



بررسی اثر افزودن عصاره مالت بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی آب سیب پروبیوتیک حاوی

### *Lactobacillus plantarum*

زهرا قاسملو<sup>۱</sup>، دینا شهرام‌پور<sup>۲\*</sup>، مرتضی خمیری<sup>۳</sup>، الهام اسدپور<sup>۴</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی بهاران، گرگان، ایران.

۲- استادیار، گروه پژوهشی ایمنی و کنترل کیفیت مواد غذایی، موسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۴- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، موسسه آموزش عالی بهاران، گرگان، ایران.

#### چکیده

#### اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

در این پژوهش تاثیر افزودن درصدهای مختلف عصاره مالت (۶، ۴/۵، ۳، ۱/۵ درصد v/v) به آب سیب بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در طول یک ماه نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس مورد بررسی قرار گرفت. علاوه بر این جهت ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی آب سیب پروبیوتیک، آزمون‌های اندازه‌گیری pH، اسیدیته، بریکس، قند کل، ارزیابی حسی انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره مالت در آب سیب میزان اسیدیته، بریکس، قند کل افزایش و pH کاهش یافت. به علاوه در پایان زمان نگهداری بیشترین اسیدیته و کمترین pH به نمونه آب سیب حاوی ۶ درصد (v/v) عصاره مالت تعلق داشت. همچنین افزودن عصاره مالت منجر به بهبود زنده‌مانی و افزایش جمعیت باکتری پروبیوتیک در نمونه‌های آب سیب نسبت به نمونه کنترل گردید. همچنین بین جمعیت باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* در نمونه‌های آب سیب حاوی عصاره مالت تفاوت معناداری در پایان دوره نگهداری سرد مشاهده نشد (p > 0/05). در آزمون ارزیابی حسی بالاترین امتیاز پذیرش کلی نیز توسط ارزیابان به ترتیب به نمونه‌های آب سیب حاوی ۱/۵ و ۳ درصد عصاره مالت اختصاص یافت. با توجه به نتایج حاصل از افزودن عصاره مالت بر ویژگی‌های آب سیب پروبیوتیک، آب‌میوه تولیدی در این پژوهش می‌تواند جایگزین مناسبی برای آب میوه موجود در بازار با خواص فراسودمند باشد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۲

کلمات کلیدی:

آب سیب،

عصاره مالت،

*Lactobacillus plantarum*

پروبیوتیک.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.321

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.29.0

\* مسئول مکاتبات:

d.shahrapour@rifst.ac.ir

## ۱- مقدمه

امروزه در بسیاری از جوامع، اهمیت مصرف غذا در سلامتی انسان علاوه بر تامین انرژی بسیار مورد توجه قرار گرفته است. بر طبق آمارهای منتشر شده بازار تولید و مصرف "غذاهای فراسودمند" گسترش یافته است و فرآورده‌های غذایی پروبیوتیک بیش از ۶۰ درصد این بازار را به خود اختصاص داده‌اند [۱].

غذاهای فراسودمند به فرآورده‌هایی گفته می‌شود که علاوه بر تامین نیازهای تغذیه‌ای پایه موجب ارتقای سطح سلامت مصرف کننده می‌شوند. در بین غذاهای فراسودمند، محصولات غذایی پروبیوتیک حاوی میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک اهمیت ویژه‌ای یافته‌اند. واژه پروبیوتیک به آن دسته از میکروارگانیسم‌های زنده-ای اطلاق می‌شود که مصرف آن‌ها اثرات سلامتی بخشی را بر فرد میزبان دارد. زیرا این میکروارگانیسم‌ها علاوه بر کمک به گوارش، مولکول‌های پیچیده و ترکیباتی مانند ویتامین‌ها و پپتیدهای ضد میکروبی مختلف را تولید می‌کنند که برای بدن مفید است. منبع باکتری‌های پروبیوتیک علاوه بر دستگاه گوارش انسان و حیوانات، مواد غذایی برپایه لبنیات، میوه‌ها و غلات هستند. عمده سویه‌های میکروبی که به عنوان پروبیوتیک مورد استفاده قرار می‌گیرند به دو جنس لاکتوباسیلوس و بیفیدوباکتر تعلق دارند. این باکتری‌ها از نظر ویژگی‌ها گرم مثبت، غیر اسپورزا، میکروآتروفیل، کاتالاز منفی و میله‌ای شکل هستند. لاکتوباسیلوس‌ها در بیشتر موارد به‌عنوان آغازگر در صنایع غذایی استفاده می‌شوند زیرا در برابر استرس‌های محیطی مقاومت بیشتری نسبت به بیفیدوباکترها دارند [۲]. سبک زندگی پرتنش امروزی بشر مشکلات زیادی برای سلامتی انسان‌ها ایجاد کرده است که منجر به ایجاد بیماری‌هایی مانند حمله قلبی، فشارخون بالا، عدم تحمل لاکتوز، آلرژی، اختلالات روده‌ای و انواع مختلف سرطان‌های روده شده است. یکی از راه‌کارهای مؤثر در پیشگیری یا مقابله این بیماری‌ها مصرف فرآورده‌های پروبیوتیک است که امروزه در بسیاری از کشورهای جهان رواج یافته است. فرآورده‌های لبنی از جمله رایج‌ترین محصولات پروبیوتیک در کشورهای مختلف هستند که بسیاری از افراد به دلیل مشکلات عدم تحمل لاکتوز یا کلاستروپال بالا تمایلی به مصرف آن‌ها ندارند [۳]. بنابراین در سال‌های اخیر تحقیقات بسیاری جهت تولید و عرضه

محصولات جدید غیرلبنی پروبیوتیک انجام شده است. در این میان آب میوه‌های پروبیوتیک بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. استفاده از پروبیوتیک‌ها در آب میوه و سبزی در قالب نوشیدنی‌های غیرلبنی پروبیوتیک می‌تواند گزینه خوبی برای گروهی از مردم با نیازهای خاص، نظیر گیاه‌خواران و افراد با واکنش‌های آلرژیک به پروتئین‌های شیر باشد [۴].

