

بهینه سازی فرآیند تولید و ارزیابی خواص نوشیدنی پروبیوتیک آب زرشک-عسل

سپیده قره یخه

گروه علوم و صنایع غذایی، واحد صحنه، دانشگاه آزاد اسلامی، صحنه، ایران

چکیده

تخمیر آب زرشک غنی شده با عسل (به عنوان منبع مواد مغذی و آنتی اکسیدان) با استفاده از *Lactobacillus acidophilus*، منجر به افزایش قابل توجهی در میزان فنل کل، فعالیت ضد رادیکال آزاد (اندازه گیری شده با روش DPPH)، و زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک شد. شرایط بهینه ی تخمیر، که از طریق طراحی آزمایشات تعیین شد، نوشیدنی ای با ویژگی های زیر تولید کرد: فنل کل ۳/۸۵۵۶ گرم GAE/۱۰۰ میلی لیتر، زنده ماندن باکتری ۱۰/۹ Log CFU/میلی لیتر، اسیدیته قابل تیتراسیون ۳۴/۴۱ میلی گرم/میلی لیتر، فعالیت ضد رادیکال آزاد ۹۸/۴۱٪ (DPPH)، و pH ۴. این نتایج نشان می دهد که آب زرشک-عسل تخمیر شده، به عنوان یک نوشیدنی غنی از آنتی اکسیدان، می تواند به ارتقای سلامت انسان از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود ارزش تغذیه ای کمک کند. افزودن عسل به عنوان منبع مواد مغذی و آنتی اکسیدان، به طور قابل توجهی به بهبود خواص آنتی اکسیدانی و ارزش تغذیه ای این نوشیدنی کمک کرده و آن را به گزینه ای سالم و مغذی برای مصرف تبدیل می کند. خاصیت پروبیوتیکی حاصل از فرآیند تخمیر، همچنین به بهبود سلامت دستگاه گوارش کمک کرده و جذب مواد مغذی را افزایش می دهد.

واژگان کلیدی: آب میوه تخمیری، لاکتوباسیلوس، پروبیوتیک، زرشک، عسل

مقدمه

زرشک گیاهی بومی ایران است که در نواحی مختلفی مانند بیرجند، جنوب خراسان، قاین، طبس، گناباد و کاشمر کاشته می شود. میوه زرشک برای کبد و قلب مفید است و به عنوان تقویت کننده عمل می کند. از خونریزی مزمن جلوگیری می کند، مخاط را کاهش می دهد، خون را تصفیه می کند و سطح تری گلیسیرید، کلسترول و فشار خون را پایین می آورد (Serdaroglu et al., ۲۰۲۳). در درمان کیسه صفرا، بواسیر خونی، انگل کبد، دیابت، نقرس، سنگ کلیه، سرطان روده بزرگ، التهاب پروستات، مالاریا، تب، آسم و بیماری های عصبی موثر است (Afsharinasab et al., ۲۰۲۰). به دلیل رنگ و طعم ملایم، زرشک در غذاهای ایرانی به عنوان چاشنی استفاده می شود. از زرشک برای تهیه خلال، عسل، سس، ژله، نوشیدنی های گازدار، آب نبات، رنگ خوراکی، مربا، مارمالاد، شکلات و نوشیدنی های میوه ای استفاده می شود. میوه های زرشک برای تهیه آب میوه استفاده می شود (Alemardan et al., ۲۰۱۳). محققان استفاده از زرشک به عنوان رنگ خوراکی طبیعی غنی از آنتوسیانین ها به جای رنگ های مصنوعی مضر را بررسی کرده اند. عصاره زرشک در محصولات نساجی طبیعی به عنوان رنگ دهنده استفاده می شود و رنگ بنفش ملایمی به آن می دهد. ترکیبات فعال بیولوژیکی زرشک به طور گسترده ای در صنعت پزشکی و غذایی استفاده می شود (Vahedi-Mazdabadi et al., ۲۰۲۳).

زرشک حاوی ترکیبات فنلی است که دارای خواص آنتی اکسیدانی مفید هستند و می توانند آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد را کاهش داده و از بیماری های مزمن و سرطان جلوگیری کنند. خواص آنتی اکسیدانی ترکیبات فنلی عمدتاً به دلیل خواص ردوکس آنها است که به عنوان عامل احیا کننده، دهنده هیدروژن و خاموش کننده اکسیژن تک اتمی عمل می کنند (Sarraf et al., ۲۰۱۹). فواید سلامتی پلی فنول ها به مهار برخی آنزیم ها مانند زانتین اکسیداز، آلدوز ردوکتاز و محافظت از اجزای غذایی مانند کاروتنوئیدها، ویتامین C و همچنین آنزیم های گوارشی و سلول های اپیتلیال روده در برابر آسیب های اکسیداتیو ناشی از رادیکال های آزاد در معده مرتبط است. آنتوسیانین ها یکی از مهم ترین رنگدانه های مسئول رنگ میوه ها هستند. آنها به عنوان ضد التهاب، ضد جهش زا عمل می کنند و از عوامل هپاتیت A و B محافظت می کنند و با حفظ نفوذپذیری سیستم عروقی، اثرات قلبی محافظتی دارند و به همین دلیل به ویتامین P معروف هستند (Çoban et al., ۲۰۲۱).

