Food Research Journal

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

https://foodresearch.tabrizu.ac.ir

Evaluation of the prebiotic effect of oat, rice, and barley bran on growth and activity of probiotic bacteria

Bita Kouhestani[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]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: March 5, 2022
Accepted: November 18, 2023
Published: May 19, 2024

Keywords:
bran, prebiotic, probiotic, symbiotic

ABSTRACT

Background: Synbiotic foods refers to food ingredients or dietary supplements includes probiotics and prebiotics in a form of synergism; therefore, synbiotics are mixtures of probiotics and prebiotics that beneficially affect the host by improving the survival and implantation of live microbial dietary supplements in the gastrointestinal tract, by selectively stimulating the growth and/or by activating the metabolism of one or a limited number of health-promoting bacteria, thus improving host welfare

Aims: The purpose of this study was to investigate the effect of oat, rice, and barley bran on the proliferation and activity of probiotic bacteria, Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum in milk.

Methods: Experimental treatments in this research include lecithin-cholesterol ratios (30-30, 40-20, 50-10 and 60-0). Due to the incompatibility of beta-carotene with water, nanoliposome formulations were produced using the combined method of thin-layer hydration-sonication.

Results: The highest survival rate of Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum was observed in the samples containing 7.5% oat bran, rice and barley during the entire storage period in the refrigerator, and Lactobacillus casei had a higher potential for survival than Bifidobacterium bifidum. Barley bran showed more prebiotic activity in stimulating the growth and survival of studied probiotic bacteria, followed by barley bran and rice bran. The highest value titratable acidity was obtained in the samples treated with 5 and 7.5% of the brans, which contained higher bacterial populations than the control and other samples. The content of group B vitamins was significantly higher in the samples containing rice bran, followed by the samples containing barley and oat bran.

Conclusion: According to the results of this study, rice, barley, and oats bran have prebiotic activity and stimulate the growth of probiotic bacteria.

CC BY NC

OPEN ACCESS

Extended Abstract

Introduction: Synbiotic foods refers to food ingredients or dietary supplements includes probiotics and prebiotics in a form of synergism; therefore, synbiotics are mixtures of probiotics and prebiotics that beneficially affect the host by improving the survival and implantation of live microbial dietary supplements in the gastrointestinal tract, by selectively stimulating the growth and/or by activating the metabolism of one or a limited number of health-promoting bacteria, thus improving host welfare (Kelly et al., 2008). Prebiotic compounds are substrates that are not metabolized by host enzymes, but by its microbiota, which provide many health benefits related to the gastrointestinal tract, cardiac metabolism, mental and bone health. Among these are the xilooligosaccharides (XOS), which are emerging prebiotics derived from arabinoxylans, polysaccharides present in cereals such as wheat bran, oats bran, buckwheat bran, rice bran, barley bran (Suman and Sreeja, 2019). These compounds are promising bioactive ingredients for the development of new functional ingredients/ products for food and feed industries. As described by previous studies, prebiotics are non-digestible food compounds stimulate the growth and metabolic activity of probiotic bacteria, in food and in the body and exert positive effects on the survival and activity of probiotic bacteria as well as the health of the consumer (Wilson & Whelan, 2017). The use of cereal bran as agroindustrial waste represents a great sustainable way to minimize the impact caused by its accumulation in the environment, as well as explore its beneficial health properties.Considering the important role of prebiotics in the functionality of the probiotic bacteria and the availability of valuable prebiotic sources in agricultural waste such as cereal bran, the purpose of this study was to investigate the effect of oat, rice, and barley bran on the proliferation and activity of probiotic bacteria, Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum in milk.

maybe due to the electrostatic interactions between the cationic liposomes and the negatively charged cell membranes, enhancing nanoparticle uptake by adsorptive-mediated endocytosis (Elkholy et al., 2020). Nanoliposomes have gained significant recognition as a successful approach for encapsulating sensitive bioactive compounds, safeguarding them against unfavorable processing or gastrointestinal conditions. The physical characteristics of liposomes, particularly their size, size distribution, and layering, are contingent upon various factors such as the chosen preparation methods, lipid type (charged, uncharged, or neutral), lipid composition, surfactant, organic solvent, and ionic strength of the suspension medium employed during the preparation techniques. Thin-layer hydration is a commonly employed method for liposome production; however, its application is limited due to the production of large particles and non-uniform particle size distribution. This study aimed to examine the impact of varying proportions of lecithin-cholesterol on the size of particles, the efficiency of encapsulation, and the stability of these attributes over some time. Additionally, another objective of this investigation was to assess the efficacy of employing a combined approach involving thin-layer hydration and sonication in addressing the issues related to large particle size and non-uniform distribution of particle size.

Material and methods: In this study, the seeds of barley (Hordeum vulgare L.) Iranian Nusrat variety, oat (Avena sativa) and rice (Oryza sativa) Iranian Khazar variety (under genetic modification) from the Research Institute of Plant Breeding and Seed Preparation (Karaj, Iran) was prepared. Oat, oat, and rice seeds were cleaned, brushed, and then milled using a laboratory mill to obtain white flour, fine bran particles, and coarse bran particles. Then, these three components were separated into coarse bran particles, fine bran particles and white flour using a set of sieves with different meshes. Fine bran particles were used for the experiments.

In order to carry out the fermentation process, the inoculum volume of 10 ml (1012 cfu/ml cell population) of each bacterial culture was mixed with 90 ml of high-fat milk. Then, different percentages of oat, rice and barley bran powder (2.5, 5 and 7% w/w) were added to the milk medium. Control samples were prepared according to the same method without using bran. All the prepared samples were placed in a greenhouse incubator at a temperature of 37 degrees Celsius and their pH was measured at one-hour intervals and fermentation was stopped when the pH reached 4.6. Bacterial populations were counted by sampling at 2-hour intervals and culturing until the pH reached 4.6. After fermentation, all the samples were kept at 4 degrees Celsius and the survival rate of cells during storage was determined after 1, 7, 14, 21 and 28 days. For determining the survival of probiotics, pour plate method was used to check the survival of probiotics. Dilutions were cultured for counting Lactobacillus casei in MRS agar medium and for counting Bifidobacterium bifidum in TPY agar. Colony counting was done after incubation in anaerobic conditions at 37°C for 48 hours (López-Rubio, Sanchez, Wilkanowicz, Sanz, & Lagaron, 2012). After primary fermentation, all the samples were kept at 4 ºC and the cell survival rate, pH, acidity, amount of vitamins B1, B2, B5, B6, B12 and inulin were determined after 1, 7, 14, 21, and 28 days of storage. All tests were performed in three repetitions and the data obtained in the study were presented as mean ± standard deviation. Data analysis was performed using two-way analysis of variance (ANOVA) and Tukey HSD supplementary test (for pairwise comparisons).

Results and discussion: The highest survival rate of Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum was observed in the samples containing 7.5% oat bran, rice and barley during the entire storage period in the refrigerator, and Lactobacillus casei had a higher potential for survival than Bifidobacterium bifidum. Barley bran showed more prebiotic activity in stimulating the growth and survival of studied probiotic bacteria, followed by barley bran and rice bran. The highest value titratable acidity was obtained in the samples treated with 5 and 7.5% of the brans, which contained higher bacterial populations than the control and other samples. The content of group B vitamins was significantly higher in the samples containing rice bran, followed by the samples containing barley and oat bran. The amount of inulin showed the highest amount in the treatments containing barley bran and barley bran during the entire storage period. According to the results of this study, the synbiotic milk medium containing Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum and rice, barley, and oat bran has a positive prebiotic effect on the metabolic activity and survival of the examined probiotic bacteria during the 28-day storage period in the refrigerator compared to the control samples and has caused an increase in the rate of bacteria reproduction, a rapid decrease in pH and an increase in acidity. The content of vitamins B1 and B2 increased more than 2 times, and the amount of vitamin B5 increased by about 1.5 times, and a slight increase in the number of vitamins B6 and B12 was observed. In previous studies, it has been stated that oat bran and oat bran have a significant amount of inulin, which stimulate their growth in proximity to probiotic bacteria. For example, it has been reported that the addition of pure inulin or dietary fibers containing inulin such as chicory root and oat bran to the culture medium or food products containing lactobacilli and intestinal bifidobacteria significantly increased their proliferation and activity compared to control. has forgiven (Carlson et al., 2017; Nasirvand et al., 2022, Oruji et al., 2016,). Also, during the enrichment of probiotic low-fat yogurt with barley bran as a prebiotic source containing a high percentage of inulin, a significant increase in the growth of Lactobacillus acidophilus was observed with the release of inulin from the bran into the yogurt medium (Hasani, Sari, Heshmati, & Karami, 2017). Therefore, the higher the amount of inulin and

fructooligosaccharide compounds in bran, the more noticeable its prebiotic effect will be.

Conclusion: The survival rate of Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum was also the highest in samples containing 7.5% of oat bran, rice and barley during the entire storage period in the refrigerator, and Lactobacillus casei had a higher potential for survival than Bifidobacterium bifidum. . Oat bran showed more prebiotic activity in stimulating the growth and survival of studied probiotic bacteria, followed by oat bran and rice bran. The highest rate of this index was obtained in the samples treated with 5 and 7.5% of bran, which contained higher bacterial populations than the control and other samples. The content of group B vitamins was significantly higher in the samples containing rice bran, followed by the samples containing oat and oat bran. The amount of inulin showed the highest amount in the treatments containing oat bran and oats during the entire storage period. According to the results of this study, the synbiotic milk medium containing Lactobacillus casei and Bifidobacterium bifidum and oat bran, bran and barley has a positive prebiotic effect on the metabolic activity and survival of the probiotic bacteria examined during a 28-day refrigerator storage period compared to control samples. without bran) and has increased the speed of bacteria multiplication, rapid decrease of pH, increase of acidity and B vitamins. According to the results of this research, it is suggested to produce synbiotic foods using cereal bran at the pilot and workshop level and to examine the marketability of the product and also to investigate the effect of synbiotic foods containing cereal bran on health parameters in laboratory animals.

