تولید آب سیب پروبیوتیک با استفاده از دو نوع سیب قرمز و زرد

ندا قضاوی[1*]، حمدالله مشتاقی[2]، مجتبی بنیادیان[2]

۱. دانشجوی دکتری بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذائی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

[*]نویسنده مسئول: *neda.ghazavi@gmail.com*

تاریخ دریافت : ۱۳۹٤/۱۱/۷ تاریخ پذیرش : ۱۳۹۵/۱/۱۱

چکیده

باکتری‌های پروبیوتیک به دلیل دارا بودن اثرات مثبت بر سلامت بدن ، به طور گسترده‌ای در تولید غذاها خصوصاً در تولید محصولات لبنی به کار گرفته می شوند، ولی مشکل عدم تحمل لاکتوز و کلسترول بالای محصولات لبنی از محدودیت های مهم استفاده از آن‌ها به شمار می آید. اخیراً مصرف محصولات غذایی غیرلبنی پروبیوتیک و به طور خاص نوشیدنی های غیر لبنی پروبیوتیک افزایش یافته است. هدف از این مطالعه، بررسی روند رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دو نوع آب سیب قرمز و زرد است. نمونه‌ها پس از تلقیح باکتری مورد نظر به آن‌ها، در دمای ۴ درجه‌ی سانتی گراد نگهداری شدند و در زمان های مشخصی در طی تخمیر، تغییرات pH، اسیدیته ی قابل تیتر، میزان رسوب و نیز شمارش سلول های زنده تحت شرایط کنترل شده‌ای اندازه گیری شد. هر دو تیمار، کاهش معنادار pH، رسوب و نیز جمعیت باکتری را در پایان مدت نگهداری نشان دادند ولی تغییرات اسیدیته معنادار نبود ($p<۰/۰۵$). ارزیابی حسی آب سیب در روز پنجم بین نمونه ی شاهد و پروبیوتیک تفاوت معناداری را نشان نداد. در روز دهم نمونه ی پروبیوتیک به طور معناداری غلظت بالاتری نسبت به نمونه ی شاهد داشت. در کل آب سیب قرمز نسبت به آب سیب زرد شرایط بهتری برای رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارد. پروبیوتیک کردن آب سیب اثر نامطلوبی بر خواص حسی آن نداشته است.

واژگان کلیدی: آب سیب، پروبیوتیک، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*.

مقدمه

غذاهای فراسودمند[1] شامل غذاهایی هستند که علاوه بر دارا بودن مواد مغذی پایه‌ای برای بدن، سلامت آن را نیز ارتقا می بخشند. از جمله غذاهای فراسودمند، می توان به فرآورده های پروبیوتیک اشاره کرد. فرآورده‌های پروبیوتیکی حاوی باکتری‌های مفیدی هستند که اثرات مفیدی بر سلامتی مصرف کننده برجای می‌گذارند (دانشی و همکاران،۲۰۱۳). گونه *Bifidobacteria* و*Lactobacillus* به صورت‌های وسیعی، بیشترین مصرف را به عنوان پروبیوتیک دارند (Freter et al., 1992). باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*[2] مهمترین و پرمصرف‌ترین ریززنده‌ی پروبیوتیکی است. گرم مثبت، غیراسپورزا، بی‌هوازی اختیاری، میله‌ای شکل با انتهای گرد و در اندازه‌ی ۰/۹-۰/۶ در ۶-۱/۵ میکرومتر به شکل منفرد یا جفت در قالب زنجیره های کوتاه دیده می‌شود (Tan et al., 2008). این باکتری، هموفرمانتاتیو بوده، فاقد آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز و ۶ -فسفوگلوکونات دهیدروژناز می‌باشند و هگزوزها را به اسیدلاکتیک تبدیل می کنند ولی نمی-توانند پنتوز و گلوکونات را مصرف کنند (Vijayakumar et al., 2008). از لحاظ فعالیت ضد میکروبی، *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* تولید اسیدهای آلی، آب اکسیژنه و آنتی بیوتیک می‌کند که رشد باکتری های بیماری زا را تحت تاثیر قرار می‌دهد. فعالیت ضد باکتریایی آن علیه باکتری‌های بیماری‌زا شدیدتر است (Zimer and Gibson 1998). تحقیقات انجام شده نشان داده است که افزودن پروبیوتیک‌ها به غذا دارای مزایایی از جمله کاهش سطح کلسترول سرم، بهبود عملکرد معده روده‌ای، تقویت سیستم ایمنی، کاهش خطر ابتلا به سرطان روده، جلوگیری از فعالیت باکتری های سندرم روده

