



Gorgan University of Agricultural
Sciences and Natural Resources

Food Processing and Preservation Journal

Print ISSN: 2423-3544

Online ISSN: 2423-3803



Iranian Association of Food Scientists
and Technologists

Nutritional Characteristics of Alfalfa Sprout and the Impact of Fermentation with Probiotic Bacteria on Its Antioxidant and Prebiotic Properties

Maryam Ghaderi-Ghahfarokhi^{*1}, Sahar Elmi Anvari²,
Maryam Shakarami³, Mehdi Zarei⁴

¹ Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran, Email: m.ghaderi@scu.ac.ir

² Ph.D. student, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

³ MSc graduate, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

⁴ Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Article Info

ABSTRACT

Article type:
Research Full Paper

Background and objectives: Plant sprouts are receiving a significant deal of attention because of their abundance, bioavailability of components, and health benefits. Germinated legume seeds were the most common sprouts consumed in the human diet. Alfalfa (*Medicago sativa*) sprout is a valuable source of protein, fiber, minerals, vitamins (B vitamins), glucosinolate, and phenolic compounds. Alfalfa sprouts are usually consumed as dehydrated leaves, powder, or dietary supplements in the form of tablets. Regarding nutritional values, alfalfa sprout powder (ASP) could act as a prebiotic agent. The present study aimed to investigate the nutritional values and in vitro prebiotic potential of ASP on two probiotic strains, namely *Lactobacillus casei* ATCC 393 and *Bifidobacterium longum* ATCC 55813. Also, the effects of fermentation of ASP by probiotics on polyphenolic content and antioxidant activity were investigated.

Article history:

Received: 2024-8-3
Revised: 2024-9-19
Accepted: 2024-9-22

Keywords:
Alfalfa sprout
Antioxidant activity
Nutritional values
Prebiotic
Probiotic

Materials and methods: Fatty acid composition, amino acid profile, and mineral content of ASP were determined using a gas chromatography-mass detector, an amino acid analyzer, and inductively coupled plasma-optical emission spectrometry, respectively. ASP at two concentration levels of 0.5 and 1% was tested for its growth stimulation effect on two probiotics, *L. casei* and *B. longum*. Fructooligosaccharide (FOS) and glucose were used as standard prebiotic and control positive, respectively. The changes in probiotic populations and pH were monitored during 48 h of fermentation in glucose-free MRS broth (GF-MRSB). The total phenolic content (TPC) and antioxidant activity of ASP were evaluated during fermentation using the Folin-Ciocalteu method and the DPPH radical scavenging assay.

Results: ASP contains high levels of aspartic acid, glutamic acid, and essential amino acids, including phenylalanine, leucine, and lysine. It also includes a high content of unsaturated fatty acids, including linoleic and oleic acids. Potassium was found to be the mineral with the highest composition, followed by phosphorus and

calcium. Both probiotic strains could grow effectively in the presence of ASP. The cell numbers of *L. casei* and *B. longum* increased by 4.91 and 5.11 Log CFU/ml after 48 h fermentation of ASP-1%, which were comparable with the stimulatory effects of FOS and glucose. The pH decrease of GF-MRSB was negatively correlated with the concentration of ASP. Antioxidant activity and TPC increased continually during fermentation by both probiotics, with *L. casei* exhibiting a stronger impact.

Conclusion: Results demonstrated that ASP is an excellent source of minerals, essential amino acids, and unsaturated fatty acids. Probiotic bacteria not only survive in the presence of ASP but also increase polyphenolic content, thus enhancing the antioxidant activity and functional capacity of the fermented ASP. Fermenting phenolic compound-rich plant sprouts with probiotic bacteria can be considered a novel approach to the development of functional foods.

Cite this article: Ghaderi-Ghahfarokhi, M., Elmi Anvari, S., Shakarami, M., Zarei, M. 2024. Nutritional Characteristics of Alfalfa Sprout and the Impact of Fermentation with Probiotic Bacteria on Its Antioxidant and Prebiotic Properties. *Food Processing and Preservation Journal*, 16(3), 55-78.



"Authors retain the copyright and full publishing rights"

DOI: 10.22069/fppj.2024.22681.1830

Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

ویژگی‌های تغذیه‌ای جوانه یونجه و تأثیر تخمیر با باکتری‌های پروبیوتیک بر ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و پری‌بیوتیکی آن

مریم قادری قهفرخی^{۱*}, سحر علمی انواری^۲, مریم شاکرمی^۳, مهدی زارعی^۴

m.ghaderi@scu.ac.ir

^۱ استادیار، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران، رایانه‌نامه:

^۲ دانشجوی دکتری، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۳ دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۴ استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقاله کامل علمی-پژوهشی

سابقه و هدف: جوانه‌های گیاهی به دلیل فراوانی، زیست‌فراهرمی بالای ترکیبات و اثرات سلامتی بخش، توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. حبوبات جوانه زده متداول‌ترین اشکال مصرفی جوانه‌ها در رژیم غذایی انسان هستند. جوانه‌ی یونجه منع سرشار از پروتئین، فiber، مواد معدنی، ویتامین‌ها، گلوکوزینولات و ترکیبات فنولی است. جوانه یونجه به صورت خشک شده، پودر یا مکمل‌های رژیمی به شکل قرص مصرف می‌شود. با در نظر گرفتن ویژگی‌های تغذیه‌ای، پودر جوانه‌ی یونجه (ASP) می‌تواند به عنوان یک پری‌بیوتیک عمل نماید. هدف از این مطالعه بررسی ویژگی‌های تغذیه‌ای ASP و ارزیابی پتانسیل پری‌بیوتیکی آن بر دو باکتری پروبیوتیک لاکتو‌بایسیلوس کائزی 393 و بیفی‌دوباکتریوم لانگوم ATCC 55813 در شرایط برون‌تنی می‌باشد. همچنین اثرات فرآیند تخمیر ASP با باکتری‌های پروبیوتیک، بر محتوای پلی فنول‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن مورد بررسی قرار گرفت.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۱۳

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۳/۰۶/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۷/۰۱

واژه‌های کلیدی:

ارزش تغذیه‌ای

پری‌بیوتیک

پروبیوتیک

جوانه یونجه

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مواد و روش‌ها: ترکیب اسیدهای چرب، پروفایل آمینواسید و محتوای املاح ASP به ترتیب با کروماتوگرافی گازی مجهز به دتکتور جرمی، آمینواسید آنالایزر و پلاسمای جفت شده القائی مجهر به طیف‌سنج نشر نوری تعیین گردیدند. ASP در دو سطح غلظت ۰/۵ و ۰/۱٪ از نظر قابلیت تحریک رشد دو باکتری پروبیوتیک لاکتو‌بایسیلوس کائزی و بیفی‌دوباکتریوم لانگوم مورد بررسی قرار گرفت. فروکتوالیگوساکارید و گلوکر به ترتیب به عنوان پری‌بیوتیک استاندارد و کنترل مثبت مورد استفاده قرار گرفتند. تغییرات در جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک و pH محیط کشت طی ۴۸ ساعت تخمیر در محیط کشت MRS براث بدون گلوکر (GF-MRS) پایش گردید. محتوای ترکیبات فنولی کل (TPC) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ASP طی زمان تخمیر به ترتیب با روش‌های Folin-Ciocalteu و مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ارزیابی گردید.

یافته‌ها: ASP حاوی مقادیر قابل توجهی از آسپاراتیک اسید، گلوتامیک اسید و اسیدهای چرب ضروری از قبیل فنیل آلانین، لوسین و لیزین بود. همچنین حاوی مقادیر قابل توجهی از اسیدهای چرب غیراشباع از قبیل لینولئیک اسید و اولئیک اسید بود. پتانسیم فراوان‌ترین عنصر تشکیل‌دهنده ASP بود و پس از آن فسفر و کلسیم قرار گرفتند. هر دو سویه‌ی پروپیوتیک رشد قابل ملاحظه‌ای در حضور ASP داشتند. جمعیت لاکتوسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لانگوم طی ۴۸ ساعت تخمیر با ۱% ASP بهتریب ۴/۹۱ Log CFU/ml و ۵/۱۱ افزایش یافت که قابل مقایسه با اثرات گلوکز و FOS بود. کاهش در pH GF-MRSB با غلظت TPC در طول زمان تخمیر توسط هر دو باکتری افزایش یافتند که اثر لاکتوسیلوس کازئی بیشتر بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد ASP منبع عالی از املاح، اسیدهای آمینه ضروری و اسیدهای چرب غیراشباع است. باکتری‌های پروپیوتیک نه تنها در حضور ASP زنده ماندند بلکه باعث افزایش ترکیبات فنولی و بهبود فعالیت آنتی‌اسیدانی و ظرفیت عملکردی ASP تخمیر شده گردیدند. تخمیر جوانه‌های گیاهی غنی از ترکیبات فنولی با باکتری‌های پروپیوتیک، می‌تواند به عنوان رویکرد نوینی در توسعه‌ی غذاهای عملگرا مدنظر قرار گیرد.

استناد: قادری قهفرخی، مریم؛ علمی انواری، سحر؛ شاکرمی، مریم؛ زارعی، مهدی. (۱۴۰۳). ویژگی‌های تغذیه‌ای جوانه یونجه و تأثیر تخمیر با باکتری‌های پروپیوتیک بر ویژگی‌های آنتی‌اسیدانی و پری‌بیوتیکی آن. فرآوری و نگهداری مواد غذایی، ۱۶ (۳)، ۷۸-۵۵.



"حق نشر و حقوق کامل انتشار برای نویسنده‌گان محفوظ است"

DOI: 10.22069/fppj.2024.22681.1830

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

مقدمه

زیست‌فعال سبب کاهش مشکلات کلیوی و آرتیت^۱ (التهاب مفصل)، کاهش سطح کلسترول و سطح قند خون، درمان خونریزی و مشکلات گوارشی و همچنین کاهش آسیب‌های DNA ناشی از H₂O₂ شده و بدن انسان را در مقابل برخی از بیماری‌های مزمن و قلبی-عروقی محافظت می‌نماید (۵، ۶). در سال‌های اخیر مصرف جوانه‌های تازه، دانه‌های جوانه زده تازه یا انواع خشک و پودر شده‌ی آن‌ها عمده‌تاً به دلیل پروفایل تغذیه‌ای مناسب و نیز آگاهی مصرف کنندگان از اثرات سلامتی بخش آن‌ها افزایش یافته است. استفاده از جوانه‌ها در فرمولاسیون مواد غذایی از یک طرف سبب بهبود ارزش تغذیه‌ای سامانه‌های غذایی می‌شود و از طرف دیگر فرآوری ماده‌ی غذایی منجر به کاهش بار آلودگی میکروبی جوانه‌ها خواهد شد (۱). طبق تعریف سازمان غذا و کشاورزی (FAO) و سازمان بهداشت جهانی (WHO) پروپیوتیک‌ها مکمل‌های غذایی میکروبی زنده (باکتری یا فارچ) هستند که در صورت مصرف در مقادیر کافی و توصیه شده با حفظ یا بهبود تعادل میکروبی روده، اثرات مفیدی بر سلامتی مصرف کنندگان اعمال می‌کنند (۷). جهت دستیابی به اثرات مطلوب مرتبط با پروپیوتیک‌ها رسیدن روزانه ۱۰^۹-۱۰^{۱۰} عدد میکروارگانیسم پروپیوتیک زنده به روده کوچک لازم است و این مهم در گروه بقای آن‌ها در فرآورده غذایی طی حمل و نقل، نگهداری، مصرف و نیز در حین عبور از دستگاه گوارش است. یکی از راهکارهای موجود در این زمینه، استفاده از ترکیبات پری‌بیوتیک می‌باشد. پری‌بیوتیک‌ها ترکیبات یا سوبستراهایی هستند که به صورت گزینش‌پذیر توسط میکروارگانیسم‌های موجود در میزبان مورد استفاده قرار گرفته و اثرات سلامتی بخش اعمال می‌کنند (۸). بسیاری از ترکیبات موجود در جوانه‌ها یا آرد دانه‌های جوانه زده نظری

