2 ml of sample was mixed with 1.5 ml of Folin-Ciocalteo reagent and after 5 minutes, 1.5 ml of sodium carbonate solution (concentration 60 g/l) was added to the mixture. After 90 minutes of keeping at room temperature, the absorbance was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 765 nm. The results were expressed based on milligrams of gallic acid equivalents per gram (Noreen, Semmar, Farman, and McCullagh, 2017). In order to determine the free radical scavenging activity, 50 microliters of the sample were mixed with 1950 microliters of 60 micromolar DPPH solution. Then the mixture was placed in a dark place for 30 minutes and the absorbance was measured at a wavelength of 517 nm. Radical scavenging activity was calculated as micromol Trolox per 100 grams based on dry weight and the results were expressed based on free radical scavenging percentage (Molyneux, 2004). Sensory evaluation including color, smell, taste, texture and overall acceptance was performed using a 9-point pleasure scale at 7-day intervals during the storage period by a group of trained testers (8 people) (Xing et al., 2011).

Results and discussion: The results showed that incorporating rice bran extract in a dairy beverage containing probiotics increases the activity of bacteria to produce acid and reduce pH. The activity of Bifidobacterium bifidum in acid production was higher than that of Lactobacillus casei, and samples containing rice bran extract and Bifidobacterium bifidum have lower pH and higher titratable acidity. The samples containing Bifidobacterium bifidum showed lower total solids and viscosity than the samples containing Lactobacillus casei, which indicates higher activity in the production of enzymes that decompose substrates in the culture medium. TPC and free radical scavenging potential in probiotic beverages increased during the storage period and its level was higher in the beverage containing Bifidobacterium bifidum (74%) than the samples containing Lactobacillus casei (70%). The addition of rice bran extract to the milk-based medium improved the survival of both probiotic bacteria by more than 20% due to the prebiotic activity of the extract.

Conclusion: The results of this study showed that rice bran extract acts as a prebiotic in the presence of probiotic bacteria, and this synbiotic product has a high potential to be presented to the market as a functional food due to its significant content of phenolic compounds, antioxidant activity and high survival of probiotics

پژوهش‌های صنایع غذایی
شاپا الکترونیکی: ۵۶۹۱-۲۶۷۶ ، شاپا چاپی ۵۱۵X- ۲۰۰۸
https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

فرمولاسیون نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک برپایه‌ی شیر حاوی عصاره سبوس برنج

عاطفه حمدانی[۱] و مریم عزیزخانی[۲]✉

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل

[۲] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل

✉ مسئول مکاتبه: m.azizkhani@ausmt.ac.ir

مشخصات مقاله

نوع مقاله:
علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱
پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۶
انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۱۰

کلید واژه:
پروبیوتیک، پری‌بیوتیک، سبوس برنج، عصاره، نوشیدنی لبنی

چکیده

زمینه مطالعاتی: کاربرد مواد غذایی پروبیوتیک به ویژه محصولات لبنی پروبیوتیک در جامعه مصرف‌کنندگان بیشتر از محصولات پروبیوتیکی است که در قالب اشکال دارویی عرضه می‌شوند، بنابراین، توسعه محصولات غذایی پروبیوتیک ضروری به نظر می‌رسد.

هدف: هدف از این مطالعه، تولید نوشیدنی لبنی تخمیری پروبیوتیک حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، لاکتوباسیلوس کازئی و عصاره سبوس برنج بود.

روش کار: بقای باکتری‌های پروبیوتیک، ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی، محتوای ترکیبات فنلی (TPC)، فعالیت ضدرادیکالی و خصوصیات حسی محصول مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که افزودن عصاره سبوس برنج به نوشیدنی حاوی پروبیوتیک موجب افزایش فعالیت باکتری‌ها جهت تولید اسید و کاهش pH می‌گردد. فعالیت بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در تولید اسید بیشتر از لاکتوباسیلوس کازئی بوده و نمونه‌های حاوی عصاره سبوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم pH پایین‌تر و اسیدیته بالاتری داشته‌اند. نمونه‌های حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم مواد جامد کل و ویسکوزیته پائین‌تری نسبت به نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس کازئی نشان دادند که حاکی از فعالیت بیشتر در تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده سوبسترا در محیط می‌باشد. TPC و پتانسیل مهار رادیکال در نوشیدنی‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری افزایش یافت و میزان آن در نوشیدنی حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (۷۴درصد) بیشتر از نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس کازئی (۷۰ درصد) بود. افزودن عصاره سبوس به محیط شیر، بواسطه فعالیت پری‌بیوتیکی عصاره، موجب افزایش بقای هر دو باکتری به میزان بیش از ۲۰درصد گردید.

نتیجه گیری نهایی: نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره سبوس برنج در حضور باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان پری‌بیوتیک عمل نموده و این محصول سینبیوتیک با توجه به دارا بودن محتوای قابل ملاحظه ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بقای پروبیوتیک‌ها دارای پتانسیل بالایی جهت ارائه به بازار به عنوان یک ماده غذایی فراسودمند می‌باشد.

مقدمه

محصولات مغذی و فراسودمند برای سلامت انسان که مواد غذایی کاربردی نیز نامیده می‌شوند به کانون توجه محققان و سرمایه‌گذاران در صنعت غذا تبدیل شده‌اند. پذیرش و کاربرد مواد غذایی پروبیوتیک به ویژه محصولات لبنی پروبیوتیک بیشتر از سایر محصولات پروبیوتیکی است که در قالب کپسول‌ها، ساشه‌ها و سایر اشکال دارویی عرضه می شوند. مزایای اصلی مصرف منظم محصولات حاوی پروبیوتیک برای سلامتی شامل بهبود تعادل میکروبی روده، کاهش علایم عدم تحمل لاکتوز از طریق تولید لاکتاز، بهبود هضم مواد غذایی، تقویت سیستم ایمنی بدن، پیشگیری و درمان اسهال و مهار رشد برخی از باکتری‌های بیماریزا می‌باشد (R. Fuller, 2012; Williams, 2010). گزارش شده است که جهت فراسودمند بودن محصول غذایی پروبیوتیک، ماده غذایی بایستی شامل حداقل ۱۰۷-۱۰۶ سلول زنده در هر میلی لیتر یا گرم باشد (R. Fuller, 2012). محصولات غذایی لبنی اغلب حامل مناسبی برای پروبیوتیک‌ها به شمار می‌روند زیرا سویه‌های پروبیوتیک در محیط شیر به خوبی بقاء می‌یابند. از جمله باکتری های دارای فعالیت پروبیوتیکی، به ویژه در محصولات لبنی تخمیر شده، متعلق به جنس‌های بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس می‌باشند. به طور مثال، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم‌ها به دلیل داشتن فعالیت پروبیوتیکی و قابلیت کاربرد صنعتی، سازگاری با تنش‌های محیطی و سهولت کاربرد در محصولاتی لبنی مانند ماست و نوشیدنی های لبنی تخمیری (Klajn et al., 2021) و محصولات غذایی غیرلبنی مانند شکلات (محرم پور و پزشکی نجف آبادی ۱۴۰۲) ، نوشیدنی چای سبز (نصیروند و همکاران ۱۴۰۱) و نوشیدنی کینوا (ابراهیمی جم و همکاران ۱۳۹۸) به کار می‌روند.

در سال‌های اخیر، تحقیقات متعددی جهت ابداع و فرمولاسیون محصولات جدید به ویژه محصولات بر پایه لبنیات تخمیری در ترکیب با میوه ها و غلات انجام شده است. در این رابطه، غلاتی مانند گندم، برنج، جو و جو دوسر که منابع مهمی از مواد مغذی محسوب شده و حاوی پروتئین‌ها (سطح بالای لیزین)، اسیدهای چرب غیر اشباع، ترکیبات فیتوشیمیایی و اجزای فیبری لازم برای ایجاد تعادل در رژیم غذایی انسان هستند، مورد توجه قرار گرفته‌اند (Zhang, Guo, Zhu, Peng, and Zhou, 2015). علاوه براین، مغز و سبوس این دانه ها به عنوان منبع بتا-گلوکان و آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوص ترکیبات فنلی شناخته شده‌اند (Wang, He, and Chen, 2014). غلات گزینه‌های مناسبی برای تولید مواد غذایی فراسودمند هستند زیرا می‌توانند به عنوان سوبسترایی قابل تخمیر برای رشد میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک مورد استفاده قرار گیرند .