سیب با نام علمی *Malus domestica* یکی از محصولات مهم باغبانی جهان محسوب شده و بالاترین میزان تولید آن به کشورهای چین، آمریکا و فرانسه تعلق دارد. در میان ده کشور برتر تولیدکننده سیب، ایران مقام ششم را داشته و تولید سیب در سطح کشور بعد از مرکبات مقام دوم را به خود اختصاص داده است. استان‌های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و تهران به ترتیب دارای بالاترین سطح زیر کشت سیب در ایران می‌باشند. ارزش غذایی میوه سیب، در ۱۰۰ گرم بافت تازه آن شامل آب ۸۴/۴ گرم، پروتئین ۰/۳ گرم، چربی ۰/۱ گرم، قند ۱۴/۷ گرم، نشاسته ۰/۲ گرم، مواد فیبری، ۲/۳ گرم، ویتامین ث ۵ میلی‌گرم، بتاکارتن ۵ میلی‌گرم، پتاسیم ۱۰۰ میلی‌گرم و کلسیم ۴ میلی‌گرم می‌باشد [۵]. به طور کلی آب میوه‌ها به دلیل داشتن انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی و فیبر فراوان به عنوان نوشیدنی مورد علاقه همه سنین مطرح هستند. با این حال تولید نوشیدنی‌های غیرلبنی پروبیوتیک مانند آب میوه‌ها همواره با چالش‌هایی رو به رو بوده است به دلیل نامساعد بودن شرایط از نظر pH و مواد مغذی که منجر به کاهش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک در طول نگهداری آب‌میوه می‌شود.

عصاره مالت سرشار از ویتامین‌های گروه ب و همچنین املاح موردنیاز بدن مانند منیزیم، سلنیم، آهن، کلسیم و همچنین قندهای قابل تخمیر با قابلیت تجزیه و جذب سریع، عطر و طعم و قدرت طعم‌دهندگی بالا است که در صنعت نوشیدنی کاربرد بسیاری دارد. در مطالعات مختلفی به نقش پری‌بیوتیکی عصاره مالت در بهبود زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در فرآورده‌های لبنی و شرایط اسیدی شبیه سازی شده معده اشاره شده است [۶].

در زمینه تولید آب میوه‌های پروبیوتیک نیز مطالعات مختلفی توسط پژوهشگران انجام شده‌است برای مثال برخی از پژوهشگران در مطالعه‌ای به بررسی قابلیت رشد و زنده‌مانی باکتری *Lactococcus lactis* در آب هویج به عنوان یک

نوشیدنی غیر لبنی پروبیوتیک پرداختند. نتایج نشان داد که استفاده از این باکتری اثرات مثبتی بر پایداری آب هویج در طول نگهداری در یخچال داشت و همچنین کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی نیز کاهش معنی داری نشان ندادند. در حالی که افت میزان pH و قندهای احیا مشاهده گردید [۷]. عده‌ای از پژوهشگران ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و حسی آب‌میوه پروبیوتیک بر پایه مخلوط آلبالو، کرنبری و سیب حاوی درصدهای مختلف از دو باکتری *L. acidophilus* و *L. casei* را بررسی کردند. نتایج نشان داد در طی ۲۸ روز نگهداری در یخچال جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک افزایش و بریکس و pH و قندکل کاهش یافت. علاوه بر این رشد باکتری‌ها منجر به افت ویژگی‌های حسی آب میوه شد [۸]. در مطالعه‌ای دیگر از باکتری *L. acidophilus* در تولید آب انار پروبیوتیک استفاده شد. بر اساس نتایج در هفته اول نگهداری آب انار پروبیوتیک در یخچال جمعیت باکتری پروبیوتیک از ۷/۴۳ به ۴/۵ سیکل لگاریتمی کاهش پیدا کرد. در حالی که در هفته دوم نگهداری به دلیل اثر pH پایین آب انار باکتری قابل شمارش نبود [۹]. در پژوهشی دیگر، ویژگی‌های بیوشیمیایی و میکروبی نوشیدنی مالت حاوی سوبه‌های مختلف پروبیوتیک در طی نگهداری در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نوشیدنی مالت گزینه مناسبی برای رشد و محافظت از باکتری‌های پروبیوتیک است. به علاوه مقدار pH اولیه و نوع گونه پروبیوتیک تلقیح شده در نوشیدنی مالت، در میزان تغییرات بیوشیمیایی و قابلیت زیستی آن مؤثر بودند [۱۰].

با توجه به مطالب ذکر شده تاکنون پژوهشی در زمینه تاثیر افزودن عصاره مالت بر ویژگی‌های آب میوه پروبیوتیک انجام نشده است. بنابراین هدف از این پژوهش بررسی اثر افزودن عصاره مالت در آب سیب بر خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی و زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *Lactobacillus plantarum* در آن می‌باشد.

در این مطالعه باکتری (*L. plantarum* (PTCC 1745) از مرکز کلکسیون پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد و ویژگی‌های پروبیوتیک آن در آزمون‌های مربوطه مورد تایید قرار گرفت. جهت فعال‌سازی باکتری ابتدا کشت لیوفیلیزه تهیه شده به ۲۰ میلی لیتر محیط کشت مایع MRS (لیوفیلکم، ایتالیا)، تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در گرمخانه قرار گرفت. پس از آن جهت فعال‌سازی مجدد ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ۲۴ ساعته به محیط کشت تازه و استریل تلقیح شد. در نهایت سلول‌های باکتری توسط سانتریفوژ (g ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه) از محیط کشت مایع جدا شد. پس از دو بار شست و شو توسط سرم فیزیولوژی استریل سوسپانسیون سلول‌های باکتری در سرم فیزیولوژی با غلظت معادل ( $10^9$  cfu/ml) تهیه شد تا در مرحله بعد به آب‌میوه تلقیح گردد.

## ۲-۲- آماده‌سازی آب سیب پروبیوتیک

در این پژوهش از کنستانتره سیب تهیه شده از کارخانه آب‌میوه رضوی مشهد و آب مقطر استریل جهت تهیه آب‌میوه آب سیب با بریکس ۱۲ استفاده شد. آب سیب حاوی درصدهای مختلف از عصاره مالت (۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶ درصد) به عنوان تیمارهای مورد مطالعه و آب سیب فاقد عصاره مالت به عنوان تیمار کنترل تهیه شدند. به منظور پاستور کردن نمونه‌های آب‌میوه در این مطالعه از حمام آب ۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه استفاده گردید. در ادامه به منظور تهیه آب سیب پروبیوتیک، باکتری پروبیوتیک فعال شده در مرحله قبل به آب میوه حاوی عصاره مالت و فاقد عصاره مالت (تیمار کنترل) اضافه شدند. سپس تمامی نمونه‌ها به مدت یک ماه در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. جهت ارزیابی خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی و زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک در هر یک از تیمارهای مورد مطالعه آزمون‌های زیر در روزهای ۰ و ۷ و ۱۴ و ۲۱ و ۲۸ انجام گرفت.