1. Functional food
2. *Lactobacillus acidophilus*

تحریک پذیر و التهاب مزمن روده‌ای، جلوگیری از عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* است (Flavera et al. 2008). 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 عمده تولید کننده سیب، ایران مقام ششم را داشته و در سطح کشور مقام دوم بعد از مرکبات را به خود اختصاص داده است. استان های آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و تهران به ترتیب دارای بالاترین سطح زیر کشت و تولید در ایران می‌باشند(Ministry of Agriculture, 2007). ارزش غذایی میوه سیب ، در ۱۰۰ گرم بافت تازه (میانگین سیب زردو قرمز) به ترتیب شامل آب ۸۴/۴گرم، پروتئین ۰/۳ گرم، چربی ۰/۱ گرم ، قند ۱۴/۷ گرم، نشاسته ۲ / ۰ گرم، مواد فیبری۲/۳ گرم، ویتامین ث ۵ میلی گرم، بتاکارتن ۵ میلی گرم، پتاسیم۱۰۰ میلی گرم و کلسیم ۴ میلی گرم میوه سیب می باشد. میوه سیب در بین میوه ها از نظر تأمین عناصر معدنی، فیبر و قندهای موجود در آن نقش مهمی در تغذیه انسان دارد (Mesbah and Pirmoradian, 2000).

Pereira و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی روی تخمیر آب سیب با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی*[3] نشان دادند که تعداد سلول های زنده در شرایط نگهداری یخچالی دچار افت شدند. طی تخمیر و نگهداری یخچالی میزان روشنی و زردی آب سیب زرد افزایش و میزان قرمزی آب سیب پروبیوتیک کاهش یافت. در مطالعه ی شیخ قاسمی و زمردی (۹۳)، زنده مانی *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به دو صورت آزاد و کپسوله شده در آب سیب در طول ۶۰ روز نگهداری در دمای محیط C ° ۵ ± ۲۵ و C ° ۱ ± ۵ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که رشد این باکتری در طول نگهداری، باعث کاهش میزان شفافیت و افزایش کدورت آب سیب شد و تاثیر نامطلوبی بر رنگ و طعم نمونه‌ها و خواص فیزیکی شیمیایی و حسی آب سیب نداشت. در این مطالعه سعی شده است روند رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در آب سیب قرمز و زرد مورد بررسی قرار گیرد. ازآن جایی که آب سیب غنی از مواد مغذی بوده و برخلاف نوشیدنی های لبنی، فاقد کشت‌های استارتری که برسر مواد مغذی با پروبیوتیک ها رقابت می‌کنند، هستند و نیز حاوی میزان بالایی از قندها هستند که می تواند رشد پروبیوتیک را تقویت نمایند بنابراین می‌تواند به عنوان یک حامل مناسب برای پروبیوتیک ها باشند (Gomes et al., 1999; Jaiswal et al., 2013).

مواد و روش کار

تهیه آب سیب به عنوان نمونه‌ی مورد آزمون

میوه سیب از دو رقم قرمز و زرد از بازار محلی اصفهان خریداری و در یخچال نگهداری شد. پس از گرفتن آب میوه‌ها، با استفاده از صافی صاف گردیدند و در حمام آب گرم در دمای ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شدند.

انتقال باکتری ها به آب میوه ها

بسته ی ۲۵ گرمی لیوفیلیزه محتوی گرانول های باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* از شرکت پیشگامان پخش صدیق تهران تهیه و در داخل فریزر نگهداری شد. به هرکدام از تیمارها به میزان۵۰ میلی گرم در ۳۰۰ سی سی از گرانول‌های باکتری افزوده شد. سپس به یخچال منتقل شده تا در زمان‌های مشخصی آزمون‌های شیمیایی و میکروبی برروی آن‌ها انجام شود.

آزمون‌های میکروبی و شیمیایی

نمونه‌ها در فواصل زمانی مشخصی از یخچال بیرون گذاشته شده و مورد آزمون های میکروبی و شیمیایی قرار گرفتند.

آزمون‌های شیمیایی

بر روی هرنمونه، آزمون‌های اندازه گیری pH، اسیدیته و رسوب انجام گرفت. اندازه گیری pH با استفاده از pH متر و پس از کالیبره کردن آن با بافرهای ۴ و ۷

3. *Lactobacillus casei*

صورت گرفت. برای اندازه گیری اسیدیته، ۱۰cc ازآب سیب برداشته و تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH ۸/۲ انجام گرفت (Aprikian et al., 2001). میزان رسوب آب میوه‌ها، با داشتن وزن لوله خالی(A)، وزن آب انارها (B) و وزن لوله و آب انار و رسوب بعد از سانتریفیوژ (C) محاسبه شد (۱۳۰۰RPM/۱۵ min).

$$sediment = C-(A+B)$$

$$\%sediment = (sediment/\ B)\times 100$$

m =وزن آب سیب

آزمون میکروبی

برای کشت باکتری ابتدا سری‌های رقت ساخته شد. درروزهای اول شروع کار به دلیل بالا بودن تعداد باکتری‌ها، از رقت‌های بالا کشت داده شد (10^{-5} و 10^{-6}). اما در روزهای آخر به دلیل کاهش تعداد باکتری ها، از رقت‌های کمتر یعنی 10^{-1}، 10^{-2} و 10^{-3}کشت داده شد. کشت باکتری به صورت کشت عمقی[4] و دبل لایر[5] بود و از محیط کشت MRS استفاده شد. پس از بستن لایه اول، مجدداً محیط کشت داخل پلیت ریخته شد تا لایه‌ی قبلی را در برگیرد. سپس در داخل انکوباتور بی هوازی ۳۷درجه به مدت ۴۸ ساعت انکوباتورگذاری شده و در پایان کلنی ها شمرده شد.

