



تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتری‌های پروبیوتیک

ساناز ابراهیمی‌جم^۱، سهیلا زرین‌قلمی^{۲*} و علی گنجلو^۲

تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۴

تاریخ دریافت: ۹۶/۴/۲۷

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

^۲ به‌ترتیب دانشیار و استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان

*مسئول مکاتبه: Email: zaringhalami@znu.ac.ir

چکیده

زمینه مطالعاتی: دانه‌های کینوا ارزش تغذیه‌ای بالایی دارند، اما با انجام عمل تخمیر می‌توان خواص تغذیه‌ای آن را افزایش داد. هدف: در پژوهش حاضر، تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با نسبت ترکیبی ۵۰:۵۰ همراه با شیرین‌کننده طبیعی عسل به میزان ۵ درصد (وزنی/حجمی) و عرق گیاهی نعناع در چهار سطح ۰، ۱، ۲ و ۳ درصد (حجمی/حجمی) مورد بررسی قرار گرفت. روش کار: بعد از انجام تخمیر به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ °C، بهترین نمونه نوشیدنی بر اساس نتایج حاصل از ارزیابی ویژگی‌های حسی، میزان فنول کل و فعالیت ضداکسایشی (مهارکنندگی رادیکال‌های حاصل از DPPH و H₂O₂) انتخاب گردید. نمونه انتخاب شده به مدت ۱۴ روز در دمای یخچال نگهداری شد و ویژگی‌های حسی، میزان فنول کل، فعالیت ضداکسایشی، pH، اسیدیته، مواد جامد کل، میزان مواد جامد محلول در آب (بریکس)، میزان زنده‌مانی باکتری‌ها و درصد الکل در طول مدت زمان نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج: نتایج نشان داد که فرآیند تخمیر باعث افزایش در میزان فنول کل، فعالیت ضداکسایشی و اسیدیته و کاهش در pH، مواد جامد کل و بریکس می‌شود. همچنین نوشیدنی حاوی عرق نعناع به میزان ۳ درصد با بالاترین ویژگی‌های حسی به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد. در طول ۱۴ روز نگهداری نوشیدنی‌های پروبیوتیک در یخچال، تمامی ویژگی‌های کیفی ذکر شده به جز اسیدیته کاهش پیدا کردند. اما باکتری‌های پروبیوتیک زنده‌مانی خود را در حد میزان تعریف شده برای فراورده‌های پروبیوتیکی (حداقل ۱۰^۶ - ۱۰^۸ سلول در هر میلی‌لیتر) حفظ کردند. نتیجه‌گیری کلی: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه کینوا با فرمول تولید شده در این پژوهش (حاوی ۵ درصد عسل و ۳ درصد عرق نعناع) را می‌توان به عنوان یک نوشیدنی فراسودمند و جایگزین نوشیدنی‌های رایج و مضر موجود در بازار، معرفی کرد.

واژگان کلیدی: بدون گلوتن، فراسودمند، کینوا، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتروم، نوشیدنی تخمیری

مقدمه

فشار خون، چاقی، افزایش انواع سرطان، کم‌خونی، فقر مواد معدنی، ویتامین‌ها و غیره، عده زیادی از مصرف‌کنندگان، به مصرف غذاها و نوشیدنی‌های طبیعی

امروزه با توجه به تغییر شیوه زندگی و با توجه به افزایش بعضی از بیماری‌ها از جمله افزایش کلسترول و

اولیگوساکاریدها هستند که سبب تحریک رشد و فعالیت بیشتر باکتری‌های پروبیوتیک می‌شوند (گیسون و همکاران ۲۰۰۸).

با افزایش تعداد افراد گیاه‌خوار و وجود افراد با مشکل عدم تحمل لاکتوز از ترکیبات عمده در فرآورده‌های پروبیوتیکی لبنی می‌باشد، تقاضا برای مصرف فرآورده‌های پروبیوتیکی غیر لبنی روز به روز در حال افزایش است و اگر جایگزین مناسبی برای محصولات پروبیوتیک بر پایه لبنیات وجود نداشته باشد، به تدریج پروبیوتیک‌ها جایگاه خود را در بین قشر وسیعی از افراد جامعه از دست خواهند داد (ریورا اسپینوزا ۲۰۱۰). از طرفی تولید و توسعه محصولات پروبیوتیک غیر لبنی بر پایه غلات و شبه غلات می‌تواند جایگزینی ارزان با ارزش غذایی بالا برای تولید محصولات پروبیوتیک باشد (گورینستین ۲۰۰۲). اما وجود پروتئین گلوتنی در برخی از این ترکیبات می‌تواند در بعضی افراد حساسیت یا بیماری ایجاد کند (تولی ۲۰۱۵). تولید مواد غذایی مانند نوشیدنی از برخی از این ترکیبات بدون گلوتن، می‌تواند برای بیماران سلیاکی که تقریباً ۷۰۰۰۰۰ نفر از افراد جامعه ما را تشکیل می‌دهند، بسیار مناسب باشد (ملکزاد و شاکری ۱۳۸۶). بیماری سلیاک که به آن انتروپاتی گلوتن^۱ نیز اطلاق می‌شود، به عنوان بیماری عدم تحمل گلوتن شناخته شده است و یکی از اختلالات ارثی سیستم ایمنی بدن است که در نتیجه آن جذب مواد مغذی و ویتامین‌ها در بدن افراد مبتلا به این بیماری مختل می‌گردد. این افراد که به گلوتن موجود در مواد غذایی حساسیت دارند، از مصرف محصولات دارای گلوتن منع می‌شوند و در انتخاب مواد غذایی با مشکل اساسی مواجه‌اند (تولی ۲۰۱۵).

شبه غلات که حاوی فیبرهای رژیمی (ترکیبات پری‌بیوتیک)، پروتئین، مواد معدنی و ویتامین‌های مورد نیاز برای انسان هستند، در تولید جهانی مواد غذایی نقش دارند و می‌توانند سوبسترای مناسب جهت انجام

تمایل پیدا کرده‌اند (اسپنس ۲۰۰۶). به علاوه نقص‌های ژنتیکی، بیماری‌های خود ایمنی و حساسیت‌های غذایی، نظیر بیماری عدم تحمل لاکتوز، بیماری سلیاک^۱ و حساسیت به پروتئین شیر گاو باعث انتخاب محدود مواد غذایی توسط افراد مبتلا به این بیماری‌ها شده است که در نهایت سبب می‌شود تا نیازهای تغذیه‌ای بدن این افراد به‌طور کامل تامین نگردد (تولی و همکاران ۲۰۱۵). از این‌رو در چند دهه گذشته، محققین و تولیدکنندگان فرمولاسیون و تولید مواد غذایی فراسودمند^۲ را مورد توجه و بررسی بیشتری قرار داده‌اند. طبق تعریف، مواد غذایی فراسودمند نه تنها نیازهای تغذیه‌ای اولیه بدن را تامین می‌کنند، بلکه باعث افزایش سطح سلامت مصرف‌کننده و کاهش خطر ابتلا به انواع بیماری‌ها می‌گردند (اسپنس ۲۰۰۶). یکی از مهم‌ترین زیرگروه‌های مواد غذایی فراسودمند که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، مواد غذایی تخمیری پروبیوتیک و پری‌بیوتیک‌ها می‌باشند (رادور و همکاران ۲۰۱۲).

تخمیر، مجموعه فعالیت‌های زیستی است که توسط میکروارگانیسم‌ها و یا آنزیم‌های حاصل از آن‌ها انجام می‌گیرد و طی آن کربوهیدرات‌ها و دیگر ترکیبات مرتبط، به ترکیبات آلی تبدیل می‌گردند. به‌طور معمول تخمیر باعث بهبود کیفیت تغذیه‌ای، افزایش ترکیبات فعال زیستی، افزایش فعالیت ضداکسایشی و تغییر در ترکیبات شیمیایی می‌شود (سیمانگو ۱۹۹۷).