مواد غذایی لبنی و غیرلبنی فراسودمند با استفاده از ترکیب عصاره جو دو سر محلول در آب، آب پنیر و پروبیوتیک‌ها تولید شده‌اند که علاوه بر دارا بودن ارزش غذایی بالا و محتوای فیبر بالاتر از ۵۵ در صد فواید سلامتی بخشی نیز به همراه دارند (S Fuller, Beck, Salman, and Tapsell, 2016; Klajn et al., 2021).

برنج، از خانواده غلات، گیاهی یک ساله، متعلق به جنس اوریزا و شامل ۲۲ گونه است. برنج به عنوان غذای اصلی گروه بزرگی از جمعیت انسانی در جهان و منبع تامین انرژی در ۱۷ کشور آسیایی و حاشیه اقیانوس آرام، ۹ کشور در شمال و جنوب آمریکا و ۸ کشور آفریقایی محسوب می‌گردد. برنج منبع غنی از تیامین، ریبوفلاوین، نیاسین، اسید گلوتامیک و آسپارتیک است. برنج آسیاب نشده حاوی مقدار قابل توجهی فیبر غذایی می‌باشد. در دهه‌های اخیر، تولید برنج افزایش یافته و مطابق یافته های فائو ، تولید جهانی برنج از حدود ۲۱۵ میلیون تن برنج در سال ۱۹۶۱ به بیش از ۷۳۸ میلیون تن در سال ۲۰۱۲ رشد داشته است (Son et al., 2013). سبوس برنج منبع قابل توجهی از ترکیبات فنلی، ویتامین‌های گروه ب و فیبر است. سبوس برنج هر ساله مقدار قابل توجهی از ضایعات کشاورزی را در کشور ما و نیز در کل دنیا تشکیل می‌دهد. این ضایعات منابع غنی از آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله آنتی‌اکسیدان های محلول در آب مانند اسید فرولیک و اسیدهای فنلیک دیگر، سلولز و سایر پلی ساکاریدهایی محسوب می‌شوند که در صنعت غذا و دارو به عنوان افزودنی به کار می‌روند و دارای ارزش اقتصادی بالایی می‌باشند. در

چندین مطالعه، از دانه غلات تخمیر شده مانند گندم، جو، جوی دوسر، برنج، مالت و یا عصاره سبوس جهت تولید نوشیدنی پروبیوتیک لبنی و غیرلبنی به عنوان محصول غذایی فراسودمند و افزایش محتوای اسیدهای چرب تک و چند غیراشباعی با زنجیره طویل استفاده شده است (Chen, Wu, Schlundt, and Conway, 2020; Hatami, Tajabadi, Massoud, and Sharifan, 2021; Issara and Rawdkuen, 2014; Klajn et al., 2021; Salmerón, 2017). به طور مثال، در مطالعه‌ای، ترکیبی از عصاره محلول در آب جو دوسر و میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در نوشیدنی بر پایه شیر جهت افزایش ارزش غذایی و تامین فواید سلامتی‌بخش برای مصرف کننده به کار رفته است. نتایج نشان داد که ترکیب عصاره جو دوسر و لاکتوباسیلوس کازئی در تولید نوشیدنی لبنی پروبیوتیک تخمیر شده از نظر فن‌آوری امکان پذیر بوده و موجب بهبود خواص عملکردی محصول و ارائه مزایای سلامتی‌بخش برای مصرف کننده می‌گردد (Klajn et al., 2021). همچنین، در پژوهشی تولید نوشیدنی حاوی لاکتوباسیلوس کازئی و عصاره سبوس برنج و عسل توسط حاتمی و همکاران (۲۰۲۱) مورد بررسی قرار گرفت. مطابق داده‌های ایشان عصاره سبوس برنج و عسل همراه با پروبیوتیک‌ها ترکیب مناسبی برای تولید یک نوشیدنی منحصر به فرد در صنعت نوشیدنی بود (Hatami et al., 2021). با توجه به اینکه بخش اعظم ضایعات کشاورزی در استان مازندران مربوط به سبوس برنج می‌باشد و تقویت صنایع تبدیلی در این استان جزو اولویت‌های بخش غذا و کشاورزی محسوب می‌شود، هدف از انجام پژوهش حاضر توسعه تولید نوشیدنی لبنی تخمیر شده حاوی عصاره سبوس برنج، ارزیابی بقای باکتری پروبیوتیک، محتوای ترکیبات فنلی، فعالیت ضدرادیکالی، پایداری فیزیکی و ویژگی‌های حسی جهت طراحی یک محصول جدید با ویژگی‌های مطلوب مصرف‌کنندگان بود.

مواد و روش‌ها

تهیه باکتری

در این مطالعه، کشت آغازگر (لاکتوکوکوس لاکتیس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) به صورت تجاری تهیه شد. باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با منشاء روده انسانی از بخش میکروبیولوژی دانشگاه تورکو (فنلاند) تهیه گردید. لاکتوباسیل‌ها در محیط MRS براث و بیفیدوباکتری‌ها در محیط TPY براث در ۳۷ درجه سانتیگراد در شرایط بیهوازی (۱۰ درصد دی اکسیدکرین، ۱۰ درصد هیدروژن و ۸۰ درصد نیتروژن) به مدت ۱۸ساعت کشت شدند. سپس، سلول‌ها به کمک سانتریفوژ (۶۰۰۰ جی، ۱۰ دقیقه) جدا سازی، با آب دیونیزه استریل شستشو و در رقت یک صدم (در محیط براث اختصاصی خود) رقیق سازی و در ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند (Atraki and Azizkhani, 2021).

تهیه عصاره سبوس برنج

سبوس برنج از یک مجتمع شالیکوبی در آمل تهیه و در اتوکلاو ۱۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ ساعت استریل شد. سپس، ۱۰۰ گرم از سبوس با محلول بافر استات با pH معادل ۵، ۲۰۰ میلی لیتر آب مقطر به همراه ۵ درصد (وزنی/حجمی) آنزیم فیتاز مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه حرارت داده شد. فاز مایع از فاز جامد توسط کاغذ صافی تفکیک و عصاره سبوس توسط یک سانتریفیوژ (۶۰۰۰ جی، ۱۵ دقیقه) جدا شد (Chemat et al., 2019; Issara and Rawdkuen, 2014).

تولید نوشیدنی پروبیوتیک حاوی عصاره سبوس برنج بر پایه شیر

فرمولاسیون نوشیدنی لبنی حاوی عصاره سبوس برنج با استفاده از اجزای زیر تهیه شد: ۵۰ در صد (حجمی/حجمی) شیر پس‌چرخ حاوی ۵ در صد (وزنی/حجمی) ساکارز و ۰/۵ در صد (وزنی/حجمی) پکتین با درجه متوکسیلاسیون پائین، ۲۰ درصد (حجمی/حجمی) آب‌پنیر و ۳۰ درصد (حجمی/حجمی) عصاره سبوس برنج. در فرمول A کشت باکتریایی فقط حاوی کشت های آغازگر (استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوکوکوس لاکتیس، ۰/۰۱ درصد حجمی/حجمی) و در فرمول B و C شامل کشت پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی یا بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به میزان ۰/۰۱

درصد حجمی/حجمی و جمعیت نهایی 7 logcfu در میلی‌لیتر (بود. نمونه کنترل بدون افزودن عصاره سبوس برنج تهیه شد (Issara and Rawdkuen, 2014; Klajn et al., 2021).

پس از آماده سازی فرمولاسیون پایه و قبل از افزودن کشت باکتریایی، فرایند حرارتی در۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و سرد کردن تا دمای ٤٢ درجه سانتیگراد انجام شد. کشت آغازگر اضافه و مخلوط شده، تا دمای ۳۷ درجه سانتیگراد خنک و سپس باکتری پروبیوتیک اضافه شد. فرمولاسیون در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٤-۳ ساعت تا رسیدن pH به ٤/٥ گرمخانه گذاری شد. در مرحله بعد همگن سازی با همزن خانگی جهت شکستن لخته‌ها انجام شد. نوشیدنی‌ها در بطری‌های شیشه‌ای درب‌دار با حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر در دمای یخچال (٤±۰/٥ درجه سانتیگراد) به مدت ۲۱ روز نگهداری شده و در فواصل زمانی ۷ روزه مورد آزمون قرار گرفتند.(Klajn et al., 2021)

تعیین میزان بقای پروبیوتیک‌ها در نمونه+ Save

جهت بررسی بقای پروبیوتیک‌ها از روش پورپلیت استفاده شد. ابتدا نمونه‌ها با محلول نرمال سالین استریل رقیق شدند. رقت‌ها برای شمارش لاکتوباسیلوس کازئی در محیط MRS آگار و برای شمارش بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در TPY آگار کشت شدند. پس از گرمخانه گذاری در شرایط بیهوازی در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٤٨ ساعت شمارش کلنی انجام شد (López-Rubio, Sanchez, Wilkanowicz, Sanz, and Lagaron, 2012).