ارزش تغذیه‌ای و ویژگی‌های حسی بسیاری از دانه‌های غلات و حبوبات با فرایند جوانه‌زنی بهبود می‌یابد. فرآیند جوانه‌زنی چندین قرن است که با اهداف گوناگون نظری نرم شدن مغز دانه، بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای و کاهش محتوای ترکیبات ضد تغذیه‌ای مورداستفاده قرار گرفته است و با بهبود ویژگی‌های تغذیه‌ای، محتوای ترکیبات زیست‌فعال دانه‌ها و قابلیت خوارکی آن‌ها همراه است (۱). جوانه‌ها جزء مواد غذایی گیاهی غنی از فیتونوتربینت-ها می‌باشند و منابع خوبی از فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها، گلوكوزینولات‌ها، ایزو‌تیوسیانات‌ها، پروتئین، فیبر، ویتامین‌ها و مواد معدنی محسوب می‌شوند؛ به همین دلیل جوانه‌ها را به تنهایی می‌توان یک "غذای فراسودمند" در نظر گرفت که فرای اثرات تغذیه‌ای، دارای ویژگی‌های بهبود سلامت و پیشگیری از بیماری‌ها نیز می‌باشند (۲، ۳). در اکثر دانه‌ها، جوانه‌زنی سبب افزایش تجمع ترکیبات فنولی محلول در جوانه و دانه‌ی جوانه زده می‌شود و محتوای فنولی آن‌ها با بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات قابل مقایسه است (۴). یونجه^۲ با نام علمی *Medicago sativa L* یک گیاه علفی گل‌دار چندساله از خانواده بقولات متعلق به جنس *Medicago* است و به عنوان یکی از اولین و مهم‌ترین گیاهان علوفه‌ای اهلی شده در دنیا توسط انسان جهت تغذیه دام استفاده شده است. یونجه در تغذیه انسان معمولاً به صورت برگ تازه یا جوانه مصرف می‌شود و عمده‌تاً کرکی، ترد و شیرین است. در حال حاضر جوانه یونجه به صورت تازه، پودر یا قرص و کپسول و به عنوان مکمل‌های تغذیه‌ای در دنیا عرضه می‌شود. همچنین تحقیقات انجام شده بر روی جوانه یونجه حاکی از آن است که جوانه یونجه به دلیل وجود طیف وسیعی از ترکیبات

² Arthritis

^۱ Alfalfa

393 و بیفیلوباکتریوم لانگوم ۵۵۸۱۳ ATCC از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران خریداری شدند. تمامی محیط کشت‌های مورد استفاده در این مطالعه از شرکت Merck، آلمان یا ایرسکو ایران تهیه گردید. کلیه مواد شیمیایی جهت تهیه محلول‌ها یا محیط کشت از درجه آزمایشگاهی و شرکت‌های Loba Chemical، آلمان، Barad Chemical، آلمان، Chemie، هند و Sigma، آمریکا خریداری شدند.

آزمون‌های شیمیایی

تعیین پروفایل آمینواسید کل: جهت تعیین پروفایل آمینواسید ASP، ابتدا به 0.2 g نمونه در فلاسک‌های ته گرد پیرکس 100 ml لیتر محلول اسید کلریدریک 6 N مال حاوی $1/10$ درصد فنول اضافه شد. در ادامه جهت هضم پروتئین و آزادسازی اسیدهای آمینه پس از دمیدن گاز نیتروژن، فلاسک‌های حاوی نمونه به مدت 20 ساعت در دمای $110 \pm 5^\circ\text{C}$ قرار گرفتند و پس از به حجم 200 ml رساندن محتوای فلاسک‌ها با آب مقطر (به حجم GF/A، میلی لیتر) و عبور از کاغذ فیلتر واتمن درجه A، آنالیز اسیدهای آمینه با استفاده از دستگاه آمینواسید آنالایزر (مدل Pico-Tag، آمریکا) انجام شد. بدین منظور، نمونه از کارتريج C18 Sep-pak عبور داده شد و به دستگاه تزریق شد. ستون مورد استفاده برای آنالیز از نوع RP Nova-Pack C18 ($150\text{ mm} \times 3/4\text{ in}$) بود. فاز متحرک نیز شامل دو محلول A (940 ml/liter) از 0.14 Molar سدیم استات با $\text{pH}=6.4$ حاوی 0.05% تری اتیل آمین با 60 ml/liter استونیتریل و B (60 ml/liter استونیتریل و 40 ml/liter آب) بود. شناسایی پیک‌ها در طول موج 540 nm و مدت زمان 20 دقیقه برای هر نمونه انجام شد. تعیین آمینواسیدهای آزاد نیز به روش گفته شده با کمی تغییر از جمله استخراج اسیدهای آمینه آزاد با استفاده از محلول آبی داغ هیدروکلریدریک اسید 5 mM در دمای 80°C و

فیبر، پروتئین، ویتامین‌ها و یا اجزای فعالی از قبیل الیگوساکاریدها، آمینواسیدها و پپتیدها می‌توانند رشد باکتری‌های پروبیوتیک را حمایت کرده و زندگانی آن‌ها را افزایش دهند. درواقع فرم جوانه زده این دانه‌ها در مقایسه با فرم اولیه، حاوی سوبستراهای بیشتری جهت تحریک رشد باکتری‌های پروبیوتیک می‌باشد (۹). مطالعات محدودی در زمینه بررسی اثرات متقابل پروبیوتیک‌ها و جوانه‌های غلات و حبوبات در حین تخمیر در شرایط آزمایشگاهی یا در فرمولاسیون‌های غذایی صورت گرفته است. از آن جمله می‌توان به بررسی اثرات پربیوتیکی جوانه‌ی چاودار روی برخی باکتری‌های پروبیوتیک در شرایط آزمایشگاهی و نیز در فرمولاسیون ماست اشاره کرد (۱۰). نتایج جست‌وجو در منابع علمی، حاکی از آن بود که اکثر مطالعات به بررسی پروفایل تغذیه‌ای (۱۱، ۱۲، ۱۳) و یا کاربرد آرد بذر یونجه در فرمولاسیون مواد غذایی پرداخته‌اند (۱۴، ۱۵) و پژوهشی در زمینه بررسی پتانسیل پربیوتیکی پودر جوانه یونجه^۱ (ASP) انجام نشده است. در این پژوهش ویژگی‌های (ASP) در تعامل با دو باکتری پربیوتیک لاكتوباسیلوس کائزئی^۲ و بیفیلوباکتریوم لانگوم^۳ مورد بررسی قرار خواهد گرفت. همچنین تغییرات محتوای ترکیبات فنولی و خواص آنتی‌اکسیدانی این جوانه در حین تخمیر با باکتری‌های پروبیوتیک در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی خواهد شد.

مواد و روش‌ها

مواد: پودر جوانه یونجه رقم همدانی از شرکت جوانه آفتاب (مشهد، ایران) خریداری گردید. همچنین سویه‌های پربیوتیک لاكتوباسیلوس کائزئی ATCC

¹ Alfalfa sprout powder

² Lactobacillus Casei

³ Bifidobacterium longum

غلیظ به آن افزوده شد و نمونه‌ها تحت برنامه دمایی شامل دمای $^{\circ}\text{C}$ ۲۵-۱۷۰ به مدت ۱۰ دقیقه، دمای $^{\circ}\text{C}$ ۱۷۰-۲۴۰ به مدت ۱۰ دقیقه دیگر و نیز هوادهی در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه در دستگاه هضم به روش ماکروویو قرار گرفتند. در ادامه محلول حاصله پس از عبور از کاغذ صافی با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی لیتر رسانده شد (۱۷). محلول حاصله به دستگاه پلاسمای جفت شده القائی-طیفسنج نشر نوری^۱ (ICP-OES) ساخت آلمان تزریق و آنالیز املاح تحت شرایط استاندارد دستگاه انجام شد. در نهایت با ضرب نتایج اولیه قرائت شده از دستگاه در ضرب رقت، نتایج نهایی به دست آمد.

آزمون‌های میکروبی

آماده‌سازی باکتری‌های پری‌بیوتیک و ارزیابی پتانسیل پری‌بیوتیکی: در این مطالعه از سویه‌های استاندارد *L. casei* و *B. longum* نگهداری شده در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۸۰-به صورت کشت لیوفلیزه استفاده شد. باکتری‌ها طبق دستورالعمل آماده‌سازی شدند. قبل از انجام آزمون‌های میکروبی، جهت تهیه کشت مایع تازه از باکتری‌های اشاره شده طی دو بار متوالی در دو روز تلچیق هر دو سویه در محیط کشت MRS براث انجام گرفت و هر بار انکوباسیون تحت دمای $^{\circ}\text{C}$ ۳۷ به مدت ۲۴ ساعت و در شرایط بی‌هوایی انجام شد.

ارزیابی فعالیت پری‌بیوتیکی: جهت ارزیابی فعالیت MRS پری‌بیوتیکی از محیط کشت شبیه‌سازی شده براث بدون قند (GF-MRSB^۲) طبق دستورالعمل Moreno-Vilet و همکاران (۱۸) استفاده شد. اجزای محیط با یکدیگر ترکیب و pH محیط کشت روی $\pm ۰/۲$ $\pm ۶/۲$ تنظیم شد. ASF و اینولین (به عنوان پری‌بیوتیک تجاری) با غلظت ۱ درصد به صورت

سپس حذف پروتئین توسط سولفو سالیسیلیک اسید انجام شد (۱۵).

تعیین پروفایل اسید چرب: به منظور تعیین پروفایل اسید چرب در نمونه ASP، در ابتدا ۱۰ گرم از پودر جوانه یونجه در بشر با ۲۵۰ میلی لیتر از مخلوط کلروفرم: هگزان: متانول به ترتیب با نسبت ۸:۵:۲ حجمی/حجمی مخلوط و برای مدت ۸ ساعت به وسیله شیکر (مدل E 52 TM، ایران) در دور پایین هم زده شد تا فاز روغنی جدا گردد. سپس با قیمانده حلال به وسیله روتاری اوپراتور (مدل RV 8V-C، آلمان) در دمای $^{\circ}\text{C}$ ۴۵ جدا گردید. در ادامه مشتق سازی اسیدهای چرب استخراج شده با معرف متیلاسیون شامل متوكسید سدیم متانولی ۰/۲۵ مولار: پترولیوم اتر: اتیل اتر به ترتیب با نسبت ۱:۵:۲ حجمی/حجمی انجام شد و حجم نمونه با افزودن هگزان به ۱ میلی لیتر رسید. جهت تعیین پروفایل اسید چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی مجهز به ستون کاپیلاری HP-5MS (با ابعاد ۰/۲۵ mm \times ۳۰ m و ضخامت μm ۰/۲۵) و اسپکترومتر جرمی (مدل 7955A GC- MSD 7890B، آمریکا) استفاده شد. هلیم به عنوان گاز حامل با سرعت ml/min ۱ و دمای منبع یونیزاسیون $^{\circ}\text{C}$ ۲۵۰ در نظر گرفته شد. برنامه دمایی آون (مدل E240، آلمان) شامل: ۴ دقیقه در $^{\circ}\text{C}$ ۲۰، افزایش به $^{\circ}\text{C}$ ۱۴۰ با سرعت $\text{^{\circ}\text{C}}/\text{min}$ ۲۰، $^{\circ}\text{C}$ ۸۰، افزایش به $^{\circ}\text{C}$ ۲۵۰ با سرعت $\text{^{\circ}\text{C}}/\text{min}$ ۱۰ و سپس باقی ماندن در این دما به مدت ۱۰ دقیقه بود (۱۶).