استفاده ی زرشک در طب سنتی به عنوان دارویی طبیعی برای درمان انواع بیماری ها به بیش از دو هزار سال پیش بر می گردد. مصریان باستان از آن به همراه بذر رازیانه برای جلوگیری از طاعون استفاده می کردند. خواص دارویی زرشک در حدود ۶۵۰ قبل از میلاد در بابل توصیف شد. تا قرن هفتم میلادی، این میوه ها در خاورمیانه به عنوان دارویی رایج در درمان به کار می رفتند (Ramezani et al., ۲۰۲۱). در طب سنتی، از این گیاه برای درمان بیماری هایی مانند تب های عفونی، تیفوس و اسهال استفاده می شد. مطالعات در شرایط آزمایشگاهی و روی جانداران زنده نشان دهنده ی فعالیت های دارویی آن از جمله اثرات ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، ضد دیابت، محافظت کننده ی کبد و ضد فشار خون است (Sani et al., ۲۰۲۱).

از سوی دیگر به خواص بی نظیر عسل می پردازیم. این ماده ی طبیعی علاوه بر طعم دلپذیر، از دیرباز به عنوان یک داروی طبیعی و منبع غنی از مواد مغذی شناخته شده است (Talebi et al., ۲۰۲۰). خواص درمانی و تغذیه ای عسل به ترکیبات پیچیده و منحصر به فرد آن، از جمله قندها، آنزیم ها، اسیدهای آمینه، مواد معدنی، ویتامین ها و آنتی اکسیدان ها، مربوط می شود. ترکیبات عسل بسته به نوع گل و منطقه جغرافیایی که زنبورها از آن شهد جمع آوری کرده اند، می تواند متفاوت باشد (Pasupuleti et al., ۲۰۲۰). با این حال، به طور کلی، عسل حاوی مقادیر قابل توجهی از قندهای طبیعی، به ویژه فروکتوز و گلوکز، است. این قندها منبع انرژی سریع و قابل دسترس برای بدن هستند. عسل حاوی مقادیر کمی از ویتامین های گروه B (مانند ریبوفلاوین، نیاسین و اسید پانتوتیک) و ویتامین C است. البته مقدار این ویتامین ها در مقایسه با منابع غذایی دیگر، ناچیز است (Silva et al., ۲۰۲۱). از طرفی، حاوی مقادیر جزئی از

مواد معدنی مانند پتاسیم، کلسیم، منیزیم، آهن، فسفر و سدیم است. میزان این مواد معدنی نیز به نوع گل و منطقه‌ی جغرافیایی وابسته است (Ranneh et al., ۲۰۲۱).

عسل حاوی مقادیر کمی از اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری است که برای ساخت پروتئین در بدن مورد نیاز هستند. زنبورهای عسل، آنزیم‌هایی را به شهد اضافه می‌کنند که در فرآیند تولید عسل نقش دارند. این آنزیم‌ها می‌توانند برخی از خواص درمانی عسل را توضیح دهند (Angioi et al., ۲۰۲۱). از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به اینورتاز اشاره کرد که ساکارز را به گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌کند. پلی فنول‌ها ترکیبات گیاهی هستند که دارای خاصیت آنتی اکسیدانی قوی هستند (Wilczyńska & Żak, ۲۰۲۴). عسل حاوی انواع مختلفی از پلی فنول‌ها است که به آن خاصیت محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد را می‌دهند. طیف وسیعی از خواص درمانی به عسل نسبت داده شده است، اگرچه بسیاری از این خواص به تحقیقات بیشتری نیاز دارند. عسل به دلیل خواص آنتی‌باکتریال و ضدالتهابی خود، می‌تواند به بهبود زخم‌ها و سوختگی‌ها کمک کند. عسل می‌تواند از رشد باکتری‌ها جلوگیری کرده و روند ترمیم بافت را تسریع کند، همچنین مطالعات نشان داده‌اند که عسل می‌تواند به کاهش شدت و مدت سرفه، به‌خصوص در کودکان، کمک کند (Martinotti et al., ۲۰۲۴). خواص ضدالتهابی عسل می‌تواند در درمان برخی از بیماری‌های التهابی موثر باشد. پلی فنول‌ها و دیگر ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در عسل می‌توانند از سلول‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت کرده و خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن مانند سرطان و بیماری‌های قلبی را کاهش دهند. برخی مطالعات نشان می‌دهند که عسل می‌تواند به تقویت سیستم ایمنی بدن کمک کند. عسل می‌تواند به درمان برخی از مشکلات دستگاه گوارش مانند زخم معده و یبوست کمک کند. مطالعات نشان داده‌اند که این ماده غذایی ارزشمند، ممکن است در کنترل قند خون موثر باشد، اما نیاز به تحقیقات بیشتری در این زمینه وجود دارد (Nezhad-Mokhtari et al., ۲۰۲۱). باید توجه داشت که مصرف عسل برای افراد دیابتی باید با احتیاط و تحت نظر پزشک انجام شود. عسل حاوی طیف وسیعی از آنتی اکسیدان‌ها است که به محافظت از سلول‌ها در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد کمک می‌کنند. رادیکال‌های آزاد مولکول‌های ناپایدار هستند که می‌توانند به سلول‌ها آسیب رسانده و به روند پیری و بروز بیماری‌های مزمن مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و آلزایمر کمک کنند. آنتی اکسیدان‌های موجود در عسل شامل فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک و سایر ترکیبات پلی فنلی هستند که به خنثی سازی رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از آسیب سلولی کمک می‌کنند. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل به عوامل مختلفی مانند نوع گل، شرایط آب و هوایی و روش فرآوری آن بستگی دارد (Masad et al., ۲۰۲۱).