تعیین pH و اسیدیته

تعیین) pH یا استفاده از pH متر مدلMTT65 ، شرکت توانا لب، ایران (و اسیدیته نمونه‌ها مطابق روش AOAC انجام شد.(AOAC, 2014)

تعیین میزان مواد جامد

میزان مواد جامد نمونه‌ها با استفاده از رفراکتومتر) مدل HSR-500، کمپانیAtago ، ژاپن (و مطابق روش AOACانجام شد.(AOAC, 2014)

تعیین ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه‌ها بلافاصله پس از خروج از یخچال با استفاده از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد) کمپانی Brookfield engineering labs Inc.، ایالات متحده (و پروب اداپتور اسپیندل (UL-0) UL مطابق روش AOAC انجام شد (AOAC, 2014).

آزمون پایداری فیزیکی

iپایداری نمونه‌های نوشیدنی با ریختن نمونه در استوانه مدرج ۱۰ میلی لیتری بررسی شد. سپس نمونه جهت پایش پایداری در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری و میزان تشکیل رسوب در بازه‌های زمانی ۷ روزه مشاهده و ثبت شد (Issara and Rawdkuen, 2014).

تعیین ترکیبات فنلی تام

کل محتوای فنلی نمونه به روش فولین –سیوکالتئو تعیین شد. به طور خلاصه، ۰/۲ میلی لیتر نمونه با ۱/٥ میلی لیتر معرف فولین –سیوکالتئو مخلوط و پس از ٥ دقیقه، ۱/٥ میلی لیتر محلول کربنات سدیم (غلظت ٦۰ گرم در لیتر) به مخلوط اضافه شد. پس از ۹۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، میزان جذب با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷٦٥ نانومتر اندازه گیری شد. نتایج بر اساس میلی‌گرم معادل اسید گالیک در گرم بیان شد (Noreen, Semmar, Farman, and McCullagh, 2017).

تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد(DPPH)

جهت تعیین فعالیت مهار رادیکال آزاد، ٥۰ میکرولیتر نمونه با ۱۹٥۰ میکرولیتر محلول ٦۰ میکرومولار DPPH مخلوط شد. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک قرار گرفته و جذب در طول موج ٥۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت مهار رادیکال به صورت میکرومول ترولوکس در ۱۰۰ گرم بر اساس وزن خشک محاسبه و نتایج بر اساس درصد مهار رادیکال آزاد بیان شد.(Molyneux, 2004)

آزمون‌های حسی

ارزیابی حسی شامل رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی با استفاده از مقیاس لذت ۹ نقطه‌ای در فواصل ۷ روزه طی دوره نگهداری توسط گروه آزمونگر آموزش دیده (۸ نفره) انجام شد .(Xing et al., 2011)

تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در سه تکرار انجام و داده‌های به دست آمده در مطالعه به صورت میانگین± انحراف معیار ارائه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس دو طرفه (ANOVA) و آزمون تکمیلی(Tukey HSD جهت مقایسه‌های دوتایی(انجام شد. برای مقایسه داده‌های ارزیابی حسی آزمون کروسکال والیس به کار رفت. آزمون‌های آماری با سطح اطمینان ۹۹٪ و ۹۵٪ انجام شدند.

نتایج و بحث

بقای پروبیوتیک‌ها

نتایج شمارش باکتری های بیفیدو باکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه‌های کنترل و تیمارشده با عصاره سبوس برنج در جدول ۱ ارائه شده است. داده‌ها نشان می‌دهد جمعیت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه کنترل (F3) تا روز ۷ نگهداری افزایش و پس از آن تا پایان دوره نگهداری دچار کاهش شده است ($p < ۰/۰۵$). تعداد سلول‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در نمونه کنترل (F1) طی دوره ذخیره‌سازی حدود log cfu1 افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$) که حاکی از بقای بیشتر بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نسبت به لاکتوباسیلوس کازئی می‌باشد. افزودن عصاره سبوس برنج به محیط پایه شیر به میزان قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش بقای هر دو باکتری گردید ($p < ۰/۰۵$). افزایش نرخ بقاء بواسطه فعالیت پری‌بیوتیکی ترکیبات عصاره سبوس برنج در بیفیدوباکتریوم بیفیدوم log cfu 69/1 (۲۰/۳ درصد) و در لاکتوباسیلوس کازئی log cfu 78/1 (۲۵/۶ درصد) در مقایسه با نمونه‌های کنترل در پایان دوره نگهداری بوده است ($p < ۰/۰۵$). براساس یافته‌های حاتمی و همکاران (۲۰۲۱) اثر غلظت‌های مختلف عصاره سبوس برنج (۵، ۱۰ و ۱۵ درصد) بر بقای لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به کنترل معنادار بود. در مطالعه ایشان، قابلیت بقای باکتری‌ها طی ذخیره سازی ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت و در هفته سوم به پایین ترین سطح خود رسید (Hatami et al., 2021) در حالی که در پژوهش حاضر در حضور عصاره سبوس برنج جمعیت باکتریایی به طور پیوسته افزایش یافت. این روند صعودی تا پایان دوره نگهداری را می‌توان به وجود ترکیبات مغذی و سوبسترای مطلوب جهت بقای پروبیوتیک‌ها در نوشیدنی نسبت داد. قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در مواد غذایی به عواملی مانند pH، دما و دوره ذخیره‌سازی و وجود ریز مغذی ها بستگی دارد. از طرف دیگر، فعالیت باکتری‌ها باعث تولید اسیدهای آلی مانند اسید استیک، اسید لاکتیک و اسید پروپیونیک، افزایش اسیدیته، کاهش pH و همچنین تولید پراکسید هیدروژن می‌شود که می‌تواند موجب اثر مهاری بر رشد و کاهش تعداد سلول‌های پروبیوتیک شود (Pereira, Almeida, de Jesus, da Costa, and Rodrigues, 2013; Sadaghdar, Mortazavian, and Ehsani, 2012).

Table 1- Growth of Bifidobacterium bifidum and Lactobacillus casei (log CFU/ml) dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

	Day 0	Day 7	Day 14	Day 21
Bifidobacterium bifidum				
F1 (Control-no bran extract)	7.28 ± 0.51^{Aa}	7.52 ± 0.29^{Aa}	7.85 ± 0.10^{Ba}	8.52 ± 0.20^{Ca}
F2 (with bran extract)	7.33 ± 0.25^{Aa}	7.90 ± 0.45^{Bb}	8.95 ± 0.22^{Cb}	9.94 ± 0.71^{Db}
Lactobacillus casei				
F3 (Control-no bran extract)	7.45 ± 0.20^{Aa}	7.79 ± 0.11^{Ba}	7.50 ± 0.42^{Ca}	6.85 ± 0.15^{Da}
F4 (with bran extract)	7.19 ± 038^{Aa}	7.81 ± 0.23^{Ba}	8.55 ± 0.19^{Ca}	8.63 ± 0.56^{Db}

a-b: significant statistical difference in each column
A-D: significant statistical difference in each column