تعیین پروفایل اسید چرب از طریق مقایسه زمان‌های بازداری و الگوی جزء به جزء سازی با پیک‌های موجود در کتابخانه NIST05a و Wily 7n انجام گرفت.

اندازه‌گیری املاح: جهت تعیین نوع املاح موجود در ASP، ابتدا ۰/۵ گرم از پودر جوانه یونجه در لوله تمیز و خشک توزین و سپس ۵ میلی لیتر اسید نیتریک

¹ Inductively coupled plasma - optical emission spectrometry

² Glucose free MRS broth

درصد وزنی / حجمی به آن افزوده شد. مخلوط حاصله در لوله آزمایش درب دار به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ساخت ایران تحت دمای 60°C قرار گرفت و در نهایت جذب آب در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر (مدل HT Synergic، آمریکا) اندازه گیری گردید. آب مقطر به عنوان محلول بلانک در نظر گرفته شد (۲۱، ۲۲). جهت رسم منحنی استاندارد از غلظت های مختلف (۰-۲۵۰ میکرو گرم در میلی لیتر) گالیک اسید استفاده شد. ($y = 0.0015x + 0.0156$, $R^2 = 0.999$) و مقادیر TPC بر حسب میکرو گرم در میلی لیتر محیط کشت گزارش شد.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی: جهت انجام این آزمایش از روش مهار رادیکال های آزاد DPPH آزمایش از روشنایی اتانول تهیه شد و ۷۵۰ میکرو لیتر از ۱۰۰ میلی لیتر اتانول تهیه شد. محلول DPPH با غلظت ۷/۸ میلی گرم در محلول اتانولی DPPH با ۷۵۰ میکرو لیتر از نمونه مخلوط شد و مخلوط حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در دمای 37°C و در تاریکی انکوبه شدند. در نهایت جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه میکرو پلیت ریدر (مدل HT Synergic، آمریکا) قرائت گردید. محلول حاوی DPPH و آب مقطر نیز به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. میزان مهار رادیکال های آزاد با استفاده از رابطه زیر و بر حسب درصد محاسبه شد: (۲۳)

مجزا به بطری های حاوی محیط کشت GF-MRSB افزوده شدند و محیط کشت MRS براث تجاری حاوی ۲٪ گلوکز و محیط کشت GF-MRSB (فاقد منبع کربوهیدراتی) به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شدند (۱۹). پس از استریل و سرد کردن محیط ها، هر یک از باکتری های پروبیوتیک در سطح غلاظت 10^4 CFU/ml به صورت مجزا به محیط کشت های مختلف تلقیح شد. محتوای هر بطری پس از توزیع در لوله های درب دار استریل 10°C میلی لیتری، تحت شرایط بی هوازی در دمای 37°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شدند. در زمان های 0°C و 24°C و 48°C ساعت رقیقسازی و سپس کشت و شمارش میکروبی به روش پور پلیت انجام شد. پلیت ها در شرایط بی هوازی در دمای 37°C به مدت ۴۸ ساعت انکوبه گردیدند. لازم به ذکر است به محیط کشت آگار و GF-MRSB مورد استفاده برای رشد *B. dongum* سیستئن هیدروکلراید (۰/۰۵٪) به عنوان عامل احیاء کننده اضافه شد (۲۰).

تعیین pH: pH محیط کشت به عنوان یکی از شاخص های تخمیر، در زمان های 0°C ، 24°C و 48°C ساعت با استفاده از pH متر دیجیتال و پس از کالیبراسیون با بافر های ۴ و ۷ تعیین گردید.

تعیین محتوای فنولی کل: جهت تعیین محتوای ترکیبات فنولی کل (TPC) در سه زمان 0°C ، 24°C و 48°C ساعت بلهجهنونده لیتر از محیط تخمیر برداشته شد. $\frac{1}{100} \times \text{نخستین نمونه} - \text{آخرین نمونه} = \text{درصد مهار رادیکال آزاد DPPH}$ جامد احتمالی به مدت ۵ دقیقه در 4000 g سانتریفیوژ شدند. سپس تغییرات TPC محیط کشت در طی زمان تخمیر با روش Folin-Ciocalteu مورد سنجش قرار گرفت. جهت تعیین TPC، ۲۰ میکرولیتر از عصاره با $1/16$ میلی لیتر آب دیونیزه و 100 میکرولیتر معرف فولین-سیوکالتو مخلوط شد و پس از طی زمان ۱ تا ۸ دقیقه، 300 میکرولیتر از محلول سدیم کربنات

آنالیز آماری

در بخش ارزیابی فعالیت پری بیوتیکی، اثرات اصلی (زمان تخمیر و نوع ترکیب پری بیوتیکی) و اثرات متقابل آنها با استفاده از تجزیه واریانس ANOVA (طرح کاملاً تصادفی) با رویه ^۱GLM مورد

^۱ General linear model

پروفایل اسیدهای آمینه: همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، پودر جوانه یونجه حاوی تمامی اسیدهای آمینه مورد نیاز بدن (به جز متیونین) به صورت آزاد یا در ساختار پروتئین‌ها می‌باشد. در بین اسیدهای آمینه ضروری کل بیشترین مقدار به فنیل آلانین اختصاص داشت و پس از آن لوسین، تیروزین، ترئونین و لیزین قرار گرفتند. همچنین در بین اسیدهای آمینه آزاد و ضروری نیز، هیستدین و ترئونین بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. این نتایج همچنین نشان می‌دهد اسیدهای آمینه ضروری موجود در ASP بیشتر نقش ساختاری دارند. بنابراین ASP می‌تواند بخشی از نیاز بدن به اسیدهای آمینه ضروری را در رژیم غذایی تأمین نماید. آسپارتیک اسید و پس از آن گلوتامیک اسید، اسیدهای آمینه شاخص رقم‌های مختلف بذر یونجه تلقی می‌شوند؛ (۲۵) از این‌رو، طبیعی است که جوانه یونجه غنی از این اسیدهای آمینه باشد. در مطالعه‌ای که روی آرد کنسانتره یونجه انجام شد نتایج نشان داد این کنسانتره حاوی مقادیر قابل توجهی اسیدهای آمینه ضروری می‌باشد که لوسین، فنیل آلانین و والین از بین اسیدهای آمینه ضروری و گلوتامیک اسید و آسپارتیک اسید از بین اسیدهای آمینه غیرضروری بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند (۲۶). محتوای اسیدهای آمینه آزاد موجود در جوانه سه رقم یونجه ۱ Nubaria، Giza و ۱ Ismailia به ترتیب ۱۱/۱، ۱۲/۱ و ۱۶/۱ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک گزارش شد. مقدار کل اسیدهای آمینه آزاد در مطالعه‌ی حاضر ۲/۳۸٪ یا ۲۳/۸ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک بود که از مقادیر گزارش شده از ارقام یاد شده بیشتر است.

بررسی قرار گرفتند. مقایسه‌ی میانگین‌ها با روش توکی ۱ در سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از نرم‌افزار Minitab Inc., State College, PA, USA نتایج بر اساس میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شد. رسم نمودارها با نرم‌افزار اکسل صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

ویژگی‌های تغذیه‌ای جوانه یونجه: بر اساس نتایج آزمایش‌ها انجام شده در این مطالعه ترکیبات شیمیایی کلی ASP شامل $4/26 \pm 0/54$ ٪ رطوبت، $24/60 \pm 2/20$ ٪ پروتئین، $44/60 \pm 0/54$ ٪ خاکستر، $9/42 \pm 0/97$ ٪ چربی، $12/50 \pm 1/21$ ٪ فیبر کل و $25/50 \pm 1/34$ ٪ کربوهیدرات کل بود؛ (۲۴) بنابراین ASP می‌تواند به عنوان منبع سرشار از پروتئین، کربوهیدرات، چربی و فیبر مورد توجه قرار گیرد. محتوای پروتئینی جوانه‌ی بذر سه رقم یونجه با نام‌های ۱ Nubaria، Giza و ۱ Ismailia به ترتیب $20/2$ ، $17/5$ و $24/1$ ٪ گزارش شد؛ در حالی که محتوای فیبر خام آن‌ها $13/3$ ، $16/1$ و $15/00$ ٪ و محتوای کربوهیدرات کل آن‌ها نیز به ترتیب $24/7$ و $17/7$ و $25/6$ ٪ بود. محتوای چربی این سه رقم جوانه برای ۰/۸۴، ۰/۸۷ و ۱ Nubaria، Giza ۱ به ترتیب $1/33$ ٪ گزارش شد که بسیار کم‌تر از مقادیر به دست آمده در این مطالعه می‌باشد (۱۱). در مطالعه Mattioli و همکاران (۲۰۱۹) مقدار پروتئین، فیبر و خاکستر جوانه یونجه تازه به ترتیب $68/2 \pm 2/0$ ، $20/40 \pm 0/08$ و $30/90 \pm 2/12$ گرم در کیلوگرم ماده مرطوب گزارش شد (۱۲). برخی از ویژگی‌های تغذیه‌ای ASP شامل ترکیبات شیمیایی کلی، پروفایل آمینواسید، املاح و اسیدهای چرب آن تعیین گردید که نتایج آن در جدول ۱ تا ۳ قابل مشاهده است.

¹ Tukey's test

جدول ۱- پروفایل اسید آمینه کل و آزاد پودر جوانه یونجه

Table 1. Amino acids profile of Alfalfa sprout flour

| ردیف | نوع اسید آمینه | اسید آمینه آزاد (mg/g) | اسید آمینه کل (mg/g) | Total amino acid (mg/g) |
|--------------------------|--------------------------------|------------------------|----------------------|-------------------------|
| اسیدهای آمینه غیر ضروری | | | | |
| Non-essential amino acid | | | | |
| 1 | آسپارتیک اسید Aspartic acid | 1.70 | 60.58 | |
| 2 | گلوتامیک اسید Glutamic acid | 1.02 | 59.67 | |
| 3 | سرین Serine | 3.21 | 19.53 | |
| 4 | گلایسین Glycine | 2.14 | 24.33 | |
| 5 | آرژینین Arginine | 3.12 | 16.67 | |
| 6 | آلانین Alanine | 1.55 | 24.50 | |
| 7 | پروولین Proline | 2.90 | 8.75 | |
| اسیدهای آمینه ضروری | | | | |
| Essential fatty acid | | | | |
| 8 | ترئونین Threonine | 2.64 | 21.34 | |
| 9 | هیستیدین Histidine | 4.31 | 8.12 | |
| 10 | تیروزین Tyrosine | 0.25 | 21.41 | |
| 11 | والین Valine | ND | 4.29 | |
| 12 | سیستین Cysteine (cys) | ND | 2.65 | |
| 13 | ایزولووسین Isoleucine | ND | 13.66 | |
| 14 | لوسین Leucine | ND | 27.27 | |
| 15 | فنیل آلانین Phenylalanine | 0.07 | 32.02 | |
| 16 | لیزین Lysine | 0.88 | 21.04 | |

حاکی از آن بود که در جوانه‌ی هر سه گونه‌ی مورد بررسی از بین اسیدهای آمینه غیرضروری، گلوتامیک اسید و سپس آسپارتیک اسید بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند، حال آنکه جوانه‌ی هر سه گونه حاوی مقادیر قابل توجهی از فنیل آلانین، ترئونین،

مطالعات محدودی در زمینه تعیین نوع و مقدار اسیدهای آمینه در جوانه یونجه صورت گرفته است. پروفایل اسیدهای آمینه موجود در جوانه‌ی سه گونه دیگر جنس *Medicago* شامل *M. indicus* تعیین گشت. نتایج *M. interexta* و *M. polymorpha*

