

اثر نانو امولسیون عطر مایه نعناع تولید شده با استفاده از صمغ دانه ریحان بر ویژگی‌های ماست همزده کم‌چرب

منیره یزدی نژاد^۱، آزاده قربانی حسن سرایی^{۲*}، شهرام نقی زاده رئیسی^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران.

۲- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد آیت ا... آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۱/۲۲)

چکیده

نانو امولسیون‌های تولید شده از ترکیبات و اجزای مغذی به‌طور گسترده‌ای برای ریزپوشان کردن، محافظت و انتقال اجزای هدفمند چربی‌دوست نظیر چربی‌های زیست فعال (مانند اسیدهای چرب امگا۳ و اسید لینولئیک کونژوگه) و طعم‌های محلول در روغن، ویتامین‌ها، مواد نگه‌دارنده و مواد مغذی با قابلیت دارویی به درون غذا در صنایع غذایی استفاده می‌شود. هدف این پژوهش بررسی ویژگی‌های ماست حاوی نانو امولسیون عطر مایه نعناع تولید شده با صمغ دانه ریحان است. در این پژوهش ماست با استفاده از چهار سطح مقدار نانو امولسیون عطر مایه نعناع (۰، ۱، ۳ و ۵ درصد) و سه سطح زمان نگهداری (روز ۱، ۷ و ۱۴ نگهداری) در قالب آزمایش فاکتوریل به‌صورت طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تولید شد. ارزیابی ویژگی‌های ساختاری و فیزیکوشیمیایی در دمای ۵-۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد. داده‌های ویسکوزیته و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (زمان گرمخانه‌گذاری، اسیدیته، میزان آب اندازی و ویسکوزیته مرکب) تفاوت معنی‌داری ($P < 0.05$) داشتند. نانو امولسیون عطر مایه نعناع موجب افزایش زمان گرمخانه‌گذاری شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده به نظر می‌رسد که می‌توان نانو امولسیون عطر مایه نعناع را به سهولت به ماست اضافه کرد، بدون اینکه تغییری در ویژگی‌های رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی آن به وجود آید و حتی این ویژگی‌ها به‌طور نسبی بهبود یابد.

کلید واژگان: نانو امولسیون، ماست، صمغ دانه ریحان، عطر مایه نعناع.

۱- مقدمه

ماست محصولی است که از تخمیر لاکتیکی شیر به وسیله استریتوکوکوس سالیاریوس زیرگونه ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس به دست می آید [۱]. ماست همزده ترکیب شیمیایی مشابه ماست قالبی اما روش فرآیند متفاوتی دارد و رفتار رئولوژیکی آن نیز متمایز است [۲]. با ترکیب کازئین با پروتئین های آب پنیر شبکه ژلی تشکیل خواهد شد [۳]. در نتیجه تشکیل این شبکه ژلی ماست به دست می آید. ماست های کم چرب رفتار ویسکوالاستیک ضعیف تری را نسبت به ماست های پرچرب از خود نشان می دهند؛ بنابراین درصد چربی یکی از فاکتورهای مؤثر بر خواص ماست می باشد و کاهش درصد چربی باعث تضعیف ساختار ژلی ماست و بالطبع افزایش سینرسیس می شود [۴].

از آنجایی که در سال های اخیر اغلب مصرف کنندگان در پی غذاهای سالم می باشند کاهش درصد چربی فرآورده های غذایی در بازار رقابتی امروز مزیت محسوب می شود [۵]؛ اما همان طور که گفته شد کاهش درصد چربی در ماست منجر به تقلیل ویژگی های رئولوژیکی و حسی ماست خواهد شد. جهت رفع این نقص در صنعت غذا از جایگزین های چربی استفاده می شود. جایگزین های چربی برای کاهش محتوای چربی بسیاری از محصولات لبنی مانند پنیر و بستنی با حفظ خصوصیات حسی و ساختاری مورد استفاده قرار می گیرد. اگرچه ماست در مقایسه با این محصولات درصد چربی کمتری دارد اما لزوم استفاده از این ترکیبات در ماست های کم چرب به ساختار ویژه ماست مربوط می باشد [۶]. گروهی از جایگزین های چربی تحت عنوان هیدروکلوئیدهای غذایی برای ایجاد قوام، تشکیل ژل و پایداری محصولات مورد استفاده قرار می گیرند [۷]. ریحان یکی از گیاهان بومی و دارویی ایران است که از قرار دادن دانه آن در آب سرد و ترسیب با الکل، صمغی به دست می آید که قابل قیاس با صمغ های گوار و زانتان است [۸ و ۹]. دانه ریحان با نام علمی *اوسمیوم باسیلیکوم*^۱ از تیره نعنائیان از لحاظ ظاهری دانه های ریز و سیاه و دارای یک برجستگی سفیدرنگ در قسمت باریک و کمی خمیده است، پوسته رویی دانه ها را لایه ای موسیلاژی پوشانیده است و هنگامی که درون آب قرار می گیرد سریعاً متورم می شود [۱۰]. دانه ریحان وقتی که با آب خیس می شود به آب ژلاتینی

