

اثر بازدارندگی نیسین و اسید آسکوربیک بر آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس در آب پرتقال

فاطمه صباغی^۱، رضوان پورا احمد^{۲*}، مهناز هاشمی روان^۳

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین - پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران.

* نویسنده مسئول: rjpourahmad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۱۲

چکیده

آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس باکتری اسپوردار و گرمادوست است که سبب تغییر طعم و بو در آبمیوه‌ها می‌شود. هدف از این تحقیق، بررسی اثر بازدارندگی نیسین و اسید آسکوربیک بر آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس در آب پرتقال بود. باکتریوسین نیسین (۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) و اسید آسکوربیک (۱۰۰ و ۲۵۰ ppm) در آب پرتقال آلوده به باکتری آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس استفاده گردید. ویژگی‌های میکروبی، فیزیکی شیمیایی و حسی نمونه‌ها طی ۹۰ روز نگهداری بررسی شد. افزودن نیسین و اسید آسکوربیک موجب کاهش معنی‌دار ($P < 0.05$) تعداد آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس در آب پرتقال گردید. کمترین تعداد باکتری به ترتیب متعلق به نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک و نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک بود. تعداد باکتری در نمونه‌های حاوی نیسین و اسید آسکوربیک با گذشت زمان کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) یافت بطوریکه عدم رشد باکتری در نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک در روزهای ششم و نودم و نیز نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک در روز نودم مشاهده گردید. طی زمان نگهداری، اسیدیته نمونه‌ها افزایش و بریکس کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) یافت. در میان نمونه‌های آب پرتقال، نمونه حاوی ۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک و نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک دارای بالاترین امتیاز پذیرش کلی حسی بودند. با توجه به ویژگی‌های میکروبی و حسی، نمونه حاوی ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک به عنوان بهترین نمونه انتخاب شد. بنابراین آب پرتقال حاوی نیسین و اسید آسکوربیک ضمن داشتن کیفیت حسی مطلوب، می‌تواند در مهار آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس موثر باشد.

کلید واژه‌ها: آب پرتقال، آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس، اسید آسکوربیک، نیسین.

مقدمه

اسیدی زنده می‌مانند حتی زمانی که آنها به درجه حرارت پاستوریزه رسیده باشند (Smite et al., 2010). آلیسایکلوپاسیلوس‌ها، باکتری‌های اسپوردار، هوازی و مقاوم به گرما هستند که موجب تغییر مزه و بوی آبمیوه می‌شوند و خسارت قابل توجهی را به صنایع آبمیوه وارد می‌سازند (Walls and Chuyate, 2000).

اسید آسکوربیک به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی، دارای تاثیرات حفاظت‌کنندگی در برابر تشکیل رادیکال‌های آزاد و بروز بیماری‌های مختلف می‌باشد. افزودن مقداری اسید آسکوربیک اضافی به آب میوه‌ها اکسیژن موجود در فضای خالی بسته‌بندی را کاهش می‌دهد و

پرتقال یکی از پرمصرف‌ترین میوه‌های فصل سرماست و مانند دیگر مرکبات غنی از ویتامین C است. پرتقال علاوه بر ویتامین C دارای انواع ویتامین‌های A, B, E و همچنین سرشار از بتاکاروتن است، در ضمن در این میوه املاح معدنی بسیاری از جمله کلسیم، فسفر، آهن، منگنز و روی نیز وجود دارد (Ashurt, 2016). تصور می‌شد که محصولات اسیدی از قبیل آبمیوه و میوه مستعد ابتلا به فساد توسط مخمرها، قارچ‌ها و باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشند و پائین بودن pH این محصولات اقدام موثری در برابر فساد باکتری‌ها می‌باشد. در حالی که آلیسایکلوپاسیلوس‌ها، باکتری‌هایی هستند که در محصولات میوه‌ای و آبمیوه‌های

داد افزودن نیسین به آب میوه کیوی باعث ممانعت از رشد اسپورهای باکتری می‌شود (Zhang et al., 2016).

هدف از این تحقیق بررسی اثر بازدارندگی نیسین و اسید آسکوربیک بر *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس* در آب پرتقال بود. همچنین ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و کیفیت حسی نمونه‌های آب پرتقال مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

۱. تهیه کشت میکروبی

باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس* ATCC 11778 به صورت آمپول لیوفیلیزه تهیه شد. برای فعال کردن باکتری، ابتدا طبق دستورالعمل و تحت شرایط استریل سر ویال را شکسته و محتوی داخل ویال به درون لوله آزمایش حاوی محیط BAT Broth (Highmedia، هند) تخلیه شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری گردید. سوسپانسیون میکروبی در ۴۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. رسوب حاصله جداسازی و در آب پیتونه ۱٪ حل شد. سپس نمونه به داخل کووت منتقل گردید و در دستگاه اسپکتروفوتومتر قرار داده شد تا میزان جذب نور در طول موج ۶۲۵ نانومتر اندازه گیری شود. لازم به ذکر است که میزان جذب در طول موج ۶۲۵ نانومتر می‌بایست بین ۰/۱۳-۰/۰۸ باشد که معادل تراکم میکروبی 10^8 cfu/ml است. از کدورت ایجاد شده، ۱ میلی‌لیتر برداشته و به لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل منتقل گردید. سپس مجدداً از همین لوله ۱ میلی‌لیتر برداشته و به لوله آزمایش حاوی ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی منتقل شد که در این مرحله تراکم مورد نظر یعنی 10^6 cfu/ml بدست آمد (اشرفی، ۱۳۸۵).

تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC)

این امر باعث جلوگیری از اکسیداسیون احتمالی محصول، پس از تولید می‌گردد (Shalata and Neumann, 2001).

نیسین، یک پپتید کاتیونی کوچک متشکل از ۳۴ اسید آمینه می‌باشد که طیف گسترده‌ای از فعالیت ضد میکروبی را علیه باکتری‌های گرم مثبت و اسپور باکتری‌ها نشان داده است و برای حفظ مواد غذایی مناسب می‌باشد (Krivorotova et al., 2016).

بررسی‌هایی در زمینه کنترل باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس* انجام شده است. به طور مثال برخی محققین اثر ضد میکروبی نیسین در برابر *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس* را در آب میوه‌های هلو، انبه و بادام زمینی بررسی و گزارش کردند بعد از ۸ ساعت گرمخانه گذاری، نیسین باعث کاهش ۴ سیکل لگاریتمی از سلول زنده *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس* در آب انبه و هلو شد ولی در بادام زمینی هیچ سلول زنده‌ای باقی نماند. همچنین بعد از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در حضور نیسین هیچ سلول زنده‌ای دیده نشد (De Olivera Junior et al., 2015). در یک بررسی دیگر محققین اثر فشار بالا را بر آب پرتقال آلوده به *آلیسایکلوپاسیلوس* در دماهای مختلف بررسی کردند. بر اساس نتایج بدست آمده در دمای ۸۰-۶۰ درجه سانتی‌گراد کاهش قابل توجهی در تعداد باکتری مشاهده شد (Roig-sagues et al., 2015). همچنین محققین دیگر اثر نیسین بر رشد و مقاومت حرارتی گونه‌های *آلیسایکلوپاسیلوس اسیدوترستریس*^۱، *آلیسایکلوپاسیلوس هرباریوس*^۲ و *آلیسایکلوپاسیلوس کنتامینانس*^۳ را در آب میوه کیوی بررسی کردند. نتایج نشان داد رشد کلیه سویه‌ها می‌تواند با مقدار 20 IU ml^{-1} نیسین مهار شود. در صورت عدم افزودن نیسین به نمونه‌ها زمان لازم جهت رسیدن به $D\text{-Value } 90 = 37/36$ الی $12/43$ دقیقه بود اما با اضافه کردن نیسین زمان لازم برای D_{90c} بین $0/41$ الی $16/48$ دقیقه بود. به طور کلی نتایج نشان

اضافه گردید. نمونه‌های تهیه شده در شیشه‌های ۲۰۰ میلی لیتر پر و در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه پاستوریزه گردید. سپس نمونه‌ها بلافاصله پس از پاستوریزاسیون در دمای محیط به مدت ۳ ماه نگهداری شدند. آزمایش‌های فیزیکی شیمیایی و حسی در روز اول تولید، روز سی ام، روز شصتم و روز نودم انجام پذیرفت.

شمارش *آلیسایکلوپاسیلوس* / *اسیدوترستریس*

برای این منظور ۵۰ میلی‌لیتر از آب پرتقال را با ۱۰۰ میلی‌لیتر از محیط BAT broth غنی کرده، سپس نمونه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد که به باکتری در نمونه شوک حرارتی داده شد و بعد از آن تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک گردید. نمونه‌های غنی شده در انکوباتور ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز گرمخانه‌گذاری شد، سپس به میزان ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون (آب پرتقال که با محیط BAT broth غنی شده) به صورت سطحی داخل پلیت حاوی BAT Agar ریخته و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ روز گرمخانه‌گذاری گردید (IFU, 2004).

اندازه‌گیری اسیدیته

برای اندازه‌گیری اسیدیته از روش تیتراسیون استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶).

اندازه‌گیری بریکس

برای اندازه‌گیری بریکس از دستگاه رفاکتومتر دیجیتالی مدل (Atago، ژاپن) استفاده شد (Akbarpour et al., 2009).

ارزیابی حسی

ارزیابی حسی توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده شرکت سن ایچ انجام گردید. شاخص‌های رنگ، بو، مزه و پذیرش کلی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای (عدد ۱ بیانگر کمترین امتیاز و عدد ۵ بیانگر بیشترین امتیاز) مورد ارزیابی قرار گرفت (Abdelbary, 2002).