تهیه‌ی نمونه‌ی کنترل

در کنار تمام کشت‌های میکروبی انجام گرفته، کشت کنترل نیز انجام شد. نمونه‌ی کنترل با افزودن گرانول-های باکتری (۵۰ میلی‌گرم در ۳۰۰ سی سی) به محیط کشت MRS براث ساخته شد.

ارزیابی حسی

نمونه‌های پروبیوتیک و غیر پروبیوتیک از آب سیب در روزهای پنج و ده با حضور هفت پنلیست از لحاظ رنگ، طعم، بو، غلظت و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر پانلیست بر اساس مقیاس هدونیک از ۱ برای "غیرقابل پذیرش " و ۹ برای "عالی" نمره داد.

4.pure plate
5.Double layer

کلیه‌ی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شد و طرح آماری کاملا تصادفی بود. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS20 انجام شد و آزمون‌های آماری مقایسه‌ی میانگین‌ها Duncan بوده است.

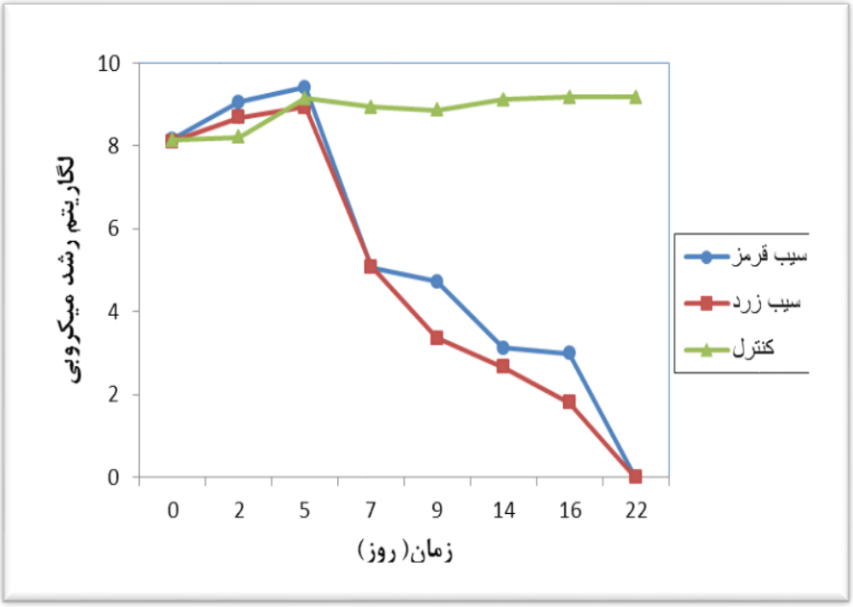
نتایج

تغییرات جمعیت باکتری آب سیب قرمز و زرد در دمای۴درجه سانتیگراد

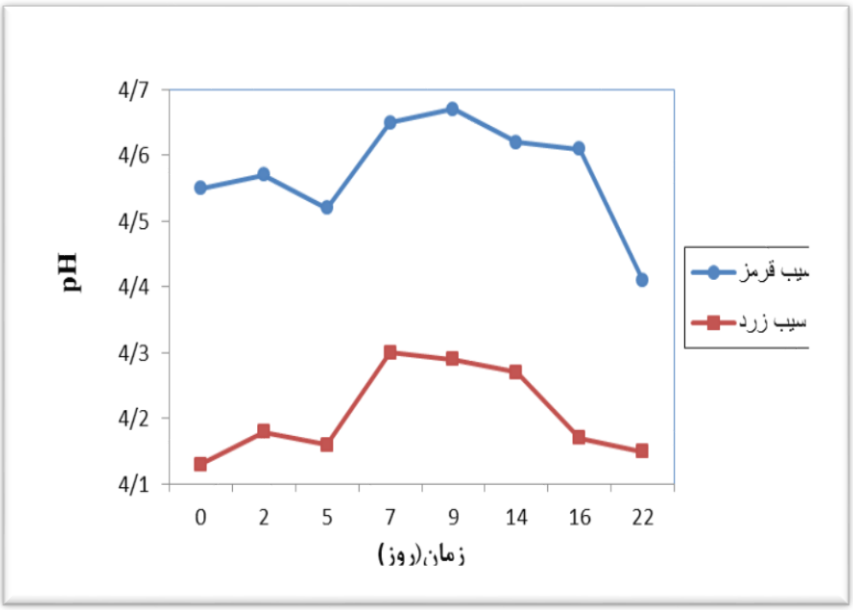
مطابق با نمودار ۱، آب سیب قرمز و زرد، به ترتیب پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* دارای میزان اولیه ی ۸/۱۶ و ۸/۱۱ سیکل لگاریتمی باکتری بودند که تا روز پنجم به ترتیب به ۹/۰۶ و ۸/۸۶ افزایش یافت. از روز پنج به بعد کاهش باکتری برای هردو نوع آب سیب اتفاق افتاد و در ابتدای هفته‌ی دوم پس از تلقیح، میزان باکتری در آب سیب قرمز و زرد به ترتیب به ۵/۰۷ و ۵/۰۸ و در روز نهم به ترتیب به ۴/۷۳ و ۳/۳۶ کاهش یافت. در هفته‌ی سوم شاهد کاهش باکتری برای آب سیب قرمز به ۳/۱۲ و برای آب سیب زرد به ۲/۶۶ بودیم و در هفته‌ی چهارم باکتری برای هیچ کدام از دو نوع آب سیب شناسایی نشد. در مقایسه‌ی دو نوع آب سیب، آب سیب قرمز در ابتدا افزایش رشد باکتری بیشتری نسبت به آب سیب زرد داشته است و در پایان نیز سرعت کاهش باکتری آب سیب زرد بیشتر از قرمز بوده است. در نمونه‌ی کنترل در این مدت جمعیت باکتری افزایش یافت ($p<0/05$).