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

بررسی تاثیر پری‌بیوتیکی سبوس جو دوسر، برنج و جو بر رشد و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک

بیتا کوهستانی [۱] و مریم عزیزخانی [۲] ✉

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
[۲] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل، آمل، ایران
✉ مسئول مکاتبه: m.azizkhani@ausmt.ac.ir

مشخصات مقاله

نوع مقاله:
علمی پژوهشی

تاریخچه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۵
پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۲۷
انتشار: ۱۴۰۳/۲/۳۰

کلید واژه:
بتاکاروتن، نانولیپوزوم، هیدراسیون لایه نازک، سونیکاسیون، لسیتین، کلسترول

چکیده

زمینه مطالعاتی: پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که با تحریک رشد و فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک، به ویژه در داخل بدن، تأثیرات مثبتی بر سلامت مصرف‌کننده برجای می‌گذارند.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سبوس جو دوسر، برنج و جو بر میزان تکثیر و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در شیر بود.

روش کار: درصدهای مختلف از پودر سبوس‌های جو دوسر، برنج و جو (۰، ۲/۵، ۵ و ۷ درصد وزنی/وزنی) به شیر پرچرب فرادمای حاوی 10^{12} cfu/ml از باکتری‌های پروبیوتیک اضافه و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تا رسیدن pH به ٤/٦ تخمیر شد و میزان بقای سلول‌ها، pH، اسیدیته، میزان ویتامین‌های B1، B2، B5، B6، B12 و اینولین پس از ۱، ۷، ۱٤، ۲۱ و ۲۸ روز نگهداری تعیین گردید.

نتایج: نرخ بقای لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در کل دوره نگهداری در یخچال در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد سبوس جو دوسر، برنج و جو در بالاترین میزان قرار داشته و لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم پتانسیل بالاتری جهت بقاء داشته است. سبوس جو فعالیت پری‌بیوتیکی بیشتری در تحریک رشد و بقای باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه نشان داده و به دنبال آن سبوس جو دوسر و سبوس برنج قرار داشتند. بالاترین میزان اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌های تیمارشده با ۵ و ۷/۵ درصد سبوس‌ها به دست آمد که حاوی جمعیت باکتریایی بالاتر نسبت به کنترل و سایر نمونه‌ها بوده‌اند. محتوای ویتامین‌های گروه B به میزان قابل ملاحظه‌ای در نمونه‌های حاوی سبوس برنج در بالاترین مقدار بوده و پس از آن نمونه‌های حاوی سبوس جو و جو دوسر قرار داشتند. میزان اینولین در کل دوره نگهداری در تیمارهای حاوی سبوس جو و جو دوسر بیشترین میزان را نشان داد. محتوای ویتامین‌های B1 و B2 بیش از ۲ برابر و میزان ویتامین B5 حدود ۱/۵ برابر افزایش یافته و افزایش جزئی در مقدار ویتامین‌های B6 و B12 مشاهده گردیده است.

نتیجه گیری: طبق نتایج این مطالعه، سبوس برنج، جو و جو دوسر دارای فعالیت پری‌بیوتیکی و محرک رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشند.

مقدمه

مفهوم پری‌بیوتیک بحثی نسبتاً جدید است، با این حال، پری‌بیوتیک‌ها از زمان‌های قدیم مورد استفاده قرار گرفته‌اند. پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضمی هستند که با تحریک رشد و فعالیت متابولیکی باکتری‌های پروبیوتیک، به ویژه در داخل بدن، تأثیرات مثبتی بر سلامت مصرف‌کننده برجای می‌گذارند (کلی، ۲۰۰۸). برای اینکه ترکیبات پری‌بیوتیک تاثیرات مثبت خود را اعمال نمایند باید در مقابل شرایط اسیدی معده مقاومت نموده، توسط آنزیم های گوارشی هیدرولیز نشده و در قسمت فوقانی دستگاه گوارش جذب نشوند(گوآرینو و همکاران ۲۰۲۰).

فیبرهای غذایی (کربوهیدرات‌های غیر قابل هضم) واجد فعالیت پری‌بیوتیکی بوده و با ایجاد تغییرات متعدد در میکروبیوتای روده نقش مهمی در فرایند تخمیر در روده بزرگ ایفا می‌کنند. چنین اجزای غذایی می‌توانند تخمیر روده‌ای را تحریک نموده و موجب رشد توده باکتریایی و در نتیجه افزایش متابولیت‌های حاصل از تخمیر کربوهیدرات‌ها شوند. پری‌بیوتیک‌های تجاری موجود بر پایه اینولین تهیه می‌شوند که از یک منبع خوراکی (ریشه کاسنی) استخراج شده و یا از ساکارز سنتز می‌گردند. اینولین رشد و فعالیت باکتری‌های مفید (بیفیدوباکتری‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک) را تحریک می‌کند و تأثیرات مثبت آن در شرایط آزمایشگاهی و در داخل بدن اثبات شده است(رولر و همکاران،۲۰۰٤، ویلسون . ولان،۲۰۱۷).

ترکیبات پری‌بیوتیک در مواد غذایی فراسودمند و عملکردی مانند شیر تخمیر شده یافت می‌شوند و موجب حفظ و بقای باکتری‌های پروبیوتیک و تحریک رشد و گسترش آنها می‌شوند (الشراجی و همکاران ۲۰۱۳، والشوا و دیلمان ۲۰۱٦) . اساس این ارتباط نزدیک بین باکتری‌های اسید لاکتیک و پری‌بیوتیک‌ها به نیازهای تغذیه‌ای قلبل ملاحظه این میکروارگانیسم‌های خاص به برخی از مواد مغذی مانند نیتروژن غیرپروتئینی و ویتامین‌های گروه B مربوط می‌شود. مفهوم سینبیوتیک به طور گسترده برای تولید محصولات غذایی فراسودمند با فواید فراوان بر سلامت مصرف‌کنندگان به کار می‌رود. ویژگی اصلی محصولات سینبیوتیک وجود رابطه هم‌افزایی بین باکتری‌های مفید و سوبسترای انتخابی آنهاست که هنگام عبور از دستگاه گوارش اثر محافظتی بر سلول‌ها اعمال می‌نمایند (داس و همکاران، ۲۰۱۷). بررسی اثر سینبیوتیکی از طریق آزمایشات in vivo (داخل بدن موجود زنده) نشان داد که میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک از سوبسترای پری‌بیوتیک استفاده می کنند و آن را به ترکیبات مفید برای سلامت تبدیل می‌کنند (کچاجیا و همکاران۲۰۱۳). در مطالعات پیشین اثبات شد که گندم سیاه یک محصول غذایی غنی از ترکیبات زیست فعال ضروری) اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب، ویتامین‌های B1 و B2 و مواد معدنی (است که اثرات مفیدی بر سلامتی دارد و می‌تواند به عنوان پری‌بیوتیک جهت تحریک تخمیر لاکتیکی به کار رود. در سال‌های اخیر، سبوس جو دوسر توجه بسیاری از محققین را جلب نموده است، علیرغم اینکه سبوس محصول جانبی گیاه محسوب می‌شود دارای محتوای بالای فیبرهای محلول و نامحلول بوده و تأثیر مثبت بر متابولیسم باکتری‌های اسید لاکتیک دارد (لوناو همکاران ۲۰۱٤، کوریکوکوشی و باهریم، ۲۰۱٦). نتایج مطالعه‌ای با هدف بررسی فعالیت بالقوه پری‌بیوتیک عصاره جوانه چاودار نشان داد که افزودن عصاره جوانه چاودار باعث افزایش نرخ رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها در ماست می‌گردد (نوری و همکاران ۲۰۱۷). سبوس گندم بقای سلول‌های پروبیوتیک را افزایش داد و به طور قابل‌توجهی بر تولید ترکیبات فرار تأثیر مثبت داشت. همچنین، گزارش شده است که عصاره سبوس گندم بقای سلول‌های پروبیوتیک در پنیر را افزایش داد و به طور قابل‌توجهی بر تولید ترکیبات مولد عطر و طعم تأثیر مثبت داشت (ترپو همکاران ۲۰۱۸).

سبوس غلات منابع قابل توجهی از ویتامین‌های گروه B و فیبر می‌باشند. سبوس گندم، جو و برنج هر ساله مقدار قابل توجهی از ضایعات کشاورزی را در کشور ما و نیز در کل دنیا تشکیل می‌دهند. این ضایعات منابع غنی از سلولز و سایر پلی‌ساکاریدهایی 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 محصولات غذایی فراسودمند و افزایش محتوای اسیدهای چرب تک و چند غیر اشباعی با زنجیره طویل استفاده شده است (سالمرون ۲۰۱۷، چن و همکاران ۲۰۲۰، حاتمی و همکاران ۲۰۲۱، ایسارا و رادکوئن ۲۰۲۱، کلاجا ۲۰۲۱).

با توجه به اهمیت نقش پری‌بیوتیک‌ها در عملکرد باکتری‌های پروبیوتیک و نیز در دسترس بودن منابع ارزشمند پری‌بیوتیکی در ضایعات کشاورزی مانند سبوس غلات، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر سبوس جو دوسر، برنج و جو بر میزان تکثیر و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک، جنس‌های بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس کازئی در محیط کشت می‌باشد.