تبدیل شده و به طور سنتی در نوشیدنی های آسیایی و دسر ها مورد استفاده قرار می گیرد [۱۱]. این دانه دارای مقدار مناسبی صمغ با خواص عملکردی خوب است که قابل مقایسه با هایدروکلوئیدهای تجاری مواد غذایی است. ریحان به عنوان یک گیاه دارویی در کمیت بالایی تولید و مورد استفاده قرار می گیرد، علاوه بر استفاده از آن در طب سنتی به طور گسترده به عنوان یک گیاه پخت و پز استفاده می شود و عطرهای استخراج شده از *اوسمیوم باسیلیکوم* منبع خوبی برای خوشمزه کردن و معطر کردن شناخته شده است [۸]. با توجه به بومی بودن گیاه نامبرده و ویژگی های خاص آن می توان از این گیاه در تولید ماست همزده کم چرب جهت بهبود خواص بافتی و تقویت ساختاری آن استفاده نمود.

از طرف دیگر با توجه به مصرف بالای ماست و ایجاد طعم دلخواه بنا بر سلیقه های مختلف در جامعه و ایجاد تنوع در طعم آن و ایجاد انگیزه مصرف به خصوص در قشر خردسال جامعه، طعم دار کردن ماست با طعم های مورد پسند در میان مردم، مورد توجه بوده و به نظر می رسد در صورت طعم دار کردن ماست می توان مصرف فرآورده های لبنی را بهبود بخشید. در حال حاضر ماست های طعم دار با مخلوطی از پودر سبزی ها یا مارمالاد میوه ها در طعم های مختلفی مانند توت فرنگی، خیار، زغال اخته، شاه توت، تمشک یا هلو در بازار موجود هستند [۱۲]. یکی از مواد غذایی محبوب در جامعه ایرانی برای استفاده و طعم دار کردن ماست و دوغ در جامعه ایرانی نعناع است. نعناع یکی از مهم ترین گیاهان دارویی است که استفاده گسترده ای در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی دارد. با توجه به مطالعات انجام شده، منتول ترکیب اصلی نعناع است. این ترکیب نعناع به طور گسترده ای در صنعت غذا (به عنوان نگه دارنده و طعم دهنده)، لوازم آرایشی و عطر و همچنین در محصولات دارویی استفاده می شود [۱۲]. نانو امولسیون ها در شیمی کشاورزی برای انتقال آفت کش ها [۱۳]، در لوازم آرایشی به عنوان ناقل ترکیبات مراقبت شخصی و یا محصولات مراقبت از پوست [۱۴]، در عطر به عنوان ماتریس برای محصور کردن ترکیبات فرار استفاده می شود [۱۵]. صنعت غذا نیز در نوشیدنی ها به منظور ایجاد محصولاتی با ظاهر مات و عطر و بوی مناسب [۱۶] و در همراهی چربی ها و روغن ها، ترکیبات معطر و روغن های گیاهی، ویتامین ها، مواد معدنی، رنگ ها و آراییم ها در مواد غذایی، چربی ها و روغن ها، ترکیبات معطر و

1. *Ocimum basilicom* L

اولئورزین ها، ویتامین ها، مواد معدنی، رنگ ها و آنزیم ها به کاررفته است [۱۷، ۱۸ و ۱۹]. در این مطالعه اثر نانو امولسیون طعم نعنای تولیدشده با استفاده از صمغ دانه ریحان با مقادیر مختلف بر ویژگی های مختلف ماست مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد

شیر از کارخانه کاله (آمل، ایران) با ۱/۵ درصد چربی، pH=۶/۶-۶/۷ و دانسیته ۱/۰۲۸-۱/۰۳ گرم بر سانتی متر مکعب تهیه شد. برای کاهش تأثیر تفاوت شیر در تولید، تمام شیر مورد نیاز از یک بچ تولید کارخانه به صورت استریل خریداری شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. آغازگر مورد استفاده، آغازگر صنعتی YC-350 حاوی *Lactobacillus* و *Streptococcus thermophilus* *delbrueckii* subsp. *bulgaricus* و از نوع DVS به صورت خشک شده انجمادی (لیوفیلیزه)^۱ از شرکت کریستین هانس^۲ تهیه گردید. دانه ریحان از بازار محلی خریداری شد. دانه ها به صورت دستی تمیز شده و ذرات خارجی مانند سنگ، دانه های شکسته، کاه و کلش جدا شدند، دانه های پاک شده در کیسه پلاستیکی بسته بندی شدند و در جای خشک و خنک تا مرحله استخراج صمغ نگهداری گردیدند. عطرمایه نعنای به صورت ۱۰۰ درصد خالص به صورت عطرمایه روغنی از شرکت جی اف اف انگلیس خریداری شد.

۲-۲- تولید نانو امولسیون طعم نعنای

۲-۲-۱- استخراج صمغ

برای استخراج صمغ، ابتدا دانه های ریحان به دقت تمیز کرده و بعد از جداسازی ناخالصی ها به صورت دستی، دانه ها از الک عبور داده شدند تا گردوغبار، سنگ ها و ضایعات موجود در آن ها جدا شوند. بر اساس روش رضوی و همکاران (۲۰۰۸) و حسینی پرور و همکاران (۲۰۰۹) از دمای ۷۰ درجه سانتی گراد و pH=۷، ۲۰ دقیقه زمان خیساندن و نسبت آب به دانه، ۱:۶۵ جهت استخراج صمغ استفاده شد [۲۱ و ۲۲]. در مرحله اول استخراج، دانه ها در نصف مقدار آب دیونیزه لازم خیسانده و به مدت ۲۰ دقیقه تا متورم شدن کامل در بن ماری ۷۰ درجه

سانتی گراد (همراه با همزدن در فواصل کوتاه) گذاشته شدند. جداسازی صمغ از دانه های متورم به وسیله عبور دانه ها از استخراج کننده از نوع سانتریفیوژ سبکی مجهز به صفحه چرخاننده (پارس خزر ۷۰۰P) که سطح چرخان آن تراش خورده و صاف شده بود انجام گردید. این صفحه چرخان موجب تراشیدن لایه صمغ سطح دانه می شود. صمغ جداسازی شده در این مرحله جمع آوری شده و مابقی صمغ چسبیده به دانه ها با غوطه ور کردن دانه ها در نصف آب باقیمانده و عبور دادن از اکستراکتور جدا شدند. در مرحله سوم بقیه آب اضافه شده و استخراج همانند مرحله دوم تکرار گردید. صمغ جمع آوری شده از مراحل مختلف با هم مخلوط شده و سپس از یک صافی پارچه ای (از جنس حریر با مش بسیار ریز طرح مژگان) با فشار گذرانده شد تا ذرات ریز و ناخالصی های موجود در آن کاملاً صاف شوند که این عمل ۳ بار تکرار می شود. سپس در ظروف یک بار مصرف با حجم مشخصی ریخته شده و به مدت ۷۲ ساعت در آون فن دار با دمای ۶۰ درجه سلسیوس قرار گرفت تا کاملاً آب از دست داده و خشک شود. صمغ خشک شده در پایان کار جمع آوری و با آسیاب برقی پودر شده و در ظروف درب دار غیرقابل نفوذ هوا ریخته شده و تا زمان مصرف در محیط خشک و بدون رطوبت ترجیحاً در دسیکاتور نگهداری شد.