تغییرات pH آب سیب زرد و قرمز درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* نمودار۲ نشان می‌دهد که میزان pH اولیه‌ی آب سیب قرمز برابر با ۴/۵۵ بوده که نسبت به آب سیب زرد با pH اولیه‌ی ۴/۱۳، به طور معناداری بالاتر است. pH در هردو تیمار در روز هفتم نسبت به روزهای قبل افزایش معناداری داشته است. pH در آب سیب قرمز، روز بیست و دوم نسبت به روز صفر و در آب سیب زرد روز شانزدهم کاهش معناداری داشته است. بین pH دو نوع آب سیب قرمز و زرد در

تمام روزها تفاوت معناداری مشاهده شده است ($p<۰/۰۵$).



نمودار ۱ - تغییرات جمعیت باکتری آب سیب قرمز و زرد درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد.



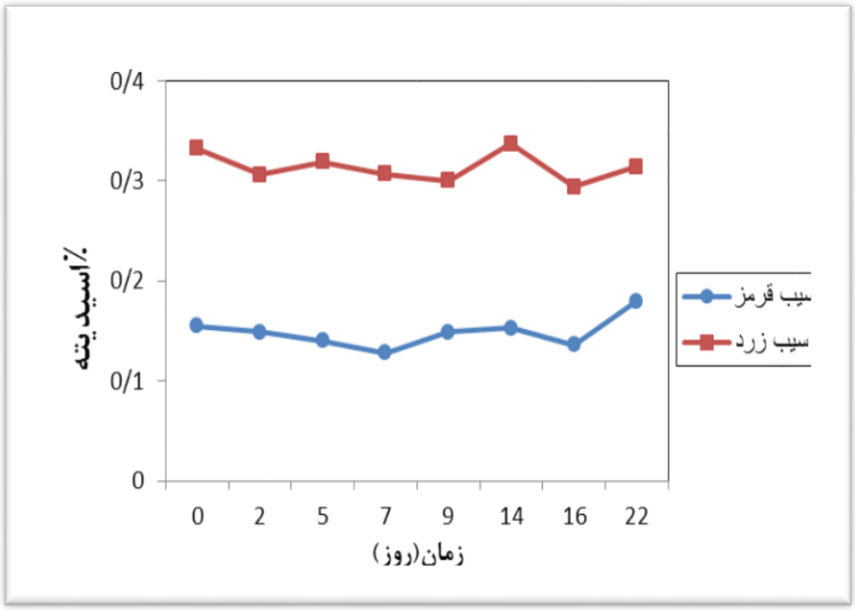
نمودار ۲- تغییرات pH آب سیب زرد و قرمز درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد.

تغییرات اسیدیته آب سیب قرمز و زرد درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

آب سیب قرمز اسیدیته‌ی پایین‌تری نسبت به آب سیب زرد داشته است که به ترتیب این میزان برای آب سیب قرمز و زرد برابر با ۰/۱۵۵ و ۰/۳۳۲ برحسب گرم بر لیتر اسید مالیک بوده است. اسیدیته هردو تیمار در طی زمان کاهش داشته است که معنادار نبوده است.