مواد و روش‌ها

مواد مصرفی

کلیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد استفاده در این مطالعه از شرکت شارلو (اسپانیا) خریداری شدند.

تهیه باکتری

در این مطالعه، باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم با منشاء روده انسانی از بخش میکروبیولوژی دانشگاه توروکو (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 ۱۸ ساعت کشت شدند. سپس، سلول‌ها به کمک سانتریفوژ (۶۰۰۰ جی، ۱۰ دقیقه) جداسازی، با آب دیونیزه استریل شستشو و در رقت یک صدم (در محیط براث اختصاصی خود) رقیق سازی و در ۳۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند(اترکی و عزیزخانی ۲۰۲۱).

تهیه سبوس

در این مطالعه دانه‌های جو (*Hordeum vulgare* L.) واریته ایرانی نصرت، جوی دوسر (*Avena sativa*) و برنج (*Oryza sativa*)واریته ایرانی خزر (تحت اصلاح ژنتیکی قرار گرفته است) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر (کرج، ایران) تهیه شد. دانه‌های جو، جوی دو سر و برنج تمیز شده، برس زنی گردیده و سپس با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی برای به دست آوردن آرد سفید، ذرات ریز سبوس و ذرات درشت سبوس آسیاب شد. سپس، این سه جزء با استفاده از مجموعه الک‌ها با مش‌های مختلف به ذرات درشت سبوس، ذرات ریز سبوس و آرد سفید تفکیک شد. ذرات ریز سبوس برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفت .

فرایند تخمیر

جهت انجام فرایند تخمیر، حجم تلقیح ۱۰ میلی‌لیتر جمعیت سلول 10^{12} cfu/ml از هر کشت باکتریایی با ۹۰ میلی لیتر شیر پرچرب فرادما مخلوط شد. سپس، درصدهای مختلف از پودر سبوس‌های جوی دوسر، برنج و جو (۲/۵، ۵ و ۷ درصد وزنی/وزنی) به محیط شیر اضافه شد. نمونه‌های شاهد طبق روشی مشابه بدون استفاده از سبوس تهیه شد. همه نمونه‌های تهیه شده در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در انکوباتور گرمخانه‌گذاری شده و میزان pH آنها در فواصل زمانی یک ساعته اندازه‌گیری و با رسیدن pH به ٤/٦ تخمیر متوقف شد. جمعیت باکتری‌ها با نمونه‌برداری با فواصل زمانی ۲ ساعته و کشت، تا زمانی که pH به ٤/٦ برسد، شمارش شد. پس از تخمیر، تمامی نمونه ها در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری شده و میزان بقای سلول‌ها طی نگهداری پس از ۱، ۷، ١٤، ۲۱ و ۲۸ روز تعیین گردید.

تعیین بقای پروبیوتیک‌ها

جهت بررسی بقای پروبیوتیک‌ها از روش پور پلیت استفاده شد. رقت‌ها برای شمارش لاکتوباسیلوس کازئی در محیط MRSآگار و برای شمارش بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در TPY آگار کشت شد. پس از گرمخانه گذاری در شرایط بیهوازی در ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ٤٨ ساعت شمارش کلنی انجام شد (لوپز روبیو و همکاران ۲۰۱۲).

تعیین pH و اسیدیته

تعیین pH یا استفاده از pH متر مدلMTT65 ، شرکت توانا لب، ایران (و اسیدیته نمونه‌ها مطابق روش AOAC انجام شد(انجمن شیمیدانان امریکا ۲۰۱٤).

تعیین میزان ویتامین‌های گروه B

میزان ویتامین B1 و B2 مطابق با روش AOAC 986.27 ، ویتامین B5 مطابق با روشAOAC 2012.16 ، ویتامین B6 مطابق روش AOAC SMPR 2015.005 و ویتامین B12 با استفاده از روش AOAC 2014.02 و با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا تعیین شد (انجمن شیمیدانان امریکا ۲۰۱٤).

تعیین میزان اینولین

اینولین مخلوطی از مولکول‌های پلی‌ساکاریدی با فرمول عمومی GFn-1 که در آن G گلوکز است، Fفروکتوزیل و-n 1درجه پلیمریزاسیون می‌باشد. بدن انسان فاقد آنزیم‌های لازم جهت دپلیمریزاسیون اینولین است. با این حال، طبق گزارشات اخیر مبنی بر فواید سلامتی‌بخش آن، اینولین به عنوان فیبر غذایی و یک عنصر مطلوب تغذیه‌ای شناخته شده و همراه با اولیگوفروکتوزها در رسته فیبرهای محلول خوراکی طبقه گردید (فرانک و بوچر ۲۰۰۹).

در پژوهش حاضر، برای تعیین میزان اینولین از روش کروماتوگرافی لایه نازک استفاده شد (سیموا اوسکا ۲۰۰۰). صد میلی‌گرم نمونه هموژن شده با ٤ میلی‌لیتر آب و ۱ میلی‌لیتر اسید اگزالیک ۵ درصد به خوبی مخلوط و درپوش آن شل گذاشته و در حمام آب جوش به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد. سپس، مخلوط تا دمای اتاق سرد و با متانول (۸۰ درصد در آب) در ارلن ۲۵ میلی‌لیتری رقیق و به حجم رسانده شده و در یک لوله درپوش دار فیلتر گردید (چند میلی‌لیتر اول دور ریخته شد). نمونه آماده شده جهت کروماتوگرافی لایه نازک مورد استفاده قرار گرفت. پنج میکرولیتر محلول استاندارد اینولین، ۵ میکرولیتر محلول استاندارد-D فروکتوز و ۵ میکرولیتر از هر نمونه به طور متناوب روی صفحه کروماتوگرافی) صفحات آماده دارای پوشش سیلیکاژل HPTLC با اندازه۱۰ × ۲۰ سانتی‌متر، شرکت مرک، آلمان (در نوارهای ۸ میلی‌متری با فاصله ٦ میلی‌متری بین نوارها، ۱۵ میلی‌متر فاصله از پایین و ۲۰ میلی‌متر از لبه چپ صفحه نقطه‌گذاری گردید. صفحات در مخزن حلال بافر فسفات رقیق شده با استونیتریل) دارای pH 5/5حاوی ۰/۰۵ درصد ۲-آمینواتیل دی فنیل بورینات (قرار داده شد. پس از حدود ۱۵ دقیقه و حصول ارتفاع صعود لکه‌ها تا ۷ سانتی‌متر، صفحات با سشوار خشک و به مدت ۱ ثانیه در محلول آشکارساز (۲ میلی‌لیتر آنیلین، ۲ گرم دی فنیل آمین در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول و ۱۵ میلی‌لیتر ارتوفسفریک اسید (۸۵ درصد)) قرار گرفته و سپس، به مدت ۱۰ دقیقه با سشوار خشک شدند. چگالی سنجی حدود ۱ ساعت پس از آشکارسازی در حالت جذب/ انتقال، طول موج ٥٦۰ نانومتر، باند ۳۰ نانومتر، طول شکاف ٤ میلی‌متر، عرض شکاف ۰/٦ میلی‌متر و بر اساس محاسبه مساحت منطقه زیر قله‌ها انجام شد. درصد اینولین موجود در نمونه با توجه به درصد فروکتوز حاصل از تجزیه آن گزارش گردید.

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 توکی (جهت مقایسه‌های دوتایی) انجام شد. آزمون‌های آماری با سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شدند.

نتایج و بحث

بقای پروبیوتیک‌ها

با توجه به نتایج ارائه داده شده در جدول ۱، جمعیت هر دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در طول دوره نگهداری افزایش یافت ($p < ۰/۰۵$). همه درصدهای به کار رفته سبوس‌ها در فرمولاسیون موجب بهبود بقای باکتری‌ها در مقایسه با کنترل در دوره نگهداری شدند ($p < ۰/۰۵$). نرخ بقای لاکتوباسیلوس کازئی در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد

سبوس جو دوسر، برنج و جو نسبت سایر درصدهای سبوس بالاتر بوده و در روز ۲۸، به ترتیب، به ١٤/٥، ١٤/٠٦ و log 22/15 CFU/ml رسید که تفاوت معناداری با جمعیت این باکتری در کنترل نشان داد (p<۰/۰۵). نرخ زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز در پایان دوره نگهداری در یخچال در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد سبوس جو دوسر، برنج و جو در بالاترین میزان قرار داشته و به ترتیب معادل ۱۳/۰۷، ۱۲/۹٦ و 47/13 log CFU/ml بود (p < ۰/۰۵). مطابق یافته‌ها به نظر می‌رسد لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم پتانسیل بالاتری جهت بقاء داشته است (p < ۰/۰۵). همچنین، سبوس جو فعالیت پری‌بیوتیکی بیشتری در تحریک رشد و بقای باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه نشان داده و به دنبال آن سبوس جو دوسر و سبوس برنج قرار داشتند (p < ۰/۰۵). نتایج این پژوهش هم‌راستا با یافته‌های مطالعه زوبیدا و همکاران (۲۰۱۲) است که تاثیر پری‌بیوتیکی سبوس برنج را بر رشد لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم در محیط کشت و نیز در روده موش گزارش نمودند (زوبیدا و همکاران ۲۰۱۲). همچنین، در بررسی تاثیر سبوس جو دوسر و گندم سیاه بر رشد و فعالیت لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نیز نتایج مشابهی گزارش شد. تکثیر سلول ها، تولید اسید لاکتیک و بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در محیط کشت و شیر غنی شده با ۲، ٤ و ٦ درصد سبوس گندم سیاه و جو دوسر نشان داد که غلظت‌های ٤ و ٦ درصد سبوس‌ها مدت زمان تخمیر را جهت حصول pH نهایی ٤/٦ کاهش داده و موجب افزایش نرخ بقای باکتری به میزان ۰/٤٨ و 5/0 log CFU/ml شدند(واسیل و همکاران،۲۰۱٦). دمیرسی و همکاران (۲۰۱۷) اعلام نمودند که افزودن ۲ و ۳ درصد سبوس برنج به همراه لاکتوباسیلوس کازئی به شیر جهت تهیه ماست موجب بقای این باکتری پروبیوتیک تا بالاتر از 8 log CFU/ml در طول دوره نگهداری ۳ هفته‌ای در دمای ٤ درجه سانتی گراد، کاهش سینرسیس و افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی ماست گردید. نوری و همکاران (۲۰۱۷) در مطالعه‌ای جهت بررسی تاثیر پری‌بیوتیکی عصاره جوانه چاودار بر بقاء و رشد باکتری‌های پروبیوتیک در شرایط آزمایشگاهی و همچنین فعالیت ضدمیکروبی و بقای آنها در ماست سینبیوتیک طی ٥٦ روز نگهداری سرد دریافتند که افزودن غلظت‌های مختلف عصاره جوانه چاودار باعث افزایش بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم انیمالیس شده و نرخ بقاء در بیفیدوباکتریوم انیمالیس بالاتر از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود. مقایسه میزان رشد باکتری‌ها در نمونه‌های تیمار شده نشان داد که افزودن عصاره جوانه چاودار حتی در مقدار ۰/۲۵ درصد می تواند رشد و بقای پروبیوتیک را در مقایسه با شاهد افزایش ده(نوری و همکاران ۲۰۱۷). در تولید نوشیدنی فراسودمند پروبیوتیک با استفاده از سبوس جو دوسر و بیفیدوباکتریوم لاکتیس نیز افزایش قابل ملاحظه بقای این باکتری در نمونه‌های حاوی سبوس در مقایسه با کنترل مشاهده شد (اکبرزاده و همکاران ۲۰۲۱). باکتری‌های پروبیوتیک بواسطه دارا بودن آنزیم های گروه بتا–گلوکوزیداز و بتا–فروکتوفورانوزیداز توانایی هیدرولیز پیوند بتا (۲–۱) در الیگوساکاریدها را دارند(سان و همکاران ۲۰۱۸)، لذا الیگوساکاریدهای موجود در سبوس به عنوان ماده مغذی مورد استفاده باکتری قرار گرفته و به عنوان پری‌بیوتیک عمل می‌نمایند.

pH و اسیدیته

نتایج به دست آمده برای آزمون‌های pH و اسیدیته در شکل ۱ نشان می دهد که میزان pH در همه نمونه‌ها طی دوره نگهداری به تدریج کاهش یافت (p < ۰/۰۵) و تفاوت قابل ملاحظه‌ای میان pH درصدهای مشابه از سبوس‌های مختلف در روزهای نگهداری وجود نداشت(p < ۰/۰۵).

pH نمونه کنترل و نمونه حاوی ۲/۵ درصد سبوس جو دوسر، ۲/۵ درصد سبوس برنج و ۲/۵ درصد سبوس جو از لحاظ آماری تفاوت معناداری با یکدیگر نداشته (p > ۰/۰۵) اما با نمونه‌های تیمارشده با ۵ درصد و ۷/۵ درصد سبوس تفاوت معنادار داشتند (p < ۰/۰۵). پایین‌ترین pH در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد سبوس برنج، جو دوسر و جو در روز ۲۸ نگهداری، به ترتیب، با میزان ٤/۳۲، ٤/۳٥ و ٤/۳۷ به دست آمد (p < ۰/۰۵). مقدار اسیدیته قابل تیتر نمونه‌ها (شکل ۲) طی دوره نگهداری به تدریج افزایش یافت. مطابق شکل، کمترین میزان اسیدلاکتیک در کنترل و نمونه‌های حاوی ۲/۵ درصد از

سبوس‌ها و بالاترین میزان این شاخص در نمونه‌های تیمارشده با ۵ و ۷/۵ درصد سبوس‌ها به دست آمد ($p < ۰/۰۵$). در پایان دوره نگهداری، اسیدیته قابل تیتر نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد سبوس برنج، جو دوسر و جو، به ترتیب، معادل ۰/۵۱، ۰/٤۹ و ۰/٤۸ درصد اسیدلاکتیک بود. از داده‌های ارائه شده در جدول‌های ۱ و۲ و شکل‌های ۱و ۲ واضح است که افت pH و افزایش اسیدیته در نمونه‌های حاوی جمعیت بالاتر باکتری نسبت به کنترل و سایر نمونه‌ها محسوس‌تر بوده است. با تحریک رشد و افزایش جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک توسط ترکیبات پری‌بیوتیکی موجود در سبوس، تولید اسید لاکتیک و سایر اسیدهای آلی توسط باکتری‌ها افزایش می‌یابد که موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیتر در نمونه‌ها می‌گردد. نتایج مشابهی توسط زوبیدا و همکاران (۲۰۱۲) در بررسی تاثیر پری‌بیوتیکی سبوس برنج بر رشد باکتری‌های لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس پلانتاروم اعلام گردید. مطابق نتایج واسیل و همکاران (۲۰۱٦)، افزودن آرد گندم سیاه و سبوس جو دوسر به عنوان مکمل پری‌بیوتیکی به نوشیدنی تخمیری موجب بهبود رشد و تکثیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس شده، تأثیر مثبتی بر فعالیت متابولیکی و بقای باکتری‌های اسید لاکتیک داشته و سبب کاهش سریع pH و افزایش سرعت تکثیر پس از ٦ ساعت تخمیر گردیده است.

علاوه بر این، این محققان گزارش نمودند که تخمیر در حضور سوبستراهای گیاهی مانند آرد و سبوس غلات به طور قابل توجهی بقای سلول‌ها را در طول ذخیره سازی محصولات تخمیر شده به مدت ۲۸ روز در دمای ٤ درجه سانتی گراد، در مقایسه با نمونه‌های شاهد بهبود بخشیده است (واسیل و همکاران ۲۰۱٦). همچنین، در مطالعه‌ای طی تولید نوشیدنی پروبیوتیک حاوی درصدهای مختلف سبوس جو دوسر و بیفیدوباکتریوم لاکتیس مشاهده گردید که در غلظت ۱۵ درصد سبوس بیشترین میزان اسید استیک و اسید لاکتیک تولید شده و pH محصول پایین‌تر از سایر نمونه‌هاست که نشان‌دهنده تکثیر قابل ملاحظه بیفیدوباکتریوم لاکتیس و فعالیت بیشتر این باکتری در حضور غلظت بالای ترکیبات پری‌بیوتیکی سبوس می‌باشد (اسدزاده و همکاران ۲۰۲۱).

Table 1- Population of *Lactobacillus casei* (log CFU/ml) in milk treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC

	Time (day)				
	1	7	14	21	28
Control	$9.15±0.10^{Ab}$	$10.19±0.29^{Bf}$	$11.03±0.54^{Cf}$	$12.85±0.33^{Dh}$	$13.70±0.93^{Eh}$
2.5% oat bran	$8.97±0.22^{Ad}$	$10.48±0.65^{Be}$	$11.26±0.21^{Cc}$	$13.05±0.55^{Dg}$	$13.90±0.75^{Eg}$
5% oat bran	$9.02±0.17^{Ac}$	$10.89±0.25^{Bb}$	$11.41±0.37^{Ce}$	$13.30±0.17^{De}$	$14.17±0.45^{Ef}$
7.5% oat bran	$9.11±0.05^{Ab}$	$11.19±0.50^{Ba}$	$11.80±0.15^{Cb}$	$13.68±0.47^{Dc}$	$14.50±0.39^{Ed}$
2.5% rice bran	$8.91±0.15^{Ae}$	$10.21±0.53^{Bef}$	$11.19±0.90^{Ce}$	$12.95±0.21^{Df}$	$13.67±0.17^{Eg}$
5% rice bran	$9.14±0.30^{Ab}$	$10.55±0.20^{Bd}$	$11.27±0.25^{Cd}$	$13.18±0.74^{De}$	$13.84±0.60^{Ef}$
7.5% rice bran	$8.89±0.37^{Ae}$	$10.67±0.42^{Bc}$	$11.65±0.57^{Cc}$	$13.51±0.36^{Db}$	$14.06±0.34^{Eb}$
2.5% barley bran	$9.28±0.20^{Aa}$	$10.65±0.29^{Bd}$	$11.35±0.50^{Ce}$	$13.45±0.25^{Dd}$	$14.35±0.20^{Ee}$
5% barley bran	$9.07±0.09^{Ac}$	$10.71±0.40^{Bc}$	$11.72±0.68^{Cc}$	$13.80±0.10^{Db}$	$14.80±0.65^{Ec}$
7.5% barley bran	$9.33±0.21^{Aa}$	$10.93±0.33^{Bb}$	$12.08±0.46^{Ca}$	$14.10±0.39^{Da}$	$15.22±0.40^{Ea}$

a: significant statistical difference in each column
A: significant statistical difference in each column

Table 2. Population of *Bifidobacterium bifidum* (log CFU/g) in milk treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC

	Time (day)				
	1	7	14	21	28
Control	9.35 ± 0.19^{Ab}	10.06 ± 0.50^{Bf}	10.65 ± 0.42^{Ch}	11.25 ± 0.75^{Dh}	11.83 ± 0.36^{Eg}
2.5% oat bran	9.28 ± 0.35^{Ac}	10.29 ± 0.53^{Be}	10.81 ± 0.45^{Cg}	11.30 ± 0.66^{Dh}	12.35 ± 0.10^{Ef}
5% oat bran	9.50 ± 0.10^{Aa}	10.37 ± 0.15^{Bd}	11.09 ± 0.82^{Ce}	11.85 ± 0.10^{Df}	12.68 ± 0.25^{Ed}
7.5% oat bran	8.93 ± 0.09^{Ae}	10.58 ± 0.44^{Bb}	11.34 ± 0.25^{Cc}	12.10 ± 0.61^{De}	13.07 ± 0.16^{Eb}
2.5% rice bran	9.25 ± 0.28^{Ac}	10.33 ± 0.45^{Bd}	11.24 ± 0.39^{Cd}	11.90 ± 0.77^{Df}	12.27 ± 0.70^{Ef}
5% rice bran	9.34 ± 0.50^{Ab}	10.62 ± 0.20^{Bb}	11.47 ± 0.55^{Cb}	12.29 ± 0.22^{Dd}	12.55 ± 0.39^{Ee}
7.5% rice bran	9.20 ± 0.11^{Ac}	10.95 ± 0.61^{Ba}	11.88 ± 0.41^{Ca}	12.55 ± 0.60^{Dc}	12.96 ± 0.50^{Ec}
2.5% barley bran	9.54 ± 0.31^{Aa}	10.24 ± 0.75^{Bd}	10.95 ± 0.96^{Cf}	11.63 ± 0.14^{Dg}	12.75 ± 0.83^{Ed}
5% barley bran	9.11 ± 0.10^{Ad}	10.49 ± 0.37^{Bc}	11.48 ± 0.29^{Cb}	12.65 ± 0.60^{Db}	13.05 ± 0.40^{Eb}
7.5% barley bran	8.83 ± 0.45^{Af}	10.35 ± 0.25^{Bd}	11.80 ± 0.32^{Ca}	12.98 ± 0.52^{Da}	13.47 ± 0.19^{Ea}

a: significant statistical difference in each column
A: significant statistical difference in each column

ویتامین B1 نگهداری به میزان قابل توجهی افزایش یافته و در نمونه‌های حاوی سبوس بالاتر از کنترل بوده است. افزودن سبوس برنج در درصدهای مختلف موجب افزایش قابل ملاحظه مقدار ویتامین B1 گردیده و در رتبه‌های بعدی سبوس جو دوسر و سبوس جو در افزایش میزان این ویتامین در شیر نقش داشته‌اند ($p < ۰/۰۵$). با افزایش درصد سبوس در تیمارها میزان ویتامین B1 نیز افزایش یافته است($p < ۰/۰۵$). علت کاهش ویتامین B1 در نمونه کنترل آنست که ویتامین‌های محلول در آب، از جمله B1 ، برای رشد بیفیدوباکترها ضروری هستند و توسط آنها متابولیزه می‌شوند(خروماوا و همکاران ۲۰۲۲). لذا با افزودن پری‌بیوتیک‌ها و تامین سوبسترای لازم جهت تولید ویتامین می‌توان از کاهش شدید محتوای این ویتامین در محصولات پروبیوتیک ممانعت نمود. از دلائل افزایش میزان این ویتامین در حضور سبوس می‌توان به ورود این ترکیب از سبوس به شیر و نیز سنتز این ویتامین توسط بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و لاکتوباسیلوس کازئی اشاره نمود. در مطالعه بیتانس و کیپرویکا گزارش گردید که افزودن ترکیبات پری‌بیوتیک اینولین و لاکتولوز، به ترتیب به میزان ٤ درصد و ۳ درصد، به محیط شیر حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس موجب افزایش تولید ویتامین B1 در مقایسه با کنترل می‌گردد (بیتانس و کیپرویکا ، ۲۰۱۱). همچنین، نتایجی مشابه یافته‌های مطالعه حاضر توسط کاپروساب و همکاران (۲۰۱۸) به دست آمد. این محققان افزایش تولید ویتامین B1 را در آب سیب تخمیرشده حاوی ترکیبات پری‌بیوتیک فروکتوالیگوساکاریدی و باکتری‌های پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم لانگوم و لوکونستوک مزنتروئیدیس گزارش نمودند(کاپروساب و همکاران، ۲۰۱۸)

ویتامین B2

ریبوفلاوین ویتامین ضروری جهت متابولیسم کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه و لیپیدها به شمار می‌رود و موجب ارتقای فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در سلول می‌گردد. داده‌های به‌دست‌آمده از سنجش میزان ویتامین B2 (شکل ٤) نشان می‌دهد که پری‌بیوتیک‌های موجود در سبوس غلات مانند آرابینوگزیلان‌ها، فروکتوالیگوساکاریدها و سایر الیگوساکاریدها

تولید ویتامین B2 توسط باکتری‌های پروبیوتیک را تسهیل می‌کنند و غلظت آن را در محصول نهایی به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (پینتو و زمپلنی،۲۰۱۶). افزایش درصد سبوس‌ها موجب بالارفتن محتوای این ویتامین در شیر گردید ($p < ۰/۰۵$). تاثیر افزودن سبوس برنج در افزایش میزان ویتامین B2 در نمونه‌های شیر از سایر سبوس‌ها بیشتر بوده و پس از آن سبوس جو و سپس سبوس جو دوسر قرار داشتند که علت آن می‌تواند به بالاتربودن میزان اولیه این ویتامین در سبوس جو نسبت به سبوس جو دوسر مربوط باشد ($p < ۰/۰۵$) (شکل ٤).

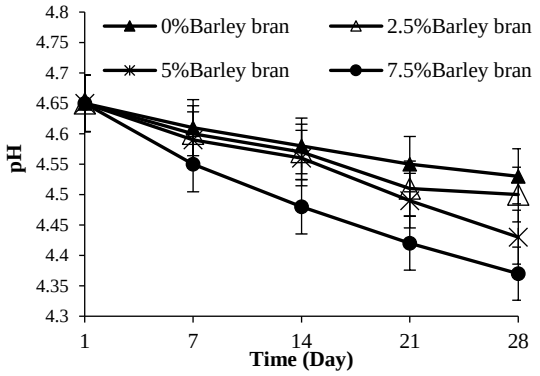
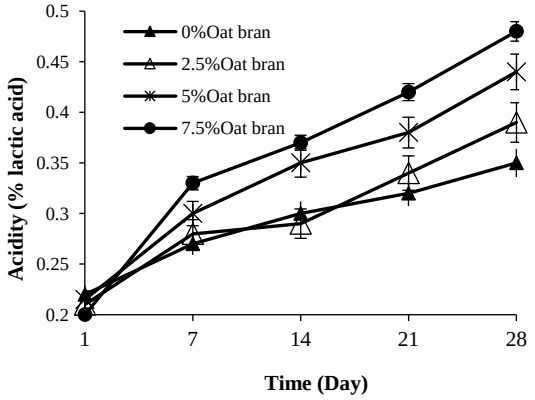
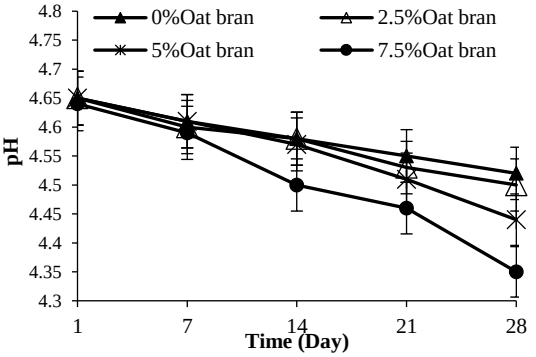
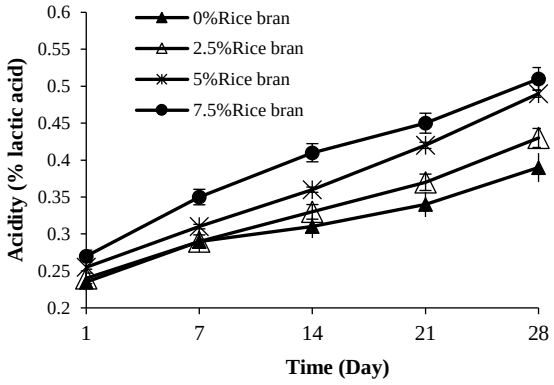
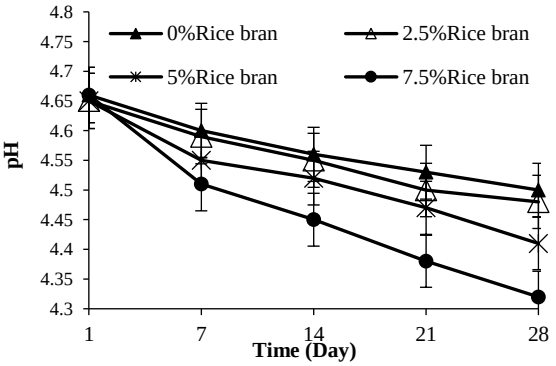


Figure 1. pH in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.









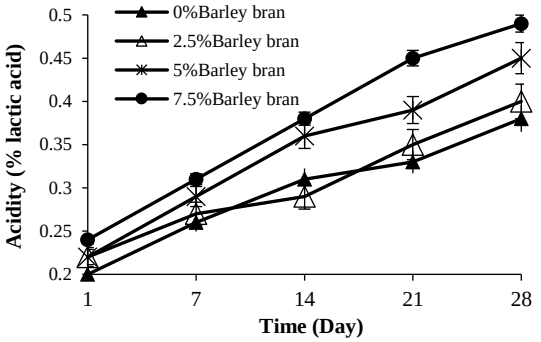


Figure 2. Acidity (%lactic acid) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC .Bars on the figures presents standard deviation of data.

