امکان تولید و ارزیابی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه کنسانتره آب سیب و عصاره مالت

Possibility of producing and evaluating physicochemical and sensory properties of probiotic drinks based on apple juice concentrate and malt extract

عطیه ناصری[۱]، مهناز هاشمی روان[۲]*، رضوان پوراحمد[۳]

دریافت: ۱۴۰۰/۴/۲۶ پذیرش ۱۴۰۰/۵/۲۸

چکیده

پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که با استقرار در محیط روده، مانع از فعالیت میکروارگانیسم های غیرمفید و پاتوژن می شوند. در حال حاضر اغلب فرآورده های پروبیوتیک موجود در بازار را فرآورده های لبنی پروبیوتیک تشکیل می دهند. در سالهای اخیر، تقاضا برای محصولات پروبیوتیک بر پایه محصولات غیر لبنی افزایش یافته است. هدف از این مطالعه تولید نوشیدنی پروبیوتیک حاوی درصد های مختلف کنسانتره سیب(20، 30 و 40 درصد) و عصاره مالت(2، 4 و 6 درصد) با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی با تراکم 10^7 *cfu/ml* و 10^6 طی 28 روز نگهداری در دمای 4 درجه سانتیگراد بود. جهت تجزیه و تحلیل نتایج از نرم افزار SPSS 21 و آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح 95 درصد و جهت رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2013 استفاده گردید. نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری، pH، بریکس، قند احیاء و زنده مانی باکتری پروبیوتیک کاهش و اسیدیته نوشیدنی طی دوره نگهداری افزایش معنی داری یافت($p\leq 0/05$). بیشترین زنده مانی باکتری پروبیوتیک پس از 28 روز نگهداری متعلق به تیمار $A_3B_3C_2$ (حاوی 40٪ کنسانتره سیب+ 6٪ عصاره مالت با تراکم باکتری10^7 *cfu/ml*) بود. نتایج ارزیابی حسی با افزایش زمان نگهداری، کاهش یافت. همچنین پس از 28 روز نگهداری با توجه به نتایج ارائه شده از نظر جمعیت میکروبی بالاتر از حد استاندارد تعریف شده برای محصولات پروبیوتیک(10^6 *cfu/ml*) و امتیاز پذیرش کلی نزدیک به نمونه شاهد تیمار $A_1B_2C_1$ (حاوی 2 ٪ عصاره مالت + 30 ٪ کنسانتره سیب با تراکم 10^6 *cfu/ml*) به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

کلمات کلیدی: کنسانتره سیب، عصاره مالت، لاکتوباسیلوس کازئی، نوشیدنی پروبیوتیک

[۱] کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ایران.
[۲] استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، ، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین ، ایران.
*[۳] استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین، ایران.
نویسنده مسئول مکاتبات : m_hashemiravan@yahoo.com

مقدمه

امروزه باگسترش فرآورده های پروبیوتیک در بازارهای جهانی، لزوم مطالعه بیشتردرخصوص تولید فرآورده های جدید حاوی این باکتری ها بیشترآشکار می شود. پروبیوتیکها به عنوان میکروارگانیسمهای زنده ای تعریف می شوند که در صورت مصرف به مقدار کافی، اثرات مفیدی بر سلامت میزبان خواهند گذاشت. در حال حاضر پروبیوتیک ها به صورت گسترده ای در تهیه محصولات تخمیری مورد استفاده قرار می گیرند و تقریبا ۶۵٪ از غذاهای فراسودمند را به خود اختصاص می دهند. پایین بودن قابلیت زنده مانی باکتری های پروبیوتیک به دلیل حساسیت به شرایط نامساعد در محصولات غذایی و دستگاه گوارش یکی از مهمترین مشکلات موجود در صنعت فرآورده های پروبیوتیک می باشد.

طبق گزارش FAO محصول پروبیوتیک استاندارد، محصولی است که در لحظه مصرف حداقل 10^7 - 10^6 *cfu/ml* میکروارگانیسم پروبیوتیک زنده و فعال داشته باشد. بنابراین مهمترین عامل استفاده موثر از پروبیوتیک ها، حفظ زنده ماندن و فعالیت باکتری ها طی دوره نگهداری ماده غذایی می باشد (فرخی ،۱۳۸۷). باکتری های اسیدلاکتیک طی فرآیند تخمیر میتوانند از منبع قند گلوکز، اسیدلاکتیک تولید نمایند این باکتری ها ساکارولیتیک بوده و انرژی مورد نیاز برای زنده مانی خود را از طریق فسفریلاسیون سوبسترا، با تبدیل منبع کربنی به اسیدلاکتیک و سایر ترکیبات به دست میآورند (Davidson., 1997). مصرف گونه های لاکتوباسیلوس نظیر لاکتوباسیلوس کازئی دارای اثرات سلامتی بخشی نظیر کمک به هضم لاکتوز، کنترل کلسترول سرم خون، کنترل سرطان و یا بیماری های عفونی دستگاه گوارش است. برای تحقق این آثار سلامتی بخش مصرف منظم 10^6 الی 10^9 سلول زنده این باکتری توصیه می شود

(Goktepe *et al*., 2005). آبمیوه ها سوبسترای مناسبی جهت پروبیوتیک ها بوده، ضمن اینکه غنی از مواد مغذی است. آبمیوه ها حاوی مقادیر زیادی قند هستند که رشد پروبیوتیک ها را تشدید می کند و به دلیل وجود داشتن اسیدها در میوه ها مسیر تولید می تواند بی هوازی باشد(Gomes and Malcata, 1999).

سیب یکی از متنوع ترین میوه ها و گیاهان بوده که دارای فیبرهای غذایی محلول و غیر محلول در آب از جمله پکتین ها، تانن ها، فلاونوئیدها خصوصا کاتشین و کوئرسیتین(، پلی فنولها)خصوصا پروسیانیدینها (، مواد معطر)ازجمله ترکیبات هگزانال، بوتیریک اسید، بنزول، پتاسیم، ویتامین های A و C می باشد. در انواع سیب برعکس انواع انگور، غلظت فروکتوز خیلی بیشتر از گلوکز است و سوربیتول هم وجود دارد. اسید L– مالیک که ۹۰ درصد اسید های آلی موجود در سیب را تشکیل میدهد، غالب ترین اسید آلی موجود در سیب بوده و فرم ایزومر D– مالیک در سیب وجود ندارد (دخانی و بهشتی ،۱۳۸۲). پلی فنول ها یکی از مهمترین آنتی اکسیدان های رژیمی هستند و سیب یک منبع عمده از ترکیبات فنولیک می باشد. پلی فنل های استخراج شده از آب سیب حاوی تعدادی از فلاونوئیدهای مختلف که با اثرات آنتی اکسیدانی شناخته شده اند، می باشند(Kolniak-Ostek *et al*., 2013).

عصاره مالت یا عصاره جوانه جو، شیره ای قهوه ای رنگ است که از دانه جوی جوانه زده به دست می آید. در این فرایند، جوی مخصوص مالت سازی در شرایط مناسب جوانه زده و بعد از مدت زمان مشخصی آن را خشک نموده و عصاره آن را استخراج می کنند. این عصاره قابلیت هایی دارد که آن را تبدیل به یک ماده بسیار قوی و عالی برای مصارف گوناگون صنعتی و انسانی نموده است. این عصاره به علت دارا بودن قدرت دیاستیک و ویژگیهای آنزیمی بالا، سرشار بودن از قندهای قابل تخمیر، قابلیت تجزیه و جذب سریع، عطر و طعم و قدرت طعم دهندگی آن و نیز ارزش تغذیه ای بالا، موارد استفاده زیادی دارد. وجود اسیدهای آمینه و پروتئین های کوچک و همچنین قندهای طبیعی گوناگون در عصاره مالت ارزش تغذیه ای آن را بالا می برد (فرخی ،۱۳۸۷).