اسیدیته‌ی آب سیب قرمز روز بیست و دوم و آب سیب زرد روز شانزدهم کاهش معناداری داشته است ($p<۰/۰۵$). در مقایسه‌ی بین دو تیمار، در تمام روزها تفاوت معناداری از لحاظ اسیدیته مشاهده شد (نمودار۳). تیمار و زمان اثر معناداری بر تغییر اسیدیته داشته‌اند؛ یعنی نوع تیمار و گذشت زمان هردو باعث

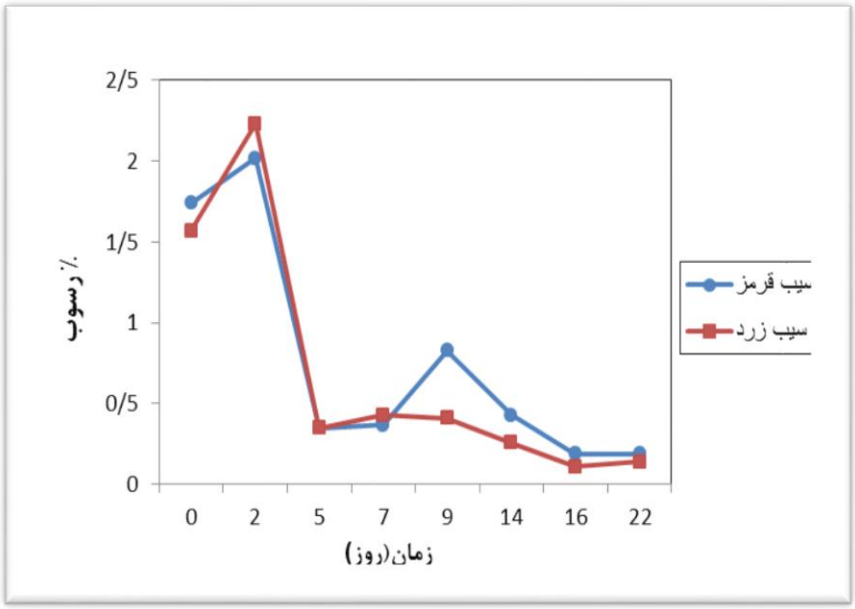
ایجاد تغییرات در اسیدیته شده اند ($p<۰/۰۵$) (نمودار۳).



نمودار۳- تغییرات اسیدیته آب سیب قرمز و زرد درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای۴ درجه ی سانتیگراد.

تغییرات رسوب آب سیب قرمز و زرد درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

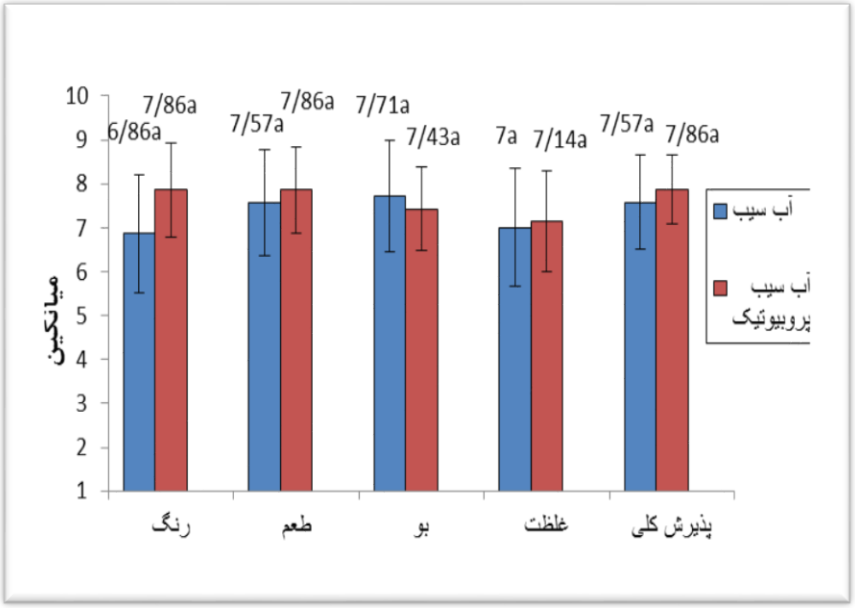
میزان اولیه‌ی رسوب برای آب سیب قرمز۱/۷۴ درصد و برای آب سیب زرد ۱/۵۷ درصد به ترتیب در روز بیست و دوم به میزان ۰/۱۹ و ۰/۱۴ درصد رسید و کاهش معناداری یافته است. در هر دو تیمار رسوب روز دوم افزایش و روز پنج کاهش معناداری نسبت به روزهای قبل داشته است ($p<۰/۰۵$). دو تیمار نسبت به هم از لحاظ میزان رسوب در روزهای موردنظر تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهند ($p<۰/۰۵$) (نمودار۴).



نمودار۴- تغییرات رسوب آب سیب قرمز و زرد درحضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در دمای ۴ درجه ی سانتیگراد.