برای تعیین MIC و MBC رقت‌های سریالی از نیسین (Sigma، آلمان) تهیه شد و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر لیتر بدست آمد. ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی حاوی 10^6 cfu/ml از باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس* به همراه ۱۶۰ میکرولیتر از محیط کشت BAT broth به هر یک از لوله‌های حاوی نیسین اضافه شد، یک لوله حاوی محیط کشت و باکتری به عنوان نمونه شاهد و لوله‌های دیگر حاوی محیط کشت و باکتری و نیسین به عنوان نمونه‌های اصلی در نظر گرفته شدند. تمامی لوله‌های آزمایش به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید و سپس لوله‌ها از نظر کدورت ناشی از رشد باکتری بررسی و کمترین غلظتی که در آن باکتری رشد نمود به عنوان MIC در نظر گرفته شد. جهت تعیین MBC از لوله‌هایی که در مرحله اول در آن‌ها عدم رشد باکتری مشاهده شد ۵ میکرولیتر برداشته و در محیط BAT Agar به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد کشت داده شد. کمترین غلظتی از نیسین و اسید آسکوربیک که سبب نابودی بیشترین تعداد باکتری (۹۹/۹ درصد) گردید به عنوان MBC در نظر گرفته شد (Kiehlbauch et al., 2000).

تهیه آب پرتقال

به منظور تهیه آب‌میوه پرتقال، ۱۷/۲ درصد کنسانتره پرتقال (Doehler، آلمان) و ۸۲/۸ درصد آب توزین گردید. کنسانتره از طریق دستگاه ice-crasher یا به طور مستقیم توسط پمپ وارد تانک آماده سازی شد. محصول فیلتر شده وارد تانک بافر گردید. سپس نمونه آب پرتقال کشت داده شد تا از آلوده نبودن آن اطمینان حاصل شود در مرحله بعد، *آلیسایکلوپاسیلوس* / *اسیدوترستریس* (10^6 cfu/ml) به آب پرتقال اضافه شد. همچنین نیسین (Sigma، آلمان) در دو سطح (۱۵۰ و ۲۰۰ ppm) و اسید اسکوربیک (Ningxia-Qiyuan، چین) در دو سطح (۱۰۰ و ۲۵۰ ppm) به آب پرتقال

آنالیز آماری

آزمایش بر مبنای یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این تحقیق ۱۰ تیمار با ۳ تکرار بررسی گردید. برای تجزیه واریانس از آزمون F و برای کلاس بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۰.۹۵٪ استفاده گردید. نرم افزار SAS 9.1 مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

ویژگی‌های میکروبی نمونه‌های آب پرتقال میزان MIC و MBC نیسین علیه *آلیسایکلوپاسیلوس* اسیدوترستریس به ترتیب ۲۰۰ ppm و ۲۵۰ ppm بود. در جدول ۱ تعداد *آلیسایکلوپاسیلوس* اسیدوترستریس در نمونه‌های آب پرتقال طی نگهداری مشخص شده

است. تیمار و زمان نگهداری اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر تعداد *آلیسایکلوپاسیلوس* اسیدوترستریس داشتند. کمترین تعداد باکتری به ترتیب متعلق به تیمارهای ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) بود. طی زمان نگهداری جمعیت باکتری به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). عدم رشد باکتری در تیمار ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) در روزهای شصتم و نودم و نیز تیمار ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) در روز نودم مشاهده گردید. در تمام روزهای نگهداری بیشترین تعداد باکتری متعلق به تیمار ۱۰ (نمونه شاهد) بود.

جدول ۱- تعداد باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس* اسیدوترستریس (cfu/ml) در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۲/۵×۱۰ ^۲ ±۰/۱۶ ^{CA}	۳/۶۷×۱۰ ^۲ ±۰/۰۷ ^{CB}	۲/۱۰×۱۰ ^۲ ±۰/۰۸ ^{CC}	۴/۶×۱۰ ^۱ ±۰/۱۵ ^{BD}
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۱/۲۲×۱۰ ^۲ ±۰/۲۲ ^{DA}	۲/۸×۱۰ ^۲ ±۰/۰۷ ^{DB}	۳/۳×۱۰ ^۱ ±۰/۰۹ ^{DC}	۱/۵×۱۰ ^۱ ±۰/۰۸ ^{CC}
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۹/۵×۱۰ ^۱ ±۰/۲۴ ^{EA}	۱/۹×۱۰ ^۱ ±۰/۰۹ ^{EB}	۹±۰/۰ ^{EC}	±۰/۰ ^{DD}
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۱/۵×۱۰ ^۱ ±۰/۱۰ ^{FA}	۹±۰/۰ ^{FB}	±۰/۰ ^{FC}	±۰/۰ ^{DC}
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۴/۸۷×۱۰ ^۲ ±۰/۱۰ ^{BA}	۶/۵۷×۱۰ ^۲ ±۰/۰۸ ^{BB}	۵/۲۱×۱۰ ^۲ ±۰/۰۹ ^{BC}	۵/۸×۱۰ ^۱ ±۰/۱۵ ^{BD}
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۱/۳۰×۱۰ ^۲ ±۰/۲۰ ^{DA}	۲/۲۸×۱۰ ^۲ ±۰/۰۸ ^{DB}	۴/۷×۱۰ ^۱ ±۰/۰۷ ^{DC}	۱/۸×۱۰ ^۱ ±۰/۰۸ ^{CD}
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۱/۸×۱۰ ^۶ ±۰/۲۰ ^{AA}	۱/۶×۱۰ ^۶ ±۰/۰۸ ^{AA}	۳/۳×۱۰ ^۵ ±۰/۰۹ ^{AA}	۱/۳×۱۰ ^۵ ±۰/۰۸ ^{AA}

*نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

*حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0.05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0.05$).

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی نمونه‌های آب پرتقال

اسیدیته

طبق جدول ۲، افزودن نیسین و اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر کاهش اسیدیته محصول داشت

($P < 0.05$). همچنین با افزایش زمان نگهداری اسیدیته محصول به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت.

جدول ۲- مقادیر اسیدیته بر حسب اسید سیتریک (گرم در ۱۰۰ میلی لیتر) در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۰/۸۱۰±۰/۰۰۰۰ ^{bcB}	۰/۸۱۳±۰/۰۰۰۰ ^{cAB}	۰/۸۱۷±۰/۰۰۵۷ ^{bcAB}	۰/۸۲۰±۰/۰۰۵۷ ^{bcA}
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۰/۸۱۷±۰/۰۰۰۰ ^{bc}	۰/۸۲۰±۰/۰۰۰۰ ^{bcBC}	۰/۸۲۷±۰/۰۰۵۷ ^{bcAB}	۰/۸۳۰±۰/۰۱۰۰ ^{ba}
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۰/۸۱۰±۰/۰۰۰۰ ^{bcB}	۰/۸۱۳±۰/۰۰۵۷ ^{cAB}	۰/۸۱۷±۰/۰۰۵۷ ^{bcAB}	۰/۸۲۰±۰/۰۱۱۵ ^{bcA}
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۰/۸۱۷±۰/۰۰۰۰ ^{bb}	۰/۸۲۷±۰/۰۰۵۷ ^{ba}	۰/۸۲۷±۰/۰۱۰۰ ^{ba}	۰/۸۳۰±۰/۰۰۵۷ ^{ba}
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۰/۸۰۵±۰/۰۰۰۰ ^{CB}	۰/۸۱۳±۰/۰۰۰۰ ^{cAB}	۰/۸۱۴±۰/۰۰۰۰ ^{cAB}	۰/۸۲۰±۰/۰۰۰۰ ^{bcA}
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۰/۸۰۴±۰/۰۰۰۰ ^{CC}	۰/۸۱۴±۰/۰۰۰۰ ^{CBC}	۰/۸۱۵±۰/۰۰۰۰ ^{cAB}	۰/۸۳۰±۰/۰۰۰۰ ^{bcA}
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۰/۸۲۹±۰/۰۰۰۰ ^{aC}	۰/۸۳۸±۰/۰۰۵۷ ^{aBC}	۰/۸۴۳±۰/۰۰۱۰ ^{aB}	۰/۸۴۸±۰/۰۰۰۰ ^{aA}

* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0.05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0.05$).

مطابق با جدول ۳ مشخص گردید غلظت‌های مختلف نیسین و اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر روی شاخص بریکس نداشت ($P < 0.05$). طی زمان نگهداری بریکس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$).

جدول ۳- مقادیر بریکس در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۱۱/۳۳۳±۰/۰۰۰۰ ^{aA}	۱۱/۲۶۷±۰/۰۰۰۰ ^{aAB}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aBC}	۱۱/۱۶۷±۰/۰۰۵۷ ^{aC}
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۱۱/۳۳۳±۰/۱۱۵۵ ^{aA}	۱۱/۳۰۰±۰/۱۱۵۵ ^{aA}	۱۱/۲۰۰±۰/۱۱۵۵ ^{aB}	۱۱/۱۶۷±۰/۱۱۵۵ ^{aB}
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۱۱/۳۶۷±۰/۱۰۰۰ ^{aA}	۱۱/۳۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aB}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aC}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aC}
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۱۱/۳۳۳±۰/۰۰۰۰ ^{aA}	۱۱/۳۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aA}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aB}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aB}
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۱۱/۳۶۷±۰/۰۰۰۰ ^{aA}	۱۱/۳۰۰±۰/۰۰۰۰ ^{aB}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aC}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aC}
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۱۱/۳۳۳±۰/۰۰۵۷ ^{aA}	۱۱/۳۰۰±۰/۰۰۵۷ ^{aA}	۱۱/۲۰۰±۰/۰۰۰۰ ^{aB}	۱۱/۲۰۰±۰/۱۱۵۵ ^{aB}
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۱۱/۳۳۲±۰/۰۰۰۰ ^{aA}	۱۱/۲۶۱±۰/۰۰۲۱۶ ^{aB}	۱۱/۱۸۲±۰/۰۰۵۷ ^{aBC}	۱۱/۱۵۶±۰/۰۰۵۷ ^{aC}

* نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

* حروف بزرگ غیرمشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0.05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0.05$).