pH و اسیدیته

اثرات افزودن عصاره سبوس برنج، باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم به شیر حاوی کشت آغازگر بر pH و مقدار اسیدیته قابل تیتراسیون در نوشیدنی تخمیری در طول نگهداری در یخچال به مدت ۲۱ روز در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. همانطور که انتظار می‌رود، دوره ذخیره سازی به طور قابل توجهی بر سطح pH و اسیدیته در هر ٤ نوع نوشیدنی برنج تاثیر گذاشت؛ pH کاهش و اسیدیته قابل تیتر افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). در تمام روزهای نگهداری تفاوت بین مقادیر pH در نمونه‌های نوشیدنی برنج حاوی لاکتوباسیلوس کازئی (F2) و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (F4) معنادار بود ($p < ۰/۰۵$). مقادیر pH به طور قابل توجهی در روز ۲۱ نگهداری کاهش یافت و به ۳/۵۵، ۳/۱۱، ۳/٦۲ و ۳/۲۸ به ترتیب برای F1، F2، F3 و F4 رسید (شکل ۱). به موازات تغییرات pH، مقادیر اسیدیته قابل تیتراسیون نوشیدنی‌ها طی ۷ روز اول نگهداری به میزان قابل توجهی افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$) و شیب مثبت ملایمی را تاپایان دوره ذخیره سازی طی نمود و در روز ۲۱ به ۱/۳، ۱/۷۱، ۱/۲۵ و ۱/۵۸ درصد اسیدلاکتیک به ترتیب در F1، F2، F3 و F4 رسید ($p < ۰/۰۵$) (شکل ۲). نتایج نشان می‌دهد که افزودن عصاره سبوس برنج به نوشیدنی لبنی حاوی پروبیوتیک موجب افزایش فعالیت باکتری‌ها جهت تخمیر و تولید اسیدهای آلی به علت فعالیت آنزیم بتا گالاکتوزیداز می‌گردد (Kadiya, Kanawjia, and Solanki, 2014).

همچنین، مشاهده می‌شود که فعالیت بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در تولید اسید بیشتر از لاکتوباسیلوس کازئی بوده و نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم pH پایین‌تر و اسیدیته قابل تیتر بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج و لاکتوباسیلوس کازئی داشته‌اند. قابل ذکر است که تفاوت معنی‌داری بین pH و اسیدیته نمونه‌های شیر حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (F1) و لاکتوباسیلوس کازئی (F3) وجود نداشت ($p > ۰/۰۵$). در مطالعه حسن و همکاران (۲۰۱۲) تاثیر افزودن شیر دانه کدو تنبل و کنجد بر pH و مقادیر اسیدیته قابل تیتراسیون نوشیدنی تخمیری حاوی برنج و ارزن در طول نگهداری ۱۵ روزه در یخچال نشان داد که افزایش اسیدیته قابل تیتراسیون و کاهش pH در نمونه‌های حاوی برنج تفاوت معنی‌داری با سایر نمونه‌ها دارد (Hassan, Aly, and El-Hadidie, 2012).

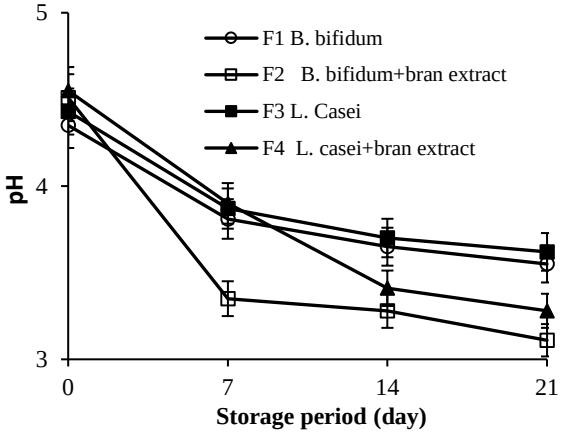

Figure 1. pH of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

نتایج مشابهی نیز توسط سالمرون (۲۰۱۷) در بررسی تاثیر افزودن غلات و سبوس غلات به عنوان پریبیوتیک بر رشد و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی تخمیری گزارش شد. مقادیر pH اولیه نوشیدنی‌های سین بیوتیک بعد از تخمیر از ٤/۰٤ تا ٤/٤۹ و مقادیر اسیدیته اولیه از ۰/٦-۰/۳۵ درصد متغیر بود و پس از یک دوره ذخیره سازی ۲۸ روزه مقادیر pH به ۳/۵۹-۳/۰٤ کاهش یافت و سطح اسیدیته به ۱/۵۳-۰/۹۱ درصد رسید (Salmerón, 2017). همچنین، نتایج ما با یافته‌های حاتمی و همکاران (۲۰۲۱) تطابق دارد. این محققان به بررسی تغییرات pH و اسیدیته در نوشیدنی لبنی تخمیری

حاوی عصاره سبوس برنج و عسل پرداختند و بیان نمودند که کاهش pH و افزایش اسیدیته طی دوره نگهداری به علت تجزیه الیگوساکاریدهای پریبیوتیکی و سایر قندهای موجود در عصاره سبوس غلات بواسطه آنزیم های تولید شده توسط استارترها و پروبیوتیک‌ها در نوشیدنی رخ می‌دهد (Hatami et al., 2021).

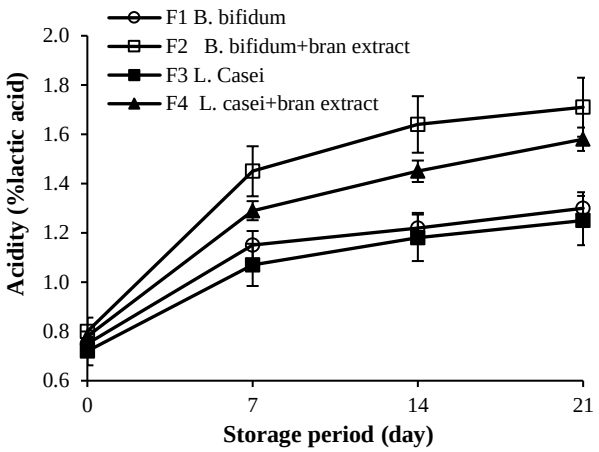

Figure 2. Acidity of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

میزان مواد جامد

میزان مواد جامد نمونه‌های نوشیدنی لبنی حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و عصاره سبوس برنج در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به نتایج، میزان مواد جامد نمونه ها در طول دوره نگهداری کاهش یافت و کمترین مقدار در کنترل‌ها مشاهده شد و نیز تفاوت معنی داری در مقدار محتوای جامد بین نمونه‌های تیمارشده وجود داشت ($p < ۰/۰۵$). میزان مواد جامد محلول در کل دوره نگهداری در نمونه حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و عصاره سبوس برنج کمترین مقدار را در مقایسه با سایر نمونه‌ها نشان داد و در روز ۲۱ به ۱۲/۸۵ درصد رسید در حالی که این معیار در نمونه حاوی لاکتوباسیلوس کازئی و عصاره سبوس معادل با ۱۳/۷۰ بود ($p < ۰/۰۵$). علت تفاوت معنادار بین میزان مواد جامد میان نمونه‌های حاوی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم می‌تواند به علت توانایی بالاتر بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در تولید آنزیم‌های تجزیه کننده قندها و فراهم آوردن سوبسترای بیشتر برای تخمیر و تولید اسیدلاکتیک و سایر انواع اسیدهای آلی باشد. لوپین-میلورا و همکاران (۲۰۱۶) تغییرات کاهشی قابل توجهی را در مقدار کل مواد جامد و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک حاوی شیره افرا در طول نگهداری در یخچال اعلام نمودند (Lupien-Meilleur, Roy, and Lagacé, 2016). نتایجی مشابه یافته‌های مطالعه حاضر نیز توسط حاتمی و همکاران (۲۰۲۱) مبنی بر کاهش میزان کل مواد جامد و محتوای جامد محلول در نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک حاوی عصاره سبوس برنج طی دوره نگهداری در یخچال گزارش شد (Hatami et al., 2021). محتوای کل جامد در نوشیدنی ها حاوی ترکیبات جامد و قندهای محلول در آب است. باکتری‌های اسید لاکتیک و پروبیوتیک‌ها واجد توانایی استفاده از قندها و تولید اسید لاکتیک و ترکیبات فرار می‌باشند لذا کاهش کل محتوای جامد به طور عمده به دلیل تجزیه قند در نوشیدنی‌ها توسط پروبیوتیک‌ها است.