درکل به دلیل تفاوت در بذر اولیه، شرایط و مدت زمان جوانه‌زنی نتایج مطالعات مختلف با یکدیگر قابل قیاس نیست. در طی جوانه‌زنی بسته به شرایط تغییراتی در میزان ماده‌ی خشک دانه یا بذر اولیه رخداده و معمولاً میزان مواد آلی سلول کاهش و محتوای مواد غیر آلی یا معدنی افزایش می‌یابد. علاوه بر این، تغییر در میزان حلالیت املاح و تغییر مکان آن‌ها در طی جوانه‌زنی می‌تواند قابلیت استخراج و دسترسی زیستی آن‌ها را تحت تأثیر قرار دهد (۳۰).
اسیدهای چرب: ترکیب اسید چرب روغن استخراج شده از ASP با روش GC-Mass تعیین و نتایج آن در جدول ۳ درج شده است. نتایج نشان داد که بیشترین درصد به لینولئیک اسید اختصاص دارد و پس از آن اولئیک اسید و پالمیتیک اسید قرار گرفتند. مقادیر به نسبت پایین‌تری از استئاریک اسید و آراشیدیک اسید نیز در روغن استخراجی تشخیص داده شد.
 همانطور که مشاهده می‌شود، روغن استخراج شده از ASP سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع بوده و از ارزش تغذیه‌ای بالایی برخوردار است. لینولئیک اسید، اولئیک اسید و پالمیتولئیک اسید در مجموع ۷۸/۲۸٪ از اسیدهای چرب موجود در روغن ASP را تشکیل دادند و درصد کل اسیدهای چرب اشباع ۲۱/۷۱٪ بود. حضور اسیدهای چرب فرد کرینه نظری پتادسکلیک اسید، مارگاریک اسید، هنیکوزانوئیک اسید و تریکوزانوئیک اسید^۲ که در سایر روغن‌ها نایاب هستند، یکی از ویژگی‌های جالب توجه این روغن بود. لینولئیک اسید، اولئیک اسید و پالمیتولئیک اسید مهم‌ترین و فراوان‌ترین اسیدهای چرب غیراشباع این روغن را تشکیل دادند؛ درحالی که پالمیتیک اسید فراوان‌ترین اسید چرب اشباع تشکیل دهنده‌ی این روغن بود (جدول ۳).

سیستین و ایزوولوسین بود. همچنین مقدار اسیدهای آمینه‌ی سیستین، ایزوولوسین، متیونین، لوسین، تیروزین، لیزین، فنیل آلانین و تریپتوفان پس از جوانه‌زنی نسبت به بذر اولیه به‌طور قابل توجهی افزایش یافت (۲۷).

املاح: جوانه‌های تهیه شده از غلات و حبوبات منابع ارزشمندی از املاح ضروری برای بدن می‌باشند؛ چراکه مقدار آن‌ها اغلب در طی جوانه‌زنی افزایش می‌یابد. علاوه بر افزایش محتوای املاح، معمولاً دسترسی زیستی آن‌ها نیز به دلیل تجزیه فیتات، تانن‌ها و سایر ترکیبات ضد تغذیه‌ای در حین جوانه‌زنی نیز بهبود می‌یابد (۲۸). جوانه یونجه سرشار از املاح ضروری برای بدن می‌باشد. در بین عناصر موجود به ترتیب پتاسیم، فسفر، کلسیم و گوگرد بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده‌اند. همچنین این پودر منبع مناسبی از منیزیم و سدیم محسوب می‌شود. عناصر دیگر نظیر آهن، مس، روی و منگنز هرچند در مقادیر کم‌تر اما در این پودر تشخیص داده شدند (جدول ۲). در مطالعه Sahni و همکاران (۲۰۲۰) گزارش شد پس از ۷۲ ساعت جوانه‌زنی بذر یونجه در بین املاح ماکرو، فسفر (بین ۱۲۰۰۰-۱۰۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و پتاسیم (بین ۱۰۰۰۰-۸۰۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و در بین املاح میکرو، آهن (۱۴۰-۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و روی (بین ۱۴۰-۱۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم)، بیشترین مقدار را به خود اختصاص دادند. همچنین جوانه یونجه حاوی مقادیر مناسبی از سدیم، منیزیم، کلسیم، مس و منگنز بود (Chiriac و همکاران ۲۰۲۰) نیز به تعیین غلظت عناصر مختلف در حین جوانه‌زنی یونجه و شبدر قرمز^۱ پرداختند و گزارش کردند به ترتیب پتاسیم و منیزیم فراوان‌ترین عنصر موجود در بذر یونجه و شبدر قرمز می‌باشند.

² Tricosanoic acid

¹ Red clover

جدول ۲- محتوای املاح پودر جوانه یونجه

Table 2. Mineral content of Alfalfa sprout powder

| مقدار (میلی گرم/کیلوگرم) | املاح |
|--------------------------|-----------------|
| 5374.77 | پتاسیم (K) |
| 3823.05 | Potassium (K) |
| 3182.40 | فسفر (P) |
| 1901.09 | Phosphorus (P) |
| 1679.67 | (Ca) کلسیم |
| 1019.06 | Calcium (Ca) |
| 64.88 | (S) گوگرد |
| 60.80 | Sulfur (S) |
| 17.24 | (Mg) منیزیم |
| 16.18 | Magnesium (Mg) |
| 12.70 | (Na) سدیم |
| 2.72 | Sodium (Na) |
| 2.72 | (Zn) روی |
| 1.81 | Zinc (Zn) |
| | (Fe) آهن |
| | Iron (Fe) |
| | (B) بورن |
| | Boron (B) |
| | (Mn) منگنز |
| | Manganese (Mn) |
| | (Cu) مس |
| | Copper (Cu) |
| | (Ni) نیکل |
| | Nickel (Ni) |
| | (Mo) مولیبدن |
| | Molybdenum (Mo) |
| | (Se) سلنیم |
| | Selenium (Se) |

انوئیک اسید (C20:3, n6)، ایکوزا تری انوئیک اسید (C20:3, n3) و آراشیدونیک اسید (C20:4, n6) در روغن بذر یونجه تشخیص داده شد. پس از ۷ روز جوانه‌زنی بذر، محتوای اسیدهای چرب اشباع نظریر پالمتیک اسید، استئاریک اسید و بهینیک اسید تا حدودی افزایش و مقدار اسیدهای چرب غیراشباع به خصوص آلفا لینولینیک اسید، لینولئیک اسید و اولئیک اسید کاهش یافت. افزایش ناچیزی نیز در محتوای اسیدهای چرب بلند زنجیر و چند غیر

Marton و همکاران (۲۰۱۰) به بررسی پروفایل اسید چرب بذر یونجه و جوانه حاصل از آن پرداختند. این محققین نیز به وجود مقادیر جزئی از اسیدهای چرب غیرمعمول نظری پتاوسکلیک اسید و مارگاریک اسید در بذر اولیه اشاره کردند. فراوان ترین اسیدهای چرب موجود در بذر یونجه شامل لینولئیک اسید، آلفا-لینولینیک اسید، پالمتیک اسید و اولئیک اسید بود. همچنین مقادیر اندکی از اسیدهای چرب بلند زنجیر و چند غیر اشباعی نظریر ایکوزا تری

بذر اولیه و نیز شرایط و زمان جوانهزنی نسبت داد
اشباعی مشاهده شد (۳۱). تفاوت‌های مشاهده شده
بین تحقیقات مختلف از نظر نوع و درصد اسیدهای
چرب را می‌توان به تفاوت در پروفایل اسید چرب

جدول ۳- پروفایل اسید چرب پودر جوانه یونجه

Table 3. Fatty acid composition of Alfalfa sprout powder

| مقدار (%) Content (%) | زمان بازداری (دقیقه) Retention time | اسید چرب Fatty acid |
|--------------------------|--|---|
| 0.263 | 25.853 | (C14:0) میرستیک اسید |
| 0.132 | 27.993 | Myristic acid (C _{14:0}) |
| 0.174 | 29.630 | (C15:0) پتادسکلیک اسید |
| 11.551 | 30.073 | Pentadecanoic acid (C _{15:0}) |
| 0.175 | 33.991 | (C16:1) پالمیتوئیک اسید |
| 41.326 | 33.407 | Palmitoleic acid (C _{16:1}) |
| 32.294 | 33.542 | (C16:0) پالمیک اسید |
| 3.938 | 33.874 | Palmitic acid (C _{16:0}) |
| 0.515 | 36.922 | (C17:0) مارگاریک اسید |
| 1.441 | 37.342 | Margaric acid (C _{17:0}) |
| 0.257 | 38.980 | (C18:2) لینولیک اسید |
| 1.573 | 40.559 | Linoleic acid (C _{18:2}) |
| 0.138 | 42.075 | (C18:1) اوئنیک اسید |
| 0.274 | 43.532 | Elaidic acid (C _{18:1} , n=9, trans) |
| | | (C20:0) آرشیدیک اسید |
| | | Arachidic acid (C _{20:0}) |
| | | (C21:0) هنیکوزانوئیک اسید |
| | | Heneicosanoic acid (C _{21:0}) |
| | | (C22:0) بهینیک اسید |
| | | Behenic acid (C _{22:0}) |
| | | (C23:0) تریکوزانوئیک اسید |
| | | Tricosanoic Acid (C _{23:0}) |
| | | (C24:0) لیگنسریک اسید |
| | | Lignoceric acid (C _{24:0}) |

می‌دهد. در روز ^۰، جمعیت باکتری *L. casei* در محیط کشت GF-MRSB حاوی ترکیبات مختلف، بین ۲۴-۴/۳۵ Log cfu/ml ساعت از تخمیر، اختلاف معنی‌داری بین جمعیت *L. casei* در محیط‌های مختلف مشاهده گردید (P < ۰/۰۵) و میزان افزایش جمعیت باکتری در نمونه‌های کنترل منفی، ASP-1% ASP-0.5% FOS

پتانسیل پری‌بیوتیکی: پتانسیل پری‌بیوتیکی ASP روی دو باکتری پروبیوتیک پر کاربرد در صنعت غذا یعنی *B. longum* و *L. casei* در شرایط *in vitro* طی ۴۸ ساعت تخمیر با بررسی تغییرات جمعیت باکتری‌ها مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۱ (a) تغییرات جمعیت *L. casei* طی ۴۸ ساعت تخمیر در دمای ۳۷ °C و در حضور ترکیبات مختلف را نشان

آمینه و مواد معدنی بوده که با تأمین مواد مغذی مورد نیاز این باکتری‌ها، روی آن‌ها اثر حفاظتی دارند و شرایط بهینه رشد آن‌ها را فراهم می‌نمایند (۳۳). همانطور که در بخش‌های قبلی نیز نشان داده شد، ASP منع سرشار از مواد مغذی مختلف به‌ویژه پروتئین و فیر تلقی می‌شود که می‌تواند از رشد باکتری‌های مورد بررسی در محیط کشت منابع قندی حمایت و رشدی معادل یا نزدیک به قند ساده گلوکز را ایجاد کند. در مطالعه‌ی Noori و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر عصاره جوانه‌ی چاودار روی دو باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس^۱ و بیفیدوباکتریوم انیمالیس^۲ را مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد، افزودن غلظت‌های مختلف عصاره‌ی جوانه چاودار (۰/۰۲۵-۰/۰٪) سبب افزایش قابل ملاحظه‌ی رشد هر دو باکتری گردید و میزان رشد با غلظت عصاره ارتباط مستقیم داشت. همچنین اثر آن روی بیفیدوباکتریوم انیمالیس محسوس‌تر بود. در زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت تخمیر در شرایط *in vitro* میزان رشد دو باکتری در حضور غلظت ۰/۲٪ عصاره بیشتر از گلوکز بود. محققین این نتایج را با محتوای بالای پروتئین و فیر در این عصاره مرتبط دانستند (۱۰).