(اشرفی یورقانلو و مهریار ،۱۳۹۸) اثر افزودن اینولین و گالاکتواولیگوساکارید بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو را بررسی کردند. نتایج نشان داد که اینولین و گالاکتواولیگوساکارید باعث افزایش زنده مانی باکتری پربیوتیک نسبت به نمونه کنترل گردید و در این بین بیشترین تاثیر مربوط به تیمارهای حاوی ۱٪ این ترکیبات می باشد. همچنین افزودن هر دو نوع پری بیوتیک گالاکتواولیگوساکارید و اینولین در طی میکروانکپسولاسیون باعث افزایش مقاومت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی میکروانکپسوله شده به کاهش pH و حضور نمکهای صفراوی در شرایط مشابه دستگاه گوارش گردید. (بابایی و همکاران ۱۳۹۷) تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه ای، کرفس و گشنیز را بررسی کردند. نتایج نشان داد در طی تخمیر و نگهداری، با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری ، pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک کاهش و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک افزایش یافت. میزان باکتریهای پروبیوتیک در طی تخمیر افزایش یافت و در طی چهار هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد میزان باکتریهای پروبیوتیک کاهش یافت. (Horackova *et al.*, 2018)طی تحقیقی فرایند انکپسولاسیون با استفاده از باکتری بیفیدوباکتریوم انیمالیس و آبمیوه های آناناس، سیب و توت فرنگی را طی ۲۸ روز نگهداری در دماهای ۸ و ۲۲ درجه سانتی گراد بررسی کردند. نتایج نشان داد انکپسولاسیون باعث افزایش زنده مانی باکتری های پروبیوتیک نسبت به سلول های آزاد در دمای ۸ درجه سانتی گراد شد. همچنین نتایج نشان داد آبمیوه ترکیبی سیب و توت فرنگی محیط مناسبی برای رشد باکتری های پروبیوتیک نبود. باکتری های پروبیوتیک انکپسوله شده و آزاد در دمای ۲۲ درجه سانتی گراد طی ۱۴ روز نگهداری از بین رفتند.

(Nguyen *et al.*, 2019), نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از آب آناناس با استفاده از سویه های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را بررسی کردند. نتایج نشان داد محتوی فنولیکی و ظرفیت آنتی اکسیدانی طی تخمیر و دوره نگهداری به آرامی افزایش یافت. جمعیت میکروبی طی یک ماه اول تغییر چندانی نداشت. پس از دوماه نگهداری مقدار باکتری ها حدود ۰/۱۱ *log cfu/ml* کاهش یافت .

۲-مواد و روشها

۲-۱- روش تهیه نوشیدنی پروبیوتیک

جهت تولید فرآورده پروبیوتیک، کنساانتره سااایب با سطوح ۲۰، ۳۰ و ۴۰ درصد(به همراه عصاره مالت)با غلظتهای ۲، ۴ و ۶ در صد(از کارخانه تولید نوشیدنی بهنوش تهیه و مطابق با تیمارهای تحقیق برای تهیه نمونه ها نگهداری شد (علوی لواسانی ،۱۳۹۱).

۲-۲-آزمون ها

جهت اندازه گیری pH از روش پتانسیومتری و دستگاه pH متراستفاده شد (بی نام ،۱۳۸۲).

جهت اندازه گیری اسیدیته از تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال و رابطه ۱ استفاده شد (شاه آبادی و همکاران ،۱۳۹۴).

رابطه ۱ $A = V \times 0.009008M \times 100$

A = اسیدیته کل برحسب گرم اسید لاکتیک در ۱۰۰ گرم نمونه M= وزن آزمونه بر حسب گرم

V= حجم سود ۰/۱ نرمال مصرفی(بی نام،۱۳۸۰).

برای اندازه گیری قند احیاء کننده از روش فهلینگ استفاده شد (بی نام ،۱۳۸۲).

جهت شمارش سلول های میکروبی زنده از روش رقت سازی دهگانی و پورپلیت طبق روش SPC استفاده و تعداد کلنیها از رابطه۲ محاسبه شد (Vinderola and Reinheimer, 2000)

تعداد کلنی * عکس فاکتور رقت = تعداد کلنی در هر میلیلیتر(cfu/ml) رابطه ۲

در نهایت جهت ارزیابی حسی در هفته های اول و چهارم نگهداری، از ۵ ارزیاب آموزش دیده شاخص های مزه، بو ، تلخی، ترشی، شیرینی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت، کدورت و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه ای (عدد ۱ بیانگر کمترین امتیاز و عدد ۵ بیانگر بیشترین امتیاز) مورد ارزیابی قرار گرفت (Luckow *et al*., 2004).

۲-۳- آنالیز آماری

آزمایش بر مبنای یک طرح کاملا تصادفی انجام شد. در این تحقیق ۱۹ تیمار و ۳ تکرار بررسی گردید. به منظور ارزیابی داده ها از نرم افزار Spss و برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

۳- نتایج

pH -۱-۳

اثر زمان نگهداری، نوع تیمار و اثر متقابل (تیمار × زمان) بر اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت (p≤۰/۰۱) و مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری، درصد های مختلف عصاره مالت و کنسانتره سیب بر pH نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که با افزایش زمان نگهداری، تراکم باکتری و درصدهای مختلف عصاره مالت و کنسانتره سیب، pH نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی داری کاهش یافت(p≤۰/۰۵). همچنین با افزایش درصدهای مختلف کنسانتره سیب تغییر معنی داری در pH نمونه ها مشاهده نشد اما با افزایش مقادیر عصاره مالت pH نمونه ها به جز در هفته دوم و سوم کاهش یافت.

۳-۲- اسیدیته

اثر زمان نگهداری، نوع تیمار و اثر متقابل (تیمار × زمان)بر اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت (p ≤۰/۰۱) و مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، اثر تراکم باکتری، درصدهای مختلف عصاره مالت و کنسانتره سیب بر اسیدیته و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که با افزایش زمان نگهداری، تراکم باکتری و درصدهای مختلف کنسانتره سیب، اسیدیته نمونه ها افزایش معنی داری یافت (p ≤۰/۰۵). همچنین با افزایش مقدار عصاره مالت از ۲ تا ۴ درصد مقدار اسیدیته نمونه ها افزایش و با افزایش مقدار عصاره مالت از ۴ به ۶ درصد مقدار اسیدیته کاهش یافت.

۳-۳- بریکس

اثر زمان نگهداری، نوع تیمار و اثر متقابل (تیمار × زمان)بر بریکس نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت (p ≤۰/۰۱)و مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری بر بریکس نوشیدنی پروبیوتیک و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید با افزایش زمان نگهداری و تراکم باکتری، بریکس نمونه ها کاهش معنی داری یافت (p≤۰/۰۵) و با افزایش درصد های مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بریکس نوشیدنی افزایش معنی داری یافت (p≤۰/۰۵). همچنین مطابق با نتایج ارائه شده در جدول ۳ و دامنه تغییرات، افزایش مقادیر کنسانتره سیب بیشترین تاثیر را بر بریکس داشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری، درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بر pH نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی زمان نگهداری

Table 1 - Comparison of the mean effect of storage time, bacterial density, different pains of apple concentrate and malt extract on the pH of probiotic beverage samples during storage

زمان نگهداری Maintenance time	pH	تراکم باکتری Bacterial density *Cfu/ml*	PH	کنسانتره سیب Apple Concentrate ٪	PH	عصاره مالت Malt extract ٪	pH
لحظه تولید Production moment	3/94±0/02 c	10^6	3/95±0/02 a	20	3/95±0/02 a	2	3/97±0/00 c
		10^7	3/94±0/03 a	30	3/95±0/02 a	4	3/94±0/03 b
				40	3/93±0/02 a	6	3/92±0/03 a
۱ ساعت پس ازتخمیر 72 hours after fermentation	3/88±0/03 c	10^6	3/89±0/02 a	20	3/89±0/03 a	2	3/91±0/01 b
		10^7	3/88±0/04 a	30	3/89±0/02 a	4	3/88±0/03 a
				40	3/87±0/03 a	6	3/87±0/02 a
هفته اول The first week	3/66±0/03 c	10^6	3/66±0/03 a	20	3/67±0/03 a	2	3/67±0/02 a
		10^7	3/66±0/03 a	30	3/67±0/04 a	4	3/65±0/03 a
				40	3/64±0/02 a	6	3/66±0/04 a
هفته دوم second week	3/55±0/03 c	10^6	3/58±0/03 a	20	3/56±0/03 a	2	3/53±0/02 a
		10^7	3/53±0/01 a	30	3/56±0/03 a	4	a3/55±0/03
				40	3/55±0/03 a	6	b3/57±0/04
هفته سوم Third week	3/46±0/03 c	10^6	3/49±0/04 a	20	3/46±0/02 a	2	3/44±0/03 a
		10^7	3/44±0/02 a	30	3/46±0/03 a	4	a3/46±0/02
				40	3/46±0/04 a	6	b3/49±0/04
هفته چهارم forth week	3/37±0/04 c	10^6	3/39±0/02 a	20	3/37±0/03 a	2	3/37±0/02 a
		10^7	3/35±0/02 a	30	3/38±0/02 a	4	3/35±0/03 a
				40	3/37±0/05 a	6	3/33±0/05 a

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است(p >۰/۰ ۵

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری ،درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بر اسیدیته (gr/۱۰۰gr) نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی زمان نگهداری

Table 2 - Comparison of the average effect of storage time, bacterial density, different percentages of apple concentrate and malt extract on acidity gr / 100gr Probiotic beverage samples during storage