ارزیابی حسی

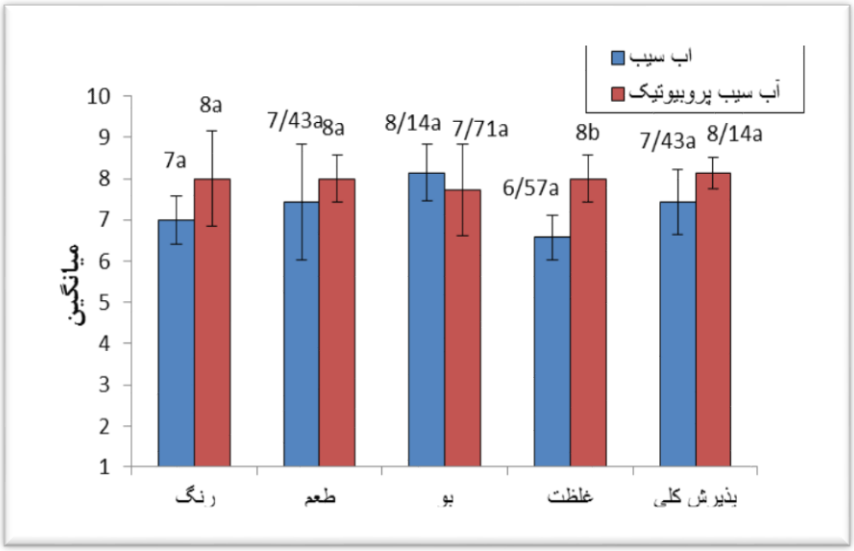
ارزیابی حسی آب سیب شاهد و پروبیوتیک در روز پنجم پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*نشان داد که در روز پنجم تفاوت معناداری بین آب سیب شاهد وپروبیوتیک از لحاظ رنگ، طعم، بو، غلظت و پذیرش کلی مشاهده نشده است (نمودار ۵).



نمودار۵- ارزیابی حسی آب سیب شاهد و پروبیوتیک در روزپنجم پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*. حروف مشابه نشان دهنده ی عدم وجود تفاوت معنی دار است ($p<۰/۰۵$)

ارزیابی حسی آب سیب شاهد و پروبیوتیک در روز دهم پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*

در روز دهم پس از تلقیح باکتری، به غیر از غلظت، بین نمونه ی شاهد و پروبیوتیک از لحاظ سایر ویژگی های مورد ارزیابی، تفاوت معناداری مشاهده نشده است و آب سیب پروبیوتیک غلظت بالاتری نسبت به نمونه‌ی شاهد داشته است(نمودار۶).



نمودار۶- ارزیابی حسی آب سیب شاهد و پروبیوتیک در روز دهم پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس*. حروف مشابه نشان دهنده ی عدم وجود تفاوت معنی دار است ($p<۰/۰۵$)

بحث

تغییرات جمعیت میکروبی در دمای ۴ درجه سانتیگراد Pereira و همکاران (۲۰۱۱) در تحقیقی روی تخمیر آب سیب با استفاده از *لاکتوباسیلوس کازئی* نشان دادند که تعداد سلول‌های زنده در شرایط نگهداری یخچالی دچار افت شدند. موسوی و همکاران در سال ۲۰۱۱ و نیز Vasudha Sharma در سال ۲۰۱۳ هرکدام جداگانه نشان دادند جمعیت باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* در محیط اسیدی و در دمای ۴درجه‌ی سانتیگراد کاهش می‌یابد. در مورد آب سیب از دو رقم قرمز و زرد، پس از تلقیح باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آن‌ها، به ترتیب دارای تعداد اولیه‌ی ۸/۱۶ و ۸/۱۱ سیکل لگاریتمی باکتری بودند که تا روز پنجم به ترتیب به ۹/۰۶ و ۸/۸۶ سیکل لگاریتمی افزایش یافت که می تواند به علت وجود موادمغذی آب سیب باشد و باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* پس از تلقیح و پس از طی فاز Lag، تا حدی خود را با شرایط جدید یعنی آب سیب سازش داده و شروع به رشد کرده است. در مورد pH آب سیب هم در طی این مدت شاهد افزایش بوده‌ایم که به دلیل مصرف اسیدمالیک آب سیب بوده است. با توجه به افزایش pH می توان فهمید که به دنبال رشد آهسته‌ی باکتری، تولید اسیدلاکتیک هم چندان نبوده و اسیدیته تغییر معناداری نداشته است. درواقع تاثیر مصرف اسیدمالیک بیشتر بوده است و اسیدلاکتیک تولیدی نتوانسته جبران کننده‌ی اسید مالیک مصرفی باشد (موسوی و همکاران، ۲۰۱۱). در هفته‌ی دوم شاهد کاهش جمعیت باکتری در هردو رقم آب سیب بوده‌ایم . در ابتدای هفته ی دوم پس از تلقیح میزان باکتری در آب سیب قرمز و زرد به ترتیب به ۵/۰۷ و ۵/۰۸ و در روز نهم به ترتیب به ۴/۷۳ و ۳/۳۶ کاهش یافت که می‌تواند به علت کاهش مواد مغذی آب سیب و تاثیر نامطلوب دمای ۴ درجه سانتیگراد بر رشد و بقای باکتری باشد.