همچنین Chavez Garcia و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند جوانه‌ها منابع سرشار از نشاسته مقاوم، فیرهای رژیمی و الیگوساکاریدها هستند که می‌توانند پتانسیل پری‌بیوتیکی نشان دهند. در مطالعه‌ی دیگری پتانسیل پری‌بیوتیکی پودر میوه‌ی جک فروت و نیز عصاره‌ی پری‌بیوتیکی آن روی دو باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لانگوم در شرایط *in vitro* مورد بررسی قرار گرفت و با اینولین و فروکتان به عنوان پری‌بیوتیک‌های تجاری مقایسه شد. نتایج نشان داد لاکتوباسیلوس کازئی در مقایسه با

به ترتیب ۰/۷، ۰/۳۲، ۰/۶۴ و ۰/۸۳ Log cfu/ml بود. کمترین میزان رشد *L. casei* همانطور که در شکل ۱ (a) مشاهده می‌شود در محیط کشت GF-MRSB مشاهده گردید که به دلیل عدم دسترسی به منابع قندی می‌باشد. در این روز اختلاف معنی‌داری بین جمعیت *L. casei* در دو محیط کشت حاوی پری‌بیوتیک تجاری FOS با ASP-۰/۵٪ از نظر تحریک رشد *L. casei* مشاهده نشد. باگذشت زمان تخمیر به ۴۸ ساعت بیشترین میزان افزایش جمعیت به ترتیب در محیط حاوی FOS-۱٪، ASP-۰/۵٪ و ASP-۱٪، کترل منفی و گلوکز مشاهده گردید و از این نظر اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده گردید ($P < 0/05$). به جز نمونه‌های گلوکز و کترل منفی، میزان افزایش جمعیت *L. casei* در طی ۲۴ ساعت دوم تخمیر در تمامی محیط‌ها معنی‌دار بود ($P < 0/05$). تغییرات جمعیت *B. longum* در طی ۴۸ ساعت تخمیر نیز در شکل ۱ (b) مشاهده می‌شود. در زمان ۰، اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های مختلف از نظر سطح تلقيق *B. longum* مشاهده نشد ($P > 0/05$ ، اما با پیشرفت تخمیر، جمعیت باکتری در تمامی محیط‌های کشت افزایش یافت. میزان افزایش جمعیت *B. longum* در محیط کشت حاوی ASP-۱٪، ASP-۰/۵٪، FOS-۱٪، ASP-۱٪، کترل منفی و گلوکز، به ترتیب ۰/۹۵، ۰/۶۶، ۰/۶۱، ۰/۶۱، ۰/۶۱ Log cfu/ml در ۲۴ ساعت دوم تخمیر، بیشترین میزان افزایش جمعیت

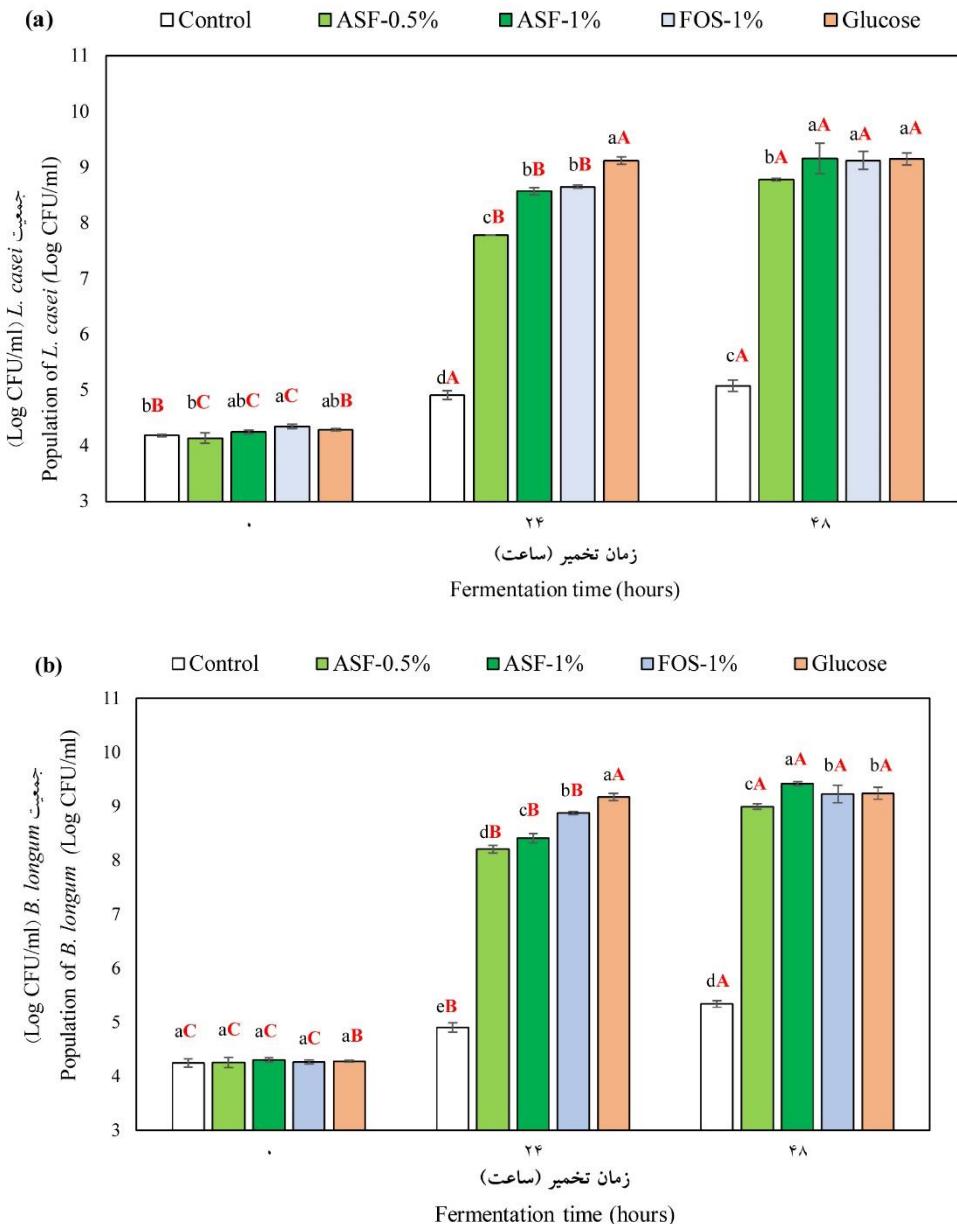
B. longum در محیط کشت حاوی ASP-۱٪ مشاهده شد ($P < 0/01$) و پس از آن $0/05$ Log cfu/ml، $0/079$ Log cfu/ml، $0/035$ Log cfu/ml ($P < 0/43$) و گلوکز $0/07$ Log cfu/ml ($P < 0/07$) قرار گرفتند. غلات و حبوبات جوانه زده منبع سرشار از مواد مغذی از قبیل ویتامین‌ها، قند، مواد ازته، آنتی‌اکسیدان‌ها، اسیدهای

¹ *Lactobacillus acidophilus*

² *Bifidobacterium animalis*

عصاره‌ی پری‌بیوتیکی جک فروت در مقایسه با اینولین و فروکتان و محیط کشت تجاری MRS بالاتر بود هرچند اختلاف معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد.

بیفیدوباکتریوم لانگوم رشد بیش‌تری روی پودر میوه‌ی جک فروت و نیز عصاره‌ی پری‌بیوتیکی آن دارد. همچنین میزان رشد لانگوم‌سیلوس کازئی روی



شکل ۱- تغییرات جمعیت باکتری *L. casei* (a) و *B. longum* (b) طی ۴۸ ساعت تخمیر در حضور پودر جوانه یونجه و فروکتوالیگوساکارید

حروف کوچک متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین ترکیبات پری‌بیوتیک در هر روز می‌باشند ($P < 0.05$). حروف بزرگ متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی‌دار بین زمان‌های مختلف تخمیر یک ترکیب پری‌بیوتیک می‌باشند ($P < 0.05$).

Figure 1. Changes in the population of *L. casei* (a) and *B. longum* during 48 hours of fermentation in the presence of alfalfa sprout powder and fructooligosaccharide

Different small letters in each column indicate significant differences between different prebiotics at each time ($P < 0.05$). Different capital letters in each column indicate significant differences between different days of each prebiotic ($P < 0.05$).

گردید. در حضور باکتری *B. longum* $B.$ نیز تغییرات مشابهی در pH محیط کشت مشاهده گردید به طوری که در ۲۴ ساعت ابتدایی تخمیر بیشترین میزان تولید اسید و افت pH به ترتیب در محیط کشت حاوی گلوکز ($2/13\%$) $< FOS-1\%$ ($0/86\%$) $< 1\%$ ($b/2$). ASP ($0/78\%$) $< 0/5\%$ ($0/59\%$) بود (شکل ۲). ASP با ادامه‌ی زمان تخمیر، تغییر معناداری در pH محیط کشت حاوی گلوکز مشاهده نشد ($P > 0/05$) (P) حال آنکه در حضور FOS و غلط‌های مختلف ASP افت pH هرچند با میزان کمتر اما ادامه یافت. اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه^۱ (SCFAs) (نظری استیک اسید، پروپوپونیک اسید، بوتیریک اسید، لاکتیک اسید) محصولات نهایی اصلی تولید شده از فیرها و کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم توسط تخمیر باکتریایی هستند که به اسیدی شدن محیط منجر می‌شوند (۳۷). همانطور که در بخش قبلی گفته شد، ASP حاوی مقادیر قابل توجهی فیر و کربوهیدرات‌های می‌باشد که می‌توانند توسط آنزیم‌های باکتریایی هیدرولیز شده و با تولید SCFAs اسیدیتی محیط کشت را افزایش دهند. لازم به ذکر است هر دو باکتری کمترین میزان تولید اسید را در نمونه‌ی کنترل منفی نشان دادند و pH این نمونه‌ها افزایش جزئی نشان داد و این افزایش طی ۴۸ ساعت تخمیر برای *L. casei* و *B. longum* به ترتیب $0/2$ و $0/19$ بود. احتمالاً افزایش pH در نمونه‌ی کنترل منفی به دلیل این است که باکتری‌های مورد بررسی تنها از منابع ازته موجود جهت رشد و تکثیر خود استفاده کرده و متabolیت‌های حاصل از آن‌ها سبب افزایش pH محیط شده‌اند (۳۸). مصرف سریع گلوکز باعث افزایش اسیدیتی محیطی می‌شود که برای رشد میکروارگانیسم‌ها در محیط حاوی گلوکز مناسب نیست. در دسترس بودن قندهای آزاد به عنوان منبع

در مورد بیفیدوباکتریوم لانگوم نتایج نشان داد این باکتری روی اینولین رشد بیشتری نسبت به پودر میوه‌ی جک فروت، عصاره‌ی پری‌بیوتیکی و فروکتان دارد. محققین تفاوت مشاهده شده بین رشد دو باکتری در حضور ترکیبات پری‌بیوتیکی مختلف را به توانایی آن‌ها در تخمیر کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم نسبت دادند. طبق این نتایج بیفیدوباکتریوم لانگوم بیشتر قادر به تجزیه‌ی ترکیبات پری‌بیوتیک پیچیده نظری اینولین بود درحالی که لاکتوپاسیلوس کازئی محیط سرشار از مواد مغذی موجود در عصاره پری‌بیوتیکی میوه‌ی جک فروت را به پری‌بیوتیک‌های تجاری ترجیح داد (۳۵). در تائید نتایج این بخش از پژوهش، افروندن پودر هسته خرما به فرمولاسیون ماست سین بیوتیک سبب افزایش زنده مانی دو باکتری لاکتوپاسیلوس/سیلوفیلوس ۵ و بیفیدوباکتریوم لاکتیس ۱۲ Bb-12 گردید که احتمالاً با درصد بالای فیر موجود در آن مرتبط است (۳۶).