ها داشتند ($P < 0/05$).. در روز نودم، نمونه‌های ۱)
 ۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳)
 ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک)
 بالاترین امتیاز مزه را داشتند و بین سایر نمونه‌ها تفاوت
 معنی‌داری وجود نداشت. طی زمان نگهداری امتیاز مزه
 به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). با توجه به
 شکل ۱، تفاوت معنی‌داری در امتیاز پذیرش کلی
 نمونه‌های آب پرتقال در روزهای اول و سی‌ام مشاهده
 نشد. در روزهای شصتم و نودم نمونه‌های ۱)
 ۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳)
 ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک)
 بالاترین امتیاز و نمونه‌های ۲) ۱۵۰ ppm نیسین +
 ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک) و ۴) ۲۰۰ ppm نیسین +
 ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) پایین‌ترین امتیاز را
 داشتند ($P < 0/05$). طی زمان نگهداری امتیاز پذیرش
 کلی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$).

ویژگی‌های حسی نمونه‌های آب پرتقال
 با توجه به جدول ۴، تفاوت معنی‌داری در امتیاز رنگ
 نمونه‌های آب پرتقال در روزهای اول و سی‌ام مشاهده
 نشد. در روزهای شصتم و نودم نمونه‌های ۱)
 ۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳)
 ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) امتیاز بالاتری
 نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند ($P < 0/05$). طی زمان
 نگهداری امتیاز رنگ به طور معنی‌داری کاهش یافت
 ($P < 0/05$). مطابق با جدول ۵، در تمام بازه‌های زمانی
 تفاوت معنی‌داری در امتیاز عطر و بوی نمونه‌های آب
 پرتقال مشاهده نشد. طی زمان نگهداری امتیاز عطر و
 بو به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0/05$). مطابق با
 جدول ۶، تفاوت معنی‌داری در امتیاز مزه نمونه‌های آب
 پرتقال در روزهای اول و سی‌ام مشاهده نشد. در روز
 شصتم نمونه‌های ۲) ۱۵۰ ppm نیسین +
 ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۴) ۲۰۰ ppm نیسین +
 ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) امتیاز پایین‌تری نسبت به سایر نمونه-

جدول ۴- امتیاز رنگ در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۲/۰۰ ± ۰/۰۰ cC
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۲/۰۰ ± ۰/۰۰ cC
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۲/۵۰ ± ۰/۰۰ bC
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۲/۵۰ ± ۰/۰۰ bC
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۲/۵۰ ± ۰/۰۰ bC

*نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0/05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0/05$).

جدول ۵- امتیاز عطر و بو در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ aB

*نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0.05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0.05$).

جدول ۶- امتیاز مزه در نمونه‌های آب پرتقال طی زمان نگهداری

تیمار	ترکیب	روز ۱	روز ۳۰	روز ۶۰	روز ۹۰
۱	۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aB
۲	۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB
۳	۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۵۰ ± ۰/۰۰ aB
۴	۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۱۱۲ bB	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB
۵	۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB
۶	۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB
۷	شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۴/۰۰ ± ۰/۰۰ aA	۳/۰۰ ± ۰/۰۰ bB

*نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار می‌باشد.

* حروف بزرگ غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطر است ($P < 0.05$)، حروف کوچک غیر مشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار در ستون است ($P < 0.05$).



شکل ۱- امتیاز پذیرش کلی در نمونه‌های آب پرتقال طی نگهداری

۱: ۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک، ۲: ۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک، ۳: ۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک، ۴: ۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک، ۵: ۱۵۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک، ۶: ۲۰۰ ppm نیسین، فاقد اسید آسکوربیک، ۷: شاهد (فاقد نیسین و اسید آسکوربیک)
حروف متفاوت بزرگ نشانگر اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بین زمان‌های مختلف در یک تیمار می‌باشد.
حروف متفاوت کوچک نشانگر اختلاف معنی‌دار ($p \leq 0.05$) بین تیمارهای مختلف در یک زمان می‌باشد.