اسیدیته (gr/۱۰۰gr) Acidity	عصاره مالت Malt extract ٪	اسیدیته (gr/۱۰۰gr) Acidity	کنسانتره سیب Apple Concentrate ٪	اسیدیته (gr/۱۰۰gr) Acidity	تراکم باکتری Bacterial density *Cfu/ml*	اسیدیته (gr/۱۰۰gr) Acidity	زمان نگهداری Maintenance time
0/317±0/06[a]	2	0/253±0/03[a]	20				لحظه تولید
0/331±0/06[a] 0/327±0/06[a]	4	0/322±0/02[b]	30	0/319±0/06[a]	10^6	0/325±0/06[a]	Production moment
	6	0/399±0/04[c]	40	0/330±0/05[b]	10^7		
0/427±0/07[a]	2	0/375±0/03[a]	20				۷۲ ساعت پساز تخمیر
0/454±0/04[a]	4	0/433±0/00[b]	30	0/436±0/06[a]	10^6	0/440±0/06[b]	72 hours after fermentat
0/438±0/06[a]	6	0/511±0/00[c]	40	0/443±0/06[b]	10^7		
0/527±0/06[b]	2	0/459±0/06[a]	20				هفته اول
0/572±0/04[ab]	4	0/533±0/03[b]	30	0/532±0/07[a]	10^6	0/535±0/08[c]	The first week
0/506±0/11[a]	6	0/613±0/04[c]	40	0/538±0/08[a]	10^7		
0/645±0/06[b]	2	0/542±0/08[a]	20				هفته دوم
0/671±0/06[ab]	4	0/649±0/04[b]	30	0/635±0/08[a]	10^6	0/640±0/09[d]	second week
0/603±0/13[a]	6	0/727±0/04[c]	40	0/644±0/10[a]	10^7		
0/759±0/06[a]	2	0/660±0/08[a]	20				هفته سوم
0/768±0/06[a]	4	0/764±0/03[b]	30	0/740±0/07[a]	10^6	0/751±0/09[e]	Third week
0/725±0/13[a]	6	0/827±0/06[c]	40	0/761±0/10[b]	10^7		
0/786±0/07[a]	2	0/705±0/07[a]	20				هفته چهارم
0/818±0/06[a]	4	0/799±0/04[b]	30	0/782±0/06[a]	10^6	0/793±0/09[f]	forth week
0/774±0/12[a]	6	0/874±0/06[c]	40	0/803±0/11[b]	10^7		

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است (p >۰/۰۵)

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری، درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بر بریکس (gr/۱۰۰gr) نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی زمان نگهداری

Table 3 - Comparison of the average effect of storage time, bacterial density, different percentages of apple concentrate and malt extract on brix gr / 100gr)) Probiotic drink samples during storage

زمان نگهداری Maintenance time	بریکس gr/۱۰۰gr Brix	تراکم باکتری Bacterial density *Cfu/ml*	بریکس (gr/۱۰۰gr) Brix	کنسانتره سیب Apple Concentrate	بریکس (gr/۱۰۰gr) Brix	عصاره مالت Malt extract	بریکس (gr/۱۰۰gr) Brix
لحظه تولید Production moment	20/46±4/33[a]	10^6	20/47±4/36[a]	20	19/54±4/44[a]	2	15/27±1/04[a]
		10^7	20/46±4/37[a]	30	20/55±4/46[a]	4	20/51±0/50[b]
				40	21/29±4/13[a]	6	25/60±0/72[c]
۷۲ ساعت پساز تخمیر 72 hours after fermentatic	19/75±4/26[a]	10^6	19/88±4/32[a]	20	19/16±4/34[a]	2	14/62±0/82[a]
		10^7	19/62±4/28[a]	30	19/69±4/48[a]	4	19/77±0/29[b]
				40	20/40±4/12[a]	6	24/87±0/63[c]
هفته اول The first week	18/17±4/29[a]	10^6	18/40±4/50[a]	20	17/37±4/42[a]	2	13/02±0/92[a]
		10^7	17/95±4/14[a]	30	18/34±4/43[a]	4	18/21±0/48[b]
				40	18/80±4/14[a]	6	23/28±0/83[c]
هفته دوم second week	16/76±4/31[a]	10^6	17/12±4/56[a]	20	16/21±4/53[a]	2	11/68±0/99[a]
		10^7	16/40±4/10[a]	30	16/62±4/45[a]	4	16/67±0/42[b]
				40	17/47±4/08[a]	6	21/95±0/97[c]
هفته سوم Third week	15/78±4/22[a]	10^6	16/15±4/37[a]	20	15/15±4/34[a]	2	10/79±0/91[a]
		10^7	15/42±4/11[a]	30	15/73±4/39[a]	4	15/69±0/55[b]
				40	16/47±4/05[a]	6	20/87±0/84[c]
هفته چهارم forth week	15/01±4/25[a]	10^6	15/45±4/37[a]	20	14/44±4/40[a]	2	9/97±0/91[a]
		10^7	14/57±4/15[a]	30	14/89±4/39[a]	4	14/94±0/63[b]
				40	15/70±4/10[a]	6	20/12±0/79[c]

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است ($p >$ ۰/۰۵)

۳-۴- قند

اثر زمان نگهداری، نوع تیمار و اثر متقابل (تیمار × زمان) بر قند نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت ($p \leq$ ۰/۰۱) و مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری بر بریکس نوشیدنی پروبیوتیک و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید با افزایش زمان نگهداری و تراکم باکتری، قند نمونه ها کاهش معنی داری یافت ($p \leq$ ۰/۰۵). با افزایش درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت قند نوشیدنی افزایش معنی داری یافت

(p ≤۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد در هفته دوم تا هفته چهارم مقدار قند در تیمارهای حاوی مقادیر بیشتر کنسانتره سیب کاهش بیشتری داشتند .

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری، درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بر قند (gr/۱۰۰gr) نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی زمان نگهداری

Table 4 - Comparison of the average effect of storage time, bacterial density, different percentages of apple concentrate and malt extract on sugar gr / 100gr) (samples of probiotic drinks during storage

زمان نگهداری Maintenance time	قند (gr/۱۰۰gr) sugar Loaf	تراکم باکتری Bacterial density *Cfu/ml*	قند (gr/۱۰۰gr) sugar Loaf	کنسانتره سیب Apple Concentrate ٪	قند (gr/۱۰۰gr) sugar Loaf	عصاره مالت Malt extract ٪	قند (gr/۱۰۰gr) sugar Loaf
لحظه تولید Production moment	18/53±4/73[a]	10^6	18/48±4/79[a]	20	18/46±4/82[a]	2	12/69±0/09[a]
		10^7	18/58±4/76[a]	30	18/55±4/84[a]	4	18/73±0/09[b]
				40	18/58±4/81[a]	6	24/17±0/07[c]
۷۲ ساعت پس از تخمیر 72 hours after fermenta	18/23±4/56[a]	10^6	18/25±4/62[a]	20	18/17±4/61[a]	2	12/57±0/05[a]
		10^7	18/20±4/58[a]	30	18/22±4/64[a]	4	18/48±0/08[b]
				40	18/29±4/68[a]	6	23/63±0/11[c]
هفته اول The first week	17/09±4/48[a]	10^6	17/37±4/47[a]	20	17/04±4/60[a]	2	11/53±0/41[a]
		10^7	16/81±4/56[a]	30	17/08±4/57[a]	4	17/37±0/20[b]
				40	17/15±4/54[a]	6	22/38±0/29[c]
هفته دوم second week	16/06±4/17[a]	10^6	16/22±4/07[a]	20	16/07±4/29[a]	2	10/88±0/29[a] 16/32±0/33[b]
		10^7	15/90±4/34[a]	30	16/06±4/23[a]	4	20/99±0/11[c]
				40	16/06±4/24[a]	6	
هفته سوم Third week	15/08±3/70[a]	10^6	15/38±4/59[a]	20	15/15±3/79[a]	2	10/38±0/42[a] 15/63±0/88[b]
		10^7	14/77±4/86[a]	30	15/04±3/72[a]	4	19/22±0/11[c]
				40	15/03±3/80[a]	6	
هفته چهارم forth week	14/42±3/44[a]	10^6	14/67±4/41[a]	20	14/49±3/52[a]	2	10/03±0/36[a]
		10^7	14/18±4/51[a]	30	14/39±3/45[a]	4	14/92±0/21[b]
				40	14/39±3/55[a]	6	18/32±0/26[c]

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است(p >۰/۰۵)

۳-۵- شمارش باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

اثر زمان نگهداری، نوع تیمار و اثر متقابل (تیمار × زمان)بر شمارش باکتری پروبیوتیک نوشیدنی طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت($p\leq ۰/۰۱$) و مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری بر شمارش باکتری نوشیدنی پروبیوتیک و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید با افزایش زمان نگهداری شمارش باکتری های پروبیوتیک تا هفته سوم نگهداری افزایش و پس از آن در هفته چهارم کاهش داشت. مطابق نتایج با افزایش تراکم باکتری و مقدار کنسانتره سیب ،تعداد باکتری های پروبیوتیک افزایش یافت .