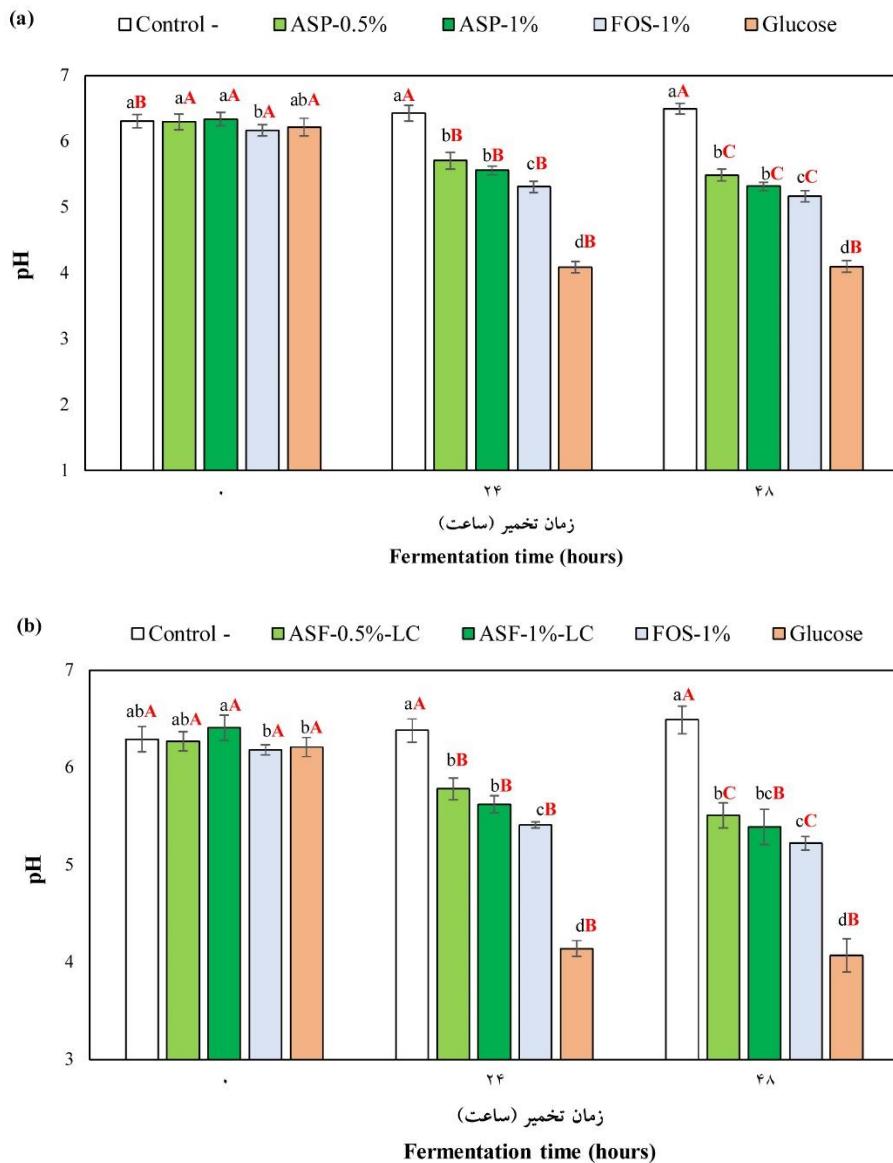
pH: تغییرات pH: تغییرات pH محیط کشت GF-MRSB در حضور دو باکتری پروپوپونیک و ترکیبات پری‌بیوتیکی مختلف طی ۴۸ ساعت تخمیر مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل ۲ (a) دیده می‌شود، در حضور *L. casei* در روز 0 بیشترین pH در محیط کشت حاوی $ASP-1\%$ مشاهده گردید که اختلاف معنی‌داری با $FOS-1\%$ و گلوکز داشت. پس از گذشت ۲۴ ساعت، به جز نمونه‌ی کنترل منفی، در سایر نمونه‌ها pH به طور معناداری کاهش یافت و میزان افت pH در محیط کشت حاوی گلوکز، $ASP-0/5\%$, $FOS-1\%$, $ASP-1\%$, $0/77$, $0/49$ و $0/07$ بود. با ادامه روند تخمیر، افت pH می‌گیرد که در تمامی نمونه‌ها ادامه یافت هرچند نسبت به ۲۴ ساعت ابتدایی کمتر بود. کمترین و بیشترین میزان افت pH در ۲۴ ساعت دوم تخمیر در محیط کشت حاوی گلوکز و $ASF-0/5\%$ مشاهده

^۱ Short Chain Fatty Acid

ویژگی‌های تغذیه‌ای جوانه یونجه و تأثیر تخمیر با بакتری‌های... / مریم قادری قهفرخی و همکاران

متاپولیکی متنوع شود (۳۹). در مقابل همانطور که شد، رشد هر دو بacterی و تولید اسید و کاهش pH، در محیط حاوی ASP در ۲۴ ساعت دوم تخمیر ادامه یافته است.

ساده کردن منجر به سرکوب کاتابولیک و تولید اسید بیشتر در محیط‌های حاوی گلوکز می‌شود. در مقابل تأثیر در متاپولیسم پلی‌ساکاریدها به دلیل پیچیدگی ساختار آن‌ها است که می‌تواند باعث القای مسیرهای



شکل ۲- تغییرات pH محیط کشت طی ۴۸ ساعت تخمیر با بacterی *L. casei* (a) و *B. longum* (b) در حضور پودر جوانه یونجه و فروکتوالیگوساکارید

حروف کوچک متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین ترکیبات پری‌بیوتیک در هر روز می‌باشند ($P < 0.05$). حرروف بزرگ متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین زمان‌های مختلف تخمیر یک ترکیب پری‌بیوتیک می‌باشد ($P < 0.05$).

Figure 2. Changes in the pH of media during 48 h fermentation by of *L. casei* (a) and *B. longum* in the presence of alfalfa sprout powder and fructooligosaccharide
Different small letters in each column indicate significant differences between different prebiotics at each time ($P < 0.05$). Different capital letters in each column indicate significant differences between different days of each prebiotic ($P < 0.05$).

پرولیوپوتیک می‌شوند. در مقابل تخمیر توسط باکتری‌های پرولیوپوتیک نیز سبب افزایش زیست دسترسی ترکیبات فنولی، افزایش محتوای فنولی و آزاد کردن ترکیبات حد واسطه جدید می‌گردد (۴۰). در این مطالعه نیز تأثیر فرآیند تخمیر توسط دو باکتری *B. longum* و *L. casei* آنتی‌اکسیدانی ASP مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج آن در شکل ۳ مشاهده می‌شود. لازم به ذکر است TPC و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در محیط حاوی گلوکز FOS به دلیل فقدان منابع پلی‌فنولی و همچنین تداخل ترکیبات قندی در تعیین TPC به دلیل واکنش با معرف فولیزن-سیوکالتو اندازه‌گیری نشدند. نمونه کنترل منفی نیز در تمامی زمان‌های اندازه‌گیری فاقد TPC بود. در ابتدای تخمیر و در سطح غلاظت مشابه ASP، اختلاف معنی‌داری بین TPC در محیط‌های تلقیح شده با *L. casei* و *B. longum* مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵$). طی ۲۴ ساعت ابتدایی تخمیر، TPC در تمامی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۵$). میزان افزایش در محیط حاوی ASP-۱٪ و ASP-۰/۵٪ و TPC در محیط تلقیح شده با *L. casei* به ترتیب ۲۸/۱ و ۶۷/۶٪ و در محیط تلقیح شده با *B. longum* به ترتیب ۶۰/۳ و ۸۹/۷۹٪ بود. افزایش TPC طی روز ۲ تخمیر نیز ادامه یافت و به حد اکثر میزان خود رسید. همانطور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، اختلاف معنی‌داری بین عملکرد دو باکتری در افزایش TPC مشاهده گردید و در هر دو سطح غلاظت *L. casei* ASP توانایی بیشتری در افزایش TPC نسبت به *B. longum* داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH نیز مشابه با TPC برای تمامی نمونه‌ها روند افزایشی در طول زمان تخمیر نشان داد. بیشترین میزان فعالیت مهارکنندگی طی ۴۸ ساعت تخمیر، به ترتیب مربوط

دلیل این مشاهده را می‌توان به ظرفیت بافری بالای موجود در آرد بسیاری از غلات و حبوبات نسبت داد. از آنجاکه pH پایین اغلب فاکتور محدودکننده برای رشد بسیاری از باکتری‌های پرولیوپوتیک محسوب می‌باشد احتمالاً ASP با ظرفیت بافری بالای خود، امکان ادامه رشد باکتری‌های مورد مطالعه را در ساعات پایانی تخمیر فراهم کرده است (۴۰). در مطالعه‌ی انجام شده توسط Sah و همکاران (۲۰۱۶)، پتانسیل پرولیوپوتیکی پودر ضایعات آناناس به عنوان سوبسترانی تخمیر برای باکتری‌ها با پایش تغییرات میزان اسید تولید شده در محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد بیشترین میزان اسید در محیط کشت حاوی پودر تفاله آناناس خشک شده به روش انجامدادی در حضور لاکتوباسیلوس پاراکازئی^۱ تولید شده است (۱۹). همچنین در مطالعه دیگری، توانایی تغییر pH محیط کشت در حضور پلی‌ساکارید استخراج شده از میوه بلوط، توسط لاکتوباسیلوس پلانتاروم^۲ مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد، pH محیط کشت طی ۷۲ ساعت تخمیر به‌طور معناداری کاهش یافت. کاهش مشاهده شده نسبت به گلوکز کمتر و نسبت به اینولین بیشتر بود (۴۱). این تفاوت‌ها به تنوع مسیرهای متابولیکی مختلف برای هضم سوبستراناهای موجود در محیط‌های تخمیر نسبت داده شد.

ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی: برخلاف تصویراتی که از اثرات ضد میکروبی ترکیبات فنولی روی تمامی باکتری‌ها وجود دارد، نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد، ترکیبات فنولی نه تنها روی پرولیوپوتیک‌ها اثرات ضد میکروبی ندارند بلکه سبب تحریک رشد و همچنین زنده‌مانی باکتری‌های

^۱ *Lactobacillus paracasei*

^۲ *Lactiplantibacillus plantarum*

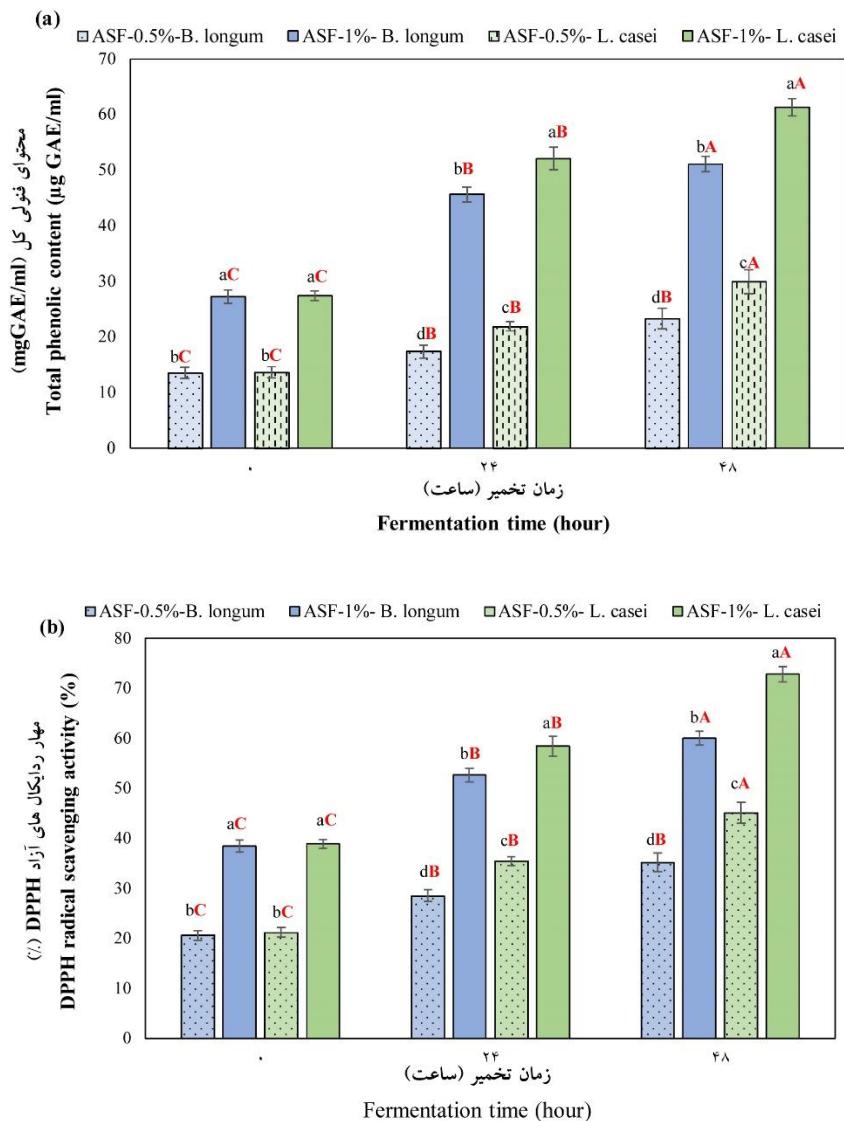
به محیط حاوی ASP-۱% در حضور باكتری *L.* *casei* (٪. ۳۸/۹-۷۲/۸)، محیط حاوی ASP-۱% در *B. longum* (٪. ۳۸/۴۵-۶۰/۰۴)، محیط حاوی ASP-۰/۵% در حضور باكتری *L. casei* (٪. ۴۵/۱۲-۲۱/۲۳) و محیط حاوی ASP-۰/۵% در حضور باكتری *B. longum* (٪. ۲۰/۶۳-۳۵/۲۲) بود. شاکرمی و همکاران (۲۰۲۲)، گزارش کردند TPC عصاره مтанولی (٪. ۸۰) پودر جوانه یونجه معادل $284/34 \pm 17/64$ میلی‌گرم معادل گالیک اسید در هر ۱۰۰ گرم عصاره مтанولی خشک شده به روش انجامدی می‌باشد (۲۵). سینامیک اسید، لوئیولین-۴-*O*-گلوکوزید، *p*-کوماریک اسید، فرولیک اسید و لوئیولین-۷-*O*-گلوکوزید مهم‌ترین ترکیبات فنولی تشکیل دهنده‌ی عصاره خشک جوانه یونجه و دایدزین^۱ و جنیستین^۲، دایدزین^۳ و جنیستین^۴ مهم‌ترین ترکیبات ایزو فلاونی عصاره خشک جوانه یونجه می‌باشند (۴۳).

^۱ Daidzin

^۲ Genistin

^۳ Daidzein

^۴ Genistein



شکل ۳- تغییرات محتوای فنولی کل (a) و فعالیت آنتی اکسیدانی (b) طی ۴۸ ساعت تخمیر پودر جوانه یونجه با باکتری *L. casei* (a) و *B. longum* (b).

حروف کوچک متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین ترکیبات پری‌بیوتیک در هر روز می‌باشد ($P < 0.05$). حروف بزرگ متفاوت روی هر ستون نشان دهنده اختلاف آماری معنی دار بین زمان‌های مختلف تخمیر یک ترکیب پری‌بیوتیک می‌باشد ($P < 0.05$).

Figure 3- Changes in the total phenolic content (a) and antioxidant activity (b) of media during 48 h fermentation of alfalfa sprout powder by of *L. casei* and *B. longum*

Different small letters in each column indicate significant differences between different prebiotics at each time ($P < 0.05$). Different capital letters in each column indicate significant differences between different days of each prebiotic ($P < 0.05$).

فنولی از ۵۰/۸/۵ به ۱۰۰/۲/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم فناوری از ۵۰/۸/۵ به ۱۰۰/۲/۱ میلی‌گرم در کیلوگرم همراه بود که نتایج این مطالعه را مبنی بر توانایی *L. casei* در افزایش TPC را تأیید می‌نماید. این محققین گزارش کردند اغلب ترکیبات فنولی به صورت نامحلول یا به شکل متصل به سایر ترکیبات وجود دارند. احتمالاً به دلیل فعلی شدن آنزیم‌های

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد، تخمیر ASP توسط دو باکتری پری‌بیوتیک مورد بررسی با افزایش TPC و فعالیت آنتی اکسیدانی همراه بود. تخمیر آرد کامل سویا توسط *L. casei* طی ۷۲ ساعت تخمیر، با افزایش محتوای کل ترکیبات فلاونوئیدی از ۱۰/۱/۵ به ۷۲۹/۹ میلی‌گرم در کیلوگرم و محتوای کل ترکیبات

گزارش شد (۴۶). تبدیل زیستی ترکیبات فنولی به سایر متابولیت‌ها یا سنتز ترکیبات جدید می‌تواند از طریق مسیرهای متابولیکی مختلفی رخ دهد که خود وابسته به نوع سوبسترا و نوع سویه پروپیوتیک است. هر بакتری پروپیوتیک رویکرد اختصاصی خود را در متابولیسم، تجزیه و هیدرولیز ترکیبات فنولی دارد (۴۷). بسیاری از گونه‌های پروپیوتیکی از طریق آنزیم‌های گلیکوزیل هیدرولاز، قادر به آزاد کردن آکلیکون از ساختار ترکیبات فنولی هستند و می‌توانند فرآیندهایی از قبیل دگلیکوزیلاسیون، دمتیلاسیون، دهیدروکسیلاسیون، شکستن باندهای استری، کاهش تعداد باندهای دوگانه، ایزومریزاسیون و دکربوکسیلاسیون ترکیبات فنولی را کاتالیز نمایند و دلیل مشاهده‌ی نتایج متفاوت در مطالعات مختلف همین تفاوت‌ها می‌باشدند (۴۸).

نتیجه‌گیری

جوانه یونجه یکی از اشکال پرمصرف جوانه است که به صورت تازه، پودر شده یا مکمل در بازار موجود است. با توجه به این که عمر نگهداری جوانه‌های تازه در بازار بسیار محدود است، انواع پودر شده آن در سال‌های اخیر در بازار ارائه شده‌اند. در این مطالعه ویژگی‌های تغذیه‌ای پودر آن به عنوان یک محصول در دسترس با عمر نگهداری بالا مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به درصد بالای پروتئین و چربی در این پودر، مصرف آن می‌تواند بخشی از نیاز بدن به اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب ضروری را تأمین نماید. علاوه بر املاح پر مقدار، ASP، حاوی عناصر کم مقدار نظیر آهن، مس، روی و منگنز بود. در ASP ارزیابی فعالیت پری‌بیوتیکی نیز مشخص گردید، از پتانسیل بالایی در تحریک رشد دو بакتری پروپیوتیک مورد بررسی برخوردار است و از نظر این ویژگی با پری‌بیوتیک تجاری FOS قابل رقابت بود.

تجزیه‌کننده *L. casei* ترکیبات فنولی به صورت آزاد در آمده و در نتیجه محتوای آن‌ها افزایش می‌یابد (۴۴). در مطالعه‌ی دیگری دانه‌ی کامل جو و جو دوسر در محیط آبی به مدت ۱۸ ساعت با بакتری‌های *L. johnsonii* LA1 *L. acidophilus* LA-5 و *L. reuteri* SD2112 تخمیر شدند و تغییرات محتوای ترکیبات فنولی آزاد مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان افزایش در محتوای ترکیبات فنولی *L. johnsonii* LA1 آزاد به ترتیب در محیط تخمیر با *L. acidophilus* LA-5 و *L. reuteri* SD2112 حاصل گردید. بیشترین میزان افزایش در تخمیر دانه جو از ۲/۵۵ به ۶۹/۹۱ میکروگرم در گرم و برای دانه جو دوسر از ۴/۱۳ به ۱۰۹/۴۲ میکروگرم در گرم بود. در انتهای تخمیر مقادیر قابل ملاحظه‌ای از ترکیبات فنولی باند شده در هر دو نمونه مشاهده گردید که میزان آن در جو دوسر کمتر بود (۴۵). در مطالعه دیگری تأثیر فرآیند تخمیر گنده، کینوا^۱ و لوپین^۲ با سه *B. longum* ویله

B. animalis *B. breve* و TPC بر و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در مورد تمامی نمونه‌ها در تخمیر با هر سه سویه مورد بررسی، TPC در طول زمان تخمیر افزایش یافت اما این افزایش در نمونه‌های لوپین و کینوا بیشتر از گنده بود. همچنین *B. animalis* و *B. longum* تأثیر بیشتری بر افزایش TPC نشان دادند. این افزایش به فعالیت‌های هیدرولیتیکی آنزیم‌های استرازی آزاد شده توسعه بیفیدوباکتریوم‌ها نسبت داده شد. همچنین فعالیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در لوپین، کینوا و گنده طی ۷۲ ساعت تخمیر به ترتیب بین ۳۲-۶۱، ۲۷-۶۱ و ۳۳-۳۴٪ متغیر بود. در این مطالعه همبستگی بالایی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی با TPC

¹ Quinoa

² Lupin

روی ویژگی‌های تغذیه‌ای، حسی، ترکیبات زیست فعال و فعالیت‌های بیولوژیکی این محصولات باید در مطالعات آتی مورد توجه قرار گیرد.

سپاسکزاری

بدینوسیله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه این تحقیق را در قالب پژوهانه (گرنت شماره ۳۸۶۸۷ SCU.VF1401.38687) فراهم نمودند، سپاسکزاری می‌نماید. همچنین از همکاری شرکت جوانه آفتاب مشهد باست تأمین پودر جوانه یونج‌هه صمیمانه تشکر می‌شود.