پروبیوتیک‌ها، میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که مصرف تعداد مشخصی از آن‌ها (حداقل $10^6 - 10^8$ سلول در هر میلی‌لیتر) سبب تحریک رشد و تقویت فعالیت انواعی از باکتری‌ها در روده می‌شوند که باعث ایجاد خواص درمانی و سلامت‌بخش فراتر از ارزش تغذیه‌ای می‌گردند (پرادو و همکاران ۲۰۰۸). ترکیبات پری‌بیوتیک ترکیبات غیر قابل هضم مانند نشاسته، قندهای الکلی، فیبرهای رژیمی، قندهای غیرقابل جذب و

1 . Celiac disease (CD)

2 . Functional foods

3 . CFU/ml

نشده است و با توجه به مطالب ذکر شده در فوق در ارتباط با مواد غذایی فراسودمند تخمیری، هدف از انجام تحقیق حاضر، تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، به منظور جایگزینی مناسب برای تولید نوشیدنی‌های رایج مضر متداول امروزی بوده است.

مواد و روش‌ها

مواد خام

دانه‌های کینوا از یکی از فروشگاه‌های شهر کالیفرنیا، کشور آمریکا (شرکت Nature's Earthly Choice) تهیه شد. عسل بسته‌بندی شده (شرکت برادران) نیز از یکی از فروشگاه‌های شهر زنجان خریداری شد. محیط کشت‌های MRS و آگار تولید شرکت مرک آلمان بود.

کشت میکروبی آغازگر

لاکتوباسیلوس پلانتروم (PTCC۱۰۵۸) و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (PTCC۱۶۴۳) از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، بخش کلکسیون میکروبی، به صورت کشت فعال و زنده خریداری و تا قبل از استفاده در یخچال نگهداری شد.

مواد شیمیایی

تمامی حلال‌ها و مواد شیمیایی مورد استفاده، تولید شرکت مرک آلمان یا فولیکا بودند.

استخراج عرق نعناع

گیاه نعناع از فروشگاه‌های محلی شهر زنجان خریداری شد و با استفاده از دستگاه کلونجر عرق‌گیری شد. عرق نعناع به دست آمده پس از صاف کردن با کاغذ صافی واتمن شماره ۱، در شیشه تیره رنگ و دردمای یخچال نگهداری شد (سرباززاده ۱۳۹۱).

فرآیند تخمیر باشند (گورینستین و همکاران ۲۰۰۲). یکی از شبه غلات با ارزش غذایی نسبتاً بالا و بدون گلوتن که می‌تواند نقش مهمی در تولید غذاهای فراسودمند داشته باشد کینوا می‌باشد (بلاندینو و همکاران ۲۰۰۳).

کینوا با نام علمی *Chenopodium quinoa, Willd* از راسته میخک‌سانان و تیره تاج‌خروسیان، با قدمتی بیش از ۵۰۰۰ سال بومی منطقه آند در بولیوی، شیلی و پرو و دارای دانه‌های ریز گرد است (رپوکاراسکو و همکاران ۲۰۰۳) کینوا به نام‌های خاویار گیاهی و برنج اینکا هم معروف است و به علت خواص فوق‌العاده‌اش به آن، «مادر همه‌ی دانه‌های خوراکی» می‌گویند (فائو ۲۰۱۱). ارزش غذایی بسیار بالای دانه کینوا موجب مقایسه آن توسط سازمان خواروبار جهانی با شیر خشک گردیده است. کینوا منبع خوبی از ویتامین‌ها، مواد معدنی (کلسیم، آهن، روی و غیره)، فیبر، اسیدهای چرب امگا ۳، ۶ و ۹، پروتئین و دیگر ترکیبات مغذی می‌باشد (ابوگچ و همکاران ۲۰۰۹).

به علاوه، با توجه به در دسترس بودن انواع شیرین‌کننده‌های طبیعی مانند عسل و انواع عرقیات گیاهی مانند نعناع و پی بردن به خواص ارزشمند تغذیه‌ای و درمانی آن‌ها علاوه بر عطر و طعم مناسب، مطالعاتی روی خواص پری‌بیوتیکی و تاثیر این مواد بر خاصیت زنده‌مانی گونه‌های مختلف باکتری‌های پروبیوتیک انجام شده است یا در حال انجام است تا از این ترکیبات به عنوان یک ترکیب اولیه یا افزودنی تولید و توسعه غذاهای تخمیری و فراسودمند استفاده شود (ایزدی و همکاران ۱۳۹۵ و وثوق و همکاران ۱۳۸۷).

از آنجا که کینوا گیاهی با ارزش تغذیه‌ای بالا است که قادر به رشد در شرایط نامساعد محیطی می‌باشد و هزینه‌های کشت آن کمتر از گیاهان رایج مورد استفاده مانند گندم، برنج و... است (رپوکاراسکو و همکاران ۲۰۰۳) و همچنین تا کنون در ایران از کینوا در محصولات غذایی مختلف به ویژه نوشیدنی‌ها، استفاده

خواص ضد اکسایشی، pH، اسیدیته، مواد جامد کل، بریکس، زنده‌مانی میکروارگانیسم‌ها و درصد الکل در طول مدت زمان نگهداری اندازه‌گیری گردید (ایزدی و همکاران ۱۳۹۵ و دالاگونول و پسوما ۲۰۱۲). نمونه شاهد نیز، با شرایط مشابه و بدون افزودن عرق نعناع تهیه شد.

ارزیابی خصوصیات حسی نوشیدنی تخمیری بر پایه کینوا

جهت انجام آزمون حسی نوشیدنی تخمیری بر پایه کینوا، یک تیم هشت نفره ارزیاب آموزش‌دیده، ویژگی‌های بو، مزه، رنگ، احساس دهانی، پس مزه و پذیرش کلی نمونه را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این آزمون بر اساس روش هدونیک ۵ نقطه‌ای از بسیار خوب، خوب، متوسط، بد، بسیار بد به ترتیب از ۵ تا ۱ امتیازدهی شد و امتیاز ۴ به بالا برای هر ویژگی امتیاز قابل قبول در نظر گرفته شد (استاندارد ملی ایران ۱۳۸۶).

اندازه‌گیری میزان فنول کل (TPC)

میزان فنول کل با استفاده از روش فولین سیو کالچو اندازه‌گیری شد. نتایج به‌دست آمده به صورت معادل میلی‌گرم گالیک اسید در هر میلی‌لیتر نوشیدنی بیان گردید (السعیدی و حسین ۲۰۱۵). منحنی جذب در برابر غلظت گالیک‌اسید (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به عنوان استاندارد، رسم شد و رابطه رگرسیونی بین غلظت و میزان جذب در فرمول با ضریب تبیین ۰/۹۹ ارائه شده است.

$$y = (4/8538 x) + 0.1151$$

ارزیابی فعالیت ضد اکسایشی

اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی با استفاده از روش

DPPH²

جهت اندازه‌گیری فعالیت ضد اکسایشی از روش DPPH استفاده شد. درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH با

بررسی اثر ضد میکروبی عرق نعناع بر باکتری‌ها (روش انتشار چاهک)

برای اطمینان از عدم تاثیر عرق نعناع بر رشد و فعالیت باکتری‌های پروبیوتیک مورد استفاده، از روش انتشار چاهک استفاده شد. عدم تشکیل هاله اطراف چاهک‌ها به معنای عدم خاصیت ضد میکروبی عرق نعناع علیه باکتری‌های مورد نظر در نظر گرفته شد (بلاویتا و همکاران ۲۰۱۳).

تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه کینوا

برای تهیه نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه کینوا، ابتدا دانه‌های کینوا تمیز شد، در آب قرار گرفت و به مدت ۱۲ ساعت عمل خیساندن انجام شد. سپس، آب به نسبت ۶ به ۱ به دانه‌های کینوا اضافه شد و به مدت ۲۰ دقیقه عمل پخت در دمای ۸۰ درجه سلسیوس انجام گرفت. با نشانه‌گذاری سطح آب و افزودن آب با همان دما در هنگام کاهش میزان آن، نسبت فوق، در طول پخت ثابت نگه داشته شد. سپس عصاره آبی کینوا توسط صافی از دانه‌های کینوا جدا شد (کاور و تانوار ۲۰۱۶). عصاره آبی کینوا تا دمای ۳۷ درجه سلسیوس سرد شد و فرآیند تخمیر با تلقیح 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر از میکروارگانیسم‌های *لاکتوباسیلوس پلانتروم* و *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* با نسبت ۵۰:۵۰ در عصاره آبی کینوا انجام شد. برای تعیین مقدار کشت آغازگر 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر جهت افزودن باکتری‌ها به عصاره آبی، از استاندارد نیم مک فارلند استفاده گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ °C جهت انجام تخمیر گرمخانه‌گذاری شدند. پس از طی این زمان جهت توقف فرآیند تخمیر، محصول تا دمای یخچال سرد شد و به میزان ۵ درصد (وزنی-حجمی) عسل با درجه بریکس ۸۲ و عرق نعناع به نسبت‌های ۱، ۲ و ۳ درصد حجمی-حجمی به آن‌ها اضافه گردید. سپس بهترین نمونه بر اساس نتایج ارزیابی حسی، میزان فنول کل و فعالیت ضد اکسایشی، انتخاب و به مدت ۱۴ روز در دمای یخچال نگهداری شد و ارزیابی حسی، میزان فنول کل،

1. Total Phenolic Content (TPC)

2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

اندازه گیری مواد جامد محلول در آب (بریکس) بریکس نوشیدنی در دمای ۲۰°C توسط دستگاه رفاکتومتر (VBR, 90A, چین) اندازه‌گیری شد و بر حسب گرم در صد گرم نمونه بیان شد (استاندارد ملی ایران ۱۳۸۶).

بررسی زنده مانی میکروارگانیسم‌ها (شمارش سلول‌های زنده)

برای شمارش سلول‌های زنده باکتری‌ها از کشت سطحی در پلیت‌های حاوی محیط کشت MRS آگار استفاده گردید. نتایج به صورت واحد لگاریتمی تعداد سلول‌ها در هر میلی‌لیتر بیان شد (بلاiota و همکاران ۲۰۱۳).

$$N = \frac{\sum a}{Vd}$$

N: تعداد سلول‌های زنده، $\sum a$: مجموع کلنی‌های

شمارش شده، V: حجم تلقیح شده در پلیت،

d: ضریب رقت

اندازه‌گیری درصد الکل

جهت اندازه‌گیری میزان الکل اتیلیک موجود در نوشیدنی تهیه شده از روش تقطیر استفاده شد و درصد الکل اتیلیک با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (استاندارد ملی ایران ۱۳۸۶).

$$A = \frac{(V_1 - V_2) \times 0.015 \times 250 \times 100}{V_1 \times m}$$

V_1 : حجم مصرفی تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال برای محلول شاهد بر حسب میلی‌لیتر، V_2 : حجم مصرفی تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال برای محلول نمونه بر حسب میلی‌لیتر، V: حجم مایع تقطیر شده مورد استفاده در آزمون بر حسب میلی‌لیتر، m: وزن نمونه مورد آزمون بر حسب گرم، A: الکل اتیلیک بر حسب گرم در صد گرم.

روش تجزیه و تحلیل اطلاعات

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار Minitab 16 و با آزمون واریانس یک‌طرفه صورت

استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (شارما و همکاران ۲۰۱۵):

$$DPPH = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100$$

$A_{control}$: جذب نمونه شاهد، A_{sample} : جذب نمونه

اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی با استفاده از روش هیدروژن پراکسید (H_2O_2)

از روش هیدروژن پراکسید (H_2O_2) جهت اندازه‌گیری فعالیت ضداکسایشی نمونه‌ها استفاده شد. درصد مهارکنندگی هیدروژن پراکسید با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (سوهارتانو و همکاران ۲۰۱۲).

$$100 \times \{(A_i - A_t) / A_t\} = \text{مهارکنندگی هیدروژن}$$

پراکسید

A_i : میزان جذب نمونه شاهد، A_t : میزان جذب نمونه

اندازه‌گیری pH و اسیدیته قابل تیتر

pH نوشیدنی در دمای ۲۰°C توسط دستگاه pH متر (Consort, C863, دانمارک) اندازه‌گیری شد.

اسیدیته قابل تیتر با استفاده از روش تیتراسیون و به صورت گرم اسیدلاکتیک بر هر گرم نمونه بیان شد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (استاندارد ملی ایران ۱۳۸۶):

$$A = \frac{V \times 0.0090 \times 100}{M}$$

V: حجم سود مصرفی هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال بر

حساب میلی‌لیتر، M: وزن نمونه بر حسب گرم، A:

اسیدیته کل بر حسب اسیدلاکتیک (گرم در صد گرم)

اندازه‌گیری مواد جامد کل

از روش آون‌گذاری جهت اندازه‌گیری مواد جامد کل استفاده گردید و میزان ماده جامد کل بر حسب درصد از فرمول زیر محاسبه شد (استاندارد ملی ایران ۱۳۸۶):

$$W_2 = \frac{(W_2 - W_1)}{m} \times 100$$

W_1 : وزن ظرف خالی بر حسب گرم، W_2 : وزن ظرف به

همراه مواد خشک نمونه بر حسب گرم، W_2 : مواد جامد

کل بر حسب درصد، m: وزن نمونه بر حسب گرم

رداکتون‌ها در طی تخمیر شود که این امر باعث افزایش ظرفیت ضداکسایشی می‌گردد (موراکامی و همکاران ۱۹۸۴).

به علاوه فرایند تخمیر تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر میزان کاهش pH و افزایش اسیدیته قابل تیترا دارد (جدول ۱). این امر بیشتر به دلیل فعالیت باکتری‌های لاکتیک اسید و تولید اسیدهای آلی به‌خصوص لاکتیک اسید و استیک اسید در حین تخمیر می‌باشد (ماگالا و همکاران ۲۰۱۵). همچنین مطابق نتایج جدول ۱، فرایند تخمیر تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) در کاهش میزان مواد جامد کل و مواد جامد محلول در آب (بریکس) دارد که دلیل آن تجزیه و مصرف ترکیبات مغذی توسط باکتری‌ها جهت رشد و فعالیت متابولیکی و تولید محصول توسط آن‌ها است (والیا و همکاران ۲۰۱۳).

گرفت. مقایسه میانگین‌ها به روش توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی در اثر تخمیر

مطابق نتایج جدول ۱، فرآیند تخمیر باعث افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) در میزان فنول کل و اثر مهارکنندگی رادیکال DPPH و هیدروژن پراکسید (H_2O_2) داشته است. دئوناس و همکاران (۲۰۰۵) دلیل این امر را تولید آنزیم‌های بتاگلوکوزیداز، NADH پراکسیداز، آمیلاز، پروتئاز و زایلانازهای حاصل از میکروارگانیسم‌های عامل تخمیر حین فرآیند تخمیر دانستند که باعث اصلاح ترکیبات مواد غذایی و تولید ترکیبات ضداکسایشی و فنول‌ها می‌شوند. به عنوان مثال، فعالیت کاتالیزوری بتاگلوکوزیدازها می‌تواند باعث انتشار ایزوفلاونوآگلیکون‌های فنولیک و تولید

جدول ۱- تغییرات در میزان pH، اسیدیته، بریکس، مواد جامد کل، محتوای فنول کل و فعالیت ضداکسایشی (DPPH و H_2O_2)

در اثر تخمیر (H_2O_2)

Table 1- Effect of fermentation on pH, acidity, Brix, total solid content, total phenol content (TPC) and antioxidant activity (DPPH and H_2O_2)

Characteristics	Fermented sample	Unfermented sample
pH	3.41±0.01 ^b	5.50±0.07 ^a
Acidity (g lactic acid/100g)	0.59±1.77 ^a	0.34±0.00 ^b
Brix	7.53±0.05 ^b	8.00±0.00 ^a
Total solid content (%)	6.85±0.11 ^b	7.73±0.11 ^a
Total phenol content (mg GAE/ml)	9.71±0.33 ^a	6.86±0.23 ^b
DPPH scavenging (%)	46.95±1.77 ^a	32.34±1.20 ^b
H_2O_2 scavenging (%)	26.11±0.34 ^a	22.10±0.40 ^b

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within the same line represent significant difference at $P < 0.05$.