pH اولیه‌ی پایین و اسیدیته‌ی بالای آب سیب و دمای پایین نگهداری باعث شده که جمعیت باکتری در طی مدت نگهداری کاهش معناداری یابد و در هفته‌ی چهارم باکتری برای هیچ کدام از دو نوع آب سیب شناسایی نشود. در مقایسه‌ی دو تیمار، روند تغییرات مشابه بوده است ولی تفاوت pH و اسیدیته‌ی اولیه‌ی دوتیمار باعث تفاوت‌هایی جزئی شده است. در روز نهم شاهد تفاوت معنادار جمعیت باکتری دو تیمار نسبت به هم هستیم که در آب سیب زرد یک سیکل لگاریتمی جمعیت باکتری کمتر از آب سیب قرمز بوده است و در همین روز آب سیب زرد نسبت به آب سیب قرمز به طور معناداری pH پایین تر و اسیدیته‌ی بالاتری داشته است. در نهایت رشد باکتری در هفته‌ی چهارم متوقف شد.

تغییراتpH آب سیب در دمای ۴ درجه سانتیگراد

میزان pH اولیه‌ی آب سیب قرمز برابر با ۴/۵۵ بوده است که نسبت به آب سیب زرد با pH اولیه ی ۴/۱۳ ، pH بالاتری دارد. pH در هردو تیمار در روز هفتم افزایش معناداری داشته که با توجه به مصرف اسید مالیک توسط باکتری قابل توجیه است. pH در آب سیب قرمز در روز بیست و دوم و در آب سیب زرد روزشانزدهم کاهش معناداری یافته است. کاهش pH می‌تواند به علت مرگ باکتری باشد، با توجه به اینکه متابولیت‌های آزاد شده از باکتری پس از مرگ آن، باعث کاهش pH می‌شود. نتایج حاصل از آزمایشات موسوی و همکاران(۲۰۱۱)و Vasudha Sharma(۲۰۱۳) و (Marhamatizadeh ۲۰۱۲) نیز نشان دهنده‌ی کاهش pH آب میوه در حضور باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* است.

تغییرات اسیدیته‌ی آب سیب در دمای ۴ درجه سانتی-گراد.امینی نیا و همکاران درسال ۹۳ در تحقیقی توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک، *لاکتوباسیلوس*

اسیدوفیلوس DSM 20079 و لاکتوباسیلوس دلبروکی ۱۵۹۹۶ در تخمیر آب کرفس و تولید اسیدهای آلی و اثر ترکیبات فنولیک و ویژگی‌های حسی یک نوشیدنی فراسودمند در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت را مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل نشان داد که هر دو سوش بخوبی قادر به رشد و فعالیت در آب کرفس می‌باشند و بیشترین تاثیر در کاهش pH و افزایش اسیدیته و همچنین تولید اسیدهای آلی توسط باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* مشاهده گردید. در تحقیق اخیر نشان داده شد اسیدیته‌ی آب سیب قرمز و آب سیب زرد در طی نگهداری تغییر معناداری نداشته است؛ باتوجه به اینکه اسیدهای اب میوه جز اسیدهای ضعیف بوده و اسیدهای ضعیف در pH های پایین به میزان ناچیزی یونیزه می‌شوند، بنابراین عدم تغییرات معنادار اسیدیته قابل توجیه است.

تغییرات رسوب آب سیب در دمای ۴ درجه سانتیگراد

میزان اولیه ی رسوب ۱/۷۴٪ برای آب سیب قرمز و ۱/۵۷ ٪ برای آب سیب زرد به ترتیب در روز دوم به ۲/۰۲ و ۲/۲۳ درصد افزایش و در روز پنجم کاهش معناداری دیده شده است. روز بیست و دوم نیز شاهد کاهش معنادار رسوب نسبت به روز صفر بوده ایم؛ علت افزایش رسوب در روز دوم را می‌توان این گونه توجیه کرد که باکتری در ابتدا برای تامین انرژی از اسید سیتریک و قندها استفاده کرده و بنابراین در شروع رشد باکتری پکتین مصرف نشده و رسوب افزایش یافته است، هرچند بقایای باکتری پس از مرگ هم در افزایش رسوب موثر است؛ با گذشت زمان و کاهش اسید مالیک آب سیب، باکتری برای تامین انرژی خود پکتین مصرف کرده، بنابراین میزان رسوب کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری

آب سیب به دلیل سرشار بودن از ترکیبات مغذی می‌تواند بستر مناسبی برای رشد باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* باشد. آب سیب قرمز به دلیل pH بالاتر و اسیدیته‌ی پایین‌تر، نسبت به آب سیب زرد شرایط بهتری برای رشد باکتری دارد. اثر باکتری بر آب سیب برای هردو تیمار به صورت کاهش pH، عدم تغییر معنادار اسیدیته و کاهش رسوب دیده شده است. نتایج حاصل از ارزیابی حسی نیز نشان می دهد افزودن باکتری *لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس* به آب سیب اثر نامطلوبی بر خواص حسی آب سیب نداشته است.

تشکر و قدردانی

از کارشناس محترم دانشگاه شهرکرد جناب آقای مهندس خسروی که بنده را در این پروژه یاری دادند کمال تشکر را دارم.