۲-۲-۲- تولید نانو امولسیون

محلول مصرفی مورد نیاز شامل آب دیونیزه و سدیم آزاید بود. تهیه محلول استوک ۱٪ صمغ دانه ریحان، ۱ گرم صمغ دانه ریحان و ۹۹ گرم آب می باشد بدین صورت که ۱ گرم صمغ دانه ریحان را به ۹۹ گرم آب اضافه کرده و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰ rpm همزده و درب آن را گذاشته و جهت هیدراته شدن کامل به مدت ۲۴ ساعت در یخچال قرار گرفت. تهیه امولسیون با استفاده از محلول استوک و آب، (فاز آبی) و عطرمایه روغنی نعنای (فاز روغنی) انجام پذیرفت. سپس فاز روغنی به فاز آبی اضافه شده و با دستگاه اولتراتراکس^۳ به مدت یک دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm مخلوط شدند. به طور مثال جهت تهیه امولسیون یک نمونه (۳/۰٪ صمغ دانه ریحان با ۱۵٪ عطرمایه نعنای)، ۳۰ گرم از محلول استوک ۱/۰٪ صمغ دانه ریحان و ۵۵ گرم آب را در بشری به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط کرده (فاز آبی) و سپس به آن ۱۵ گرم عطرمایه نعنای (فاز

1. Freeze-dried
2. CHR Hansen

3. Ultra turrax

(MALVERN, USA) انجام شد. این دستگاه قطر ذرات را بر اساس تئوری Mie و از روی پراکنش اشعه لیزر محاسبه نموده و میانگین قطر را تحت عناوین عدد ساتر (Sauter) یا میانگین قطر سطح - وزن (D32)، عدد دبروکر (De Brouckere) یا میانگین قطر حجم - وزن (D4,3) گزارش می‌کند. برای مقایسه درجه یکنواختی اندازه ذرات نمونه‌ها از شاخصی به نام Span استفاده گردید. اسپان اندازه پهنای نمودار توزیع اندازه ذرات را نشان می‌دهد. هر چه این نمودار باریک‌تر باشد عدد اسپان کوچک‌تر است. سطح مخصوص ذرات (SSA) نیز برحسب میلی‌متر مربع بر میلی‌لیتر از روی قطر متوسط محاسبه شد.

$$D_{3,2} = \frac{\sum nidi^3}{\sum nidi^2}$$

$$D_{4,3} = \frac{\sum nidi^4}{\sum nidi^3}$$

$$SSA = \frac{6}{D_{3,2}}$$

$$Span = \frac{[d(v,90) - d(v,10)]}{d(v,50)}$$

در این رابطه $d(v,90)$ ، $d(v,10)$ و $d(v,50)$ به ترتیب نمایانگر ۹۰ درصد، ۱۰ درصد و ۵۰ درصد ذرات موجود با قطری کمتر از مقدار داده شده هستند. اندازه‌گیری توزیع ذرات با ۳ تکرار در روزهای اول و چهاردهم انجام گرفت.

۲-۴-۱-۲- آزمون اندازه‌گیری پتانسیل زتا

ذره در داخل سیال، دارای بار سطحی است و همواره در اطراف سطح ذره‌ای که درون سیال قرار گرفته است، افزایش غلظت یون‌های با بار مخالف سطح ذره، دیده می‌شود؛ بنابراین یک لایه اضافی از این یون‌ها سطح ذره را احاطه می‌کند و یک لایه اضافی را در دور ذره به وجود می‌آورد. این لایه به وجود آمده به دور ذره را می‌توان به دو قسمت تقسیم کرد: لایه درونی که به آن لایه استرون^۱ نیز گفته می‌شود که در آن یون‌ها به شدت محدود هستند و به صورت کاملاً متراکم در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. لایه بیرونی که یون‌ها تا حدودی از لایه قبلی آزادی بیشتری دارند و توانایی جابجایی بیشتری دارند. نمونه‌ها برای اندازه‌گیری پتانسیل زتا با دستگاه زتاسایزر انتخاب شدند.