پری‌بیوتیکی نیز نشان داده است (جانیان‌زاده و همکاران ۱۳۹۳ و زایکا و کسینگر ۱۹۷۹).

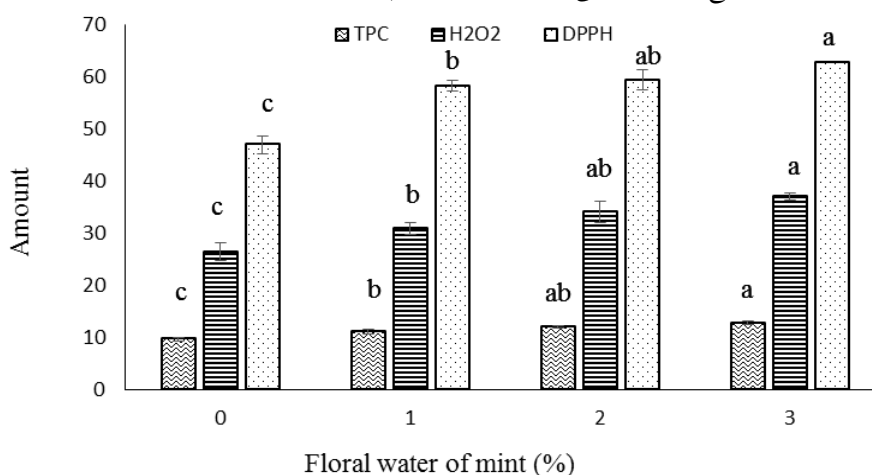
اثر افزودن عرق نعناع بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شکل ۱، اثر افزودن عرق نعناع را در نسبت‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ درصد به نوشیدنی، بر میزان فنول کل و فعالیت ضداکسایشی نشان می‌دهد. مطابق نتایج، عرق نعناع به میزان ۲ و ۳ درصد به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) میزان فنول کل و فعالیت ضداکسایشی را در مقایسه با نوشیدنی تخمیری بدون نعناع افزایش می‌دهد. این امر

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عرق نعناع به روش انتشار چاهک

نتایج بررسی تشکیل هاله عدم رشد، نشان داد که عرق نعناع، روی هیچ یک از دو باکتری لاکتوباسیلوس پلانتروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس اثر ضدباکتریایی نداشت. در نتایج حاصل از تحقیقات گذشته نیز نه تنها عرق نعناع خاصیت بازدارندگی روی باکتری‌های پروبیوتیک نداشت، بلکه خاصیت

میزان pH به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در مقایسه با نوشیدنی تخمیری بدون نعناع افزایش و در نتیجه میزان اسیدیته به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش می‌یابد که این امر می‌تواند به دلیل pH قلیایی عرق نعناع مورد استفاده باشد (شهادی و همکاران ۱۳۹۴). همچنین، کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در میزان مواد جامد کل و بریکس در مقایسه با نوشیدنی تخمیری بدون نعناع صورت گرفته است (شکل ۲)، که این امر را می‌توان به میزان مواد جامد کل پایین در عرق نعناع نسبت داد (محمدزاده و همکاران ۲۰۱۶). همچنین به دلیل خاصیت پری‌بیوتیکی عرق نعناع و در نتیجه رشد و فعالیت بیشتر باکتری‌ها و تجزیه و مصرف بیشتر ترکیبات مغذی توسط آن‌ها، میزان مواد جامد کل کاهش پیدا می‌کند (جانیان‌زاده و همکاران ۱۳۹۳ و زایکا و کیسینگر ۱۹۷۹).

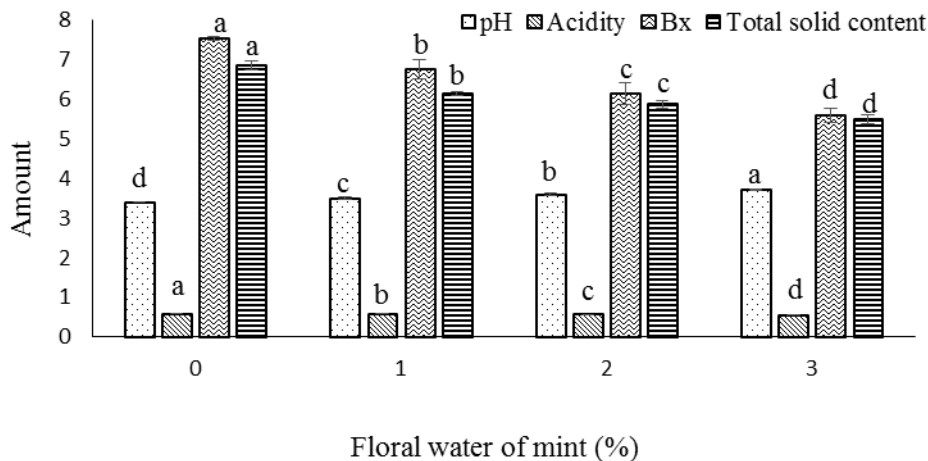
می‌تواند به دلیل ترکیبات موجود در اسانس‌های گیاهی و ترکیبات فنولیک بالای موجود در عرق نعناع مانند هیدروکسی بنزوئیک اسید و هیدروکسی سینامیک اسید باشد (کااور و کاپور ۲۰۰۲ و دیاب و همکاران ۲۰۱۵). از طرفی دیگر ممکن است با افزودن عرق نعناع به عنوان یک ترکیب پری‌بیوتیک، فعالیت باکتری‌ها افزایش پیدا کند و در نتیجه ترکیبات فنولی بیشتری سنتز و آزاد شوند که می‌توانند در افزایش فعالیت ضد اکسایشی نیز نقش داشته باشند (زایکا و کیسینگر ۱۹۷۹). فلزات موجود در عرق نعناع (آهن، منگنز، مس، کادمیوم، پتاسیم، کروم، روی و منیزیوم) نیز، به عنوان اهداکنندگان الکترون عمل می‌کنند که می‌توانند موجب افزایش میزان فعالیت ضد اکسایشی شوند (ساگدیک و همکاران ۲۰۱۲). مطابق نتایج شکل ۲، با افزودن عرق نعناع به نوشیدنی تخمیری،



شکل ۱- مقایسه‌ی میزان فنول کل و فعالیت بین نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه‌ی کینوا حاوی ۵ درصد عسل و سطوح مختلف عرق نعناع در نخستین روز پس از تخمیر