## ۲-۳- ارزیابی خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی آب

### سیب پروبیوتیک

#### ۲-۳-۱- اندازه‌گیری pH

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- فعال‌سازی باکتری پروبیوتیک

## ۲-۵- آنالیز آماری

در این مطالعه تمامی آزمایشات با سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه دانکن در سطح معنادار ۹۵ درصد استفاده گردید. همچنین تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS20 و رسم نمودارها توسط EXCEL نسخه ۲۰۱۳ صورت گرفت.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی آب سیب

#### پروبیوتیک

#### ۳-۱-۱- تغییرات pH

شکل ۱ تغییرات pH تیمارهای مختلف آب سیب حاوی عصاره مالت و باکتری‌های پروبیوتیک *L. plantarum* را در طول ۴ هفته نگهداری در یخچال را نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که افزودن عصاره مالت بر میزان pH اولیه آب سیب موثر بوده است به طوری که با افزایش غلظت عصاره مالت در تیمارهای مختلف آب سیب pH اولیه افزایش یافت. تیمار آب سیب حاوی ۶ درصد عصاره مالت و تیمار کنترل به ترتیب در لحظه شروع آزمون دارای بالاترین و پایین‌ترین pH بودند. در نمونه‌ی آب سیب پروبیوتیک حاوی غلظت‌های مختلف عصاره مالت، pH اولیه بین ۴/۰۷-۳/۹ و pH نهایی در پایان روز بیست و هشتم بین ۳/۷۸-۳/۶ متغیر بود. همچنین بین pH نمونه کنترل و نمونه‌های آمیوه حاوی عصاره مالت در پایان زمان نگهداری سرد اختلاف معناداری وجود داشت ( $p < 0/05$ ). علاوه بر این بیشترین افت pH در طول زمان نگهداری در نمونه آب سیب پروبیوتیک حاوی ۶ درصد عصاره مالت مشاهده گردید. همچنین نمونه کنترل آب سیب پروبیوتیک که فاقد عصاره مالت بود در طول زمان نگهداری کمترین افت pH را نشان داد. کاهش pH در نمونه‌های آب سیب به دلیل فعالیت تخمیری باکتری‌های پروبیوتیک و مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی مرتبط می‌باشد. بیشترین میزان افت pH در بین همه تیمارها در هفته اول آزمایش مشاهده شد و با درصد عصاره مالت نیز ارتباط مستقیم داشت. بیشترین اختلاف معنادار بین pH تیمارها در روز اول و بیست و هشتم نگهداری آب‌میوه در یخچال مشاهده شد

pH تیمارهای مختلف آب سیب با استفاده از دستگاه pH متر که با بافرهای ۴ و ۷ کالیبره شده بود تعیین گردید [۱۱].

### ۲-۳-۲- اندازه‌گیری اسیدیته

جهت اندازه‌گیری اسیدیته ۱۰ سی سی آب سیب به ارلن منتقل و تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا مشاهده تغییر رنگ فنل فتالین انجام گرفت (۱۱).

### ۲-۳-۳- اندازه‌گیری بریکس (مواد جامد محلول)

بریکس یا مواد جامد محلول موجود در تیمارهای مختلف آب سیب با استفاده از دستگاه رفاکتومتر در دمای ۲۵ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد [۱۱].

### ۲-۳-۴- اندازه‌گیری قند کل

قند کل تیمارهای مختلف آب سیب به روش فهلینگ بر طبق استاندارد اندازه‌گیری شد [۱۱].

### ۲-۳-۵- ارزیابی حسی

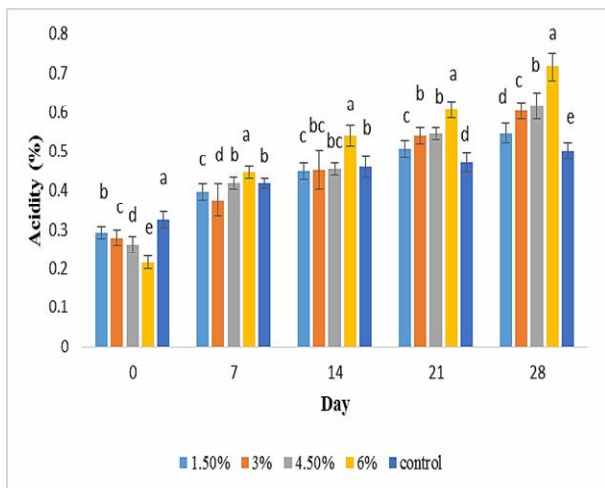
ارزیابی ویژگی‌های حسی ۵ نمونه آب سیب مورد بررسی در این پژوهش در روزهای اول و بیست و هشتم نگهداری در یخچال با حضور ده نفر از افراد آموزش دیده از لحاظ رنگ، طعم، بو، احساس دهانی و پذیرش کلی انجام گرفت. هر ارزیاب بر اساس مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای از ۱ برای "بسیار بد" و ۵ برای "بسیار خوب" به نمونه‌ها امتیاز داد.

### ۲-۴- ارزیابی زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *L. plantarum*

#### در آب سیب

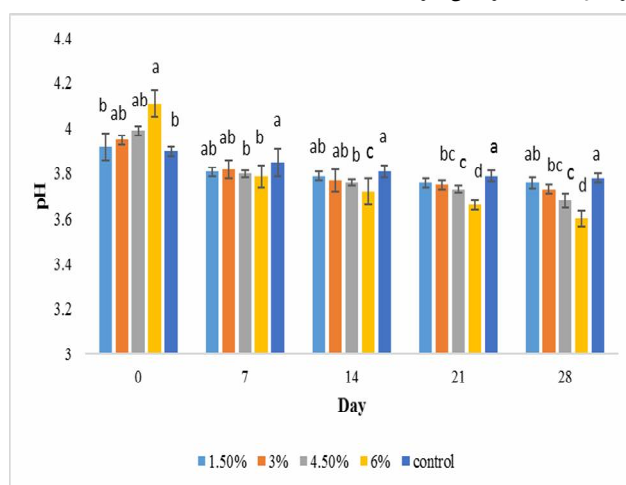
شمارش جمعیت باکتری پروبیوتیک در نمونه‌های آب سیب کنترل فاقد عصاره مالت و تیمارهای آب سیب حاوی درصد‌های مختلف عصاره مالت در طی ۳۰ روز نگهداری در دمای ۴ درجه- سلسیوس هر هفته انجام شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر از هر یک از نمونه‌ها بعد از خروج از یخچال پس از همگن شدن توسط شیکر به ۹ میلی لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه گردید و پس از تهیه رقت سریالی از آن به صورت کشت آمیخته در محیط کشت MRS آگار دار (لیوفیلکم، ایتالیا)، کشت داده شد. شمارش جمعیت باکتری‌ها در سطح پلیت‌ها پس از ۴۸ ساعت قرارگیری در ۳۷ درجه سلسیوس انجام گرفت. کلنی‌های شمارش شده به صورت Log CFU/ml گزارش شد [۹].