با تمامی توضیحات فوق در مورد دو ماده غذایی مهم همچون زرشک و عسل، ترکیب آنها می‌تواند ماده ارزشمندی را حاصل کند. حال کنار هم قرار دادن آنها مهم است. تا کنون آب زرشک تخمیری حاوی عسل، در هیچ پژوهشی بررسی نشده است. هدف این مقاله، بررسی شرایط بهینه تولید آن و بررسی خواص تغذیه‌ای آن است.

روش تحقیق

زرشک سیاه تازه از یک بازار محلی تهیه شد. پس از جداسازی شاخه و برگ و آلودگی‌های ممکن، به خوبی شسته شد. ۱۰۰ گرم زرشک خیس شده به همراه ۲۰۰ گرم آب در مخلوط کن ریخته شد و به مدت ۱۵ دقیقه بخوبی مخلوط شد. سپس مخلوط بدست آمده از صافی با مش ۱۰ (۲ میلی‌متر) عبور داده شد تا تفاله آن جدا شود. آب زرشک در ظرف شیشه‌ای دردار ریخته شد و با آب جوش ۹۰ درجه به مدت ۵ دقیقه استریل شد. سپس ۲٪ وزنی به آن عسل افزوده شد. از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس برای مصارف صنایع غذایی (شرکت پارسی لاکت) به مقدار ۰/۱ گرم در ۱۰۰ میلی لیتر از آب زرشک ترکیبی فوق حل شد. به این ترتیب غلظت باکتری به ۱۰^۸ CFU/ml رسید. این ترکیب فوراً در ظروف شیشه‌ای استریل درب دار برای مراحل بعدی در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری

شدند با توجه به اینکه متغیرهایی چون دمای تخمیر، زمان تخمیر و اسیدیته آب میوه موثر بودند برای در نظر گرفتن همزمان اثرات از نرم افزار طراحی آزمایشات استفاده شد.

مخلوط نوشیدنی آب زرشک-عسل که از مرحله اول به دست آمد برای تنظیم pH مورد استفاده قرار گرفت. برای افزودن یا کاستن این ویژگی، از اسید سیتریک ۱ مولار و سدیم هیدروکسید ۰/۱ مولار استفاده شد. پس از تنظیم pH بر اساس جدول طراحی آزمایشات، ویال نوشیدنی در انکوباتور با تنظیم دما برای تخمیر در مدت معین قرار گرفت. در جدول ۱ متغیرهای طراحی آزمایشات و بازه آنها آورده شده اند.

جدول ۱- متغیرهای طراحی آزمایشات (روش باکس-بنکن) به همراه محدوده ها.

محدوده ها و کد آنها			
-۱	۰	+۱	متغیرها
۲۵	۳۲	۳۹	دما (درجه سانتیگراد)
۳	۴	۵	pH
۲۴	۴۸	۷۲	زمان (ساعت)

نمونه‌ی تخمیری آب زرشک-عسل، پس از اتمام دوره‌ی تخمیر در شرایط تعیین شده، به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع، پس از جداسازی رسوب جامد، برای آزمایشات استفاده شد.

در این طرح آزمایش، هدف اصلی و تنها پاسخ مورد بررسی، تعیین میزان فنل کل بود. برای این منظور، از روش رنگ‌سنجی فولین-سیوکالتو استفاده شد و نتایج برحسب گرم اسید گالیک معادل در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر (g GAE/۱۰۰ml) گزارش گردید. پس از بهینه‌سازی شرایط برای رسیدن به بیشترین میزان فنل کل، خواص دیگر محصول نهایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

اسیدیته‌ی قابل تیتراژ کل (TTA) با تیتراسیون ۱۰ برابر رقیق شده‌ی نوشیدنی با سدیم هیدروکسید ۰/۱ نرمال تعیین شد. همچنین، pH نمونه‌ها با استفاده از pH متر در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد.