برخلاف روندی که در تغییر میزان ویتامین B1 در نمونه کنترل مشاهده شد، محتوای ویتامین B2 کنترل طی دوره نگهداری افزایش یافت و دچار کاهش نگردید. ارزیابی محتوای ویتامین B2 در نمونه های تخمیر شده شیر حاوی پری‌بیوتیک‌ها و بیفیدوباکتریوم لاکتیس توسط بیتانس و کیپرویکا (۲۰۱۱) یافته‌های ما را تائید می‌کنند. مطابق یافته‌های یک مطالعه دیگر، هیدرولیز الیگوساکاریدهای همی‌سلولزی سبوس برنج توسط پروبیوتیک‌ها منجر به آزادشدن گلوکز، گالاکتوز و مانوز شده که به عنوان ترکیبات پری‌بیوتیک عمل نموده و رشد دو گونه لاکتوباسیلوس و همچنین سه گونه بیفیدوباکتریوم را تقویت نموده است (کوردی و هانساواسدی، ۲۰۱۵) لذا تولید متابولیت‌ها فراسودمند از جمله ویتامین‌های گروه B توسط این باکتری‌ها افزایش می‌یابد. همچنین، در پژوهش دیگری بالارفتن میزان ویتامین B2 تولید با افزودن سبوس برنج به محیط کشت حاوی بیفیدوباکتریوم لانگوم، لاکتوباسیلوس فرمنتوم، لاکتوباسیلوس پاراکازئی و لاکتوباسیلوس رامنوسوس گزارش شد که مشابه نتایج مطالعه ما می‌باشد (سیوم و همکاران، ۲۰۲۲).

ویتامین B6

ویتامین B6 که همچنین به عنوان پیریدوکسین نیز شناخته می شود، یک ترکیب آلی و شکلی از ویتامین B3، یک ماده مغذی ضروری برای انسان است که از اسید آمینه تریپتوفان سنتز می‌شود (مونی و همکاران ۲۰۰۹). مطابق داده‌های ارائه شده در شکل ٦، میزان این ویتامین به میزان قابل ملاحظه‌ای در نمونه‌های حاوی ۲/۵، ۵ و ۷/۵ درصد سبوس برنج و جو در مقایسه با نمونه‌های حاوی سبوس جو دوسر و کنترل تا روز ۲۱ دوره نگهداری افزایش یافت و در نمونه حاوی ۷/۵ درصد سبوس جو در بالاترین مقدار قرار داشت($p < ۰/۰۵$). از روز ۲۱ تا ۲۸ نگهداری میزان این ویتامین رو به کاهش گذاشت و به مقداری کمتر از ۲۱ رسید. در پژوهش بیتانس و کیپرویکا (2011) نیز پس از افزودن پری‌بیوتیک‌های لاکتولوز و اینولین به شیر حاوی بیفیدوباکتریوم لاکتیس میزان ویتامین در نمونه‌ها افزایش یافت و در پایان دوره نگهداری کاهش یافت (بیتانس و کیپرویکا ۲۰۱۱) تکثیر طولانی مدت باکتری‌های گرم مثبت مانند بیفیدوباکترها موجب کاهش توانایی آنها در سنتز ویتامین‌ها به ویژه ویتامین B6 می شود. این امر در مورد ویتامین‌های مورد بررسی در پژوهش حاضر و نیز سایر مطالعات مشاهده شده است. به طور مثال، در تولید نوشیدنی میوه‌ای پروبیوتیک حاوی سبوس جو دوسر میزان ویتامین B6 طی ساعات اولیه تخمیر افزایش یافت (رانگروسمی و همکاران ۲۰۲۲). در مطالعه سومان و سریجا (۲۰۱۹) نیز افزودن سبوس جو به محصولات تخمیری پروبیوتیک موجب افزایش میزان ویتامین B6 بواسطه ورود این ویتامین از سبوس به محیط ماده غذایی و نیز سنتز این ویتامین توسط باکتری‌های پروبیوتیک تحت تاثیر پری‌بیوتیکی بتا-گلوکان موجود در سبوس جو گردیده است (سومان و سریجا ۲۰۱۹).

ویتامین B12

ویتامین B12، با نام متداول کوبالامین، در تولید گلبول‌های قرمز، DNA، RNA، انرژی و تشکیل بافت‌ها نقش داشته و حافظ سلامت سلول‌های عصبی است. این ویتامین در جگر، گوشت، تخم مرغ، مرغ، صدف، شیر و فرآورده های شیر یافت می شود و سلول‌های باکتریایی نیز دارای آنزیم‌های سنتز آن هستند (گرین و همکاران ۲۰۱۷). در مطالعه حاضر، ویتامین B12 (شکل ۷) در همه نمونه‌های حاوی سبوس و نیز کنترل تا روز ١٤ دوره نگهداری افزایش و سپس کاهش یافت و میزان آن در درصدهای مختلف سبوس و نیز بین نمونه‌های حاوی

سبوس و کنترل اختلاف معنادار نداشت ($p < ۰/۰۵$) که نشان می‌دهد افزودن سبوس‌ها موجب اعمال تاثیر پری‌بیوتیکی بر باکتری‌های پروبیوتیک مورد بررسی نشده است. نتایج به‌دست‌آمده توسط محققان پیشین نشان داد که محتوای ویتامین B12 در شیر تخمیر شده پروبیوتیک طی دوره نگهداری در غلظت‌های مختلف لاکتولوز و اینولین کاهش می‌یابد. علت این کاهش ویتامین B12 را می‌توان با نیاز بیفیدوباکتری‌ها و لاکتوباسیلوس‌ها به این ویتامین برای رشد توضیح داد. همچنین، در طول تخمیر سرعت سنتز ویتامین B12 در مقایسه با سرعت مصرف آن برای تأمین نیازهای تغذیه‌ای و رشد سلول کمتر است لذا میزان آن به مرور در محیط کشت کاهش می‌یابد (بیتانس و کیپرویکا ۲۰۱۱). یافته‌های مشابهی نیز در خصوص میزان ویتامین B12 در مطالعه تاثیر افزودن فروکتوالگوساکاریدهای پری‌بیوتیکی به آبمیوه تخمیری حاوی لاکتوباسیلوس‌های پروبیوتیک و بیفیدوباکترها گزارش شد (کاپروساب و همکاران ۲۰۱۸).

اینولین

اینولین اصطلاحی است که به ترکیبی ناهمگن از پلیمرهای فروکتوز اطلاق می شود که به طور گسترده در طبیعت به عنوان کربوهیدرات‌های ذخیره در سلول‌های گیاهی تولید می‌شود. اینولین در بخش فوقانی دستگاه گوارش هضم نشده و موجب تحریک و تقویت رشد بیفیدوباکتری‌های روده می‌شود (شعیب و همکاران ۲۰۱۶). نتایج اندازه‌گیری میزان اینولین در نمونه‌های حاوی سبوس و کنترل در شکل ۷ ارائه شده است. در کنترل و نمونه‌های حاوی سبوس برنج میزان اینولین در کل دوره در سطحی پایین‌تر از حدقابل جستجو بوده ولی در نمونه‌های حاوی سبوس جو و جو دوسر یافت شده است. محتوای اینولین در نمونه‌های حاوی سبوس جو دوسر بیشتر از نمونه‌های حاوی سبوس جو بوده است ($p < ۰/۰۵$). میزان اینولین تا پایان دوره نگهداری به تدریج کاهش یافت ($p < ۰/۰۵$) به گونه‌ای که در روز ۲۸ نگهداری در همه نمونه‌ها بجز ۷/۵ درصد سبوس جو به حد غیرقابل جستجو رسید. در مطالعات پیشین بیان شده است که سبوس جو و سبوس جو دوسر دارای مقدار قابل توجهی اینولین می‌باشند که در مجاورت با باکتری‌های پروبیوتیک موجب تحریک رشد آنها می‌گردند. به عنوان مثال، گزارش شده که افزودن اینولین خالص و یا فیبرهای رژیمی حاوی اینولین مانند ریشه کاسنی و سبوس جو دوسر به محیط کشت و یا محصولات غذایی حاوی لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتری‌های روده‌ای به میزان قابل ملاحظه‌ای تکثیر و فعالیت آنها را مقایسه با کنترل ارتقاء بخشیده است (کارلسون و همکاران ۲۰۱۷ ،نصیروند و همکاران، ۲۰۲۲، اروجی و همکاران، ۲۰۱۷). همچنین، طی غنی‌سازی ماست کم چرب پروبیوتیک با سبوس جو به عنوان منبع پری‌بیوتیکی حاوی درصد بالایی از اینولین، با آزادسازی اینولین از سبوس به محیط ماست افزایش معناداری در رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مشاهده شد (حسنی و همکاران ۲۰۱۷). لذا، هر چه میزان اینولین و ترکیبات فروکتوالیگوساکاریدی در سبوس بالاتر باشد تاثیر پری‌بیوتیکی آن محسوس‌تر خواهد بود.