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر زمان نگهداری، تراکم باکتری، درصدهای مختلف کنسانتره سیب

عصاره مالت بر شمارش باکتری نمونه های نوشیدنی پروبیوتیک طی زمان نگهداری

Table 5 - Comparison of the average effect of storage time, bacterial density, different percentages of apple concentrate and malt extract on bacterial count of probiotic beverage samples during storag

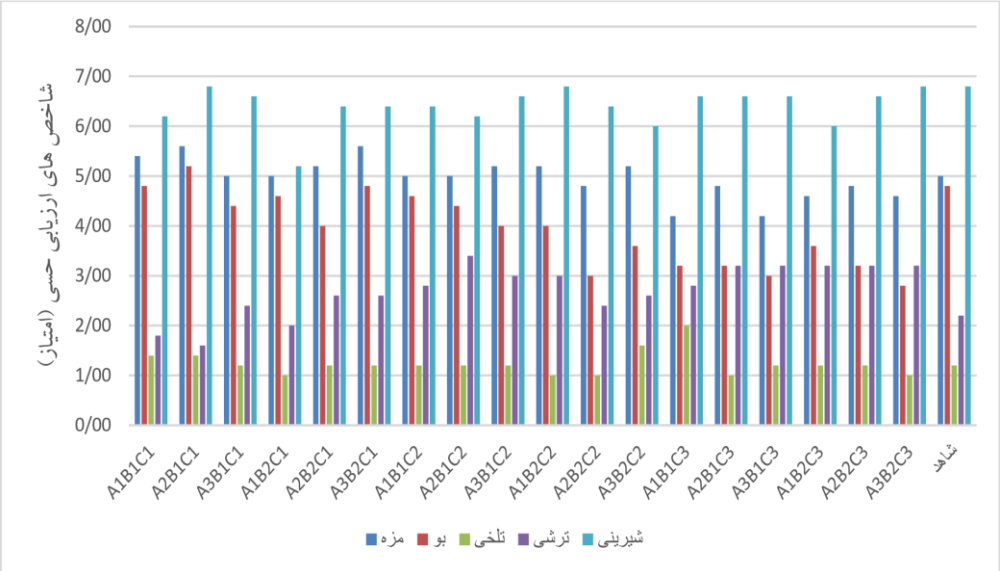
زمان نگهداری Maintenance time	شمارش باکتری Counting Bacteria (*log cfu/ml*)	تراکم باکتری Bacterial density *Cfu/ml*	شمارش باکتری Counting Bacteria (*log cfu/ml*)	کنسانتره سیب Apple Concentrate ٪	شمارش باکتری Counting Bacteria (*log cfu/ml*)	عصاره مالت Malt extract ٪	شمارش باکتری Counting Bacteria (*log cfu/ml*)
لحظه تولید Production moment	6/81±0/60[a]	10^6	6/23±0/18[a]	20	6/83±0/66[a]	2	6/87±0/62[a]
				30	6/74±0/64[a]	4	6/76±0/62[a]
		10^7	7/39±0/11[a]	40	6/87±0/51[a]	6	6/81±0/58[a]
۷۲ ساعت پس ازتخمیر 72 hours after fermentation	8/01±0/64[b]	10^6	7/37±0/08[a]	20	7/98±0/66[a]	2	8/02±0/68[a]
				30	8/03±0/63[a]	4	8/01±0/60[a]
		10^7	8/65±0/04[a]	40	8/03±0/67[a]	6	8/01±0/68[a]
هفته اول The first week	8/12±0/62[b]	10^6	7/50±0/04[a]	20	8/10±0/61[a]	2	8/13±0/64[a]
				30	8/12±0/64[a]	4	8/12±0/60[a]
		10^7	8/87±0/04[a]	40	8/14±0/65[a]	6	8/11±0/66[a]
هفته دوم second week	8/20±0/61[b]	10^6	7/59±0/04[a]	20	8/17±0/61[a]	2	8/19±0/62[a]
				30	8/21±0/64[a]	4	8/19±0/61[a]
		10^7	8/81±0/05[a]	40	8/24±0/63[a]	6	8/23±0/65[a]

هفته سوم Third week	8/25±0/61[b]	10^6	7/64±0/05[a]	20	8/17±0/62[a]	2	8/25±0/62[a]
				30	8/21±0/63[a]	4	8/23±0/60[a]
		10^7	8/86±0/05[a]	40	8/23±0/62[a]	6	8/28±0/65[a]
هفته چهارم forth week	8/19±0/63[b]	10^6	7/56±0/07[a]	20	8/14±0/61[a]	2	8/20±0/65[a]
				30	8/19±0/65[a]	4	8/14±0/61[a]
		10^7	8/81±0/09[a]	40	8/23±0/66[a]	6	8/23±0/66[a]

حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی دار است(p>۰/۰۵)

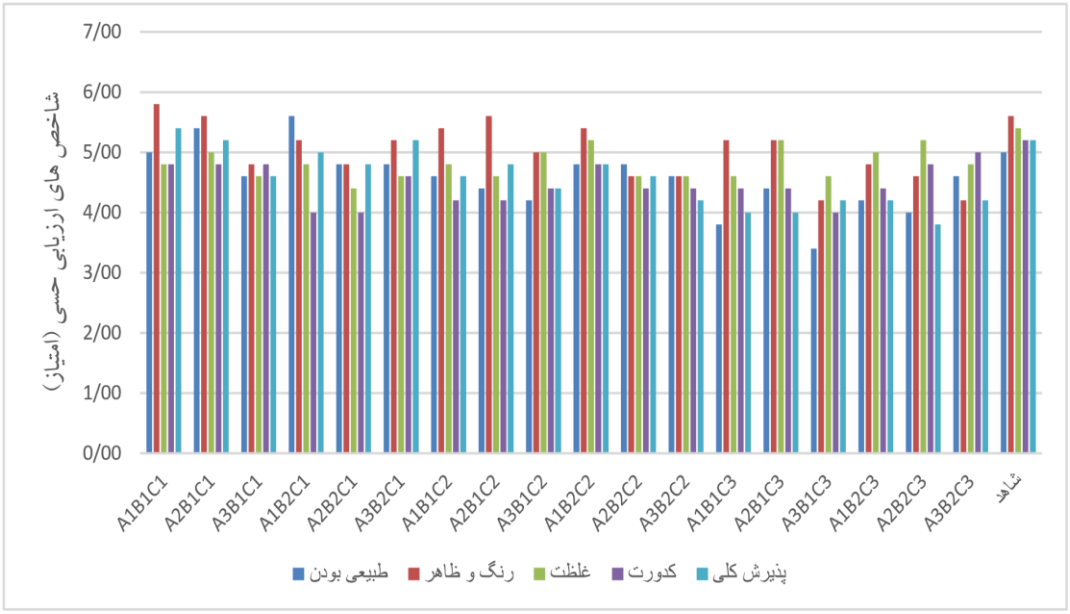
۳-۶- ارزیابی حسی

مطابق با نتایج، اثر زمان نگهداری بر شاخص های ارزیابی حسی مزه، بو، ترشی، شیرینی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت ،کدورت و پذیرش کلی نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت (p ≤۰/۰۱). به عبارتی با افزایش زمان نگهداری شاخص های مزه، بو، تلخی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر و پذیرش کلی کاهش یافت و امتیاز شاخص های ترشی، غلظت و کدورت نمونه های نوشیدنی افزایش یافت. اثر نوع تیمار تراکم باکتری پروبیوتیک، درصد های مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بر شاخص های مزه، بو، طبیعی بودن و پذیرش کلی کاملا معنی دار بود (p ≤۰/۰۱) و بر شاخص رنگ و ظاهر معنی دار بود(p ≤۰/۰۵).