جهت تعیین میزان کل فلاونوئید (TFC)، از روش رنگ‌سنجی نیترات آلومینیوم با اندکی تغییر استفاده شد. جذب محلول نمونه در طول موج ۵۰۸ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار فلاونوئید به صورت گرم معادل روتین در هر ۱۰۰ میلی‌لیتر (g RE/۱۰۰ml) بیان شد.

یافته ها

محتوای فنل کل به عنوان شاخص اصلی برای تعیین بهترین نسبت ترکیبی نوشیدنی آب زرشک-عسل با بیشترین میزان مواد آنتی‌اکسیدان در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفت. نتایج این ارزیابی در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲- جدول طراحی آزمایشات به همراه پاسخ

پاسخ-فنل کل (g GAE/۱۰۰ml)	متغیرها			ردیف
	C- زمان (ساعت)	B- pH	A- دما (°C)	
۳/۰۳۸۷۷	۴۸	۳	۲۵	۱
۳/۱۴۵۶۸	۴۸	۳	۳۹	۲
۲/۶۸۳۷۸	۴۸	۵	۲۵	۳

۲/۹۸۳۷۷	۴۸	۵	۳۹	۴
۳/۰۲۹۷۶	۲۴	۴	۲۵	۵
۳/۲۴۸۷۷	۲۴	۴	۳۹	۶
۳/۲۱۷۸۶	۷۲	۴	۲۵	۷
۳/۳۵۹۸۷	۷۲	۴	۳۹	۸
۳/۲۷۹۸۴	۲۴	۳	۳۲	۹
۲/۸۵۷۶۳	۲۴	۵	۳۲	۱۰
۳/۳۱۷۷۶	۷۲	۳	۳۲	۱۱
۲/۹۳۸۶۴	۷۲	۵	۳۲	۱۲
۳/۹۳۴۵۷	۴۸	۴	۳۲	۱۳
۳/۹۳۶۷۵	۴۸	۴	۳۲	۱۴
۳/۹۰۴۵۶	۴۸	۴	۳۲	۱۵

به منظور مدل سازی ارتباط بین پاسخ و پارامترهای مستقل، از یک معادله درجه دوم (معادله ۱) استفاده گردید. در این معادله، به منظور تسهیل در محاسبات، مقادیر پارامترها کدگذاری شده اند.

$$Y = 3,93 + 0,099A - 0,1649B + 0,0525C + 0,0483AB - 0,0195AC + 0,0105BC - 0,4234A^2 - 0,5389B^2 - 0,2876C^2 \quad \text{معادله (۱)}$$

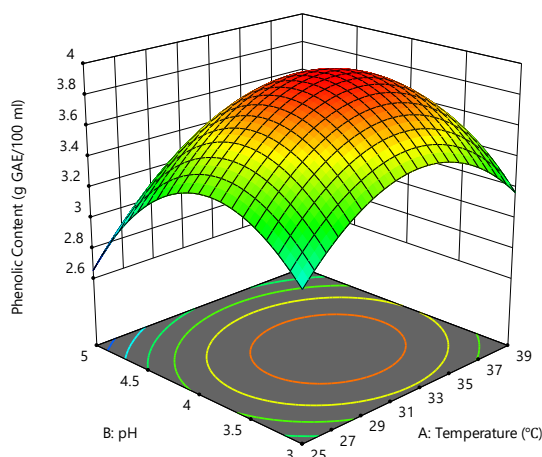
اعتبار مدل رگرسیونی (معادله ۱) از چندین جنبه بررسی شد. اولاً، ضریب تعیین (R^2) برابر ۰/۹۹۲۹ و ضریب تعیین تصحیح شده (R^2_{adj}) برابر ۰/۹۸۰۱ نشان دهنده برازش بسیار خوب مدل به داده ها است. ثانیاً، آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) که در جدول ۳ ارائه شده است؛ با مقدار F برابر ۷۷/۶۲ و p-value کمتر از ۰/۰۵ نشان داد که مدل به طور معنی داری پاسخ را توضیح می دهد.

جدول ۳- نتایج آنالیز آنوا

منبع	مجموع مربعات	درجه آزادی	میانگین مربعات	F-value	P-value	
مدل	۲/۱۲	۹	۰/۲۳۵۳	۷۷/۶۲	< ۰/۰۰۰۱	دارای معنی
A-دما	۰/۰۷۳۶	۱	۰/۰۷۳۶	۲۴/۲۷	۰/۰۰۴۴	
B- pH	۰/۲۱۷۶	۱	۰/۲۱۷۶	۷۱/۷۸	۰/۰۰۰۴	
C-زمان (ساعت)	۰/۰۲۲۱	۱	۰/۰۲۲۱	۷/۲۸	۰/۰۴۲۹	
AB	۰/۰۰۹۳	۱	۰/۰۰۹۳	۳/۰۸	۰/۱۳۹۷	
AC	۰/۰۰۱۵	۱	۰/۰۰۱۵	۰/۵۰۰۵	۰/۵۱۰۹	
BC	۰/۰۰۰۴	۱	۰/۰۰۰۴	۰/۱۴۶۱	۰/۷۱۸۰	
A ^۲	۰/۶۶۱۸	۱	۰/۶۶۱۸	۲۱۸/۳۴	< ۰/۰۰۰۱	
B ^۲	۱/۰۷	۱	۱/۰۷	۳۵۳/۸۲	< ۰/۰۰۰۱	
C ^۲	۰/۳۰۵۵	۱	۰/۳۰۵۵	۱۰۰/۷۸	۰/۰۰۰۲	
باقیمانده	۰/۰۱۵۲	۵	۰/۰۰۳۰			
عدم تناسب	۰/۰۱۴۵	۳	۰/۰۰۴۸	۱۴/۹۵	۰/۰۶۳۴	بی معنی
خطای خالص	۰/۰۰۰۶	۲	۰/۰۰۰۳			
همبستگی کل	۲/۱۳	۱۴				