Table 2- Total solid content (%) of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

	Day 0	Day 7	Day 14	Day 21
Bifidobacterium bifidum				
F1 (Control-no bran extract)	19.61±0.08^{Aa}	18.50±0.57^{Ba}	17.63±0.22^{Ca}	17.54±0.19^{Da}
F2 (with bran extract)	19.64±0.11^{Aa}	18.15±0.41^{Bb}	16.25±0.12^{Cb}	12.85±0.35^{Db}
Lactobacillus casei				
F3 (Control-no bran extract)	19.65±0.23^{Aa}	18.73±0.29^{Aa}	17.95±0.50^{Ba}	16.28±0.20^{Ca}
F4 (with bran extract)	19.44±0.10^{Aa}	18.39±0.65^{Bb}	16.85±0.49^{Cb}	13.70±0.84^{Db}

a-b: significant statistical difference in each column
A-D: significant statistical difference in each column

ویسکوزیته

ویسکوزیته به معنای مقاومت یک سیال در برابر اعمال تنش برشی و به عبارت ساده‌تر مقاومت در برابر جاری شدن تعریف شده است. مطابق جدول شماره ۳، ویسکوزیته نمونه‌های نوشیدنی فاقد عصاره سبوس برنج ویسکوزیته بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره سبوس داشته‌اند ($p < ۰/۰۵$). همچنین، نمونه‌های حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* (هم نمونه کنترل و هم نمونه حاوی عصاره سبوس) ویسکوزیته پائین‌تری نسبت به نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* نشان دادند ($p < ۰/۰۵$) که حاکی از فعالیت بیشتر در تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده سوبسترا و کاهش میزان مواد جامد و در نتیجه کاهش ویسکوزیته می‌باشد (Rozada-Sánchez, Sattur, Thomas, and Pandiella, 2008). براساس یافته‌های مطالعات پیشین، افزودن عصاره سبوس غلات به فرمولاسیون نوشیدنی به دلیل محتوای بالای بتا-گلوکان در روزهای آغازین نگهداری موجب افزایش ویسکوزیته محلول می‌گردد لیکن پس از به اتمام رسیدن ترکیبات قندی و سوبستراهای مورد مصرف باکتری‌های پروبیوتیک، ترکیبات پری‌بیوتیک دیگر مانند بتا-گلوکان نیز مورد تجزیه و تغذیه میکروارگانیسم‌ها قرار گرفته و با کاهش میزان ترکیبات جامد به تدریج از ویسکوزیته محلول کاسته می‌شود. نتایج مشابهی طی تولید یک نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک با استفاده از جو دوسر و موز گزارش شد و بیان گردید که افزایش اولیه میزان ویسکوزیته محلول می‌تواند زمان تخلیه معده را به تاخیر بیندازد و حس سیری طولانی مدت در فرد ایجاد نماید و در مراحل بعدی تجزیه پری‌بیوتیک‌هایی مانند بتا-گلوکان موجب تقویت فعالیت پروبیوتیک‌ها و اثرات سلامتی بخش می‌گردد (Salmerón, 2017; Sethi, Tyagi, and Anurag, 2016). در پژوهشی دیگر، در تولید یک نوشیدنی تخمیری حاوی اسید لاکتیک باکتری‌ها غنی شده با برنج، افزایش و سپس کاهش ویسکوزیته طی دوره نگهداری مشاهده شد (Bevilacqua, Casanova, Petruzzi, Sinigaglia, and Corbo, 2016).

Table 3- Viscosity (cp) of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

	Day 0	Day 7	Day 14	Day 21
Bifidobacterium bifidum				
F1 (Control-no bran extract)	31.44±0.35^{Aa}	32.08±0.13^{Ba}	33.75±0.40^{Ca}	32.48±0.10^{Ca}
F2 (with bran extract)	25.20±0.51^{Ab}	25.96±0.10^{Bb}	24.32±0.05^{Cb}	22.36±0.29^{Db}
Lactobacillus casei				
F3 (Control-no bran extract)	30.55±0.06^{Aa}	32.52±0.15^{Ba}	32.20±0.49^{Ca}	32.75±0.17^{Da}
F4 (with bran extract)	24.29±0.04^{Ab}	25.33±0.09^{Bb}	24.55±0.30^{Cb}	23.50±0.20^{Db}

a-b: significant statistical difference in each column
A-D: significant statistical difference in each column

آزمون پایداری فیزیکی

پایداری فیزیکی نمونه‌ها با استفاده از تکنیک تشکیل رسوب (تکنیک انعقاد) بررسی شد (شکل ۳). تفاوت معنی‌داری بین نمونه‌های کنترل حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* و *لاکتوباسیلوس کازئی* مشاهده نشد ($p > ۰/۰۵$) لیکن میزان رسوب تشکیل شده در نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج اندکی بیشتر از نمونه‌های کنترل بود ($p < ۰/۰۵$). میزان رسوب با افزایش زمان ذخیره‌سازی افزایش ناچیزی یافت که علت آن می‌تواند به وجود ذرات معلق سبوس در محصول، علیرغم فیلتراسیون دو مرحله‌ای عصاره، باشد. در مطالعه ایسارا و راودکوئن (۲۰۱٤) پایداری فیزیکی شیر حاوی سبوس برنج با استفاده از تکنیک ترسیب پایش شد و بیشترین پایداری در نمونه‌ای مشاهده شد که کمترین میزان سبوس را داشت و نیز میزان تشکیل رسوب تا پایان زمان نگهداری، به ویژه در روز ۷، افزایش یافت (Issara and Rawdkuen, 2014). بنابراین، جهت رفع پدیده جداسازی فاز بین جزء محلول و جزء نامحلول، تثبیت محصول و پایدارسازی سیستم های کلوئیدی باید از امولسیفایر یا تثبیت کننده مانند کربوکسی متیل سلولز استفاده شود (Wu, Du, Li, and Zhang, 2014).

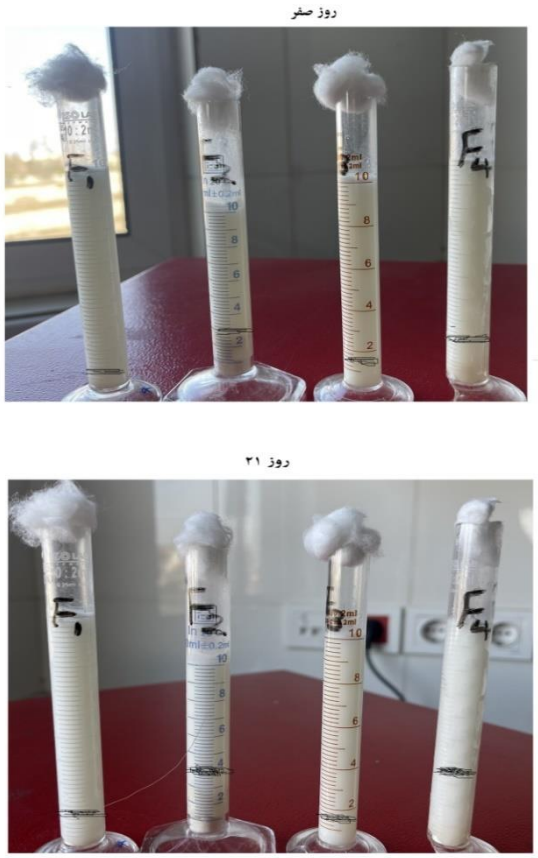

Figure 3. Physical consisitancy of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator.
Bars on the figures presents standard deviation of data.

ترکیبات فنلی تام

ویژگی‌های مطلوب تغذیه‌ای و سلامتی‌بخش سبوس برنج بواسطه دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی توسط محققان متعددی گزارش شده است (Salmerón, 2017; Son et al., 2013; Wang et al., 2014). همچنین، چندین مطالعه افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی و آزادشدن ترکیبات زیست فعال را پس از فرایند تخمیر سبوس گزارش نمودند (Călinoiu, Cătoi, and Vodnar, 2019; Chen et al., 2020). در مطالعه حاضر، محلول اتانولی ۸۰ درصد و تیمار ماوراءصوت جهت استخراج ترکیبات فنلی (اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها) و آنتی‌اکسیدانی از سبوس برنج بکار رفت که در مقایسه با سایر مطالعات بازده استخراج بالاتری داشته است (Wang et al., 2014). مطابق نتایج ارائه شده در شکل ٤، میزان ترکیبات فنلی در نوشیدنی تخمیری طی دوره نگهداری همگام با پیشرفت تخمیر به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت و