شکل ۱- مقایسه میانگین شاخص های ارزیابی حسی)مزه، بو، تلخی، ترشی و شیرینی(در روز ۷ام نگهداری)

Figure 1- Comparison of the mean of sensory evaluation indices (taste, smell, bitterness, sourness and sweetness (on the 7th day of storage)



شکل ۲- مقایسه میانگین شاخص های ارزیابی حسی)طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت، کدورت و پذیرش کلی(در روز ۱۴ ام نگهداری)

Figure 2 - Comparison of the mean of sensory evaluation indices (naturalness, color and appearance, concentration, turbidity and general acceptance (on the 14th day of storage)

^{1A1B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب،۲۰٪ عصاره مالت+۲)

^{1A2B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۲)

^{1A3B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۲)

^{1A1B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۲۰٪ عصاره مالت+۲)

^{1A2B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۲)

^{1A3B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۲)

^{2A1B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب،۲۰٪ عصاره مالت+۴)

^{2A2B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۴)

^{2A3B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۴)

^{2A1B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۲۰٪ عصاره مالت+۴)

^{2A2B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۴)

^{2A3B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۴)

^{3A1B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب،۲۰٪ عصاره مالت+۶)

^{3A2B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۶)

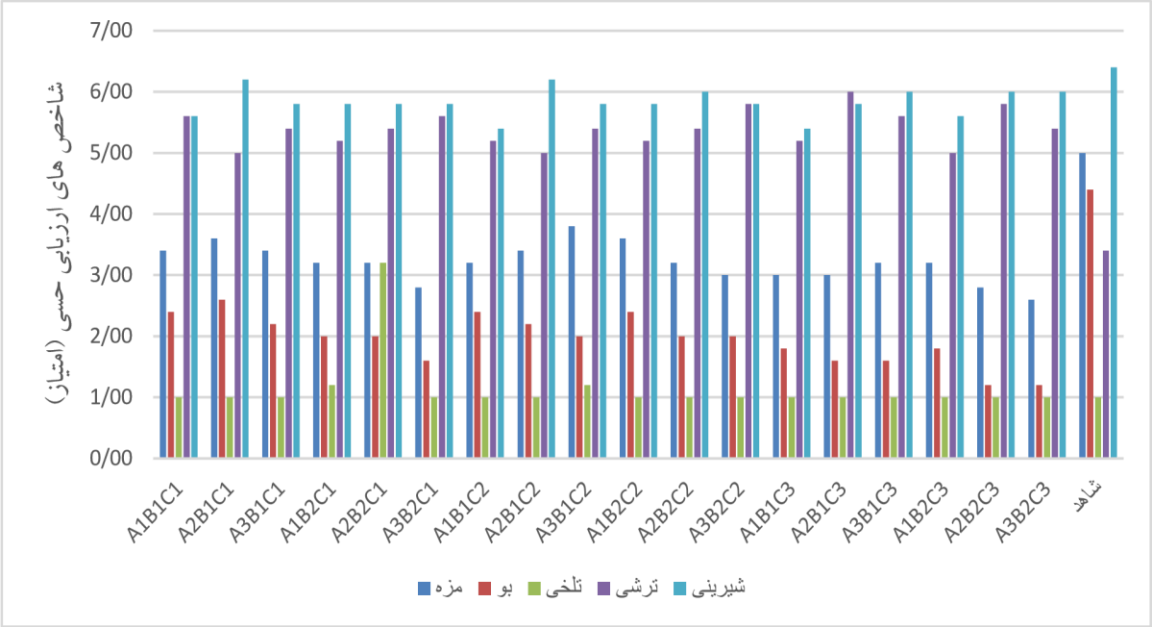
^{3A3B1C}(۱۰^{۶} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۶)

^{3A1B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۲۰٪ عصاره مالت+۶)

^{3A2B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۳۰٪ عصاره مالت+۶)

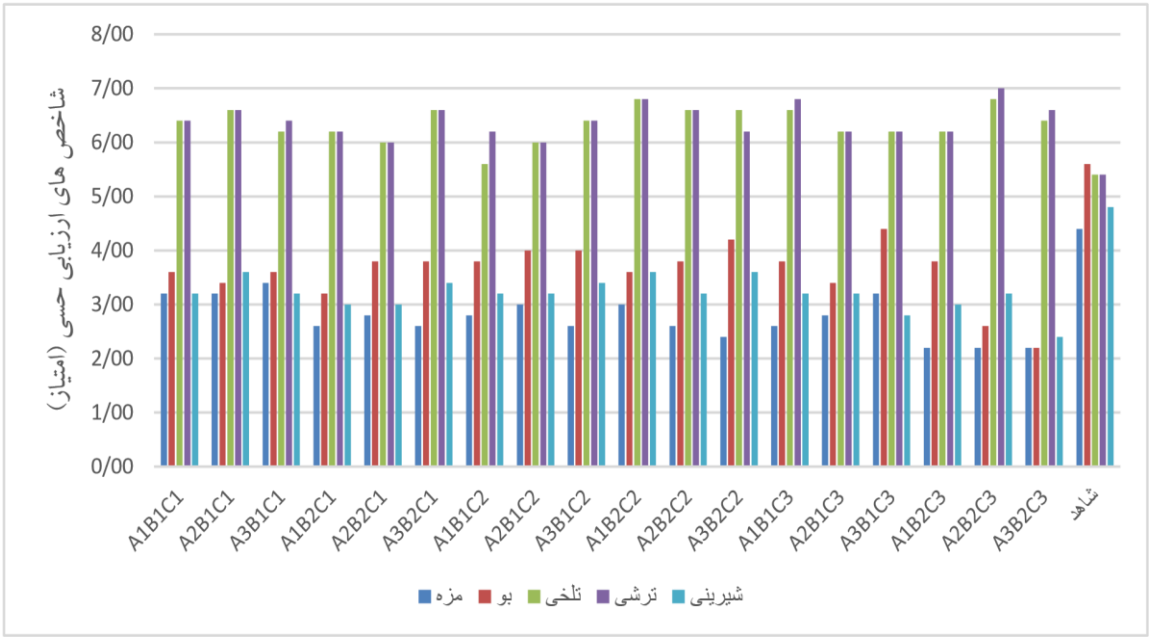
^{3A3B2C}(۱۰^{۷} cfu/ml٪ کنسانتره سیب، ۴۰٪ عصاره مالت+۶)

^{شاهد}: (٪ کنسانتره سیب)۳۰٪ عصاره مالت+۴



شکل ۳- مقایسه میانگین شاخص های ارزیابی حسی)مزه، بو، تلخی، ترشی و شیرینی(در روز ۲۱ ام نگهداری)

Figure 3- Comparison of the mean of sensory evaluation indices (taste, smell, bitterness, sourness and sweetness (on the 21st day of storage)



شکل ۴- مقایسه میانگین شاخص های ارزیابی حسی)طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت، کدورت و پذیرش کلی

(در روز ۲۸ ام نگهداری)

Figure 4- Comparison of the mean of sensory evaluation indices (naturalness, color and appearance, concentration, turbidity and general acceptance (on the 28th day of storage)

۴-بحث و نتیجه گیری

۴-۱- تغیرات pH

مطابق با نتایج ارائه شده اثر زمان نگهداری و تراکم باکتری اثر معنی داری بر pH نوشیدنی پروبیوتیک داشت ($p \leq ۰/۰۵$). به عبارت دیگر با افزایش زمان نگهداری و تراکم باکتری pH نوشیدنی کاهش یافت. همچنین مطابق با نتایج جدول(۴-۲) با افزایش درصدهای مختلف کنسانتره سیب تغییر معنی داری در pH نمونه ها مشاهده نشد اما با افزایش مقادیر عصاره مالت pH نمونه ها به جز در هفته دوم و سوم کاهش یافت. کاهش pH همواره یکی از مهمترین دلایل افت تعداد باکتریهای پروبیوتیک است (مرتضویان و سهرابوندی ،۱۳۸۵).به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد رشد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی باعث کاهش pH نوشیدنی پروبیوتیک شد و دلیل این امر می تواند مصرف قندها و تولید اسید های آلی توسط باکتری لاکتوباسیلوس کازئی باشد (kun *et al.*, 2008). (بابایی و همکاران،۱۳۹۷) تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه ای، کرفس و گشنیز را با استفاده از باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی طی چهار هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش تراکم باکتری ها و زمان نگهداری، pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به طور معنی داری کاهش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت. (قضاوی و همکاران ،۱۳۹۵) تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب زرد و قرمز و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را در دمای ۴ درجه سانتیگراد برای ۲۲ روز نگهداری را بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد با افزایش زمان نگهداری، pH نوشیدنی پروبیوتیک کاهش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

(Eksiri *et al.*, 2017) تولید نوشیدنی پروبیوتیک با استفاده از عصاره های بیدمشک و گل گاوزبان مورد بررسی قرار دادند .نتایج اندازه گیری ویژگی pH نشان داد با افزایش زمان نگهداری شاخص pH برای تمامی نمونه ها روند کاهشی داشت نتایج این مطالعه با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. (Mashayekh *et al*., 2016)تولید نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب آناناس، سیب و انبه را بررسی نمودند. در این مطالعه تخمیر در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد و به مدت ۴ هفته در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. نتایج نشان داد در زمان تخمیر و پس از چهار هفته نگهداری شاخص pH نوشیدنی کاهش یافت که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت.