آب میوه پرتقال، گریپ فروت، آناناس، انار و لیمو حاوی *L. plantarum* در طول نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۶ هفته اسیدیته افزایش یافت که با نتایج حاضر مطابقت دارد (۱۴). علاوه بر این عده‌ای از پژوهشگران در بررسی تولید نوشیدنی پروبیوتیک تخمیری بر پایه‌ی مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب میوه‌جات قرمز با استفاده از باکتری *L. casei* بیان کردند در کلیه تیمارها میزان pH کاهش و میزان اسیدیته افزایش یافت (۱۵). در مطالعه‌ای دیگر نتایج پژوهشگران نشان داد که افزودن سویه‌های مختلف پروبیوتیک به نوشیدنی مالت منجر به کاهش pH نمونه‌ها و افزایش اسیدیته‌ی نمونه‌ها در طی نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل شد که با نتایج به دست آمده در این پژوهش نیز مطابقت دارد (۱۶). همچنین تفاوت در مقدار اسیدلاکتیک تولید شده توسط اسید لاکتیک باکتری‌ها مشاهده شد که به تفاوت آن‌ها در تخمیر قند بستگی دارد که این توانایی، نه تنها در گونه‌های مختلف، بلکه در سوش‌های مختلف یک گونه نیز متفاوت ارزیابی شده است. میزان pH و اسیدیته از مهم‌ترین مسائل در تولید فراورده‌های پروبیوتیکی است، زیرا کاهش pH در طول دوره نگهداری همراه با تولید اسید توسط باکتری‌ها است که نشان دهنده‌ی رشد باکتری‌های پروبیوتیک است. علت کاهش pH و افزایش اسیدیته به دلیل مصرف قند موجود در آب میوه‌ها توسط باکتری پروبیوتیک می‌باشد و هرچه از زمان افزودن باکتری می‌گذرد از سرعت کاهش pH و افزایش اسیدیته کاسته می‌شود زیرا از میزان قند آب میوه کاسته می‌شود.



**Fig 2** Acidity (%) changes in probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator.

( $p < 0.05$ ). این نتایج با نتایج مطالعه‌ای در مورد تخمیر آب چغندر حاوی *L. acidophilus*، *L. plantarum*، *L. casei* و *L. delbrueckii* مطابقت داشت. بر اساس نتایج این مطالعه *L. acidophilus* و *plantarum* توانایی بیشتری در تولید اسید و کاهش pH از ۶/۳ به ۴/۵ در طی ۴۸ ساعت داشتند [۱۲]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر پژوهشگران افت pH را در آب میوه پروبیوتیک تهیه شده از مخلوط آب آلبالو، کرنبری و سیب حاوی باکتری *L. acidophilus* و یا *L. casei* در طی ۴ هفته نگهداری در یخچال را بر خلاف نمونه کنترل آب میوه فاقد باکتری پروبیوتیک را گزارش کردند [۸].



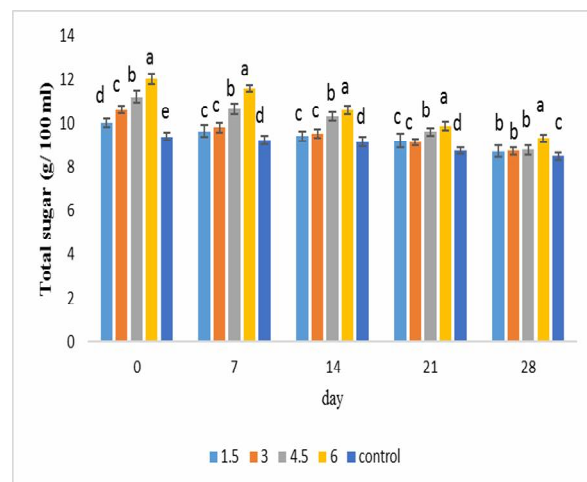
**Fig 1** pH changes in probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator.

### ۳-۱-۲- تغییرات اسیدیته

بر طبق شکل ۲، در نمونه‌ی آب سیب پروبیوتیک حاوی غلظت-های مختلف عصاره مالت اسیدیته نهایی در پایان روز بیست و هشتم نگهداری در یخچال افزایش یافت و بین ۰/۷۲-۰/۵۰ متغیر بود. بیشترین و کمترین مقدار اسیدیته به نمونه دارای ۶ درصد عصاره مالت و نمونه کنترل تعلق داشت. علاوه بر این اختلاف معناداری بین اسیدیته نمونه‌ها در روز اول و روز آخر نگهداری در یخچال مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ). به طور مشابه در مطالعه‌ی تغییرات بیوشیمیایی باکتری‌های اسید لاکتیک پروبیوتیک را به مدت ۸ هفته در دمای ۶ درجه سلسیوس در نوشیدنی مالت بررسی و اعلام شد که در دمای ۶ درجه سلسیوس مقدار pH از ۳/۹۷ به ۳/۴۶ و مقدار اسیدیته از ۰/۱۴ به ۰/۲۷ رسید و این تغییرات را به تخمیر قندها در نوشیدنی مالت نسبت دادند (۱۳). پژوهشگران طی پژوهشی گزارش کردند در