نتیجه گیری

نرخ بقای لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم نیز در کل دوره نگهداری در یخچال در نمونه‌های حاوی ۷/۵ درصد سبوس جو دوسر، برنج و جو در بالاترین میزان قرار داشته و لاکتوباسیلوس کازئی نسبت به بیفیدوباکتریوم بیفیدوم پتانسیل بالاتری جهت بقاء داشته است. سبوس جو فعالیت پری‌بیوتیکی بیشتری در تحریک رشد و بقای باکتری‌های پروبیوتیک مورد مطالعه نشان داده و به دنبال آن سبوس جو دوسر و سبوس برنج قرار داشتند. بالاترین میزان این شاخص در نمونه‌های تیمارشده با ۵ و ۷/۵ درصد سبوس‌ها به دست آمد که حاوی جمعیت باکتریایی بالاتر نسبت به کنترل و سایر نمونه‌ها بوده‌اند. محتوای ویتامین‌های گروه B به میزان قابل ملاحظه‌ای در نمونه‌های حاوی سبوس برنج در بالاترین مقدار بوده و پس از آن نمونه‌های حاوی سبوس جو و جو دوسر قرار داشتند. میزان اینولین در کل دوره نگهداری در تیمارهای حاوی سبوس جو و جو دوسر بیشترین میزان را نشان داد. طبق نتایج این مطالعه، محیط شیر سینبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و و سبوس جو دوسر، برنج و جو تأثیر

پری‌بیوتیکی مثبتی بر فعالیت متابولیکی و بقای باکتری‌های پروبیوتیک مورد بررسی طی روزه نگهداری ۲۸ روزه در یخچال در مقایسه با نمونه‌های شاهد (بدون سبوس) داشته و موجب افزایش سرعت تکثیر باکتری‌ها، کاهش سریع pH، افزایش اسیدیته و ویتامین‌های گروه B گردیده است. مطابق نتایج این پژوهش، تولید مواد غذایی سینبیوتیک با استفاده از سبوس غلات در سطح پایلوت و کارگاهی و بررسی بازارپسندی محصول و نیز بررسی تاثیر مواد غذایی سینبیوتیک حاوی سبوس غلات بر پارامترهای سلامت در حیوانات آزمایشگاهی پیشنهاد می‌گردد.

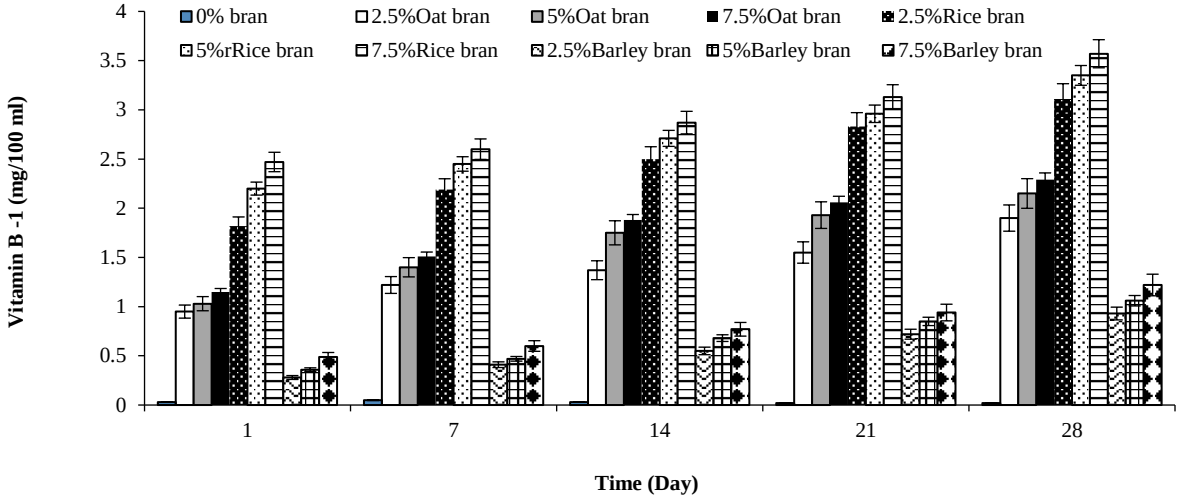


Figure 3- Amount of vitamin B_1 (mg/100ml) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.

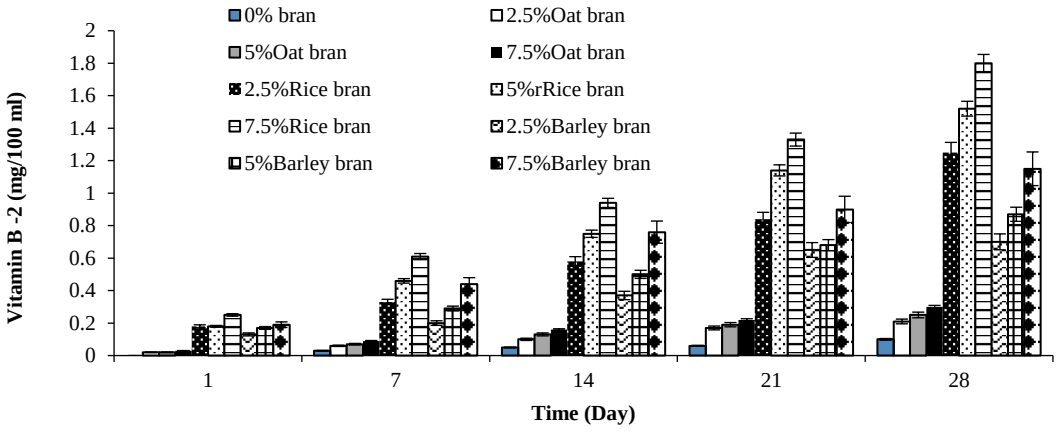


Figure 4- Amount of vitamin B_2 (mg/100ml) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.

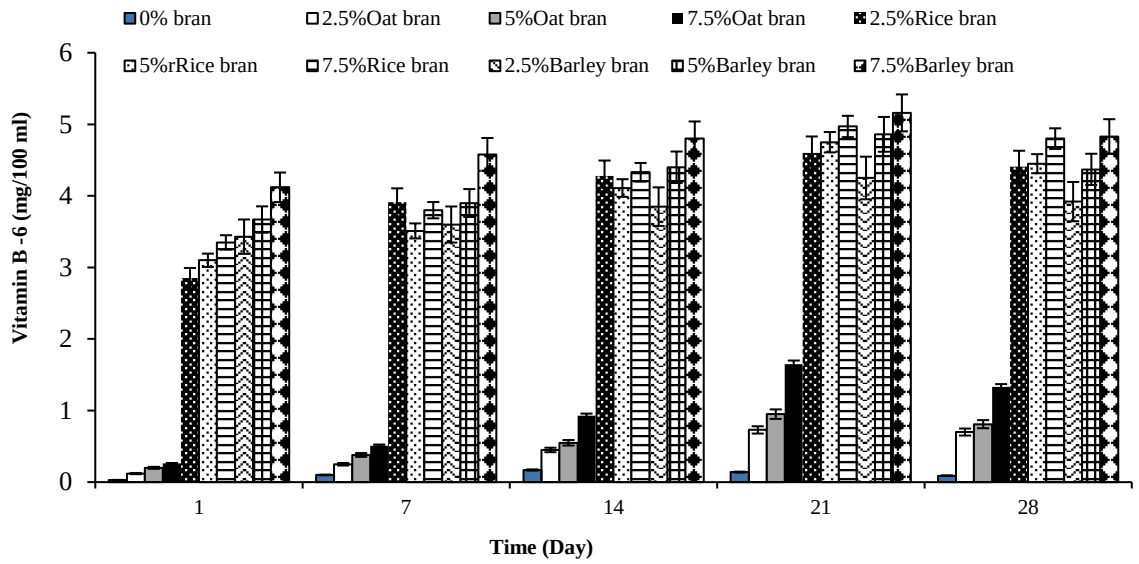


Figure 5- Amount of vitamin B_6 (mg/100ml) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.

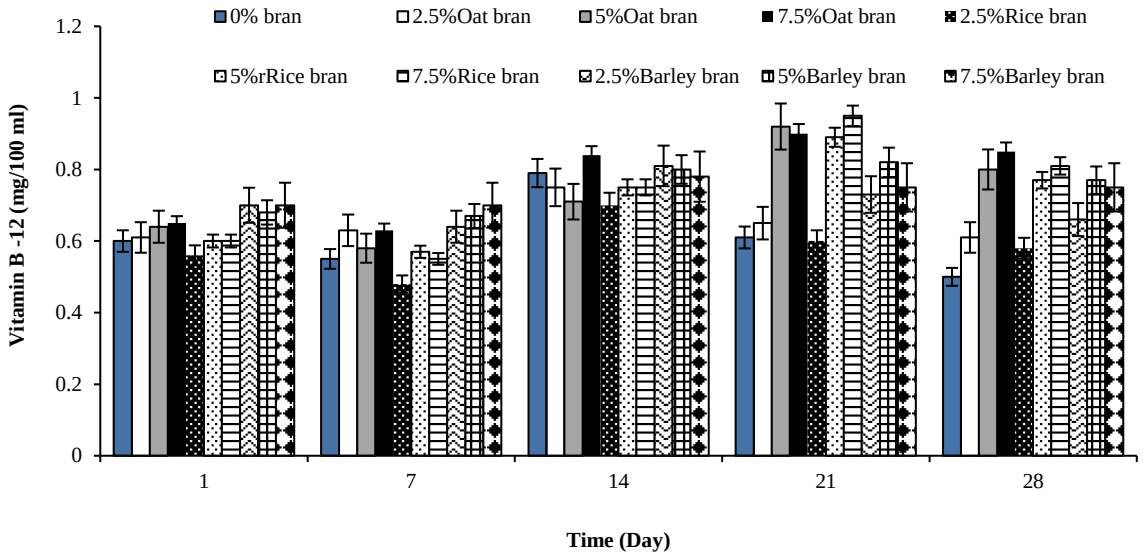


Figure 6- Amount of vitamin B_{12} (mg/100ml) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.