۴-۲- تغییرات اسیدیته

مطابق نتایج با افزایش زمان نگهداری، تراکم باکتری و درصدهای مختلف کنسانتره سیب، اسیدیته نمونه ها افزایش معنی داری یافت($p \leq ۰/۰۵$). همچنین با افزایش مقدار عصاره مالت از ۲ تا ۴ درصد مقدار اسیدیته نمونه ها افزایش و با

افزایش مقدار عصاره مالت از ۴ به ۶ درصد مقدار اسیدیته کاهش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد رشد باکتری لاکتوباسیلوس کازئی باعث افزایش اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک شد و دلیل این امر می تواند مصرف قند ها و تولید اسید های آلی توسط باکتری لاکتوباسیلوس کازئی باشد (kun *et al.*, 2008) نتایج مطالعه (بابایی و همکاران ،۱۳۹۷) نشان داد با افزایش تراکم باکتری ها و زمان نگهداری pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک کاهش و اسیدیته نوشیدنی به طور معنی داری افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. همچنین نتایج تحقیق (امینی نیا و همکاران ،۱۳۹۳) نشان داد که هر دو سویه به خوبی قادر به رشد و فعالیت در آب کرفس می باشند و باکتری های اسید لاکتیک باعث کاهش pH و افزایش اسیدیته در طول زمان نگهداری شدند و با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. نتایج اندازه گیری شاخص اسیدیته در تحقیق (Eksiri *et al.*, 2017)نشان داد با افزایش زمان نگهداری مقدار این شاخص روند افزایشی داشت. دلیل این امر مصرف قندها توسط باکتری های پروبیوتیک و تولید اسید بیشتر توسط باکتری های پروبیوتیک بود نتایج این مطالعه با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. (Shisheh *et al*.,2014) تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب زرشک و گیلاس را با استفاده از باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس کازئی طی ۲۸ روز نگهداری در ۴ درجه سانتیگراد بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد مقدار pH نمونه ها با افزایش زمان نگهداری کاهش و اسیدیته نمونه ها افزایش معنی داری یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

۴-۳- تغیرات بریکس در طول تخمیر

مطابق با نتایج ارائه شده با افزایش زمان نگهداری و تراکم باکتری، بریکس نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار کاهش یافت ($p\leq ۰/۰۵$)و با افزایش درصد های مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت بریکس نوشیدنی افزایش معنی داری یافت ($p\leq ۰/۰۵$). طبق نتایج بدست آمده مشخص شد که رشد باکتری کاهش بریکس را طی تخمیر به دنبال داشته است علت اصلی این امر، مربوط به مصرف قندها و تولید اسیدهای آلی می باشد. بدیهی است با افزایش کنسانتره سیب و عصاره مالت مواد جامد محلول افزایش یافته که منجر به افزایش بریکس نوشیدنی پروبیوتیک خواهد شد. نتایج مطالعه (بابایی و همکاران ،۱۳۹۷) نشان داد با افزایش تراکم باکتری ها و زمان نگهداری pH و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک به طور معنی داری کاهش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. (قاسمی و زمردی ،۱۳۹۳) به بررسی زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به دو صورت آزاد و کپسوله شده در آب سیب پروبیوتیک پرداختند .بیشترین میزان کاهش بریکس در نمونه آب سیب با باکتری های آزاد و کمترین کاهش بریکس در تیمار کپسوله شده بود که علت آن مانع بودن کپسول برای دسترسی آسان پروبیوتیک ها به قند بود که نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر

مطابقت داشت. (Yahyaei *et al*., 2015)تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط عصاره مالت و کنسانتره آب میوه جات قرمز با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی، فاکتور بریکس در زمانهای بعد از تخمیر و در طی ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴$^{\circ}C$ بررسی گردید. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها زنده مانی باکتری های پروبیوتیک بدلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در عصاره مالت و آب میوه جات قرمز افزایش یافت، این در حالی بود که میزان قندهای احیاکننده و بریکس کاهش یافت که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر که در طی تخمیر و نگهداری، مقدار بریکس کاهش یافت، مطابقت داشت. (Mashayekh *et al*., 2016)تغییرات شیمیایی و حسی نوشیدنی تخمیری پروبیوتیک بر پایه مخلوط آب آناناس، سیب و انبه را بررسی نمودند. بیان نمودند در طی تخمیر، بریکس(مواد جامد محلول در آب) نوشیدنی پروبیوتیک کاهش یافت که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت (zandi *et al*.,2016)تولید نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی بررسی نمودند. فاکتور بریکس در زمان های بعد از تخمیر (فرآیند تخمیر به مدت ۴۸ساعت در دمای ۳۷ $^{\circ}C$) و در طی ۲۸روز نگهداری و در دمای ۴ $^{\circ}C$ مورد بررسی قرار گرفت. در طی تخمیر، در کلیه تیمارها مقدار بریکس کاهش یافت که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت.

۴-۴- قند کل

طبق نتایج با افزایش زمان نگهداری و تراکم باکتری ها، مقدار قند کل نوشیدنی پروبیوتیک کاهش یافت. همچنین با افزایش درصدهای مختلف کنسانتره سیب و عصاره مالت قند نوشیدنی افزایش معنی داری یافت ($p\leq ۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد در هفته دوم تا هفته چهارم مقدار قند در تیمارهای حاوی مقادیر بیشتر کنسانتره سیب کاهش بیشتری داشتند .دلیل کاهش قند در تیمارها پس از ۲۸ روز نگهداری می تواند مصرف آن توسط باکتری لاکتوباسیلوس کازئی طی دوره نگهداری باشد. (توتونچی و همکارن ،۱۳۹۴) امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La-5 را طی ۴ هفته نگهداری بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل با افزایش زمان نگهداری کاهش پیدا کرده و تیمار حاوی درصد بیشتر باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت به باکتری لاکتوباسیلوس کازئی کاهش قند بیشتری داشته است که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر که مقدار قند احیاء کاهش یافت، مطابقت داشت. (سهراب وندی و همکاران ،۱۳۹۴) اثر برخی پریبیوتیک ها را بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آب پرتقال رژیمی به مدت ۳ ماه در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد بررسی کردند. نتایج نشان داد قند کل نمونه ها طی نگهداری به طور معنی داری کاهش یافت به طوری که بیشترین کاهش میزان قند کل مربوط به تیمار ۳٪

اینولین و ۳٪ ساکارز بود. نتایج این مطالعه با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. نتایج اندازه گیری گلوکز در تحقیق (Eksiri *et al., 2017*,)نشان داد طی ۲۸ روز نگهداری مقدار این ماده در تمامی تیمارها کاهش یافت و دلیل این امر مصرف این قند توسط باکتری های پروبیوتیک ارزیابی شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

(Zandi *et al.*, 2016)طی تحقیقاتی نشان دادند بریکس و قند نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری به دلیل رشد و مصرف قندها توسط باکتری ها کاهش خواهد یافت. نتایج این مطالعه با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. در مطالعه ای که توسط (Yahyaei *et al., 2015*)انجام شد نتایج نشان داد با افزایش زمان نگهداری مقدار pH و قندهای احیاء کاهش یافت که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت داشت. (Shisheh *et al*., 2014)طی مطالعه ای نشان دادند مقدار قند احیاء در تمامی نمونه ها پس از ۷۲ ساعت تخمیر کاهش یافت. دلیل این کاهش رشد باکتری و تولید اسید های آلی بود. نتایج این مطالعه با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

۴-۵- بررسی زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی

مطابق با نتایج زمان نگهداری و تراکم باکتری اثر کاملا معنی داری بر شمارش باکتری داشت. با افزایش زمان نگهداری شمارش باکتری های پروبیوتیک تا هفته سوم نگهداری افزایش و پس از آن در هفته چهارم کاهش داشت .همچنین با افزایش مقدار کنسانتره سیب و تراکم باکتری، شمارش باکتری های پروبیوتیک افزایش یافت .یکی از دلایلی که می تواند باعث رشد باکتری های پروبیوتیک طی ۳ هفته نگهداری باشد وجود مواد مغذی در نوشیدنی است و کاهش شمارش باکتری ها از هفته سوم به بعد می تواند اتمام مواد مغذی و اسیدیته بالا و pH پایین نوشیدنی باشد.