## ۳-۱-۳- تغییرات قند کل

در تمامی نمونه‌ها با افزودن عصاره مالت، قند کل افزایش یافته که این افزایش با میزان درصد عصاره مالت ارتباط مستقیم داشت. با توجه به شکل ۳ در طی نگهداری نمونه‌ها کاهش در مقدار قند اتفاق افتاد. در ابتدای آزمایش میزان قند در نمونه‌ها بین ۸/۵-۸/۶ g/L به ۹/۴-۱۲ متغیر بود که در انتهای آزمایش به ۸/۵-۸/۶ g/L رسید. کاهش قند در تمام نمونه‌ها در طی نگهداری نتیجه رشد و فعالیت باکتری *L. plantarum* در آب سیب بود. بیشترین تغییر در مقدار قند کل در نمونه دارای ۶ درصد عصاره مالت پس از ۴ هفته نگهداری در یخچال مشاهده شد. هیچ گونه اختلاف معناداری بین نمونه کنترل از نظر قند کل در روز اول و روز بیست و هشتم نگهداری وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). نصرتی و همکاران (۲۰۱۴) طی مطالعه‌ای بیان کردند که میزان گلوکز در آب هویج و آب گوجه فرنگی پروبیوتیک حاوی *L. casei* و *L. plantarum* در طول مدت نگهداری یخچالی به مدت ۴ هفته کاهش می‌یابد زیرا گلوکز مهم‌ترین منبع کربوهیدرات برای لاکتوباسیل‌ها است [۱۷]. در مطالعه‌ای پژوهشگران از هشت گونه‌ی مختلف باکتری پروبیوتیک به منظور تولید آب سیب پروبیوتیک استفاده کرده و اظهار داشتند که همه‌ی گونه‌ها به کار گرفته شده با مصرف قندهای احیا کننده در مدت ۶ هفته نگهداری یخچالی اسید تولید کردند [۱۸].

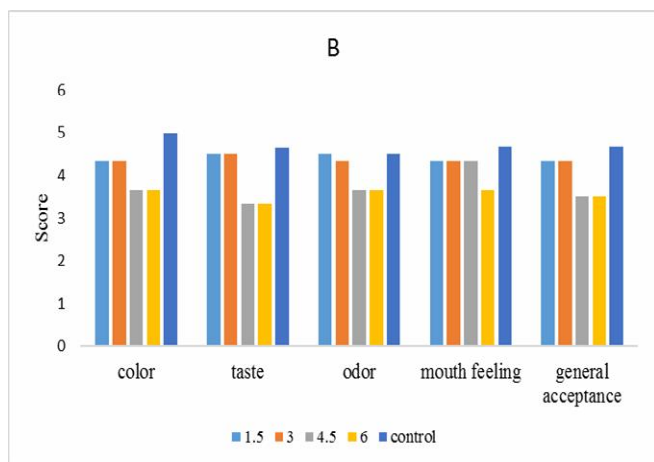
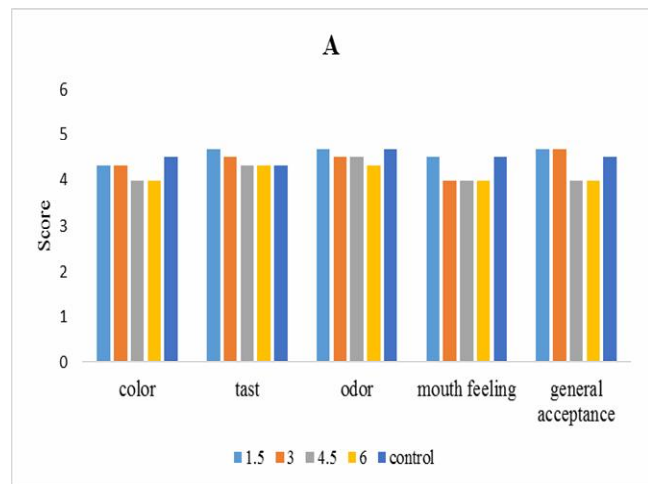


**Fig 3** Total sugar in probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator.

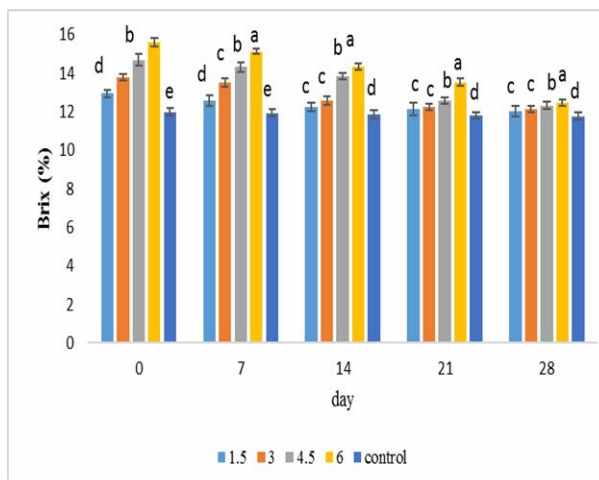
## ۳-۱-۴- تغییرات بریکس (مواد جامد محلول)

در تمامی نمونه‌ها با افزودن عصاره مالت، بریکس یا مواد جامد محلول افزایش یافت. در طی نگهداری آب سیب پروبیوتیک در یخچال بریکس نمونه آب سیب دارای ۶ درصد عصاره مالت بیشترین مقدار را داشت. با توجه به شکل ۴ بعد از اضافه کردن باکتری و شروع تخمیر قندها در طی نگهداری در یخچال کاهش در مقدار بریکس تمام نمونه‌ها اتفاق افتاد. بیشترین اختلاف معنادار بین بریکس نمونه‌ها در ابتدای آزمایش مشاهده شد و بریکس بین ۱۵/۶-۱۲ متغیر بود. در پایان روز بیست و هشتم اختلاف معناداری بین بریکس نمونه‌های حاوی ۱/۵ و ۳ درصد عصاره مالت وجود نداشت ( $p > 0/05$ ). با توجه به اینکه بریکس شامل مواد جامد محلول در آب است و قندهای موجود در آب میوه جزئی از بریکس محسوب می‌شوند، با انجام عمل تخمیر توسط باکتری *L. plantarum* و تبدیل شدن قندها به اسیدهای آلی (اسید لاکتیک) و یکسری ترکیبات فرار کاهش در مقدار قند و در نهایت کاهش بریکس اتفاق می‌افتد. با مقایسه نمودارهای تغییرات قند مشخص شده است که بیشترین کاهش در مقدار قند نیز پس از بیست و هشت روز نگهداری نمونه حاوی ۶ درصد عصاره مالت اتفاق افتاده است، که به نوعی با کاهش بریکس مطابقت دارد. پژوهشگران گزارش کردند که بریکس آب میوه‌های حاوی *L. casei*، *L. rhamnosus* و *B. lactis* بعد از ۶ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سلسیوس از ۱۱/۸ به ۹/۱ کاهش یافت، که نتایج این تحقیق را تایید می‌کند [۱۹]. به طور مشابه عده‌ای دیگر در بررسی امکان تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب میوه‌جات قرمز با استفاده از باکتری *L. casei* بیان کردند میزان قندهای احیا کننده و بریکس در طی تخمیر کاهش یافت [۲۰]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر نیز تغییرات شیمیایی و حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب آناناس، سیب و انبه را بررسی نمودند و بیان کردند در طی تخمیر، بریکس نوشیدنی پروبیوتیک کاهش یافت که با نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت [۲۱].