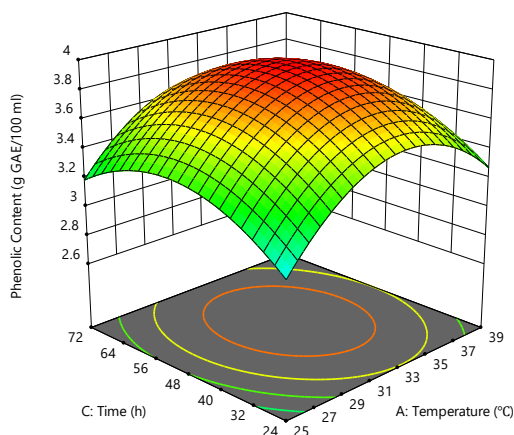
از طرفی، تحلیل p -value برای هر جمله مدل (A ، B ، C ، C^2 ، A^2 ، B^2) نشان داد که اکثر اصطلاحات ($p < 0.05$) تاثیر معنی داری بر پاسخ دارند. اصطلاحات با p -value بیشتر از 0.1 از مدل حذف شدند. علاوه بر این، عدم وجود عدم تناسب معنی دار ($p > 0.05$) تایید کننده ی برازش مناسب مدل به داده ها است.

در نتیجه، این مدل قابل اعتماد بوده و قادر به پیش بینی پاسخ در محدوده و خارج از محدوده آزمایش است. در بخش بعدی، تاثیر تغییر همزمان دو پارامتر مستقل (با ثابت نگه داشتن پارامتر سوم در میانه ی بازه) بر پاسخ، به صورت نمودار سه بعدی ارائه می شود.



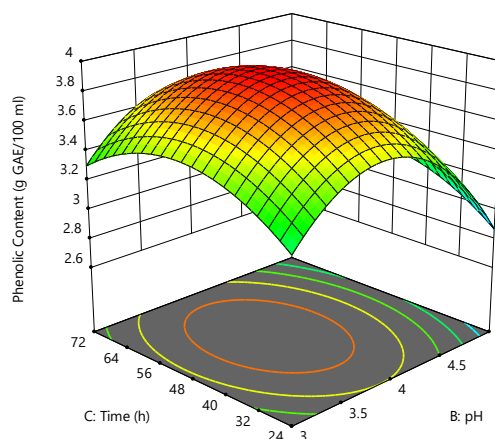
شکل ۱- نمودار رویه سطح پاسخ برای پاسخ فنل کل بصورت تابعی از دما و اسیدیته نوشیدنی.

شکل ۱ نشان می دهد که فعالیت باکتری ها در محیط های اسیدی بسیار بالا مهار می شود. با کاهش اسیدیته و رسیدن به pH حدود ۴، محتوای مواد فنولیک به بیشترین مقدار خود می رسد. افزایش بیشتر pH و قلیایی شدن محیط، مجدداً منجر به کاهش فعالیت باکتریایی می شود. این الگوی کلی فعالیت باکتریایی در تمامی دماهای آزمایش مشاهده شده است (مطابق با نمای دوبعدی در کف نمودار سه بعدی)، اما حداکثر تولید مواد فنولیک در دمای تقریبی ۳۳ درجه سانتیگراد اتفاق می افتد.



شکل ۲- نمودار رویه سطح پاسخ برای پاسخ فنل کل بصورت تابعی از دما و زمان تخمیر.

مطالعه نشان داد که بین زمان تخمیر و تولید فنل کل رابطه مستقیم وجود دارد (شکل ۲). این افزایش خطی تا حدودی قابل انتظار است، زیرا زمان بیشتر به میکروارگانیسم‌ها (باکتری‌ها و مخمرها) اجازه می‌دهد تا متابولیسم خود را به طور کامل انجام داده و تولید فنل کل را افزایش دهند. با این حال، افزایش بیش از حد زمان تخمیر، به دلیل تاثیر فعالیت میکروبی بر کاهش اسیدیته محیط و در نتیجه قلیایی شدن آن (همانطور که در شکل ۱ مشاهده شد)، موجب کاهش تولید فنل کل می‌شود. بنابراین، بهینه سازی زمان تخمیر ضروری است. نتایج نشان می‌دهد که حداکثر تولید فنل کل در دمای تقریبی ۳۳ درجه سانتیگراد و زمان تخمیر حدود ۴۸ ساعت حاصل می‌شود.