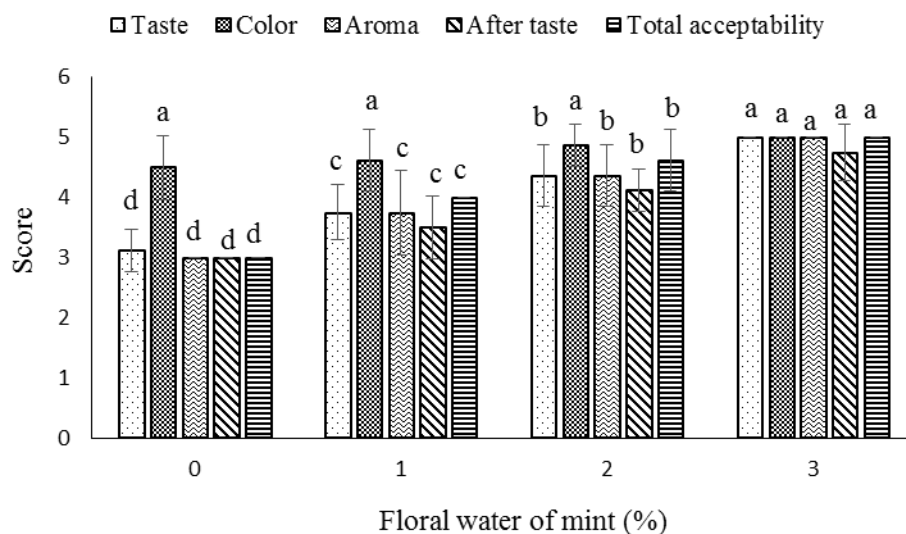
Figure 1- Comparison of total phenol content (mg GAE/ml) and antioxidant activity (DPPH and H₂O₂ radical inhibition) in quinoa-based fermented beverages containing different levels of floral water of mint (0, 1, 2 and 3%) at the first day after fermentation

Different superscripts represent significant difference at $P < 0.05$.



شکل ۲- بررسی اثر عرق نعناع بر pH، اسیدیته بریکس، مواد جامد کل (درصد) در نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه‌ی کینوا حاوی ۵ درصد عسل و سطوح مختلف عرق نعناع در نخستین روز پس از تخمیر

Figure 2- Effect of different levels of floral water of mint (1, 2 and 3% floral water) on pH, acidity (g of lacial acid/g), brix, total solid content (%) in quinoa- based fermentation at the first day after fermentation. Different superscripts represent significant difference at $P < 0.05$.



شکل ۳- مقایسه ویژگی‌های حسی نوشیدنی‌های تخمیری بر پایه‌ی کینوا حاوی ۵ درصد عسل و سطوح مختلف عرق نعناع در نخستین روز پس از تخمیر

Figure 3- Comparison of sensory characteristics (taste, color, aroma, after taste and total acceptability) among quinoa-based fermented beverages containing different levels of floral water of mint (0, 1, 2 and 3%) at the first day after fermentation.

Different superscripts represent significant difference at $P < 0.05$.

معنی‌داری ($P < 0.05$) در مقایسه با نوشیدنی تخمیری بدون عرق نعناع افزایش یافت. همچنین در ویژگی پس‌طعم نیز نوشیدنی حاوی ۱ درصد عرق نعناع با

ویژگی‌های حسی

مطابق نتایج شکل ۳، با افزودن عرق نعناع به نوشیدنی‌ها، تمامی ویژگی‌های حسی به جز رنگ، به طور

حین نگهداری می‌باشد (ماگالا و همکاران ۲۰۱۵). به علاوه، مواد جامد کل و بریکس نوشیدنی تخمیری به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در حال کاهش می‌باشد (جدول ۲). دلیل این امر را نیز می‌توان به احتمال زنده‌مانی و مصرف ترکیبات به خصوص کربوهیدرات توسط باکتری‌های پروبیوتیک برای رشد و فعالیت متابولیکی در طول فرایند تخمیر و حین نگهداری نسبت داد (دی سوزا و همکاران ۲۰۱۳). همچنین، میزان فنول کل و درصد مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و H_2O_2 به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش پیدا کرده است (جدول ۲). این امر می‌تواند به دلیل انتشار ترکیبات فنولیک به داخل مایعات سلولی و اکسیداسیون ترکیبات فنولیک منتشر شده توسط آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز باشد (اولانی و مهیزاده ۲۰۱۳). ژائو و شاه (۲۰۱۴) نیز علت نابودی ترکیبات فنولی را افزایش اتصال و تعامل بین پروتئین‌ها و پلی‌فنول‌ها دانستند. گزارش شده است که در حین نگهداری در یخچال ترکیبات ضد اکسایشی موجود در نوشیدنی‌ها با رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیژن موجود در هوا واکنش داده و کاهش پیدا می‌کنند، در نتیجه ترکیبات فنولیک، فلاونوئیدها، آسکوربیک اسید و غیره کاهش می‌یابند (لوپز و همکاران ۲۰۰۷).

نمونه شاهد تفاوتی نداشت. به طور کلی نوشیدنی حاوی ۳ درصد عرق نعناع بالاترین ویژگی‌های حسی را در بین سایر نمونه‌ها نشان داد. یکی از دلایل این امر، می‌تواند علاقه مردم کشور ایران به نوشیدنی‌های طعم‌دار باشد همچنین عرق نعناع منبع غنی از ترکیبات فرار منتول، منتول استات و منتون است که سبب افزایش پذیرش کلی نوشیدنی توسط مصرف‌کننده می‌شوند (وئو و همکاران ۱۳۸۷ و ریزک ۲۰۱۶).

با مقایسه نمونه‌ها به طور کلی مشخص شد که نمونه‌های حاوی ۲ و ۳ درصد عرق نعناع میزان فنول کل و فعالیت ضد اکسایشی بیشتری از سایر نمونه‌ها دارند (شکل ۲). اما به دلیل ویژگی حسی مطلوب و بالاتر (شکل ۱)، نوشیدنی حاوی ۳ درصد عرق نعناع به عنوان بهترین نمونه انتخاب و به مدت ۱۴ روز در دمای یخچال نگهداری شد و مورد ارزیابی‌های کیفی و حسی مختلف قرار گرفت.

تغییرات ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی در طول مدت زمان نگهداری

مطابق نتایج جدول ۲، در طول مدت زمان نگهداری، pH نوشیدنی تخمیری به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) در حال کاهش و برعکس میزان اسیدیته قابل تیتراژ در حال افزایش است. این امر به دلیل زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک و فعالیت باکتری‌های لاکتیک اسید و تولید اسیدهای آلی به خصوص لاکتیک اسید و استیک اسید در

جدول ۲- تغییرات در میزان pH، اسیدیته، بریکس، مواد جامد کل، محتوای فنول کل و فعالیت ضد اکسایشی (DPPH و

H_2O_2) در نوشیدنی تخمیری بر پایه کینوا حاوی ۵ درصد عسل و ۳ درصد عرق نعناع در طول مدت زمان نگهداری

Table 2- Changes in pH, acidity, brix, total solid content, total phenol content and antioxidant activity (DPPH and H_2O_2) in quinoa-based fermented beverage containing 3% floral water during storage.