درصد عصاره مالت و آب سیب، ترکیبی مناسب است که طعم اسیدی نامطلوب ناشی از رشد باکتری پروبیوتیک در طی دوره نگهداری را پوشش می‌دهد. در مطالعه‌ای تاثیر افزودن باکتری‌های پروبیوتیک *L. acidophilus* و *L. casei* در نوشیدنی آلبالو، کرنبری و سیب بر ویژگی‌های حسی آن در طی نگهداری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با گذشت زمان ویژگی‌های حسی نوشیدنی تولیدی در اثر رشد و فعالیت باکتری‌ها و تولید اسید توسط آن‌ها کاهش یافت. همچنین بیشترین امتیاز پذیرش کلی به نمونه کنترل فاقد باکتری اختصاص پیدا کرد (۸). در مقابل در مطالعه‌ای دیگر گزارش شد که استفاده از *L. acidophilus* در تهیه آب انار پروبیوتیک تاثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی آب انار نداشت و تیمارهای مورد بررسی امتیاز مشابه نمونه کنترل کسب کردند [۹].



**Fig 5** Sensory analysis of probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator 1<sup>st</sup> day (A), 28<sup>th</sup> day (B).



**Fig 4** Brix changes in probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator.

### ۳-۱-۵- ارزیابی حسی

شرط اول در پذیرش محصولات غذایی در نزد مصرف کننده خواص حسی آن است. تغییرات ویژگی‌های حسی تیمارهای مختلف آب سیب حاوی عصاره مالت و باکتری‌های پروبیوتیک *L. plantarum* در طول دوره نگهداری در یخچال در شکل ۵ نمایش داده شده است. براساس نتایج این پژوهش نمونه‌های حاوی ۱/۵ و ۶ درصد عصاره مالت در روز اول آزمون از نظر ویژگی‌هایی مانند طعم، بو، احساس دهانی و رنگ در مقایسه با نمونه کنترل امتیاز پایین تری کسب کردند. در حالی که نمونه‌های آب سیب دارای ۱/۵ درصد عصاره مالت به همراه نمونه کنترل فاقد عصاره بالاترین امتیاز را در روز نخست به دست آوردند. نتایج نشان داد که با افزایش میزان عصاره مالت در آب سیب کدورت آبیومو بیشتر و امتیاز رنگ محصول کاهش یافت. علاوه بر این با افزایش درصد عصاره مالت، طعم و بو نمونه‌های آب سیب پروبیوتیک تغییر نمود این تغییرات در پایان روز بیست و هشتم نگهداری سرد به دلیل افزایش رشد و فعالیت باکتری پروبیوتیک در طی دوره نگهداری و کاهش قندکل و افزایش اسیدیته به طور نامطلوبی محسوس بود. بر این اساس بالاترین امتیاز پذیرش کلی در پایان دوره نگهداری به نمونه‌های آب سیب پروبیوتیک دارای کمترین درصدهای عصاره مالت (۱/۵ و ۳ درصد) و نمونه کنترل تعلق گرفت. این موضوع را می‌توان به پایین بودن شدت تخمیر و میزان اسید تولیدی در این نمونه‌ها نسبت داد. به طور کلی می‌توان نتیجه گرفت که ترکیب ۱/۵ و ۳

### ۳-۲- زنده‌مانی باکتری *L. plantarum* در آب

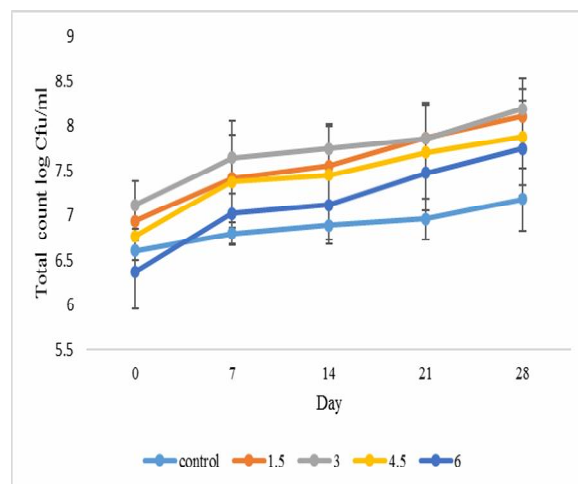
#### سیب در طول نگهداری در یخچال

با توجه به شکل ۶ می‌توان گفت با گذشت زمان نگهداری تعداد باکتری *L. plantarum* تمام تیمارهای آب سیب افزایش یافت و نسبت به روز اول اختلاف معنی دار در بین تیمارها مشاهده شد. میزان افزایش جمعیت در تیمارهای مختلف بین ۱/۱۶-۰/۲۷ سیکل لگاریتمی متغیر بود. به علاوه افزودن عصاره مالت منجر به افزایش قابلیت زنده‌مانی و رشد باکتری‌ها در آب سیب شد. در واقع باکتری‌ها با مصرف ویتامین‌ها و قندهای موجود در آب میوه و عصاره مالت به رشد خود طی دوره نگهداری ادامه می‌دهند و همچنین با تولید اسید pH را کاهش می‌دهند که می‌تواند اثر منفی بر ادامه رشد و زنده‌مانی آن‌ها داشته باشد. با این حال وجود فیبرها در آب سیب نیز با نقش پری بیوتیکی که دارد می‌تواند محرکی برای رشد باکتری *L. plantarum* محسوب شود و هم از آن‌ها در برابر آسیب‌های ناشی از کاهش pH محافظت نماید. با توجه به نتایج این مطالعه بیشترین افزایش جمعیت باکتری *L. plantarum* در هفته اول نگهداری آب سیب در یخچال به دست آمد. همچنین بین جمعیت باکتری *L. plantarum* در نمونه‌های مختلف آب سیب حاوی عصاره مالت در پایان دوره نگهداری اختلاف معناداری مشاهده نشد، در حالی که نرخ رشد باکتری در تیمار کنترل فاقد عصاره مالت بسیار کند بود. دلیل این امر را می‌توان به نقش پری بیوتیکی عصاره مالت در نمونه‌های آب سیب نسبت داد. در واقع عصاره مالت به دلیل دارا بودن قندهای قابل تخمیر و ویتامین‌های گروه ب می‌تواند منجر به تشدید رشد باکتری پروبیوتیک در آب میوه سیب شود. شواهد نشان داده‌اند که افزودن منوساکاریدها و دی ساکاریدها به محیط پایه فراورده‌های تخمیری پروبیوتیک سبب تشدید رشد برخی از پروبیوتیک‌ها می‌شود، افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها به احیا کننده بودن قند وابسته است. از این رو عصاره مالت، که به دلیل شکست نشاسته طی مالت سازی از مالتوز بالا برخوردار است، رشد پروبیوتیک‌ها را به خوبی تشدید می‌کند. علت آن اثر تحریک کنندگی قندهای احیا کننده بر پروبیوتیک‌ها وجود پمپ پروتونی ATP-آز در غشای لاکتوباسیلوس‌ها است که در محیط‌های اسیدی، یون هیدروژن را از درون سلول به بیرون آن