بحث

ویژگی میکروبی نمونه‌های آب پرتقال افزودن نیسین و اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر کاهش تعداد *آلیسایکلوپاسیلوس* /*اسیدوترستریس* داشت. در تمام روزهای نگهداری بیشترین تعداد باکتری متعلق به تیمار ۱۰ (نمونه شاهد) بود. کمترین تعداد باکتری به ترتیب متعلق به تیمارهای ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک) و ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک) بود. عدم رشد باکتری در تیمار ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک) در روزهای ششم و نودم و نیز تیمار ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک) در روز نودم مشاهده گردید. دلیل این امر می‌تواند اثر نیسین و اسید آسکوربیک بر روی اسپورهای باکتری باشد. افزودن اسید آسکوربیک باعث افزایش اسیدیته و کاهش pH محصول شده و می‌تواند باعث تشدید اثر نیسین شود. همچنین مشخص گردیده که نیسین با افزایش حساسیت حرارتی اسپورها موجب جلوگیری از رشد اسپورهای *آلیسایکلوپاسیلوس* /*اسیدوترستریس* می‌شود (Yamazaki et al., 2000). برخی محققین اثر نیسین را در جلوگیری از رشد باکتری

آلیسایکلوپاسیلوس /*اسیدوترستریس* در آب‌میوه بررسی کردند. در این مطالعه سطوح 10^4 و 10^5 cfu/ml باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس* در آب‌میوه‌های پرتقال، گریپ فروت و سیب مشاهده شد. همچنین مشخص شد که با کاهش pH، حساسیت حرارتی باکتری افزایش می‌یابد. بنابراین استفاده از نیسین راه مناسبی برای کنترل این باکتری در آب‌میوه‌ها می‌باشد (Evangelia et al., 1999). در یک بررسی مشابه، اثر نیسین بر روی باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس* /*اسیدوترستریس* در نوشیدنی‌های اسیدی ارزیابی شد. از نیسین در سطوح $0.78 - 12/5$ IU ml^{-1} و همچنین pH $4/2 - 3/4$ در آب‌میوه‌هایی چون پرتقال و آب سیب استفاده گردید. بر اساس نتایج بدست آمده استفاده از نیسین مقاومت حرارتی اسپورهای باکتری *آلیسایکلوپاسیلوس* /*اسیدوترستریس* را کاهش داد و مانع رشد اسپورها گردید. همچنین اثر بازدارندگی نیسین در آب پرتقال نسبت به آب سیب بیشتر بود (Yamazaki et al., 2000). به‌طور مشابه برخی محققین اظهار داشتند که استفاده از نیسین و فشار هیدرواستاتیک بالا در کنترل رشد *آلیسایکلوپاسیلوس* /*اسیدوترستریس* در آب‌میوه‌ها موثر می‌باشد (Yue et al., 2014). همچنین

ویژگی‌های حسی نمونه‌های آب پرتقال نمونه‌های ۱ (۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) امتیاز رنگ، مزه و پذیرش کلی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند ($P < 0.05$). نمونه‌های ۲ (۱۵۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسید آسکوربیک) و ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) پایین‌ترین امتیاز پذیرش کلی حسی را داشتند. اسید آسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان جهت حفظ طعم دهنده‌ها استفاده می‌شود. بسیاری از ترکیبات طعم دهنده بویژه آلدئیدها، کتون‌ها و کتواسترها به اکسیداسیون حساس هستند اسید آسکوربیک می‌تواند باعث جلوگیری از اکسیداسیون و کاهش آنها شود اگر چه اسید آسکوربیک به عنوان یک عامل ممانعت کننده از قهوه‌ای شدن آب‌میوه‌های فرآیند نشده به حساب می‌آید اما این اثر می‌تواند طی پاستوریزاسیون و فرآیند گرما از بین برود. در چنین مواردی اسید آسکوربیک به عنوان تشدید کننده قهوه‌ای شدن عمل می‌نماید (Ashurt, 2016). در واقع اسید آسکوربیک در دوز پایین خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد اگر مقدارش بیشتر شود تغییرات رنگ نمونه بیشتر خواهد شد در نمونه‌های حاوی ۱۰۰ ppm اسید آسکوربیک بهتر از قهوه‌ای شدن محافظت می‌کند. طی زمان نگهداری امتیاز ویژگی‌های حسی نمونه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). با گذشت زمان شدت رنگ آب پرتقال به دلیل تغییرات حاصل در کاروتنوئیدها روند کاهشی داشته و به رنگ تیره متمایل بوده است. همچنین اکثر آب‌میوه‌های تازه در معرض واکنش‌های فسادزا مانند قهوه‌ای شدن و اکسید شدن (ناشی از نور-دما-فلزات و آنزیم‌ها) قرار دارند. آب پرتقال طی نگهداری دستخوش تغییرات نامطلوبی نظیر تغییرات رنگ، بو، طعم، کاهش مواد مغذی و افت کیفیت میکروبی می‌شود (Pereira et al., 2011)

محققین دیگر ژانگ و همکاران (۲۰۱۶) گزارش نمودند افزودن نیسین به آب‌میوه کیوی باعث ممانعت از رشد اسپورهای گونه‌های *آلیسایکلوباسیلوس اسیدوترستریس* می‌شود (Zhang et al., 2016).