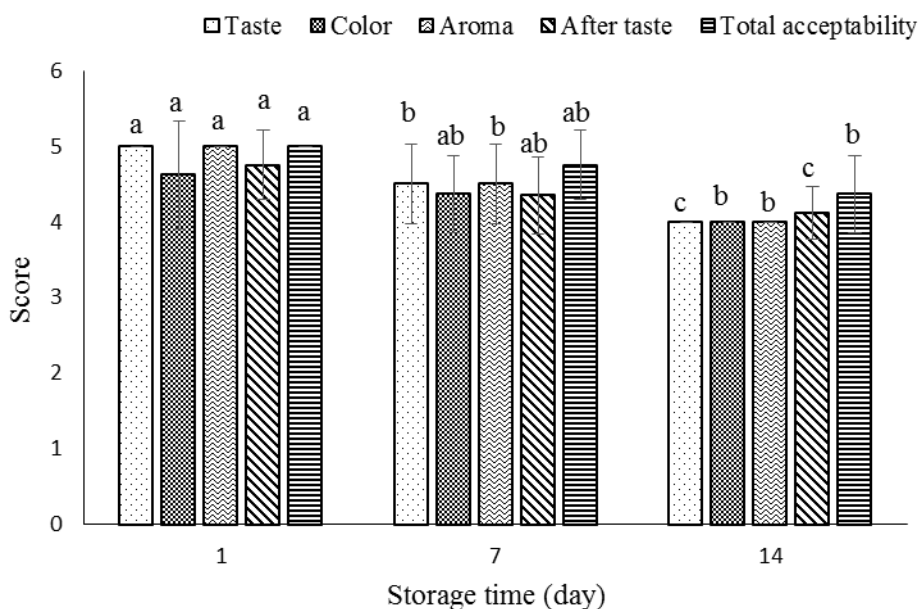
Characteristics/Storage (day)	1	7	14
pH	3.72±0.02 ^a	3.43±0.03 ^b	3.15±0.02 ^c
Acidity (g lactic acid/100g)	0.55±0.00 ^c	0.66±0.00 ^b	0.75±0.00 ^a
Brix	5.60±0.17 ^a	4.73±0.25 ^b	4.00±0.17 ^c
Total solid content (%)	5.50±0.11 ^a	4.26±0.12 ^b	3.37±0.11 ^c
Total phenol content (mg GAE/ml)	12.77±0.39 ^a	10.31±0.76 ^b	8.21±0.39 ^a
DPPH scavenging (%)	62.65±0.60 ^a	57.72±0.74 ^b	55.60±0.60 ^c
H_2O_2 scavenging (%)	37.00±0.29 ^a	33.87±0.41 ^b	30.97±0.29 ^c

Each value in the table represents the mean ± standard deviation of triplicate analysis. Different superscripts within the same line represent significant difference at $P < 0.05$.

کاهش است اما در روز چهاردهم زمان نگهداری نیز، از سطح قابل قبولی (امتیاز بالای ۴) برخوردار بوده است.

تغییرات ویژگی‌های حسی

مطابق نتایج شکل ۴، با افزایش زمان نگهداری ویژگی‌های حسی به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) رو به



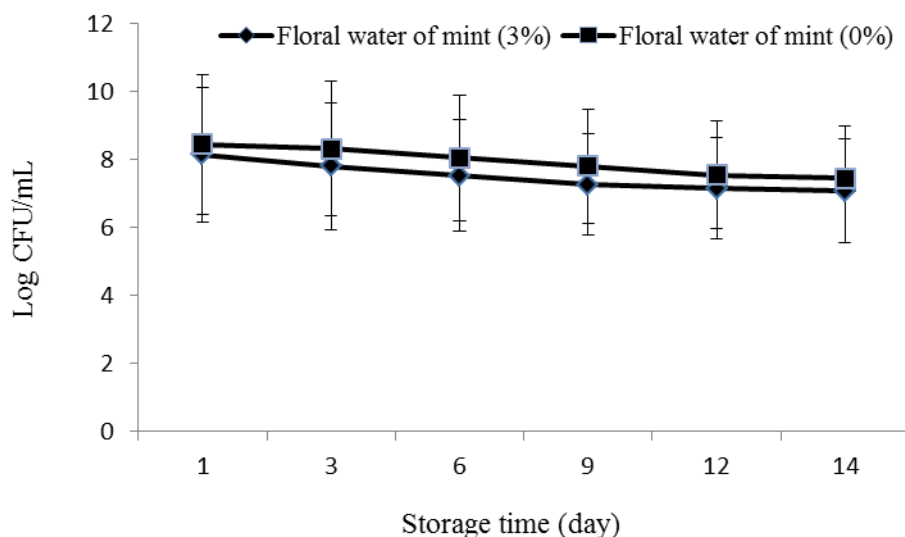
شکل ۴- تغییرات ویژگی‌های حسی نوشیدنی تخمیری بر پایه‌ی کینوا حاوی ۵ درصد عسل و ۳ درصد عرق نعناع در طول مدت زمان نگهداری به مدت ۱۴ روز در دمای ۴°C

Figure 4- Changes in sensory characteristics (taste, color, aroma, after taste and total acceptability) in quinoa-based fermented beverage containing 3% floral water of mint during storage for 14 days at 4 °C. Different superscripts represent significant difference at $P < 0.05$.

استاندارد سلول‌های زنده مورد نیاز در فرآورده پروبیوتیکی (حداقل 10^6 - 10^8 سلول در هر میلی‌لیتر) تا پایان دوره نگهداری (روز چهاردهم) حفظ شده است. در تحقیق حاضر نیز با افزودن عرق نعناع کاهش با شیب کمتری در تعداد میکروارگانیسم‌ها در مقایسه با نوشیدنی تخمیری بدون نعناع صورت گرفته است (شکل ۵). این امر می‌تواند به علت pH قلیایی عرق نعناع مورد استفاده و به دنبال آن جلوگیری از اسیدی شدن بیش از حد نوشیدنی‌ها و جلوگیری از رشد و فعالیت پروبیوتیک‌ها باشد (شهادی و همکاران ۱۳۹۴). همچنین، مطالعات زایکا و کیسینگر (۱۹۷۹) نشان داد که برخی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در غلظت‌های معین به علت دارا بودن ترکیبات فنولیک، یون‌ها و مواد دیگر روی

زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در طول مدت زمان نگهداری (۱۴ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس) مطابق نتایج شکل ۵، در طول مدت زمان نگهداری، کاهش در روند زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک دیده می‌شود ولی این کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشد. این امر می‌تواند به دلیل کاهش pH بیشتر در اثر تولید اسید زیادتر، همچنین تولید هیدروژن پراکسید و باکتریوسین‌ها توسط باکتری‌ها باشد (یانز و همکاران ۲۰۰۸). همچنین در حضور اکسیژن ممکن است پراکسیدهای سمی تولید شوند یا رادیکال‌های آزاد حاصل از اکسیداسیون ایجاد گردند که برای سلول‌های پروبیوتیک سمی محسوب می‌شوند (تریپاتی و گیری ۲۰۱۴). مطابق نتایج شکل ۵ در این پژوهش نیز، میزان

باکتری‌های اسیدلاکتیک اثر تحریک‌کنندگی مثبت دارند و رشد و فعالیت آن‌ها را در طی فرآیند تخمیر افزایش می‌دهند.



شکل ۵- تغییرات در زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی تخمیری بر پایه‌ی کینوا حاوی ۵ درصد عسل و ۳ درصد عرق نعناع در طول مدت زمان نگهداری به مدت ۱۴ روز در دمای ۴°C

Figure 5- Changes in viability of probiotic bacteria (CFU/ml) in quinoa-based fermented beverage containing 3% floral water of mint during storage for 14 days at 4 °C

درصد الکل

نتایج حاصل از آزمایشات حاکی از آن بود که نوشیدنی تخمیری تولید شده در طول مدت نگهداری فاقد الکل می‌باشد. درصد الکل موجود در غذاهای تخمیری بر پایه‌ی غلات، بستگی به زمان تخمیر دارد و با افزایش زمان تخمیر میزان الکل موجود در محصول نیز افزایش می‌یابد (آکپینار و همکاران ۲۰۱۰). احتمال می‌رود که ۱۴ روز دوره نگهداری برای تولید الکل کافی نبوده است. از طرفی کاپلیس و فیتزگرالد (۱۹۹۹) بیان کردند که درصد الکل تولید شده به خصوص اتانول در محصولات تخمیر شده توسط لاکتیک‌اسید باکتری‌ها، ناچیز است و نقش آن به عنوان عامل ضدباکتری و شاخص‌های کیفی نیز معمولاً در نظر گرفته نمی‌شود.