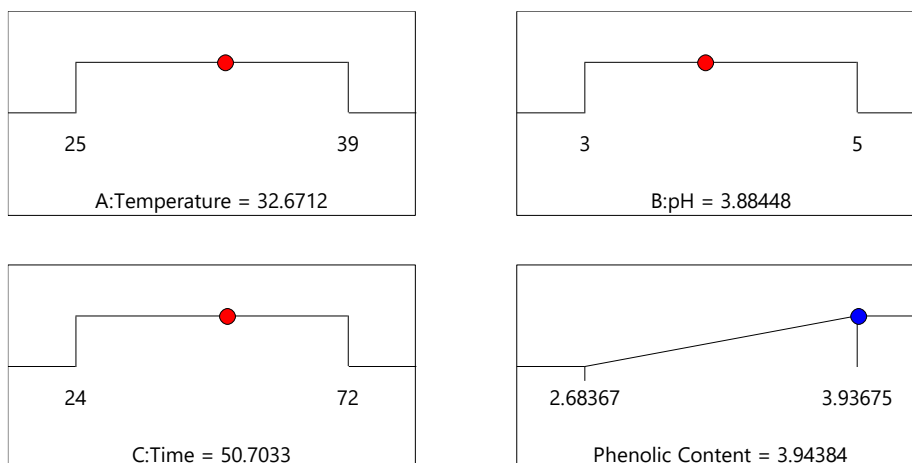


شکل ۳- نمودار روبه سطح پاسخ برای پاسخ فنل کل بصورت تابعی از اسیدیته نوشیدنی و زمان تخمیر.

شکل ۳، یافته‌های دو شکل قبلی را تأیید می‌کند و نشان می‌دهد که حداکثر تولید مواد فنولیک در نتیجه‌ی برهم‌کنش بهینه اسیدیته (pH) و زمان تخمیر حاصل می‌شود. این برهم‌کنش بهینه را می‌توان با چندین دلیل علمی توجیه کرد. میکروارگانیسم‌های دخیل در تولید مواد فنولیک (مانند باکتری‌ها و مخمرها) دارای آنزیم‌های خاصی هستند که در یک محدوده‌ی pH و دمای مشخص بهینه عمل می‌کنند. انحراف از این محدوده‌ی بهینه می‌تواند منجر به کاهش فعالیت آنزیمی و در نتیجه، کاهش تولید مواد فنولیک شود. شکل ۱ نشان می‌دهد که فعالیت میکروبی در یک محدوده‌ی pH خاص به حداکثر می‌رسد و شکل ۲ نشان می‌دهد که زمان تخمیر نیز بر فعالیت میکروبی و به تبع آن تولید مواد فنولیک تاثیر می‌گذارد. بنابراین، برهم‌کنش این دو عامل (pH و زمان تخمیر) در رسیدن به فعالیت آنزیمی بهینه و حداکثر تولید مواد فنولیک نقش اساسی دارد.

تأثیر pH بر نفوذپذیری غشاء سلولی: pH محیط کشت می‌تواند بر نفوذپذیری غشاء سلولی میکروارگانیسم‌ها تأثیر گذاشته و در نتیجه بر میزان آزادسازی مواد فنولیک به محیط اطراف تأثیر بگذارد. یک pH بهینه می‌تواند نفوذپذیری غشاء را برای آزادسازی مؤثر مواد فنولیک به حداکثر برساند.

هدف اصلی طراحی آزمایشات، یافتن بهترین شرایط عملیاتی برای دستیابی به پاسخ مطلوب (در این مطالعه، حداکثر تولید فنل) با در نظر گرفتن تأثیر متقابل و همزمان تغییرات متغیرهای مختلف است. به جای بررسی جداگانه‌ی هر متغیر، این رویکرد به پژوهشگر اجازه می‌دهد تا تأثیرات سینرژیک بین متغیرها را شناسایی کند و به ترکیب بهینه‌ای از عوامل برسد که به مراتب مؤثرتر از بهینه‌سازی تک‌متغیره است.



شکل ۴- مقدار متغیرهای مستقل و فنل کل در شرایط بهینه پیشنهادی.

مطالعات انجام شده همراه با بررسی طراحی آزمایشات (شکل ۴) نشان می دهد که حداکثر تولید فنل (۳/۹۴۳۸۴ گرم ۱۰۰ GAE/ میلی لیتر) در دمای ۳۳ درجه سانتی گراد، pH تقریبی ۴ (۳/۸۸) و زمان تخمیر ۵۱ ساعت حاصل می شود. برای تأیید این یافته ها، نوشیدنی آب زرشک-عسل در سه تکرار و تحت شرایط استریل و تخمیر تولید و میزان فنل کل اندازه گیری شد. میانگین نتایج (۳/۸۵۵۵۶ گرم ۱۰۰ GAE/ میلی لیتر) نشان دهنده دقت بالای مدل پیش بینی (با خطای تنها ۰.۲٪) است. علاوه بر فنل کل، برای ارزیابی جامع تر خواص شیمیایی نوشیدنی در شرایط بهینه، پارامترهای دیگری از جمله زنده مانایی باکتری، اسیدیته قابل تیترو و فعالیت ضد رادیکال نیز اندازه گیری شدند.