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی نمونه‌های آب پرتقال اسیدیته

غلظت‌های مختلف نیسین و اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر کاهش اسیدیته محصول داشت ($P < 0.05$). همچنین با افزایش زمان نگهداری اسیدیته محصول به‌طور معنی‌داری ($P < 0.05$) افزایش یافت. دلیل این امر می‌تواند ناشی از مصرف مواد قندی و متابولیت‌های حاصل از فعالیت باکتری *آلیسایکلو-باسیلوس اسیدوترستریس* در آب پرتقال باشد. در بررسی مشابهی که پیرامون اثر استفاده از عصاره انار بر *آلیسایکلوباسیلوس* در آب سیب انجام داده شده بود، اسیدیته نمونه‌ها طی زمان نگهداری افزایش یافت (رضوانی فرد، ۱۳۹۵) که نتایج تحقیق حاضر با یافته‌های محقق فوق مطابقت دارد.

بریکس

غلظت‌های مختلف نیسین و اسید آسکوربیک اثر معنی‌داری بر روی شاخص بریکس نداشت ($P < 0.05$). طی زمان نگهداری بریکس تمام نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت ($P < 0.05$). دلیل این امر می‌تواند ناشی از فعالیت باکتری *آلیسایکلوباسیلوس اسیدوترستریس* و متابولیت‌های حاصل از فعالیت باکتری در آب پرتقال باشد. برخی محققین اعلام نمودند که مقدار بریکس در نوشیدنی فراسودمند تخمیری بر پایه مخلوط آب سیب، هویج، چغندر قرمز طی ۲۸ روز نگهداری در دمای 4°C کاهش یافت که با نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر مطابقت داشت (Zandi et al., 2016). به‌طور مشابه محققین دیگر گزارش نمودند که با افزایش زمان نگهداری، میزان بریکس در آب‌میوه سیب آلوده به *آلیسایکلوباسیلوس اسیدوترستریس* به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Tayefe et al., 2014).

برخواص فیزیکیوشیمیایی وحسی آب پرتقال رژیمی. مجله حکیم سیداسماعیل جرجانی، سال سوم، شماره ۱، صفحه ۱۱-۵.

5. Abdelbary, A. 2002. Physical and sensory characteristic of Najdi-camel Meat 99. Meat Sci. 39: 59-69.

6. Akbarpour, V., Hemmati, K.H., Sharifani, M. 2009. Physical and chemical properties of pomegranate(*punicagranatum*) fruit in maturation stage. Am Eurasian J Agric Environ Sci. 6: 411-416.

7. Ashurt, P.R. 2016. Chemistry and Technolog of soft drink and fruit juices, Third Edition, John Wiley & Sons Ltd.

8. De Olivera Junior, A.A., De Araujo Couto, H.G.S., Barbosa, A.A., Carnelossi, M.A., De Moura, T.R., 2015. Stability, antimicrobial activity, and effect of nisin on the physico-chemical properties of fruit juices. Int J Food Microbiol. 211: 38-43.

9. Evangelia, K., Loannis, B., Alison, D., Delves-Broughton, J. 1999. *Alicyclo bacillus acidoterrestris* in fruit juices and its control by nisin. Int J Food Sci Technol. 10:1365-2621.

10. IFU, 2004. International Federation of Fruit Juice Producers. Method on the detection of taint producing *Alicyclobacillus* in fruit juices. IFU method NO.12.

11. Kiehlbauch, J., Hannett, G., Salfinger, M., Archinal, W., Monserrat, C. 2000. Use of national committee for clinical laboratory standards guidelines for disk diffusion susceptibility testing in New York state laboratory. J Clin Microbiol. 38: 3341-3348.

12. Krivorotova, T., Cirkova, A., Maciulyte, S., Staneviciene, R., Budriene, S., Seriene, E., Sereikaite, J. 2016. Nisin-loaded pectin nanoparticles for food preservation. Food Hydrocoll. 54: 49-56.

13. McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. Hort Sci 27: 1254-1255.

14. Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Res Int. 44: 1276-1283.

نتیجه گیری کلی

استفاده از نیسین و اسید آسکوربیک باعث کاهش تعداد *آلیسایکلو باسیلوس* اسیدوترستریس در آب پرتقال طی دوره نگهداری گردید کمترین تعداد باکتری به ترتیب متعلق به تیمارهای ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) بود. عدم رشد باکتری در تیمار ۴ (۲۰۰ ppm نیسین + ۲۵۰ ppm اسیدآسکوربیک) در روزهای شصتم و نودم و نیز تیمار ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) در روز نودم مشاهده گردید. نمونه‌های ۱ (۱۵۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) و ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) امتیاز رنگ، مزه و پذیرش کلی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند. با توجه به ویژگی‌های میکروبی و حسی، تیمار ۳ (۲۰۰ ppm نیسین + ۱۰۰ ppm اسیدآسکوربیک) به عنوان تیمار برتر انتخاب شد. بنابراین آب پرتقال حاوی نیسین و اسید آسکوربیک ضمن داشتن کیفیت حسی مطلوب، می‌تواند در مهار *آلیسایکلو باسیلوس* اسیدوترستریس موثر باشد.