همچنین با گذشت زمان نگهداری، تولید متابولیت هایی چون اسیدهای آلی و کمبود مواد قندی می تواند باعث افزایش مرگ باکتری ها شود. (بابایی و همکاران ،۱۳۹۷) نشان دادند نوع و نسبت باکتری ها اثر کاملا معنی داری بر مقدار شمارش باکتری های پروبیوتیک داشت و تا دو هفته پس از نگهداری، شاهد افزایش تعداد باکتری و پس از آن تعداد باکتری ها کاهش یافت. نتایج این مطالعه در هفته های سوم و چهارم نگهداری با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. (عقدایی ،۱۳۹۶) در تولید عصاره مالت جو پروبیوتیک با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی نشان دادند از زنده مانی باکتری های پروبیوتیک به مرور زمان کاسته شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

(Mashayekh *et al*.,2016)طی مطالعه ای نشان دادند زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در طی تخمیر افزایش و در طی ۴ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد زنده مانی باکتری های پروبیوتیک کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد.

(Zandi *et al*., 2016) نشان دادند طی تخمیر، در کلیه تیمارها زنده مانی باکتری پروبیوتیک بدلیل مصرف قند و مواد مغذی موجود در آب میوه جات افزایش یافت و بعد از چهار هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتیگراد زنده مانی باکتری ها کاهش یافت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. (Costa *et al*., 2013)به مطالعه سنجش آب آناناس سونیکه شده به عنوان سوبسترای مناسب برای تولید نوشیدنی پروبیوتیک با گونۀ لاکتوباسیلوس کازئی پرداختند. بعد از تخمیر نمونه های شیرین و غیر شیرین، آب میوه در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۲ روز ذخیره شد. نتایج نشان داد قابلیت زنده مانی در نمونه های غیر شیرین*log cfu/ml* ۶/۰۳ و در نمونه های شیرین *log cfu/ml* ۴/۷۷ بود. بانتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت.

۴-۶- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی یک قاعده علمی به کار برده شده جهت اندازه گیری، آنالیز و تفسیر واکنش های مصرف کننده به خصوصیات مواد غذایی است که از طریق احساس بینایی، بویایی، چشایی و لامسه در برخی موارد با حس شنوایی دریافت میشود. بدین منظور اثر ۱۹ تیمار حاوی کنسانتره سیب و عصاره مالت بر شاخص های ارزیابی حسی شامل : مزه، بو، تلخی، ترشی، شیرینی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت، کدورت و پذیرش کلی توسط ۵ ارزیاب آموزش دیده مورد ارزیابی قرار گرفت.

مطابق با نتایج تجزیه و تحلیل آماری اثر زمان نگهداری بر شاخص های ارزیابی حسی مزه، بو، ترشی، شیرینی ،طبیعی بودن، رنگ و ظاهر، غلظت، کدورت و پذیرش کلی نوشیدنی پروبیوتیک طی دوره نگهداری اثر کاملا معنی داری داشت ($p \leq ۰/۰۱$). به عبارتی با افزایش زمان نگهداری شاخص های مزه، بو، تلخی، طبیعی بودن، رنگ و ظاهر و پذیرش کلی کاهش یافت و امتیاز شاخص های ترشی، غلظت و کدورت نمونههای نوشیدنی افزایش یافت .نتایج نشان داد افزایش زمان نگهداری باعث افزایش ترشی، غلظت و کدورت نمونه ها شد .دلیل کاهش امتیاز ارزیابی حسی در همه تیمارها می تواند وجود باکتری ها، متابولیت و تولید اسیدهای آلی توسط باکتری ها باشد. همچنین با توجه به نتایج ارائه شده از نظر جمعیت میکروبی بالاتر از حد استاندارد تعریف شده برای محصولات پروبیوتیک(*cfu/ml* ۱۰^۸)و امتیاز پذیرش کلی نزدیک به نمونه شاهد تیمار $_1A_2B_1C$ (حاوی ۲ ٪ عصاره مالت + ۳۰ ٪ کنسانتره سیب با تراکم *cfu/ml* ۱۰^۶) به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید .(شیخ قاسمی و زمردی ،۱۳۹۳) تاثیر کپسوله کردن بر زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص کیفی آب سیب در طول نگهداری در دمای محیط را بررسی کردند. نتایج ارزیابی حسی در روز اول نشان داد نمونه حاوی پروبیوتیک آزاد و کپسوله شده از لحاظ خواص حسی با آب سیب شاهد اختلاف معنی داری نداشت اما تیمار حاوی پودر آب پنیر کمترین امتیاز خواص حسی را داشت. که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مغایرت داشت. نتایج

ارزیابی حسی تحقیقات (Eksiri *et al.*, 2017) نشان داد کمترین پذیرش کلی متعلق به نمونه شاهد و بیشترین پذیرش کلی متعلق به تیمار حاوی ۳۰ درصد آب سیب به همراه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس رامنوسوس و عصاره های بیدمشک و گل گاوزبان بود .(Nematollahi *et al.*, 2016) در مطالعه ای زنده مانی باکتری های پروبیوتیک و بررسی برخی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی آنها در آب گیلاس را با استفاده از سویه لاکتوباسیلوس کازئی در دمای ۴ درجه سانتیگراد و طی ۲۸ روز نگهداری بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد امتیاز ارزیابی حسی تمامی نمونه ها طی دوره نگهداری روند کاهشی داشت. همچنین بین نمونه های شاهد طی ۲۸ روز نگهداری اختلاف معنی داری مشاهده نشد اما در نمونه های حاوی پروبیوتیک ها بوی تندی و طعم نامطلوب گزارش شد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت.

۵- نتیجه گیری کلی

نسبت باکتری لاکتوباسیلوس کازئی و زمان نگهداری اثر کاملا" معنی داری بر مقدار pH، اسیدیته، بریکس و قند کل نوشیدنی پروبیوتیک داشت($p\leq ۰/۰۵$). با افزایش تراکم باکتری و زمان نگهداری ،pH، قند کل و بریکس نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار کاهش($p \leq ۰/۰۵$) و اسیدیته نوشیدنی پروبیوتیک بطور معنی دار افزایش یافت($p \leq ۰/۰۵$). در مورد زنده مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازئی، با افزایش زمان نگهداری تا هفته سوم نگهداری شاهدافزایش تعداد باکتری ها بوده و از هفته سوم به بعد شمارش باکتری های پروبیوتیک کاهش یافت. با این حال تمامی تیمارها دارای جمعیت میکروبی پروبیوتیک بالاتر از حد استاندارد تعریف شده برای محصولات پروبیوتیک($۱۰^{۶}$ *cfu/ml*) بود. نسبت باکتری و زمان نگهداری اثر کاملا" معنی داری بر امتیاز ارزیابی حسی نوشیدنی پروبیوتیک داشت($p<۰/۰۱$). به طوری که با افزایش زمان نگهداری امتیاز ارزیابی حسی در همه تیمارهای تحقیق کاهش یافت. با توجه به نتایج ارائه شده از نظر جمعیت میکروبی($۱۰^{۸}$ *cfu/ml*) بالاتر از حد استاندارد تعریف شده برای محصولات پروبیوتیک و امتیاز پذیرش کلی نزدیک به نمونه شاهد تیمار $A_2B_1C_1$ (حاوی ۲ ٪ عصاره مالت + ۳۰ ٪ کنسانتره سیب با تراکم *cfu/ml* $۱۰^{۶}$) به عنوان تیمار برتر انتخاب گردید.

منابع Reference

- اشرفی یورقانلو، ر.، مهریار، ل .۱۳۹۸. اثر افزودن اینولین و گالاکتواولیگوساکارید بر زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس کازئی ریزپوشانی شده در آبمیوه ترکیبی سیب-زردآلو

- امین مقدسی, آرمین و مرجان نوری ،۱۳۹۶، بررسی امکان تولید آبمیوه شاه توت پروبیوتیک ،دومین کنفرانس ملی دستاوردهای نوین در صنایع غذایی و تغذیه سالم، تهران، سازمان بسیج مهندسین کشاورزی و منابع طبیعی استان البرز.

- امینی نیا، ه. رضوی، س. ه. عیوض زاده، ا .۱۳۹۵. تولید نوشیدنی فراسودمند آب کرفس با استفاده از باکتریهای اسید لاکتیک .

فصلنامه علوم و صنایع غذایی ،۵۱)۱۳(، ۱۰۳- ۱۱۱.

- بابایی، م.، هاشمی روان، م.، پوراحمد، ر. ۱۳۹۷. تولید نوشیدنی پروبیوتیک بر پایه آب گوجه فرنگی و مخلوط سبزیجات فلفل دلمه ای، کرفس و گشنیز، علوم و صنایع غذایی ایران، ۱۵)۷۴(:۳۴۱-۳۳۱.

- بی نام ،۱۳۸۲. غلات و فرآورده های آن – مالت و عصاره مالت – آئین کار تولید، موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ،استاندارد شماره ۶۹۶۰.