جدول ۴- مقایسه پارامترهای کیفی برای نوشیدنی آب زرشک-عسل تخمیری و نوشیدنی تازه بدون تخمیر.

پارامتر	واحد	نوشیدنی آب زرشک-عسل بدون تخمیر	نوشیدنی آب زرشک-عسل تخمیری با در شرایط بهینه
فنل کل	g GAE/۱۰۰ ml	۲/۸۷۳	۳/۸۵۵۵۶
زنده مانایی باکتری	Log CFU/ml	۸	۱۰/۹
اسیدیته قابل تیتراسیون	mg/ml	۱۸/۷۳	۳۴/۴۱
فعالیت ضد رادیکال (DPPH)	%	۵۶/۲۲	۹۸/۴۱
pH	-	۳/۲	۴

با مقایسه نتایج بدست آمده، تخمیر آب زرشک-عسل با استفاده از لاکتوباسیلوس، به طور معنی داری خواص آنتی اکسیدانی آن را افزایش داد. این بهبود در افزایش محتوای فنل کل و فعالیت ضد رادیکال آزاد مشهود بود که نشان دهنده کاهش استرس اکسیداتیو و افزایش ارزش تغذیه ای نوشیدنی است.

بحث و نتیجه گیری

استفاده از لاکتوباسیلوس اسیوفیلوس برای تخمیر آب زرشک غنی شده با عسل (به عنوان منبع مواد مغذی و آنتی اکسیدان) منجر به افزایش قابل توجهی در فنل کل، فعالیت ضد رادیکال آزاد (DPPH)، و زنده مانایی باکتری های پروبیوتیک شد. شرایط بهینه تخمیر، تعیین شده از طریق طراحی آزمایشات، به تولید نوشیدنی با ویژگی های زیر منجر شد: فنل کل ۳/۸۵۵۵۶ گرم ۱۰۰ GAE/ میلی لیتر،

زنده‌مانی باکتری ۱۰/۹ Log CFU/میلی‌لیتر، اسیدیته قابل‌تیتراسیون ۳۴/۴۱ میلی‌گرم/میلی‌لیتر، فعالیت ضد رادیکال آزاد ۹۸/۴۱ % (DPPH)، و pH ۴.

این یافته‌ها نشان می‌دهد که آب زرشک-عسل تخمیرشده، به عنوان یک نوشیدنی غنی از آنتی‌اکسیدان، می‌تواند به ارتقاء سلامت انسان از طریق کاهش استرس اکسیداتیو و بهبود ارزش تغذیه‌ای کمک کند. استفاده از عسل در فرآیند تولید، به بهبود قابل‌توجه خواص آنتی‌اکسیدانی و ارزش تغذیه‌ای این نوشیدنی کمک کرده و آن را به گزینه‌ای مناسب برای گنجاندن در رژیم غذایی سالم تبدیل می‌کند.