جابجا می‌کند [۲۲]. به طور مشابه در مطالعه‌ای دیگر باکتری‌های پروبیوتیک *L. reuteri*، *L. acidophilus* و *L. plantarum* در محصولات غیر لبنی بر پایه جو، به خوبی رشد کردند. پژوهشگران اعلام کردند که عصاره گندم و جو، تاثیر حفاظتی خوبی را بر بقای هر سه باکتری تحت شرایط اسیدی داشت [۲۳]. در مطالعه ای باکتری اسید لاکتیک شامل *L. casei*، *L. plantarum* و *L. delbrueckii* جهت تخمیر آب کلم و تولید اسیدلاکتیک مورد آزمایش قرار گرفتند. *L. casei* برخلاف دو باکتری‌های دیگر نتوانست در آب کلم رشد کرده و زنده بماند و به طور کامل بقای سلولی‌اش را بعد از ۲ هفته نگهداری از دست داد [۱۲]. نتایج حاصل از آزمایش‌های پژوهشگران در راستای مطالعه حاضر در مورد تخمیر آب سیب با استفاده از *L. casei* نشان داد این باکتری می‌تواند در شرایط نگهداری یخچالی به مدت ۲۸ روز علیرغم کاهش pH تا ۳/۸ به رشد خود ادامه دهد اما با ادامه زمان ماندگاری تا ۴۲ روز و افت بیشتر pH جمعیت باکتری *L. casei* تنها به میزان ۰/۲ سیکل لگاریتمی کاهش یافت [۲۴]. بر خلاف نتایج مطالعه حاضر دینگ و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که بعد از ۶ هفته نگهداری تعداد پروبیوتیک‌ها در نوشیدنی حاصل از مخلوط سیب و پرتقال حاوی سویه‌های مختلف پروبیوتیک آزاد تلقیحی، کاهش نشان داد [۱۸]. در مطالعه‌ای دیگر پژوهشگران به تاثیر نوع کشت آغازگر پروبیوتیک در تولید نوشیدنی مالت حاوی اینولین پرداختند، نتایج حاکی از افت جمعیت باکتری‌های پروبیوتیک در طی نگهداری بیست و هشت روزه نوشیدنی در یخچال به میزان ۱/۶-۰/۵ سیکل لگاریتمی بود و قابلیت زنده‌مانی کمتر گونه *L. acidophilus* در مقایسه با *L. casei* و *L. plantarum* مشخص شد [۱۶]. نتایج ارزیابی ویژگی‌های پروبیوتیک سویه *L. plantarum* در مطالعه پیشین شهرام پور و همکاران (۱۴۰۰) نیز موید عدم افت جمعیت و قابلیت رشد این سویه در شرایط گوارشی شبیه سازی شده با pH برابر با ۳ بود در حالی که پس از افت pH به ۲ به میزان ۱/۶۴ سیکل لگاریتمی کاهش در جمعیت باکتری مشاهده شد. در حقیقت توانایی بسیاری از باکتری‌های اسیدلاکتیک در تحمل شرایط اسیدی به قابلیت سنتز ترکیبات پلی ساکاریدی مختلف که در حفاظت از غشا سلولی نقش دارد نسبت داده شده است [۲۵].



- adjuncts: Effect of enzyme. J Inst of Brew. (1):155-170.
- [2] Tripathi, M. K., & Giri, S. K. 2014. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. J Funct Foods. 9, 225-241.
- [3] Roble, C., Auty, M. A., Brunton, N., Gormley, R. T., & Butler, F. 2010. Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. Inno Food Sci Emerg Technol. 11(1), 203-209.
- [4] Khetarpaul, N., Grewal, R., and Jood, S. 2005. Bakery Science and Cereal Technology. Daya Publishing House. Dehli. 311p.
- [5] Jaiswal, A.K., and Abu -Ghannam, N. 2013. Kinetic studies for the preparation of probiotic cabbage juice: Impact on phytochemicals and bioactivity. Ind Crops Prod. 50: 212-218.
- [6] Charalampopoulos, D., Pandiella, S.S. Webb, C. 2003. Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions. Int J Food Microbiol., 82, 133– 141.
- [7] Ayaseh, A., Taban, H., & Yari, A. (2017). Production of probiotic carrot juice with using of Lactococcus lactis. Journal of Food Research, 27(4), 183-191.[In Persian]
- [8] Daliri, S., Khorshidpour, B., Pourahmad, R. (2020). Investigation of the Possibility of Probiotic Juice Production Based on Mixture of Sour Cherry, Cranberry and Apple by Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei. Journal of Food Technology and Nutrition, 17, 53-66.[In Persian]
- [9] Ghazavi N, Abedi R. Using Lactobacillus acidophilus in production of probiotic pomegranate juice. FSCT. 2018; 15 (77) :107-99.[In Persian]
- [10] Mohammadi R, Zabihzadeh M, Delshadian Z, Sarlak Z, Mortazavian A, Hosseini M. Study on the Biochemical and Microbiological Characteristics of Several Probiotic Strains in Non-Alcoholic Beer during Storage Period. Iranian J Nutr Sci Food Technol. 2016; 11 (3) :53-62.[In Persian]
- [11] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1393). Fruit juices – Test methods. 2685.