نتیجه‌گیری

هدف از پژوهش حاضر، تولید نوشیدنی تخمیری بدون گلوتن بر پایه کینوا توسط باکتری‌های پروبیوتیک

لاکتوباسیلوس پلاننتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس با نسبت ترکیبی ۵۰:۵۰ همراه با شیرین‌کننده طبیعی عسل به میزان ۵ درصد و عرق گیاهی نعناع در سه سطح ۱، ۲ و ۳ درصد و ارزیابی ویژگی‌های حسی، محتوای فنول کل و فعالیت ضداکسایشی (مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH و قدرت احیاکنندگی H_2O_2)، نمونه‌ها و انتخاب بهترین نمونه بر اساس نتایج حاصل و ارزیابی ویژگی‌های حسی، محتوای فنول کل، فعالیت ضداکسایشی، pH، اسیدیته، مواد جامد کل، بریکس، میزان زنده‌مانی باکتری‌ها و درصد الکل در طول مدت زمان نگهداری نوشیدنی به مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجه سلسیوس بود. مطابق نتایج به دست آمده، نوشیدنی حاوی ۳ درصد عرق نعناع با بالاترین ویژگی‌های حسی به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد. در طول ۱۴ روز نگهداری نوشیدنی‌های پروبیوتیک در دمای یخچال، تمامی ویژگی‌های کیفی ذکر شده به جز اسیدیته کاهش پیدا کردند، اما باکتری‌ها بعد از ۱۴ روز نگهداری

نمی‌گردد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت نوشیدنی پروبیوتیک حاوی ۵ درصد عسل و ۳ درصد عرق نعناع می‌تواند به عنوان نوشیدنی بدون گلوتن و فراسودمند جایگزین نوشیدنی‌های مضر موجود در بازار شود و در رژیم غذایی افراد مبتلا به بیماری و نقص‌های ژنتیکی و حساسیت‌های غذایی، نظیر بیماری عدم تحمل لاکتوز، سلپاک و حساسیت به پروتئین شیر گاو که آن‌ها را با مشکل اساسی در انتخاب مواد غذایی مواجه می‌کند قرار گیرد و نیازهای تغذیه‌ای بدن این افراد تامین گردد.

نوشیدنی پروبیوتیک در یخچال، زنده‌مانی خود را در حد میزان تعریف شده (برای فراورده‌های پروبیوتیکی حداقل $10^6 - 10^8$ سلول در هر میلی‌لیتر) حفظ کردند. همچنین مشخص شد فرآیند تخمیر باعث افزایش در محتوای فنول کل، فعالیت ضد اکسایشی و اسیدیته و کاهش در pH، مواد جامد کل و بریکس می‌شود. مطابق نتایج عرق نعناع باعث افزایش محتوای فنول کل، فعالیت ضد اکسایشی، ویژگی‌های حسی و pH و کاهش در اسیدیته، مواد جامد کل و بریکس می‌شود و پس از تخمیر و در طول مدت زمان نگهداری الکل تولید

منابع مورد استفاده

- ایزدی ع، زرین قلمی س و گنجلو ع، ۱۳۹۶، تولید نوشیدنی تخمیری فراسودمند بر پایه برنج حاوی شیرین‌کننده طبیعی عسل، فصل‌نامه علوم و صنایع غذایی، ۶۲ (۱۴)، ۲۰۱-۲۱۴.
- جانیان‌زاده م، عابدی ا، گودرزوند ه و نوحی م، ۱۳۹۴، تاثیر اسانس نعناع بر باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس سالواریس و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، صفحه‌های ۱۲-۲۰، دومین کنفرانس سلامت و تغذیه فراورده‌های شیری، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران.
- محمدزاده ف، قاجاریگی پ، محمودی ر و محمدپوراسل ع، ۱۳۹۶، تاثیر اسانس عصاره آویشن کوهی بر ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و حسی دوغ، مجله علوم و صنایع غذایی، ۵۵ (۱۳)، ۹۱-۱۰۸.
- ملک‌نژاد ر و شاکری ر، ۱۳۸۶، بیماری سلپاک در ایران، مجله پزشکی، ۶۵ (۲)، ۱-۱۱.
- وثوق اص، خمیری م، کاشانی‌نژاد م و جعفری م، ۱۳۸۸، تاثیر عصاره نعناع بر باکتری‌های پروبیوتیک در نوشیدنی سنتی ایرانی (دوغ)، مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی، شماره ۱۶ (۱)، ۶۳-۴۷.
- Abugoch L, Castro E, Tapia C, Añón M.C, Gajardo P and Villarroel A, 2009. Stability of quinoa flour proteins (*Chenopodium quinoa*. Willd) during storage. *International Journal of Food Science and Technology* 44 (10): 2013–2020.
- Akpınar– Bayızit A, Yılmaz– Ersan L and Özcan T, 2010. Determination of boza's organic acid composition as it is affected by raw material and fermentation. *International Journal of Food Properties* 13: 648–656.
- Al-Saeedi A and Hossain M. A, 2015. Total phenols, total flavonoids contents and free radical scavenging activity of seeds crude extracts of pigeon pea traditionally used in Oman for the treatment of several chronic diseases. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 5: 316–321.
- Blaiotta G, La Gatta B, Di Capua M, Di Luccia A, Coppola R and Aponte M, 2013. Effect of chestnut extract and chestnut fiber on viability of potential probiotic *Lactobacillus* strains under gastrointestinal tract conditions. *Food Microbiology* 36: 161–169.
- Blandino A, Al– Aseri M E, Pandiella S.S, Cantero D and Webb C, 2003. Cereal based fermented foods and beverages. *Journal of Food Research* 36(6): 527–543.
- Caplice, E. and Fitzgerald, G. F, 1999. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology* 50: 131–149.
- Dallagnol A and Pescuma M, 2012. fermentation of quinoa and wheat slurries by *Lactobacillus plantarum* CRL778: proteolytic activity. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 6(2): 72–87.

- Desouza A.H.P, Costa G.A.N, da Silva Miglioranza, L.H, Furlaneto– Maia L and Oliveira A.F,2013. Microbiological, physical, chemical and sensory characteristics of milk fermented with *Lactobacillus plantarum*. Acta Scientiarum. Journal of Health Sciences 35(1): 125–131.
- Dueñas M, Fernández D, Hernández T, Estrella I and Muñoz, R, 2005. Bioactive phenolic compounds of cowpeas (*Vigna sinensis* L). Modifications by fermentation with natural microflora and with *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917. Journal of the Science and Food and Agriculture (85): 297 – 304.
- Dyab A.S, Aly A.M and Matuk H, 2015. Enhancement and evaluation of peppermint (*Mentha Piperita* L.) beverage. International Journal of Life Sciences 3(1): 175–185.
- FAO, 2011. Quinoa; an ancient crop to contribute to world food security. Pp.63.
- Gibson L, Kesarcodi– Watson A, Kaspar H and Lategan, M. J, 2008. Probiotics in aquaculture: The need, principles and mechanisms of action and screening processes. Journal of Aquaculture 274: 1–14.
- Gorinstein S, Pawelzik E, Delgado– Licon E, Haruenkit R, Weisz M and Trakhtenberg, S, 2002. Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. Journal of the Science of Food and Agriculture 82: 886–891.
- Katina K, Liukkonen K. H, Kaukovirta– Norja A, Adlercreutz H, Heinonen S. M. and Lampi A. M, 2007. Fermentation– induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. Journal of Cereal Science 46: 348–355.
- Kaur C and Kapoor HC, 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. International Journal of Food Science and Technology 37: 153–161.
- Kaur I and Tanwar B, 2016. Quinoa beverages: formulation, processing and potential health benefits. Romanian Journal of Diabetes Nutrition and Metabolic Diseases 23(2): 215–225.
- López O, Hernández A.F, Rodrigo L, Gil F, Pena G, Serrano J.L, Parrón T, Villanueva E and Pla, A, 2007. Changes in antioxidant enzymes in humans with long– term exposure to pesticides. Journal of Toxicology Letters 171(3): 146–153.
- Magala M, Kohajdova Z, Karovicova J, Greifova M and Hojerova J, 2015. Application of lactic acid bacteria for production of fermented beverages based on rice flour. Czech Journal of Food Science 33: 458–463.
- Murakami H, Asakawa T, Terao T and Matsushitai, S, 1984. Antioxidative stability of tempeh and liberation of isoflavones by fermentation. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 2971–2975.
- National standard of Iran No.2685, 1st.revision, 2007. Fruit juices – Test methods.
- Olaniyi L.O and Mehhizadeh S, 2013. Effect of traditional fermentation as a pretreatment to decrease the antinutritional properties of Rambutan seed (*Nephelium lappaceum* L.). Journal of Food and Agricultural Sciences 55: 67–72.
- Prado F, Parada J, Pandey A and Soccol, C, 2008. Trends in non–dairy probiotic beverages. Journal of Food Research 41: 111–123.
- Rathore S, Salmeron I and Pandiella S, 2012. Production of potentially probiotic beverages using single and mixed cereal substrates fermented with lactic acid bacteria cultures. Journal of Food Microbiology 30(1): 239–244.
- Rivera– Espinoza Y and Gallardo– Navarro Y, 2010. Non– dairy probiotic products. Journal of Food Microbiology 27(1): 1– 11.
- Rizk A.E, 2016. Study of production functional beverages of milk permeate fortified with fruit and herbs. Journal of Sciences 6(01): 155–161.
- Sagdic O, Ozturk I, Cankurt H and Tornuk, F, 2012. Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional ice cream production. Journal of Food and Bioprocess Technology 5(8): 2964–2971.
- Sarbazzade, M, 2012. Extraction and identification of compounds sweat and oil plant. Journal of Chemicals in the Environment 3(11): 21–27.
- Shahdadi F, Mirzade H, Kashaninezhad M, Khomeiri M, Ziafar A.M and Akbarian A, 2015. Effects of various essential oils on chemical and sensory characteristics and activity of probiotic bacteria in drinking yoghurt. Journal of Agricultural Communications 3(1): 16– 21.