منابع

- Afsharinasab, M., Mohammad-Sadeghipour, M., Reza Hajizadeh, M., Khoshdel, A., Mirzaiey, V., & Mahmoodi, M. (۲۰۲۰). The effect of hydroalcoholic Berberis integerrima fruits extract on the lipid profile, antioxidant parameters and liver and kidney function tests in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(۸), ۲۰۳۱–۲۰۳۷. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.037>
- Alemardan, A., Asadi, W., Rezaei, M., Tabrizi, L., & Mohammadi, S. (۲۰۱۳). Cultivation of Iranian seedless barberry (*Berberis integerrima* 'Bidaneh'): A medicinal shrub. *Industrial Crops and Products*, 50, ۲۷۶–۲۸۷. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.07.061>
- Angioi, R., Morrin, A., & White, B. (۲۰۲۱). The Rediscovery of Honey for Skin Repair: Recent Advances in Mechanisms for Honey-Mediated Wound Healing and Scaffolded Application Techniques. *Applied Sciences*, 11(۱), ۵۱۹۲. <https://doi.org/10.3390/app1115192>
- Çoban, B., Bilgin, B., Yurt, B., Kopuk, B., Atik, D. S., & Palabiyik, I. (۲۰۲۱). Utilization of the barberry extract in the confectionery products. *LWT*, 145, ۱۱۱۳۶۲. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111362>
- Martinotti, S., Bonsignore, G., & Ranzato, E. (۲۰۲۴). Understanding the Anticancer Properties of Honey. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(۲۱), ۱۱۷۲۴. <https://doi.org/10.3390/ijms252111724>
- Masad, R. J., Haneefa, S. M., Mohamed, Y. A., Al-Sbiei, A., Bashir, G., Fernandez-Cabezudo, M. J., & Al-Ramadi, B. K. (۲۰۲۱). The Immunomodulatory Effects of Honey and Associated Flavonoids in Cancer. *Nutrients*, 13(۴), ۱۲۶۹. <https://doi.org/10.3390/nu13041269>
- Nezhad-Mokhtari, P., Javanbakht, S., Asadi, N., Ghorbani, M., Milani, M., Hanifehpour, Y., Gholizadeh, P., & Akbarzadeh, A. (۲۰۲۱). Recent advances in honey-based hydrogels for wound healing applications: Towards natural therapeutics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 66, ۱۰۲۷۸۹. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102789>
- Pasupuleti, V. R., Arigela, C. S., Gan, S. H., Salam, S. K. N., Krishnan, K. T., Rahman, N. A., & Jeffree, M. S. (۲۰۲۰). A Review on Oxidative Stress, Diabetic Complications, and the Roles of Honey Polyphenols. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, ۱–۱۶. <https://doi.org/10.1155/2020/8878172>
- Ramezani, F., Shekarabi, S. P. H., Mehrgan, M. S., Foroudi, F., & Islami, H. R. (۲۰۲۱). Supplementation of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) diet with barberry (*Berberis vulgaris*) fruit extract: Growth performance, hemato-biochemical parameters, digestive enzyme activity, and growth-related gene expression. *Aquaculture*, 540, ۷۳۶۷۵۰. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.736750>
- Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H., Fadel, A., Zakaria, Z. A., Albujja, M., & Bakar, M. F. A. (۲۰۲۱). Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 21(۱), ۳۰. <https://doi.org/10.1186/s129۰۶-۰۲۰-۰۳۱۷۰-۵>
- Sani, M. A., Tavassoli, M., Hamishehkar, H., & McClements, D. J. (۲۰۲۱). Carbohydrate-based films containing pH-sensitive red barberry anthocyanins: Application as biodegradable smart food packaging materials. *Carbohydrate Polymers*, 255, ۱۱۷۴۸۸. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117488>
- Sarraf, M., Beig Babaei, A., & Naji-Tabasi, S. (۲۰۱۹). Investigating functional properties of barberry species: an overview. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(۱۲), ۵۲۵۵–۵۲۶۹. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9804>
- Serdaroğlu, M., Can, H., Sari, B., Kavuşan, H. S., & Yılmaz, F. M. (۲۰۲۳). Effects of natural nitrite sources from arugula and barberry extract on quality characteristic of heat-treated fermented sausages. *Meat Science*, 198, ۱۰۹۰۹۰. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.109090>
- Silva, B., Biluca, F. C., Gonzaga, L. V., Fett, R., Dalmarco, E. M., Caon, T., & Costa, A. C. O. (۲۰۲۱). In vitro anti-inflammatory properties of honey flavonoids: A review. *Food Research International*, 141, ۱۱۰۰۸۶. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110086>

- Talebi, M., Talebi, M., Farkhondeh, T., & Samarghandian, S. (۲۰۲۰). Molecular mechanism-based therapeutic properties of honey. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 130, ۱۱۰۵۹۰. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110590>.
- Vahedi-Mazdabadi, Y., Shahinfar, H., Toushih, M., & Shidfar, F. (۲۰۲۳). Effects of berberine and barberry on selected inflammatory biomarkers in adults: A systematic review and dose–response meta-analysis of randomized clinical trials. *Phytotherapy Research*, 37(۱۲), ۵۵۴۱–۵۵۵۷. <https://doi.org/10.1002/ptr.۷۹۹۸>
- Wilczyńska, A., & Žak, N. (۲۰۲۴). Polyphenols as the Main Compounds Influencing the Antioxidant Effect of Honey—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(۱۹), ۱۰۶۰۶. <https://doi.org/10.3390/ijms251910606>

Optimization of the Production Process and Evaluation of Properties of a Barberry-Honey Probiotic Beverage

Sepideh Gharehyakheh

Department of Food Science and Technology, Sahneh Branch, Islamic Azad University, Sahneh, Iran

Abstract

Fermentation of honey-enriched barberry juice (as a source of nutrients and antioxidants) using *Lactobacillus acidophilus* significantly increased total phenolic content, free radical scavenging activity (measured by the DPPH method), and probiotic bacterial viability. Optimal fermentation conditions, determined via experimental design, yielded a beverage with the following characteristics: total phenolics 3856.3 mg GAE/100 mL, bacterial viability 9.0 log CFU/mL, titratable acidity 24.41 mg/mL, free radical scavenging activity 98.41% (DPPH), and pH 4. These results indicate that the fermented barberry-honey beverage, as an antioxidant-rich drink, may promote human health by reducing oxidative stress and improving nutritional value. The addition of honey, as a source of nutrients and antioxidants, significantly enhanced the antioxidant properties and nutritional value, making it a healthy and nutritious beverage option. The probiotic properties from fermentation also contribute to improved gut health and increased nutrient absorption.

Keywords: Fermented fruit juice, *Lactobacillus*, probiotic, barberry, honey.