- بی نام، ۱۳۸۰. فرآوردههای میوه و سبزی – تعیین اسیدیته- روش آزمون، استاندارد ملی ایران شماره ۳۷۳. موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.

- توتونچی، پ. حصاری، ج. مرادی، م و فتحی آچاچلویی، ب .۱۳۹۴. ارزیابی امکان تولید آب انگور قرمز پروبیوتیک با استفاده از لاکتوباسیلوس کازئی ۴۳۱ و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس۵-**La** . نشریه پژوهشهای صنایع غذایی) .۴(۲۵. ۶۵۵- ۶۶۶.

- دخانی،ش. بهشتی،ر.،۱۳۸۲. تجزیه کیفی و کمی قندها و اسیدهای آلی غالب در دو رقم سیب درختی سمیرم در طی بسته بندی و انبارمانی، با بهره گیری از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا) **HPLC**(. علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی.سال هفتم. شماره ۴، صفحه ۲.

- سهراب وندی، س. مال گنجی، ش. ایوانی، م. ج. و خسروی دارانی، ک .۱۳۹۱. بررسی قابلیت زیستی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم لاکتیس طی نگهداری یخچالی در ماءالشعیر. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران) .۵(۷. ۸۷- ۹۴.

- شاه آبادی، سمیرا، توکلیپور، حمید، مرتضوی، سید علی، رئوفی، نسیم .۱۳۹۴. تاثیر صمغ کارگینان و جایگزینی نسبی کره با روغن آفتابگردان بر برخی خصوصیات فیزیکی شیمیایی پخشینه سمنو طی زمان نگهداری، نشریه پژوهش های صنایع غذایی، جلد ۲۵، شماره۳، ص ۴۰۵-۲۹۱.

- عقدایی، ف .۱۳۹۶. تولید عصاره مالت جو پروبیوتیک با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس کازئی . پایان نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین.

- علوی لواسانی، ز. س.، رضوی، س. ه.، پوراحمد، ر .۱۳۹۱. تولید آب هندوانه آناناسی)زرد(با باکتری های اسید لاکتیک، همایش ملی پروبیوتیک و غذاهای فراسودمند، دوره ۲.

- فرخی، علی رضا) .۱۳۸۷(. بررسی تاثیر همزمان عصاره مالت و سویا بر افزایش رشد باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در تولید شیر و ماست پروبیوتیکی، پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی، شماره ۶۵۳، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون.

- قاسمی، شَهره، زمردی، شهین) .۱۳۹۳(. تاثیر کپسوله کردن بر زنده مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و خواص کیفی سیب در طول نگهداری در دمای محیط،مجله علوم غذایی و تغذیه، دوره ۱۱، ص ۹۰-۸۱..

- قضاوی، ن.، مشتاقی، .، بنیادیان، م .۱۳۹۵. تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب قروز و زرد، مجله میکروب شناسی مواد غذایی شهرکرد، دوره ۳، شماره ۲، صفحات ۱۰-۱. - مرتضویان، س . الف، س. سهراب وندی) .۱۳۸۵(. پروبیوتیک ها و فرآورده های غذایی پروبیوتیک، تهران، انتشارات اتا ،۱۳۱-

- **Costa.m.G,T. VidalFonteles, A.L. Tiberis Dejesus, S. Rodrigues. 2013. Sonicated Pine apple juice as Substrate for L.Casei Cultivation for Probiotic Beverage Development: Process Optimisation and Product Stability , Food Chemistry .139: 261-266** .

- **Davidson, R. H., S. E. Duncan., C. R. Hachney., W. N. Eigel and J, W .Boling.1997. Probiotic culture survival and implications in fermented frozentogurt characteristics. Journal of Dairy Science. 83: 666-673** .

- **Eksiri, M., Nateghi, L., Rahmani, A. 2017. Production of Probiotic Drink Using Pussy Willow and Echium amoenum Extract, Applied Food Biotechnology, 4(2), 2345-2357** .

- **Goktepe, I., V. K. Juneja and M. Ahmedna. 2005. Probiotics in Food Safety and Human Health, 1st ed., CRC Taylor & Francis Group, USA**

- **Gomes, A.M.P., and Malcata, F.X.,1998. Use of Small Rumi-nants Milks Supplemented with Available Nitrogen as Growth Media for Bifidobacterium lactis and Lactobacillus acidophilus. Journal of Applied Microbiology 85, 839±848** .

- **Horacjova, S., Kristyna, R., Bialasova, K., Klojdova, I. 2018. Fruit juices with probiotics – New type of functional foods, Czech Journal of Food Sciences, 36(No. 4):284-288**

- **Kolniak-Ostek.J, O.Oszmian ski and A.Wojdylo. (2013). Effect of L-ascorbic acid addition on quality polyphenolic compounds and antioxidant capacity of cloudy apple juices, Eurpean Food Research Technology, 236,777–798** .

- **Kun S, Rezessy-Szabó JM, Nguyen QD, Hoschke A .2008. Changes of microbiological population and some components in carrot juice during fermentation with selected Bifidobacterium strains. Proc Biochem. 43(8): 816821** .

- **Luckow. T, V. Sheehan, G. Fitzgerald and C. Delahunty.,(2006), Exposure health information and flavor-masking strategies for improving the sensory quality of probiotic juice, Appetite, 47, 315-323** .

- **Mashayekh, Somayeh, Hashemiravan, Mahnaz, Fahim Dokht Mokhtari. 2016. Study on Chemical and Sensory Changes of probiotic fermented beverage based on mixture of pineapple,apple and mango juices, Journal of Current Research in Science, 4(3), 1-5** .

- **Nematollahi, A., Sohrabvandi, S., Mortazavian, A.M. 2016. Viablility of Probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. Electronic Journal of Biotechnology, 21, 49-53** .

- **Nguyen, B. T., Bujna, E., Fekete, N. 2019. Probiotic Beverage from Pineapple Juice Fermented with Lactobacillus and Bifidobacterium Strains, Frontiers in Nutrition and Technology, 6:54, 1-.11**

- **Shisheh, S., Hashemiravan, M., Pourahmad jaktaji, R. 2014. Production of Probioticmixture of Barberry and Black cherry juice by lactic acid bacteria. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 6, 53-.16**

- **Yahyaei Soofyani. Z., Hashemiravan.M and Pourahmad. R, (2015). production of beverage based on probiotic fermented mixture of malt extract and red fruit juices Advances in Environmental Biology, 9.2.762-.967**

- **Zandi, M. M. Hashemiravan, M. Berenjy, Sh. 2016. Production of Probiotic Fermented Mixture of Carrot, Beet and Apple Juices. Journal of Paramedical Sciences (JPS). 7(3): ISSN 2008-.8794** -

Possibility of producing and evaluating physicochemical and sensory properties of probiotic drinks based on apple juice concentrate and malt extract

A.Nasseri [1], **M. Hashemiravan** [2*] **and R.Pourahmad** [3]

Received: 17 July, 2021 Accepted: 19 Aug, 2021

Abstract

Probiotics are living microorganism inhibiting the activating of harmful pathogens via establishing in the intestinal medium. Most probiotic products presented in the market are probiotic dairy products, however, in recent year, demand for non-dairy probiotic products has grown. The objective of this study was to produce a probiotic drink containing different concentrations of apple concentrate (20, 30, 40 %) and malt extract (2, 4, 6 %) using *Lactobacillus casei* (10^6 and 10^7 cfu/ml) over 28d storage at 4°*c*. physicochemical (pH, acidity, Brix and total suger), microbial (probiotic bacterial count) and sensory (flavor, aroma, bitterness, sweetness, naturality, color and appearance, thickness, turbidity and total acceptance) properties were measured when produced, 27 h after production, during 1^{st}, 2^{nd},3^{rd} and 4^{th} weeks by 5 trained panelists as 18 treatments with a control sample in triplicate. Data were analyzed by SPSS 21 software and multirange Duncan test at 95% and diagrams were drawn by Excel 2013. The results showed that pH, Brix value, and bacterial viability decreased and acidity increased significantly ($p\leq 0.05$) Overtime. The highest viability after 28 days was found for $A_3B_2C_3$ (40% apple concentrate + 6% malt extract, 10^7 cfu/ml). Sensory evaluation showed a decrease and given the microbial population higher than the standard level for probiotic products (10^6 cfu/ml) and total acceptance $A_2B_1C_1$ (2% malt extract + 30% apple concentrate, 10^6 cfu/ml) was selected as the superior treatment.

Keywords: Apple concentrate, Malt extract, *Lactobacillus casei*, Probiotic drink

[1] Msc., Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin Branch, Iran.

[2*] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin Branch, Iran.

[3] Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Varamin Branch, Iran

Coresponding author : m_hashemiravan@yahoo.com