محتوای آن در تیمارهای حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشتر از نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بود (P< ۰/۰۵). واضح است که میزان ترکیبات فنلی تام در نمونه‌های فاقد عصاره سبوس برنج بسیار پایین‌تر از تیمارهای حاوی سبوس باشد (p < ۰/۰۵) که نشان دهنده فعالیت متابولیکی پروبیوتیک‌های مورد مطالعه و در نتیجه آزادسازی ترکیبات فنلی بیشتر توسط آنها می‌باشد. قابل ذکر است که تفاوت قابل ملاحظه‌ای میان این معیار در روز ١٤و ٢١ در نمونه‌ها مشاهده نگردید (p > ۰/۰۵). در مطالعه چن و همکاران (۲۰۲۰) نیز مشابه پژوهش حاضر، محتوای فنلی کل در نوشیدنی پروبیوتیک حاوی عصاره سبوس جو دوسر از ۰/٥٣٤ میلی گرم معادل اسید گالیک در گرم در روز صفر به ۰/٦٧٨ میلی گرم معادل اسید گالیک در روز ١٤ ذخیره سازی در دمای ٤ درجه سانتیگراد افزایش یافت. گزارش شده است که تخمیر جودوسر توسط باکتری‌های پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس جانسونی*، *لاکتوباسیلوس رئوتری* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* باعث افزایش ۲۵ برابری محتوای ترکیب فنلی، بهبود فعالیت آنتی اکسیدانی و افزایش فراهمی زیستی اسیدهای فنلیک گردیده است (Hole et al., 2012). تولید آنزیم‌هایی مانند بتا-گلوکوزیداز، گلیکوزید هیدرولاز و استرازهای توسط باکتری‌های پروبیوتیک در طول تخمیر می تواند آزادسازی و دسترسی زیستی فنول ها و سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی را افزایش دهد (Călinoiu et al., 2019).

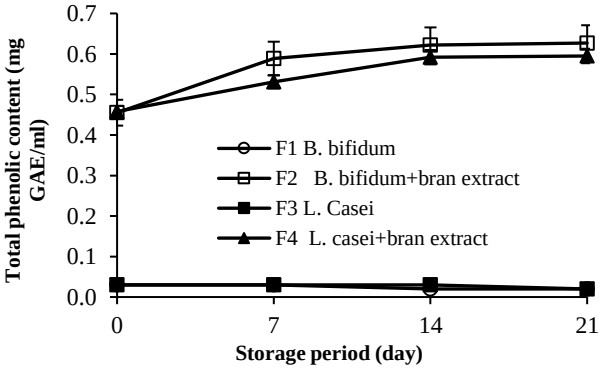

Figure 4. Total phenolic content (mg GAE/ml) of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator.

Bars on the figures presents standard deviation of data.

فعالیت مهار رادیکال آزاد

فعالیت مهار رادیکال DPPH جهت بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نوشیدنی‌های لبنی پروبیوتیک حاوی عصاره سبوس برنج در مقایسه با نوشیدنی‌های لبنی پروبیوتیک فاقد عصاره سبوس تعیین و در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که از داده‌های شکل‌های ٤ و ٥ برمی‌آید محتوای پلی فنلی تام رابطه مستقیم و مثبتی با پتانسیل مهار رادیکال آزاد دارد. نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج فعالیت ضدرادیکالی قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با نمونه‌های فاقد عصاره نشان دادند که حاکی از غنی بودن عصاره سبوس از ترکیبات آنتی اکسیدانی و مولکول‌های اهداکننده هیدروژن مانند پلی فنل‌ها می‌باشد. با افزایش میزان ترکیبات فنلی طی ١٤ روز اول نگهداری، فعالیت جذب رادیکال DPPH نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت (p < ۰/۰۵) که آزادسازی میزان بیشتری از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی را طی پیشرفت تخمیر بیان می‌نماید. تاثیر ضدرادیکالی نمونه‌های حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* قوی‌تر از نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بود (p < ۰/۰۵). لازم به ذکر است که تفاوت قابل ملاحظه‌ای میان فعالیت ضدرادیکالی نمونه‌ها در روز ١٤ و ٢١ مشاهده نشد (p > ۰/۰۵). در مطالعه ایسارا و همکاران (٢٠١٤) طی تولید نوشیدنی سبوس برنج، گزارش شد که نوشیدنی سبوس برنج حاوی ترکیبات زیست فعالی است که به عنوان آنتی‌اکسیدان عمل نموده و در جذب رادیکال‌های آزاد فعالیت قابل ملاحظه‌ای دارند (Issara and Rawdkuen, 2014). نتایج مطالعه ما با یافته‌های چن و همکاران (۲۰۲۰) مطابقت دارد. در پژوهش ایشان، محتوای فنلی تام طی دوره نگهداری نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک حاوی سبوس جودوسر افزایش یافته و به موازات آن فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها نیز در ربایش رادیکال آزاد ارتقاء یافت و ضریب همبستگی پیرسون بین فعالیت آنتی اکسیدانی و محتوای فنلی کل ۰/۸۸ بود که نشان‌دهنده همبستگی مثبت قوی میان محتوای اسیدها و اجزای فنلیک موجود در عصاره و پتانسیل آنتی رادیکالی سبوس تخمیر شده جو دوسر می‌باشد (Chen et al., 2020).

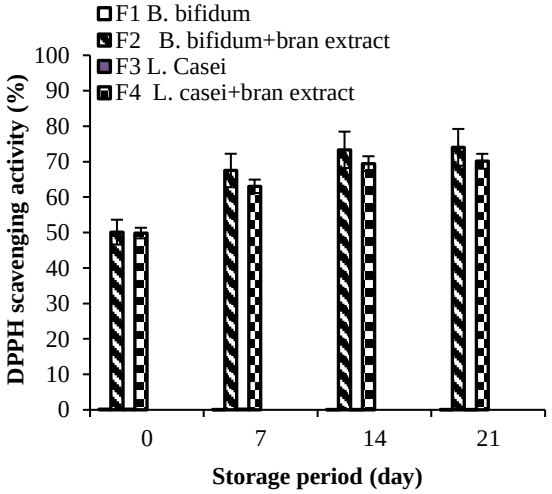

Figure 5. DPPH scavenging activity (% of radical scavenging) of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

ویژگی‌های حسی

ارزیابی‌های حسی نمونه‌ها شامل رنگ، بو، طعم، بافت و پذیرش کلی با استفاده از مقیاس لذت ۹ نقطه‌ای (۱ در فواصل ۷ روزه طی دوره نگهداری انجام شد و داده‌ها در شکل‌های ٦ الی ۱۰ ارائه شده است. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین معیارهای رنگ، بو، طعم و بافت نمونه‌های F1 و F3 (فاقد عصاره سبوس برنج) وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$) و امتیازات تخصیص یافته با نمونه‌های فاقد عصاره بالاتر از امتیازات نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج بوده است ($p < ۰/۰۵$) و این تفاوت در رابطه با مقبولیت بافت محسوس‌تر می‌باشد. همانطور که در شکل ۱۰ نشان داده شده است، F1 دارای بالاترین امتیاز ارزیابی حسی است و به دنبال آن F3 ، F2 و F4 قرار دارند. به نظر می‌رسد افزودن عصاره سبوس برنج موجب ایجاد طعم، رنگ و بافتی متفاوت با نوشیدنی‌های رایج در بازار مصرف ایران گردیده و برای مصرف‌کنندگان ناآشنا می‌باشد لذا این نمونه‌ها امتیازات حسی پایین‌تری کسب نموده‌اند. در مطالعه‌ای، ترکیبی از عصاره محلول در آب جو دوسر و میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک در نوشیدنی بر پایه شیر جهت افزایش ارزش غذایی و تامین فواید سلامتی‌بخش برای مصرف‌کننده به کار رفت. ویژگی‌های حسی نوشیدنی لبنی جو دوسر تخمیر شده با *لاکتوباسیلوس کازئی* با نرخ پذیرش ٨٤/٤ درصد مورد استقبال مصرف کنندگان قرار گرفت. به طور کلی، ترکیب عصاره جو دوسر و *لاکتوباسیلوس کازئی* در تولید نوشیدنی لبنی پروبیوتیک تخمیر شده از نظر فن‌آوری امکان پذیر بوده و موجب بهبود خواص عملکردی محصول و ارائه مزایای سلامتی‌بخش برای مصرف کننده می‌گردد (Klajn et al., 2021). همچنین، در پژوهشی که توسط حاتمی و همکاران (۲۰۲۱) انجام شد تولید نوشیدنی حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* و عصاره سبوس برنج و عسل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که ویژگی‌های ارگانولپتیکی نمونه با ۱۰ درصد عصاره سبوس برنج قابل قبول‌تر از سایر نمونه‌ها است. یافته‌ها حاکی از آن بود که افزودن عسل به نوشیدنی پروبیوتیک حاوی عصاره سبوس برنج موجب ایجاد طعم مناسب و مطلوب مصرف‌کنندگان می‌گردد (Hatami et al., 2021) . دانشی و همکاران (۲۰۱۳) پژوهشی در خصوص تولید نوشیدنی پروپیوتیک مخلوط شیر و آب هویج انجام دادند و گزارش کردند که با افزایش زمان نگهداری امتیاز رنگ، قوام، مزه، عطر و طعم نمونه‌ها کاهش یافته و نمونه‌ها در پایان روز بیستم نگهداری،کمترین امتیازات را دارا می‌باشند که مشابه نتایج حاصله در این پژوهش می‌باشد (Daneshi, Ehsani, Razavi, and Labbafi, 2013). با توجه نتایج به دست آمده از ارزیابی حسی، می‌توان از طعم دهنده‌های طبیعی مطلوب ذائقه مصرف‌کنندگان جهت بهبود طعم و افزایش پذیرش کلی محصول **استفاده نمود**.