**Fig 6** *L. plantarum* survival in probiotic apple juice containing different malt extract concentration during storage in refrigerator.

#### ۴- نتیجه گیری

تولید آب میوه‌های پروبیوتیک به دلیل pH پایین و اسیدیته بالا آن‌ها معمولاً با چالش‌های بسیاری به منظور حفظ تعداد کافی میکروارگانیسم پروبیوتیک به فرم زنده در دوره نگهداری تا زمان مصرف محصول مواجه است. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که افزودن عصاره مالت به آب میوه سبب به دلیل دارا بودن قندهای قابل تخمیر و ویتامین‌های گروه B توانست در افزایش جمعیت و قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک *L. plantarum* در آب سیب موثر باشد. علاوه بر این با وجود افت pH و افزایش اسیدیته در اثر رشد و فعالیت باکتری پروبیوتیک در تمامی تیمارهای آبمیوه، استفاده از غلظت‌های پایین عصاره مالت تاثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی نوشیدنی آب سیب در طول دوره‌ی یک ماهه نگهداری در یخچال نداشت. بنابراین آب سیب پروبیوتیک حاوی ۱/۵ تا ۳ درصد عصاره مالت می‌تواند به عنوان محصولی جدید فراسودمند با خصوصیات مطلوب به بازار معرفی شود.

#### ۵- منابع

- [1] Glatthar, J., Heinisch, J. J., and Senn, T. 2015. Unmalted triticale cultivars as brewing

- vitamins and antioxidants. *J food sci.* 75(5), 278-282.
- [20] Yahyaei Soofyani Z, Hashemiravan M, and Pourahmad R. 2015. Production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. *Adv Environ Biol.* 9(2): 762-769.
- [21] Mashayekh S, Hashemiravan M, and Mokhtari, F. D. 2016. Study on Chemical and Sensory Changes of probiotic fermented beverage based on mixture of pineapple, apple and mango juices. *Curr Res J Biol Sci.* 4(3): 1-5.
- [22] Alm, L. (1982). Effect of fermentation on lactose, glucose, and galactose content in milk and suitability of fermented milk products for lactose intolerant individuals. *J dairy sci.* 65(3), 346-352.
- [23] Martensson, O., Oste, R. & Holst, O. 2002. The effect of yoghurt culture on the survival of probiotic bacteria in oat-based, non-dairy products. *Int Food Res.* 35(8), 775-784.
- [24] Pereira, A. L. F., Maciel, T. C., & Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. *Food res int.* 44(5), 1276-1283.
- [25] Shahrampour, D., khomeiri, M., kashiri, M., Razavi, S. (2021). Evaluation of probiotic characteristics and intraspecific diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from different foods by RAPD-PCR. *Journal of Food Microbiology*, 8(3), 44-60.
- [12] Yoon KY, Woodams EE, Hang YD. 2006. Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria. *Biores Technol.* 97: 1427-1430.
- [13] Wzorek, W., Bonin, S., & Koskowska, J. 2003. Attempt to obtain beverage containing viable lactic acid bacteria and estimation of their survival ability at the selected temperatures. *ACTA.* 2(2), 47-56.
- [14] Nualkaekul, S. & Charalampopoulos. D. 2011. Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *Int J Food Microbiol.* 146, 111-117.
- [15] Hashemiravan M, Yahyaei Soofyani Z, Pourahmad R. 2015. Chemical quality conversion of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices. *IJLSCI.* 5(5): 605-611.
- [16] Rahimabadi, N. Z., Sohrabvandi, S., & Nasiraie, L. R. (2018). Production of synbiotic malt beverage using inulin and different probiotic strains of *Lactobacillus* bacteria. *Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*, 13(3), 39-46. [In Persian]
- [17] Nosrati R, Hashemiravan M, and Talebi M. 2014. Fermentation of vegetables juice by probiotic bacteria. *Int J Biosci.* 4(3): 171-180.
- [18] Ding, W. K. & Shah, N. P. 2008. Survival of Free and Microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *Int Food Res J*, 219-232.
- [19] Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., & Leyer, G. 2010. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using



## Investigation of the effect of adding malt extract on physicochemical and sensory properties of probiotic apple juice containing *Lactobacillus plantarum*

Ghasemlou, Z. <sup>1</sup>, Shahrampour, D. <sup>2\*</sup>, Khomeiri, M. <sup>3</sup>, Asadpour, E. <sup>4</sup>

1. MS.c. Graduated student, Department of Food Science and Technology, Baharan Institute of Higher Education, Gorgan, Iran.
2. Assistant professor, Department of food safety and quality control, research institute of food science and technology, Mashhad, Iran.
3. Professor, Department of food science and technology, Gorgan University of agricultural sciences and natural resources, Gorgan, Iran.
4. Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Baharan higher education Institute, Gorgan, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2022/ 04/ 20  
Accepted 2022/ 07/ 24

#### Keywords:

Apple juice,  
Malt extract,  
*Lactobacillus plantarum*,  
Probiotic.

DOI: 10.22034/FSCT.19.126.321  
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.126.29.0

\*Corresponding Author E-Mail:  
[d.shahrampour@rifst.ac.ir](mailto:d.shahrampour@rifst.ac.ir)

In this study, the effect of adding different percentages of malt extract (1.5, 3, 4.5, 6 % v/v) to apple juice on the survival of the probiotic bacterium *Lactobacillus plantarum* during four weeks of storage at 4 ° C was investigated. In addition, in order to evaluate the physicochemical and sensory properties of the produced juices, pH, acidity, brix, total sugar and sensory evaluation tests were performed. The results showed that with increasing the concentration of malt extract in apple juice, the amount of acidity, brix, total sugar increased and the pH decreased. In addition, the highest acidity and the lowest pH belonged to the apple juice sample containing 6% (v / v) of malt extract at the end of storage time. Also, the addition of malt extract improve survival of probiotic bacterium and increased its population in apple juice samples compared to the control sample. Moreover, no significant difference was observed between the populations of *L. plantarum* probiotic bacteria in apple juice samples containing malt extract at the end of cold storage. In the sensory evaluation test, the highest overall acceptance score by the panelist members was assigned to apple juice samples containing 1.5 and 3% of malt extract, respectively. According to the results of adding malt extract on the properties of probiotic apple juice, the produced juice in this study can be a good alternative to juices available in the market with functional properties.