منابع

۱. امینی نیا، هرمینه.، رضوی، سید هادی و عیوض زاده، اورنگ. (۱۳۹۳). تولید نوشیدنی فرا سودمند آب کرفس با استفاده از باکتری‌های اسید لاکتیک، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، دوره۱۳، شماره ۵۱ ، صفحه۱۱۱-۱۰۳.

۲. شیخ قاسمی، شهره و زمردی، شهین. (۱۳۹۳). تاثیر دمای نگهداری بر لاکتوباسیلوس آزاد و کپسوله شده در آب سیب. مجله علوم غذایی و تغذیه، سال یازدهم، شماره ۳، صفحه۹۰-۸۱.

3. Aprikian, O. Ceverat-verny, M.A., Besson, C., Busserolles, J., Remest, C., and Demign, C. 2001. Favorably affects parameters of cholesterol metabolism and of anti-oxidative protection in cholesterol-fed rats. J Food Chem. 75: 445-452.

4. Daneshi, M., Ehsani, M., Razavi, Seyed. H., and Labbafi, M. 2013. Effect of refrigerated storage on the probiotic survival and sensory properties of milk/carrot juice mix drink. Electron. J. Biotechnol. 16: 22-25.

5. Fla´vera, C., Prado, A. Jose, L., Parada, A., Ashok Pandey, B., and Carlos, R. 2008.

Trends in non-dairy probiotic beverages. Food Res Int.41: 111–123.

6. Freter, R. Factors affecting the microecology of the gut. In: Fuller R. 1992. Probiotics, the scientific basis. London.Champan & Hall. pp: 44-111.
7. Gomes, A.M.P., and Malcata, FX. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci Tech.10: 57-139.
8. Jaiswal, A.K., and Abu -Ghannam, N. 2013. Kinetic studies for the preparation of probiotic cabbage juice: Impact on phytochemicals and bioactivity. Industrial Crops & Products. 50: 212-218.
9. Marhamatizadeh, M. H., Rezazadeh, S., Kazemeini, F., and Kazemi, M. R. 2012 .The Study of Probiotic Juice Product Conditions Supplemented by Culture of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidu*m. Middle East J Sci Res. 11 (3): 287-295.
10. Mesbah, B., and Pirmoradian, M. 2000. Feeding of Fruit Trees. *Tehran University press*,.PP: 311. (in persian).
11. Mousavi, Z.E. Mousavi, S.M. Razavi S.H. Emam-Djomeh, Z. and Kiani, H. 2011.Fermentation of pomegranate juice by probiotic lactic acid bacteria. *World JMicrobiol Biotechnol*, 27: 123–128.
12. Pereira, A.L.F., Maciel, T.C., and Rodrigues, S. 2011. Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Research International. 44: 1276–1283.
13. Tan, Y.X., Chu, G.L., Shen, and R Q.Yu. 2008. A Signal-amplified Electrochemical Immunosensor for Aflatoxin B1 Determination in Rice. *Anal. Biochem*. 387: 82-86.
14. Vasudha Sharma., H. Mishra, N. 2013.Fermentation of vegetable juice mixture by probiotic lactic acid bacteria. Nutrafoods, Springer, Healthcare. 12: 17-22.
15. Vijayakumar, J., Aravindan, R., and Viruthagiri, T. 2008.Recent trends in the production, purification and application of lactic acid. Chem. Biochem Eng. 22(2): 245-264.
16. Ziemer, C.J., and Gibson, G.R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. Int Dairy J. 8(5-6):473-479.

Production of probiotic juice by use of two varieties of Red and Yellow apple

Ghazavi N [1*], Moshtaghi E[2], Boniadian A[2]

1. Ph.D student of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2. Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

[*]**Corresponding author**: *neda.ghazavi@gmail.com*

Received: 27 January 2016 Accepted: 30 March 2016

Abstract

Probiotic bacteria due to having positive effects on health, widely used in the manufacture of foods, particularly in the production of dairy products, but having lactose intolerance problem and high cholesterol of dairy products is an important restriction on the use of them. Recently, the consumption of non-dairy probiotic foods and specifically non-dairy probiotic juices were developed. The aim of this study was to examine the growth trend of *Lactobacillus acidophilus* in the two types of red and yellow apple. After inoculation of bacteria to each sample, they were stored at 4°C and at certain times during fermentation, changes in pH, titratable acidity and the sediment, as well as live cell counts were measured under controlled conditions. Both treatments showed a significant decrease in pH, sediment and bacteria population at the end of maintenance, but the changes in acidity were not significant ($p<0.05$). Sensory evaluation of apple juice on the fifth day showed no significant difference between the control sample and probiotics. On the tenth day of sensory evaluation the probiotic juice significantly has higher concentration than the control sample. In general, red apple juice in compared with yellow apple juice has more favorable conditions for growth of *Lactobacillus acidophilus*. There was no desirable effect on sensory properties of apple juice after adding probiotics.

Keywords: Apple juice, probiotics, *Lactobacillus acidophilus.*