منابع

- اشرفی، فاطمه. (۱۳۸۵). میکروبی شناسی عملی، انتشارات احسن، چاپ اول.
- رضوانی فرد، زینب. (۱۳۹۵). استفاده از عصاره پوست انار در آب‌میوه سیب به‌عنوان نگهدارنده علیه باکتری‌های *لاکتوباسیلوس پلاتاروم*، *آلیسایکلو باسیلوس* و مخمر *ساکارومایسس سرویزیه*. پایان‌نامه کارشناسی ارشد صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین-پیشوا.
- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). آب‌میوه‌ها- روش‌های آزمون. استاندارد شماره ۲۶۸۵.
- سهراب‌وندی، سارا، مرتضویان، امیر محمد، جهانی، حامد، ایوانی، محمد جواد، نعمت‌اللهی، آمنه و کمیلی فرد، ر. (۱۳۹۴). بررسی اثر برخی پری‌بیوتیک‌ها

19. Walls, I. and Chuyate, R. 2000. Spoilage of fruit juice by *Alicyclobacillus acidoterrestris*. Food Australia 52: 286-288.
20. Yamazaki, K., Murakami, M., Kawai, Y., Inoue, N., Matsuda, T. 2000. Use of nisin for inhibition of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in acidic drinks. Food Microbiol. 17: 315-320.
21. Yue, T., Zhang, J., Yuan, Y. 2014. Spoilage by *Alicyclobacillus acidoterrestris* bacteria in juice and beverage products: chemical, physical, and combined control methods. Compr Rev Food Sci Food Saf. 10: 102-245.
22. Zandi, M., Hashemiravan, M., Berenji, Sh. 2016. Production of probiotic fermented mixture of carrot, beet and apple juice. J Paramed Sci. 7: 17-23.
23. Zhang, J., Zhao, P., Liu, B., Meng, X. 2016. Use of oligochitosnan as an inhibiting agent of apple juice enzymatic browning. J Food Process Preserv. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13062>.
15. Roig-sagues, A.X., Asto, E., Engers, I., Hernandez-herrero, M.M. 2015. Improving the efficiency of untra-high pressure homogenization treatments to inactivate spores of *Alicyclobacillus* spp in orange juice controlling the inlet temperature. LWT- Food Sci Technol. 6: 866-871.
16. Shalata, A. and Neumann, M. 2001. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) increases resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. J Exp Bot. 52: 2207-2211.
17. Smite, Y., Cameron, M., Venter, P., Corliwitthihn, R. 2010. *Alicyclobacillus acidoterrestris* spoilage and isolation: a review. Food Microbiol. 18: 331-349.
18. Tayefe, M., Nasrollah Zadeh, A., Hashemi, A., Hasannia, F. 2014. Isolation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* from commercial spoilage apple juice and study on some influence parameres on its growth in apple juice. Adv Biores. 5: 138-142.

Inhibitory effect of nisin and ascorbic acid on *Alicyclobacillus acidoterrestris* in orange juice

Sabaghi F¹, Pourahmad R^{2*}, Hashemiravan M³

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
2. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.
3. Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

*Corresponding author: rjpourahmad@yahoo.com

Received: 3 March 2019

Accepted: 2 June 2019

Abstract

Alicyclobacillus acidoterrestris (*A. acidoterrestris*) is a thermophilic spore-forming bacterium that changes taste and smell of juices. The aim of this study was to investigate the inhibitory effect of nisin and ascorbic acid on *A. acidoterrestris*. Nisin (150 and 200 ppm) and ascorbic acid (100 and 250 ppm) were used in orange juice contaminated with *A. acidoterrestris*. Microbial, physicochemical, and sensory properties of the samples were investigated during 90 days' storage. Adding nisin and ascorbic acid significantly ($P < 0.05$) decreased the number of *A. acidoterrestris* in orange juice. The sample containing 200 ppm nisin+250 ppm ascorbic acid and the sample containing 200 ppm nisin+100 ppm ascorbic acid had the lowest number of *A. acidoterrestris*, respectively. During storage, the number of bacteria in samples containing nisin and ascorbic acid decreased significantly ($P < 0.05$) so that no bacterial growth was seen in the sample containing 200 ppm nisin and 250 ppm ascorbic acid on the 60th and 90th days and the sample containing 200 ppm nisin+100 ppm ascorbic acid on the 90th day. Acidity of the samples increased and brix decreased significantly ($P < 0.05$) during storage. The sample containing 150 ppm nisin +100 ppm ascorbic acid and the sample containing 200 ppm nisin +100 ppm ascorbic acid had the highest score of overall acceptance. The sample containing 200 ppm nisin +100 ppm ascorbic acid was selected as the best sample with regard to microbial and sensory properties. Therefore, orange juice containing nisin and ascorbic acid has suitable sensory quality and can affect the inhibition of *A. acidoterrestris*.

Keywords: *Alicyclobacillus acidoterrestris*, Ascorbic acid, Nisin, Orange juice.