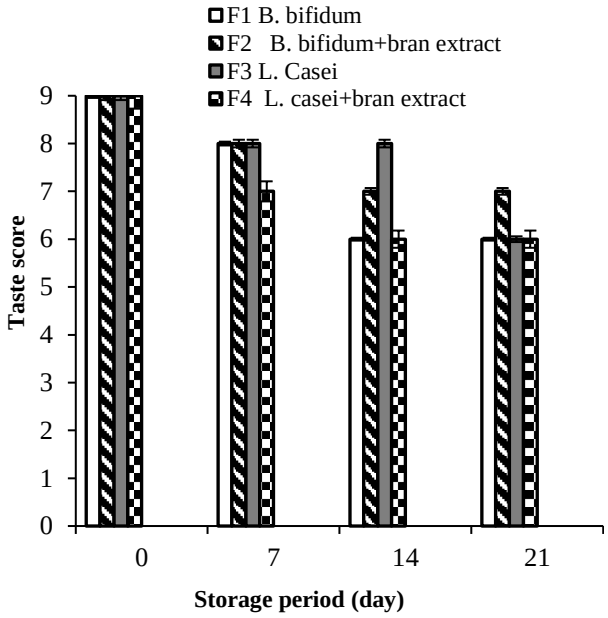

Figure 8. Taste quality score of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

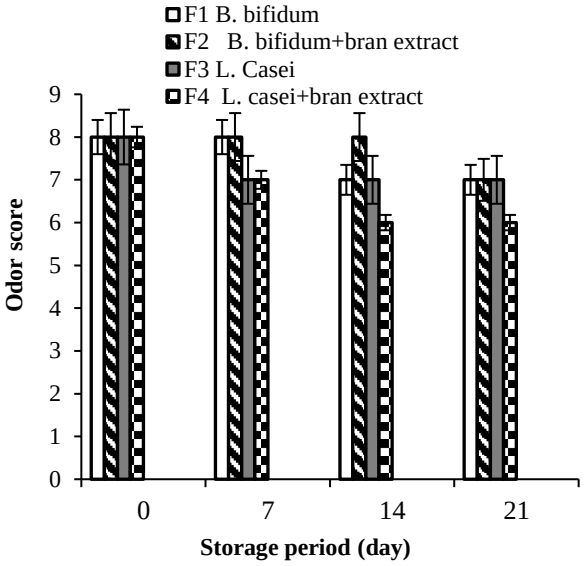

Figure 6. Odor quality score of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

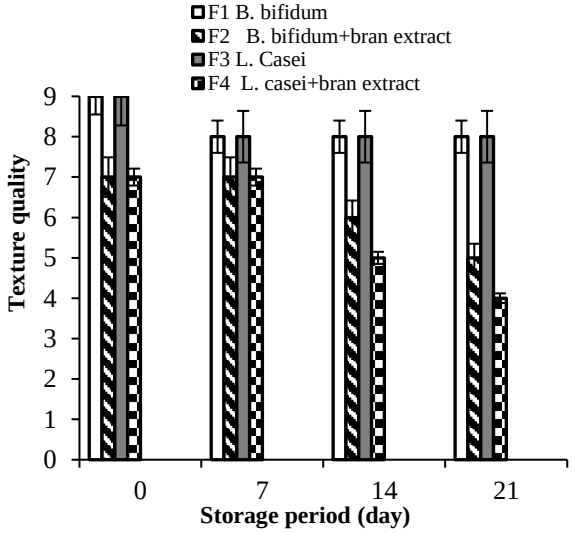

Figure 9. Texture quality score of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

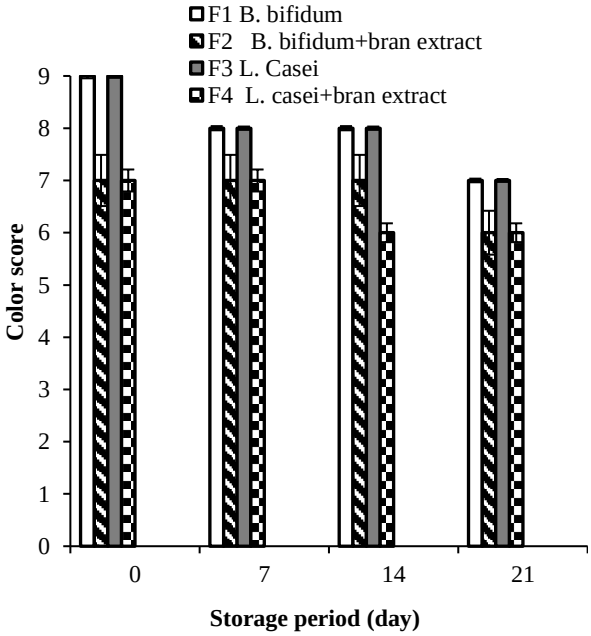

Figure 7. Color quality score of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

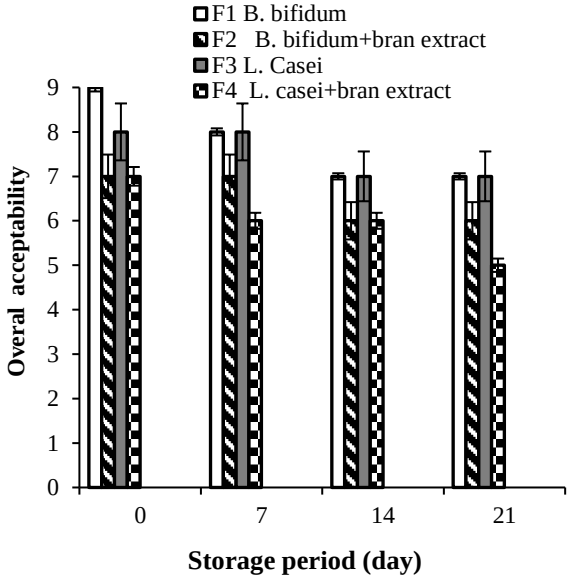

Figure 10. Overal acceptability score of dairy probiotic beverage containing bran extract during storage in refrigerator