- Sharma S, Kori S, Parmar A, 2015. Surfactant mediated extraction of total phenolic contents (TPC) and antioxidants from fruits juices. *Food Chemistry* 185: 284–288.
- Simango C, 1997. Potential use of traditional fermented foods for weaning in Zimbabwe. *Journal of Social Science and Medicine* 44: 1065–1068.
- Spence, J. T. (2006). Challenges related to the composition of functional foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 19: 4–6.
- Suhartono E, Viani E, Rahmadhan M. A, Gultom I. S, Rakhman M. F and Indrawardhana, D, 2012. Total flavonoid and antioxidant activity of some selected medicinal plants in South Kalimantan of Indonesian. *Journal of APCBEE Procedia* 4: 235–239.
- Tovoli F, Masi C, Guidetti E, Negrini G and Paterini P, 2015. Clinical and diagnostic aspects of gluten related disorders. *Journal of World Clinical Cases* 3: 275–284.
- Tripathi M. K and Giri S. K, 2014 Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *Journal of Functional Foods* 9: 225–241.
- Yanez R, Marques S, Gírio F.M and Roseiro J.C, 2008. The effect of acid stress on lactate production and growth kinetics in *Lactobacillus rhamnosus* cultures. *Journal of Process Biochemistry* 43(4):356–361.
- Zaika L.L. and Kissinger J.C, 1979. Effects of some spices on acid production by starter cultures. *Journal of Food Protection* 42(7): 572–576.
- Zhao D and Shah N.P, 2014. Antiradical and tea polyphenol– stabilizing ability of functional fermented soymilk–tea beverage. *Journal of Food Chemistry* 158: 262–269.

Quinoa– based gluten– free fermented beverage Production using probiotic bacteria

S Ebrahimi jam¹, S Zarringhalami^{2*} and A Ganjloo²

Received: July 18, 2017

Accepted: November 25, 2017

¹MSc Student Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

²Associate Professor and Assistant Professor, respectively, Department of Food Science and Engineering, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran

*Corresponding author E-mail: zarringhalami@znu.ac.ir

Introduction: Food products made from cereals and pseudo cereals have been known for their remarkable potential in food and beverage industry. Cereal and cereal-based beverages like those obtained from oat, rice, and soy have been gaining popularity for their specific health benefits. Recently, many researchers have been keen towards exploring underutilized grains and pseudocereals for their health potential and their future in the food and beverage industry. Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) is a pseudocereal which is traditionally cultivated in the Andean region since thousands of years. Commonly, quinoa grain and its flour are used for human consumption and animal feeding. The edible seeds of quinoa are small, round or flat. Seed colors can range from white to grey and black, or can be yellow and red. Quinoa has a very elevated genetic variability which makes possible to select, adapt and breed cultivars for a wide range of environmental conditions. Quinoa seed contains a considerable amount of fiber and minerals such as calcium and iron. It is also rich in antioxidants such as polyphenols. Moreover, quinoa is considered gluten-free and, therefore, suitable for celiac patients as well as people who have wheat allergy. The quinoa seed proteins are rich in amino acids including lysine, threonine and methionine that are deficient in cereals. The seed is used to make different food products including breads, biscuits, cookies, crepes, muffins, pancakes, and tortillas. The year 2013 was declared as “International Year of the Quinoa” by the United Nations Food and Agriculture Organization in recognition of the indigenous peoples of the Andes, recognizing the high value of this pseudocereal crop. So, in the present study, we aimed to prepare quinoa-based gluten-free beverage contain honey and floral water of mint, and also evaluate the quality and sensory characteristics after fermentation process (with selected probiotic bacteria) during 14 days storage at 4 °C.

Material and methods: Whole quinoa seed was purchased from Nature Earthly Choice Co. The probiotic microorganisms used in the current study were *Lactobacillus plantaru* (PTCC 1058) and *Lactobacillus acidophilus* (PTCC 1643) which was grown on MRS broth for 18 h at 37 °C with shaking (180 rpm) to reach log phase. The quinoa-based gluten-free functional fermented beverage was produced using *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus acidophilus* in equal ratio, 50:50 with addition of 5% (w/v) honey as natural sweetener and mint floral water at four levels of 0, 1, 2 and 3% (v/v). Antibacterial properties evaluation of mint floral water was done by well diffusion method, before addition to beverages. The sensory characteristics (taste, color, aroma, after taste and overall acceptability), total phenolic content (TPC), antioxidant activity (DPPH and H₂O₂ scavenging assay), pH, acidity, total solid contents, brix, bacterial viability, and alcohol content were evaluated during 14 days storage time at 4 °C. The best sample was selected based on sensory evaluation, TPC and antioxidant activity (scavenging activity against DPPH and OH radicals).

Results and discussion: The results showed that fermentation process increased TPC, antioxidant activity, and acidity while reduced pH, total solid content and brix. Therefore, the selected bacteria, amounts of honey (5% w/v) and floral water of mint (1, 2 and 3% v/v) used in production of the beverages can affect the quality and sensory properties of quinoa-based beverages. The bacterial population during 14 days storage at 4 °C was in the range of proposed for functional food products (at least 10⁶– 10⁸ CFU/ml). According to the results obtained, the sample containing 5% honey with 3% of mint floral water was selected as the best sample based on higher sensory characteristics among other samples.

Conclusion: The quinoa-based gluten free fermented beverage containing 5% honey and 3% of mint floral water can be considered as a functional beverage. Furthermore, it may be concluded that the prepared beverage due to its potential capability to support the survival of probiotic bacteria may potentially be developed as an appropriate non-dairy carrier for probiotics. But, our product must be investigated further for in-depth nutritional characteristics. Attempts may be made to enhance nutritional value and shelf life of the prepared functional beverage. Lactic acid bacteria may synthesize several bioactive compounds such as

vitamins, exopolysaccharides, enzymes, antioxidant, antimicrobial, and cholesterol lowering substances which may contribute towards enhanced functional attributes of foods.

Keywords: Fermented beverage, Gluten– free, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, Quinoa