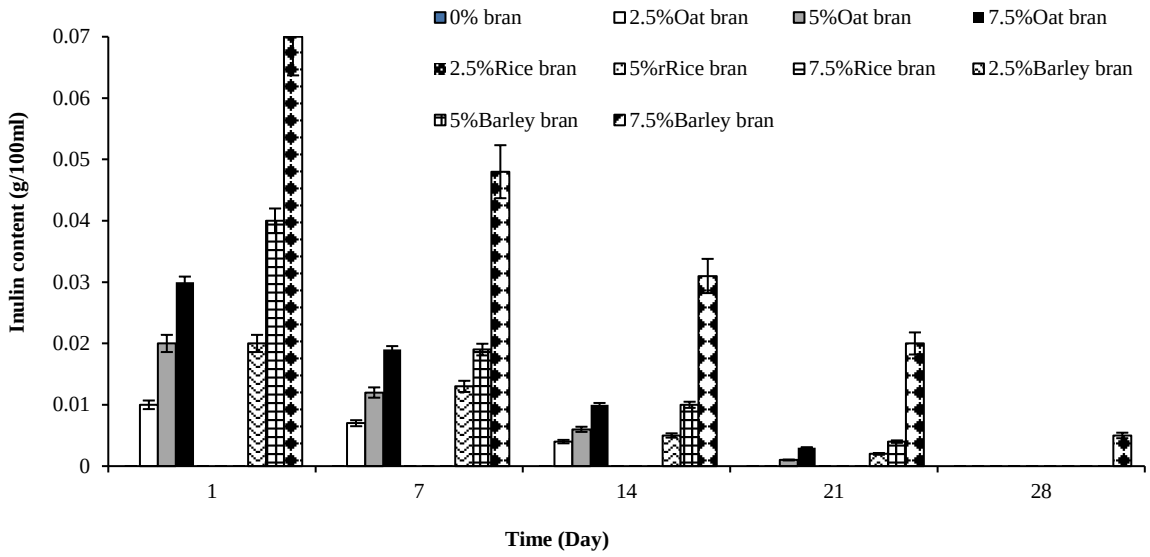


Figure 7- Amount of inulin (g/100ml) in milk samples treated with oat, rice, and barley bran during storage at 4±1 ºC. Bars on the figures presents standard deviation of data.

References

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

Al-Sheraji SH, Ismail A, Manap MY, Mustafa S, Yusof RM and Hassan FA, 2013. Prebiotics as functional foods: A review. Journal of Functional Foods 5(4): 1542-1553 .

Asadzadeh A, Jalali H, Azizi MH and Mohammadi Nafchi A, 2021. Production of oat bran functional probiotic beverage using Bifidobacterium lactis. Journal of Food Measurement and Characterization 15: 1301-1309.

Arooji A, Ghanbazadrh B, Danesh A. 2017. Investigating the texture and sensory properties of prebiotic cream containing inulin and polydextrose using the response surface method. Food Research Journal 27(4):193-207.

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 .

Beitane I and Ciprovica I, 2011. The study of added prebiotics on b group vitamins concentration during milk fermentation. AC Romanian Biotechnological Letters 16(6): 92-96 .

Carlson JL, Erickson JM, Hess JM Gould TJ and Slavin JL, 2017. Prebiotic dietary fiber and gut health: comparing the in vitro fermentations of beta-glucan, inulin and xylooligosaccharide. Nutrients 9(12): 136 .١

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 44: 3140-3145 .

Das S, Mondal K. and Haque S 2017. A review on application of probiotic, prebiotic and synbiotic for sustainable development of aquaculture. Growth14: 15-22 .

Demirci T, Aktaş K, Sözeri D, Öztürk Hİ and Akın N, 2017. Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. Journal of Functional Foods 36: 396-403 .

Franck A and Bosscher D, 2009. Inulin. In Fiber Ingredients (pp. 55-74): CRC Press.

Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller J.W, Toh BH, 2017. Vitamin B12 deficiency. Nature Reviews Disease Primers 3(1): 1-20 .

Guarino MPL, Altomare A, Emerenziani S, Di Rosa C, Ribolsi M, Balestrieri P,Cicala M, 2020. Mechanisms of action of prebiotics and their effects on gastro-intestinal disorders in adults. Nutrients 12(4): 1037-1042 .

Hasani S, Sari AA, Heshmati A and Karami M, 2017. Physicochemical and sensory attributes assessment of functional low-fat yogurt produced by incorporation of barley bran and Lactobacillus acidophilus. Food Science and Nutrition 5(4): 875-880 .

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 1: 1-6.

Issara U and Rawdkuen S, 2014. Organic rice bran milk: production and its natural quality attributes. Paper presented at the Proceeding of 1st Joint ACS AGFD-ACS ICSCT symposium on agricultural and Food Chemistry۱۲-:۱ .

Kaprasob R, Kerdchoechuen O, Laohakunjit N and Somboonpanyakul P, 2018. B vitamins and prebiotic fructooligosaccharides of cashew apple fermented with probiotic strains Lactobacillus spp., Leuconostoc mesenteroides and Bifidobacterium longum. Process Biochemistry 70: 9-19 .

Kelly G, 2008. Inulin-type prebiotics--a review: part 1. Alternative Medicine Review 13(4): 1-6.

Khromova NY, Epishkina JM, Karetkin BA, Khabibulina NV, Beloded AV, Shakir IV and Panfilov VI, 2022. The Combination of In Vitro Assessment of Stress Tolerance Ability, Autoaggregation, and Vitamin B-Producing Ability for New Probiotic Strain Introduction. Microorganisms 10(2): 470 .

Klajn VM, Ames CW, da Cunha KF, Lorini A, Hackbart HCdS, Cruxen CEdS 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 .

Kurdi P and Hansawasdi C, 2015. Assessment of the prebiotic potential of oligosaccharide mixtures from rice bran and cassava pulp. LWT-Food Science and Technology 63(2): 1288-1293 .

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 .

Luana N, Rossana C, Curiel JA, Kaisa P, Marco G and Rizzello CG, 2014. Manufacture and characterization of a yogurt-like beverage made with oat flakes fermented by selected lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology 185: 17-26 .

Mooney S, Leuendorf JE, Hendrickson C and Hellmann H, 2009. Vitamin B6: a long known compound of surprising complexity. Molecules 14(1): 329-351.

Nasirvand F, Fathi Achachluie B, Bablani Moghadam N. 2022. Investigating the viability of probiotic bacteria Lactobacillus casei and Bifidobacterium lactis encapsulated with calcium alginate-inulin in cold green tea drink. Journal of Food Research 22(1):137-149.

Pinto JT and Zempleni J, 2016. Riboflavin. Advances in Nutrition 7(5): 973-975 .

Raungrusmee S, Kumar SR and Anal AK, 2022. Probiotic Cereal-based Food and Beverages, their Production and Health Benefits. Probiotics, prebiotics and synbiotics: Technological advancements towards safety and industrial applications (pp.186-212): Wiley .

Roller M, Rechkemmer G and Watzl B, 2004. Prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis modulates intestinal immune functions in rats. The Journal of Nutrition 134(1): 153-156 .

Salmerón I, 2017. Fermented cereal beverages: From probiotic, prebiotic and synbiotic towards Nanoscience designed healthy drinks. Letters in Applied Microbiology 65(2): 114-124 .

Seyoum Y, Humblot C, Baxter BA, Nealon N.J, Weber AM and Ryan EP, 2022. Metabolomics of rice bran differentially impacted by fermentation with six probiotics demonstrates key nutrient changes for enhancing gut health. Frontiers in Nutrition 8: 1330-1337 .

Shoaib M, Shehzad A, Omar M, Rakha A, Raza H ,.Sharif HR, Niazi S, 2016. Inulin: Properties, health benefits and food applications. Carbohydrate Polymers 147: 444-454 .

Simonovska B, 2000. Determination of inulin in foods. Journal of AOAC International 83(3): 675-678 .

Son SH, Jeon H, Yang SJ, Sim H., Kim YJ, Lee NK. and Paik HD, 2018. Probiotic lactic acid bacteria isolated from traditional Korean fermented foods based on β-glucosidase activity. Food Science and Biotechnology 27: 123-129 .

Suman D and Sreeja V, 2019. Barley: A cereal with potential for development of functional fermented foods. International Journal of Fermented Foods 8(1): 1-13 .

Terpou A, Bekatorou A, Bosnea L, Kanellaki M, Ganatsios V and Koutinas AA, 2018. Wheat bran as prebiotic cell immobilisation carrier for industrial functional Feta-type cheese making: Chemical, microbial and sensory evaluation. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 13: 75-83 .

Valchev R and Dieleman LA, 2016. Prebiotics: Definition and protective mechanisms. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology 30(1): 27-37 .

Vasile A, Corcionivoschi N and Bahrim G. 2016. The prebiotic and protective effects of buckwheat flour and oat bran on Lactobacillus acidophilus. The Annals of the University of Dunarea de Jos of Galati. Fascicle VI. Food Technology 40(2): 40-45 .

Wilson B and Whelan K, 2017. Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. Journal of Gastroenterology and Hepatology 32: 64-68 .

Zempleni J and Kuroishi T, 2012. Biotin. Advances in Nutrition 3(2): 213-214 .

Zubaidah E, Nurcholis M, Wulan SN and Kusuma A, 2012. Comparative study on synbiotic effect of fermented rice bran by probiotic lactic acid bacteria Lactobacillus casei and newly isolated Lactobacillus plantarum B2 in wistar rats. APCBEE Procedia 2: 170-177 .