Bars on the figures presents standard deviation of data.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد که وجود عصاره سبوس برنج در محیط پایه شیر، بواسطه فعالیت پری‌بیوتیکی عصاره، موجب افزایش بقای هر دو باکتری پروبیوتیک به میزان بیش از ۲۰ درصد، افزایش فعالیت باکتری‌ها جهت تخمیر، تولید اسیدهای آلی و کاهش pH به علت فعالیت آنزیم بتا گالاکتوزیداز گردیده است. فعالیت *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* در تولید اسید بیشتر از *لاکتوباسیلوس کازئی* بوده و نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج و *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* pH پایین‌تر و اسیدیته بالاتری نسبت به نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج و *لاکتوباسیلوس کازئی* داشته‌اند. همچنین، نمونه‌های حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* مواد جامد کل و ویسکوزیته پائین‌تری نسبت به نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* نشان دادند که حاکی از فعالیت بیشتر بیفیدوباکترها در تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده سوبسترا و کاهش میزان مواد جامد و در نتیجه کاهش ویسکوزیته می‌باشد. محتوای ترکیبات فنلی تام در نوشیدنی‌های پروبیوتیک طی دوره نگهداری همگام با پیشرفت تخمیر افزایش یافت و میزان آن در نوشیدنی حاوی *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* بیشتر از نمونه‌های حاوی *لاکتوباسیلوس کازئی* بود. با توجه به رابطه مستقیم و مثبت بین میزان ترکیبات فنلی تام و پتانسیل مهار رادیکال آزاد، نمونه‌های حاوی عصاره سبوس برنج فعالیت ضدرادیکالی بیشتری در مقایسه با نمونه‌های فاقد عصاره نشان دادند که نشان از غنی بودن عصاره سبوس از ترکیبات آنتی اکسیدانی و مولکول‌های اهداکننده هیدروژن مانند پلی فنل‌ها می‌باشد. از آنجا که افزودن عصاره سبوس برنج موجب ایجاد طعم، رنگ و بافتی متفاوت با نوشیدنی‌های رایج در ایران گردیده می‌توان طعم دهنده‌های طبیعی مطلوب ذائقه مصرف‌کنندگان را جهت بهبود طعم و افزایش پذیرش کلی محصول به کار برد. نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره سبوس برنج در حضور باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان پری‌بیوتیک عمل نموده و این محصول سینبیوتیک با توجه به دارا بودن محتوای قابل ملاحظه ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بقای پروبیوتیک‌ها دارای پتانسیل بالایی جهت ارائه به بازار به عنوان یک ماده غذایی فراسودمند می‌باشد.

References

ابراهیمی ج س، زرین‌قلمی س و گنجلوع، ۱۳۹۸. تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتری‌های پروبیوتیک. پژوهش‌های صنایع غذایی (دانش کشاورزی)، جلد ۲۹، شماره ۱، صفحه های ۳۷ تا ٤۲.

محرم پور ح و پزشکی نجف آبادی ا، ۱٤۰۲. تولید شکلات پروبیوتیک حاوی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم ریزپوشانی شده با آلژینات- پروتئین آب‌پنیر و بررسی خواص فیزیکوشیمیائی، حسی و میزان ماندگاری آن. پژوهش‌های صنایع غذایی (دانش کشاورزی)، جلد ۳۳، شماره ۱، صفحه های ۱۱۱ تا ۱۲۷.

نصیروند ف، فتحی آچاچلوئی ب و بابلانی مقدم ن، ۱٤۰۱. بررسی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس انکپسوله شده با آلژینات کلسیم- اینولین در نوشیدنی چای سبز سرد. پژوهش‌های صنایع غذایی (دانش کشاورزی)، جلد ۲۲، شماره ۱، صفحه های ۱۳۷ تا ۱٤۹.

AOAC. 2014. In Official Method of Analysis of AOAC Intl. 17th ed. Association of Official Analytical Communities Gaithersburg Maryland USA.

Atraki R and Azizkhani M, 2021. Survival of probiotic bacteria nanoencapsulated within biopolymers in a simulated gastrointestinal model. Innovative Food Science and Emerging Technologies 72: 102750-102755 .

Bevilacqua A, Casanova FP, Petruzzi L, Sinigaglia M and Corbo MR, 2016. Using physical approaches for the attenuation of lactic acid bacteria in an organic rice beverage. Food Microbiology 53: 1-8.

Călinoiu LF, Cătoi A.F and Vodnar DC, 2019. Solid-state yeast fermented wheat and oat bran as a route for delivery of antioxidants. Antioxidants 8(9): 372-377 .

Chemat F, Abert Vian M, Ravi HK., Khadhraoui B, Hilali S, Perino S and Fabiano Tixier A.S, 2019. Review of alternative solvents for green extraction of food and natural products: Panorama, principles, applications and prospects. Molecules 24(16): 3007-3011 .

Chen L, Wu D, Schlundt J and Conway PL, 2020. Development of a Dairy-Free Fermented Oat-Based Beverage With Enhanced Probiotic and Bioactive Properties .Frontiers in Microbiology, 12: 3140-3145 .

Daneshi M, Ehsani MR, Razavi SH and Labbafi M, 2013. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. Electronic Journal of Biotechnology 16(5): 44-49.

Fuller S, Beck E, Salman H and Tapsell L, 2016. New horizons for the study of dietary fiber and health: a review. Plant Foods for Human Nutrition 71(1): 1-12 .

Hassan AA, Aly M and El-Hadidie S, 2012. Production of cereal-based probiotic beverages. World Applied Sciences Journal 19(10): 1367-1380 .

Hatami S, Tajabadi N, Massoud R and Sharifan A, 2021. Chemical and sensorial properties of probiotic beverage based on rice bran extract and honey. Biomass Conversion and Biorefinery 22: 1-6 .

Hole AS, Rud I, Grimmer S, Sigl S, Narvhus J and Sahlstrøm S, 2012. Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuter*i. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60(25): 6369-6375 .

Issara U and Rawdkuen S, 2014. Organic rice bran milk: production and its natural quality attributes. Pp. 48-56. Proceeding of 1st Joint ACS AGFD-ACS ICSCT symposium on agricultural and Food Chemistry. Danang, Vietnam.

Kadiya KS, Kanawjia S and Solanki AK, 2014. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of Quarg cheese. International Journal of Fermented Foods, 3(1): 61-76 .

Klajn VM, Ames CW, da Cunha KF, Lorini A, Hackbart HCS, Cruxen CE.S and Fiorentini ÂM, 2021. Probiotic fermented oat dairy beverage: viability of Lactobacillus casei, fatty acid profile, phenolic compound content and acceptability. Journal of Food Science and Technology 58(9): 3444-3452 .

López-Rubio A, Sanchez E, Wilkanowicz S, Sanz Y and Lagaron JM, 2012. Electrospinning as a useful technique for the encapsulation of living bifidobacteria in food hydrocolloids. Food Hydrocolloids, 28(1): 159-167 .

Lupien-Meilleur J, Roy D and Lagacé L, 2016. Viability of probiotic bacteria in a maple sap beverage during refrigerated storage. LWT 74: 160-167 .

Molyneux P, 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technollogy 26(2): 211-219 .

Noreen H, Semmar N, Farman M and McCullagh JS, 2017. Measurement of total phenolic content and antioxidant activity of aerial parts of medicinal plant Coronopus didymus. Asian PacificJournal of Tropical Medicine 10(8): 792-801 .

Pereira ALF, Almeida FDL, de Jesus ALT., da Costa JMC and Rodrigues S, 2013. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. Food and Bioprocess Technology 6: 3155-3165 .

Rozada-Sánchez R, Sattur AP, Thomas K and Pandiella SS, 2008. Evaluation of Bifidobacterium spp. for the production of a potentially probiotic malt-based beverage. Process Biochemistry 43(8): 848-854 .

Sadaghdar Y, Mortazavian AM and Ehsani MR, 2012. Survival and activity of 5 probiotic lactobacilli strains in 2 types of flavored fermented milk. Food Science and Biotechnology 21: 151-157 .

Salmerón I, 2017. Fermented cereal beverages: From probiotic, prebiotic and synbiotic towards Nanoscience designed healthy drinks. Letters in Applied Microbiolog 65(2): 112-114.

Sethi S, Tyagi SK. and Anurag RK, 2016. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. Journal o f Food Science and Ttechnology 53: 3408-3423 .

Son N, Chen C, Chen C, Chang L, Duc H and Nguyen L, 2013. Prediction of rice crop yield using MODIS EVI− LAI data in the Mekong Delta, Vietnam. International Journal of Remote Sensing 34(20): 7275-7292 .

Wang T, He F and Chen G, 2014. Improving bioaccessibility and bioavailability of phenolic compounds in cereal grains through processing technologies: A concise review. Journal of Functional Foods 7: 101-111 .

Williams NT, 2010. Probiotics. American Journal of Health-System Pharmacy 67(6): 449-458 .

Wu J, Du B, Li J and Zhang H, 2014. Influence of homogenisation and the degradation of stabilizer on the stability of acidified milk drinks stabilized by carboxymethylcellulose. LWT-Food Science and Technology 56(2): 370-376 .

Xing Y, Li X, Xu Q, Yun J, Lu Y and Tang Y, 2011. Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). Food Chemistry 124(4): 1443-1450 .

Zhang B, Guo X, Zhu K, Peng W and Zhou H, 2015. Improvement of emulsifying properties of oat protein isolate–dextran conjugates by glycation. Carbohydrate Polymers 127: 168-175 .