نتایج این تحقیق همچنین نشان داد، ASP و پروبیوتیک‌ها با یکدیگر تعامل مثبتی داشته‌اند به‌طوری‌که محتوای ترکیبات فنولی و اثرات آتی اکسیدانی ASP طی تخمیر به‌طور قابل توجهی افزایش یافت. علی‌رغم ارزش تغذیه‌ای بالا، ویژگی‌های ارگانولپتیکی خاص ASP نظیر بوی لوبيایي و مزه‌ی كمی تلح، روی مصرف آن اثر منفی دارد. لذا می‌توان از این محصول به‌عنوان یک ترکیب با اثرات سلامتی بخش، در فرمولاسیون غذاهای عملگرا نظیر غذاهای سیمبووتیک بهره جست. با این وجود، بررسی دقیق اثرات متقابل پروبیوتیک‌ها و

References

- Miyahira, R. F., Lopes, J.D.O., & Antunes, A.E.C. (2021). The use of sprouts to improve the nutritional value of food products: A brief review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(2), 143-152.
- Xu, M., Rao, J., & Chen, B. (2020). Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(5), 740-759.
- S. Santos, C., Silva, B., MP Valente, L., Gruber, S., & W. Vasconcelos, M. (2020). The effect of sprouting in lentil (*Lens culinaris*) nutritional and microbiological profile. *Foods*, 9(4), 400.
- Gan, R. Y., Lui, W. Y., Wu, K., Chan, C. L., Dai, S. H., Sui, Z. Q., & Corke, H. (2017). Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 1-14.
- Almuhayawi, M. S., Hassan, A. H., Al Jaouni, S. K., Alkhalfah, D. H. M., Hozzein, W. N., Selim, S., AbdElgawad, H., & Khamis, G. (2021). Influence of elevated CO₂ on nutritive value and health-promoting prospective of three genotypes of Alfalfa sprouts (*Medicago Sativa*). *Food Chemistry*, 340, 128147.
- Martínez, R., Kapravelou, G., Porres, J. M., Melesio, A. M., Heras, L., Cantarero, S., Gribble, F., Parker, H., Aranda, P., & López-Jurado, M. (2016). *Medicago sativa* L., a functional food to relieve hypertension and metabolic disorders in a spontaneously hypertensive rat model. *Journal of Functional Foods*, 26, 470-484.
- Ehsani, A.; Mahmudi, R.; Tokmechi, A.; Pajohi, MR. (2011). Iranian white chees as a food carrier for probiotic bacteria. *Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 3:77-83.
- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K., Cani, P., Verbeke, K., & Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491-502.
- Argüelles-López, O. D., Reyes-Moreno, C., Gutiérrez-Dorado, R., Sánchez-Osuna, M. F., López-Cervantes, J., Cuevas-Rodríguez, E. O., Milán-Carrillo, J., & Perales-Sánchez, J. X. K. (2018). Functional beverages elaborated from amaranth and chia flours processed by germination and extrusion. *Biotecnia*, 20(3), 135-145.
- Noori, N., Hamed, H., Kargozari, M., & Shotorbani, P. M. (2017). Investigation of potential prebiotic activity of rye sprout extract. *Food Bioscience*, 19, 121-127.

11. Almuhayawi, M. S., Hassan, A. H., Al Jaouni, S. K., Alkhalfah, D. H. M., Hozzein, W. N., Selim, S., AbdElgawad, H., & Khamis, G. (2021). Influence of elevated CO₂ on nutritive value and health-promoting prospective of three genotypes of Alfalfa sprouts (*Medicago Sativa*). *Food Chemistry*, 340, 128147.
12. Mattioli, S., Dal Bosco, A., Castellini, C., Falcinelli, B., Sileoni, V., Marconi, O., Cotuzzolo, E., & Benincasa, P. (2019). Effect of heat- and freeze- drying treatments on phytochemical content and fatty acid profile of alfalfa and flax sprouts. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(8), 4029-4035.
13. Giuberti, G., Rocchetti, G., Sigolo, S., Fortunati, P., Lucini, L., & Gallo, A. (2018). Exploitation of alfalfa seed (*Medicago sativa* L.) flour into gluten-free rice cookies: Nutritional, antioxidant and quality characteristics. *Food Chemistry*, 239, 679-687.
14. Ullah, F., Ahmad, S., Wahab, S., Zeb, A., Khan Khattak, M., Khan, S., & Kang, M. (2016). Quality evaluation of biscuits supplemented with alfalfa seed flour. *Foods*, 5(4), 68.
15. Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D., & Nickerson, M. T. (2015). Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. *Food Research International*, 76, 31-38.
16. Nateghpour, B., Kavoosi, G., & Mirakhori, N. (2021). Amino acid profile of the peel of three citrus species and its effect on the combination of amino acids and fatty acids Chlorella vulgaris. *Journal of Food Composition and Analysis*, 98, 103808.
17. Adebiyi, J. A., Obadina, A. O., Adebo, O. A., & Kayitesi, E. (2017). Comparison of nutritional quality and sensory acceptability of biscuits obtained from native, fermented, and malted pearl millet (*Pennisetum glaucum*) flour. *Food Chemistry*, 232, 210-217.
18. Moreno-Vilet, L., Garcia-Hernandez, M. H., Delgado-Portales, R. E., Corral-Fernandez, N. E., Cortez-Espinosa, N., Ruiz-Cabrera, M. A., & Portales-Perez, D. P. (2014). In vitro assessment of agave fructans (*Agave salmiana*) as prebiotics and immune system activators. *International Journal of Biological Macromolecules*, 63, 181-187.
19. Sah, B. N. P., Vasiljevic, T., McKechnie, S., & Donkor, O. N. (2016). Effect of pineapple waste powder on probiotic growth, antioxidant and antimutagenic activities of yogurt. *Journal of food science and technology*, 53, 1698-1708.
20. Li, J., Zhang, X., Cao, L., Ji, J., & Gao, J. (2018). Three inulin-type fructans from Codonopsis pilosula (Franch) Nannf. Roots and their prebiotic activity on *Bifidobacterium longum*. *Molecules*, 23(12), 3123.
21. Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49-55.
22. Zhang, H., Cui, S. W., Nie, S. P., Chen, Y., Wang, Y. X., & Xie, M. Y. (2016). Identification of pivotal components on the antioxidant activity of polysaccharide extract from *Ganoderma atrum*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary fibre*, 7(2), 9-18.
23. Chen, X., Qi, Y., Zhu, C., & Wang, Q. (2019). Effect of ultrasound on the properties and antioxidant activity of hawthorn pectin. *International journal of biological macromolecules*, 131, 273-281.
24. Shakrami, Maryam. (2022). Evaluation of physicochemical and organoleptic characteristics and *Lactobacillus acidophilus* viability in flavored yoghurt supplemented with alfalfa sprout. Master's thesis. Shahid Chamran University of Ahvaz.
25. Babinec, J., Kozova, Z., Strakova, E., & Suchý, P. (2001). The variance of the amino acids in some lucerne (*Medicago sativa* L.) populations. *CIHEAM*, 45, 235-239.
26. Apostol, L., Lorga, S., & Mosoiu, C. (2017). Alfalfa concentrate—a rich source of nutrients for use in food products. *Journal of international scientific publications. Agriculture & Food*, 5, 66-73.
27. Zrig, A., Saleh, A., Hamouda, F., Okla, M. K., Al-Qahtani, W. H., Alwasel, Y. A., Al-Hashimi, A., Hegab, M. Y., Hassan, A. H. A., & AbdElgawad, H. (2021). Impact of sprouting under potassium nitrate priming on nitrogen assimilation and bioactivity of three *Medicago* species. *Plants*, 11(1), 71.

28. Bains, K., Uppal, V., & Kaur, H. (2014). Optimization of germination time and heat treatments for enhanced availability of minerals from leguminous sprouts. *Journal of Food Science and Technology*, 51, 1016-1020.
29. Sahni, P., Sharma, S., & Surasani, V. K. R. (2020). Influence of processing and pH on amino acid profile, morphology, electrophoretic pattern, bioactive potential and functional characteristics of alfalfa protein isolates. *Food Chemistry*, 333, 127503.
30. Chiriac, E. R., Chișescu, C. L., Sandru, C., Geană, E. I., Lupoaie, M., Dobre, M., Borda, D., Gird, C. E., & Boscencu, R. (2020). Comparative study of the bioactive properties and elemental composition of red clover (*Trifolium pratense*) and alfalfa (*Medicago sativa*) sprouts during germination. *Applied Sciences*, 10(20), 7249.
31. Marton, M.; Mandoki, ZS.; Csapo-Kiss, ZS.; Csapo, J. (2010). The role of sprouts in human nutrition. A review. *Acta Univ. Sapientiae*, 3: 81-117.
32. Ghani, M., Kulkarni, K. P., Song, J. T., Shannon, J. G., & Lee, J. D. (2016). Soybean sprouts: A review of nutrient composition, health benefits and genetic variation. *Plant Breeding and Biotechnology*, 4(4), 398-412.
33. Călinou, L. F., Vodnar, D. C., & Precup, G. (2016). The probiotic bacteria viability under different conditions. *Bulletin UASVM Food Science and Technology*, 73(2), 55-60.
34. García, S. N. C., Rodríguez-Herrera, R., Flores, S. N., Silva-Belmáres, S. Y., Esparza-González, S. C., Ascacio-Valdés, J. A., & Flores-Gallegos, A. C. (2023). Sprouts as probiotic carriers: A new trend to improve consumer nutrition. *Food Chemistry: Molecular Sciences*, 7, 100185.
35. Trejo Rodriguez, I. S., Alcantara Quintana, L. E., Algara Suarez, P., Ruiz Cabrera, M. A., & Grajales Lagunes, A. (2021). Physicochemical properties, antioxidant capacity, prebiotic activity and anticancer potential in human cells of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seed flour. *Molecules*, 26(16), 4854.
36. Ghasrehamidi, S., & Daneshi, M. (2018). Effect of Date seed Powder on qualitative properties and survival of probiotic bacteria in set yogurt. *Food Processing and Preservation Journal*, 11(1), 19-32.
37. Naqash, F., Masoodi, F. A., Rather, S. A., Wani, S. M., & Gani, A. (2017). Emerging concepts in the nutraceutical and functional properties of pectin—A Review. *Carbohydrate polymers*, 168, 227-239.
38. Wang, X., Huang, M., Yang, F., Sun, H., Zhou, X., Guo, Y., Wang, X., & Zhang, M. (2015). Rapeseed polysaccharides as prebiotics on growth and acidifying activity of probiotics *in vitro*. *Carbohydrate Polymers*, 125, 232-240.
39. Akbari-Alavijeh, S., Soleimanian-Zad, S., Sheikh-Zeinoddin, M., & Hashmi, S. (2018). Pistachio hull water-soluble polysaccharides as a novel prebiotic agent. *International Journal of Biological Macromolecules*, 107, 808-816.
40. Pallin, A., Agback, P., Jonsson, H., & Roos, S. (2016). Evaluation of growth, metabolism and production of potentially bioactive components during fermentation of barley with *Lactobacillus reuteri*. *Food Microbiology*, 57, 159-171.
41. Tadayoni, M., Sheikh-Zeinoddin, M., & Soleimanian-Zad, S. (2015). Isolation of bioactive polysaccharide from acorn and evaluation of its functional properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 179-184.
42. Sharma, R., Diwan, B., Singh, B. P., & Kulshrestha, S. (2022). Probiotic fermentation of polyphenols: Potential sources of novel functional foods. *Food Production, Processing and Nutrition*, 4(1), 21.
43. Silva, L. R., Pereira, M. J., Azevedo, J., Gonçalves, R. F., Valentão, P., de Pinho, P. G., & Andrade, P. B. (2013). *Glycine max* (L.) Merr., *Vigna radiata* L. and *Medicago sativa* L. sprouts: A natural source of bioactive compounds. *Food Research International*, 50(1), 167-175.
44. Li, S., Jin, Z., Hu, D., Yang, W., Yan, Y., Nie, X., Lin, J., Zhang, Q., Gai, D., Ji, Y., & Chen, X. (2020). Effect of solid-state fermentation with *Lactobacillus casei* on the nutritional

- value, isoflavones, phenolic acids and antioxidant activity of whole soybean flour. *LWT-Food Science and Technology*, 125, 109264.
45. Hole, A. S., Rud, I., Grimmer, S., Sigl, S., Narvhus, J., & Sahlstrøm, S. (2012). Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(25), 6369-6375.
46. Ayyash, M., Johnson, S. K., Liu, S. Q., Al-Mheiri, A., & Abushelaibi, A. (2018). Cytotoxicity, antihypertensive, antidiabetic and antioxidant activities of solid-state fermented lupin, quinoa and wheat by *Bifidobacterium* species: In-vitro investigations. *LWT-Food Science and Technology*, 95, 295-302.
47. He, Z., Zhang, H., Wang, T., Wang, R., & Luo, X. (2022). Effects of five different lactic acid bacteria on bioactive components and volatile compounds of oat. *Foods*, 11(20), 3230.
48. Braune, A., & Blaut, M. (2016). Bacterial species involved in the conversion of dietary flavonoids in the human gut. *Gut Microbes*, 7(3), 216-234.