روغنی) اضافه شده و با دستگاه اولتراتراکس به مدت ۱ دقیقه با دور ۱۰۰۰۰ rpm مخلوط شد. دمای نمونه در تمام مراحل برابر با دمای محیط بود. در نهایت نمونه با زمان تیمار اولتراسوند تعیین شده وارد دستگاه اولتراسونیکاتور شد. به علت اینکه عطرهای نعناع بسیار فرار و حساس به حرارت می‌باشد جهت جلوگیری از بالا رفتن دمای امولسیون حین اولتراسوند، ظرف امولسیون در ظرفی حاوی پودر یخ قرار گرفت. بعد از اینکه عمل اولتراسوند به پایان رسید، نمونه بلافاصله از ظرف حاوی پودر یخ خارج شود در غیر این صورت سرمای یخ باعث کواگوله شدن مجدد قطرات چربی خواهد شد [۲۳].

۲-۳- تولید ماست

عملیات حرارتی شیر در دمای ۹۰-۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۵ دقیقه انجام شد. نانو امولسیون طعم نعناع تولید شده با استفاده از صمغ دانه ریحان در چهار سطح (۰، ۱، ۳ و ۵ درصد) در مرحله پس از عملیات حرارتی در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به شیر افزوده شد. در حین افزودن عطرهای عمل همزدن به منظور انحلال بهتر و سریع‌تر انجام گرفت. از آنجائی که استارتر مورد استفاده از نوع تجاری مدل DVS و به صورت تغلیظ شده، منجمد و خشک (فریز دراید) بود، لذا به طور مستقیم به شیر تلقیح شد. استارتر مورد نظر مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط استریل به شیر مورد آزمایش اضافه شد. مزیت این نوع تلقیح مستقیم مایه غلیظ به شیر، کاهش خطر آلودگی در تکثیر و بعد از آن می‌باشد [۱۵]. پس از هم زدن و یکنواخت شدن مایه کشت، نمونه‌ها به گرمخانه‌ای با دمای 42 ± 1 درجه سانتی‌گراد منتقل شده و عمل تخمیر پس از رسیدن به $4/6 - pH = 4/5$ متوقف گردید. نمونه‌های ماست پس از هم زنی در ظروف بسته‌بندی ریخته شده و به مدت ۱۴ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شدند. آزمایش‌های مختلف در روزهای اول، هفتم و چهاردهم انجام شدند [۱، ۳ و ۲۴].

۲-۴-۲- آزمایش‌های شیمیایی

۲-۴-۱-۲- آزمایش‌های نانو امولسیون طعم

۲-۴-۱-۱- تعیین اندازه ذرات

اندازه‌گیری متوسط قطر، توزیع اندازه و سطح مخصوص ذرات با کمک دستگاه سنجش اندازه ذرات (Mastersizer, 2000) با

1. Stern layer

۲-۴-۲- آزمایش‌های ماست

۲-۴-۱- اندازه‌گیری pH

اندازه‌گیری pH طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ و با استفاده از pH متر مدل IST 240L اندازه‌گیری شد [۲۵]. اندازه‌گیری pH در طی زمان گرمخانه‌گذاری و نیز در روزهای اول، هفتم و چهاردهم نگهداری صورت گرفت.

۲-۴-۲- اندازه‌گیری اسیدیته

برای اندازه‌گیری اسیدیته از استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ استفاده شد [۲۵]. اندازه‌گیری اسیدیته در روزهای اول، هفتم و چهاردهم نگهداری صورت گرفت.

۲-۴-۳- زمان گرمخانه‌گذاری

به‌منظور اندازه‌گیری زمان گرمخانه‌گذاری نمونه‌ها، پس از قرار دادن آن‌ها در گرمخانه، انعقاد نمونه‌ها هر ۳۰ دقیقه یکبار (در دوره انتهایی زمان انعقاد هر ۱۵ دقیقه یکبار) با اندازه‌گیری pH بررسی گردید. عمل تخمیر پس از رسیدن به ۴/۶- pH=۴/۵ متوقف گردید. سپس زمان گرمخانه‌گذاری از لحظه قرار دادن نمونه‌ها در گرمخانه تا رسیدن به ۴/۶- pH=۴/۵ برحسب دقیقه محاسبه گردید [۳۶].

۲-۴-۴- اندازه‌گیری سینرسیس

میزان آب اندازی نمونه‌های ماست هم زده با استفاده از روش سانتریفوژ کردن اندازه‌گیری شد. در روزهای اول، هفتم و چهاردهم، حین نگهداری نمونه‌های ماست با وزن ۲۵ گرم درون لوله‌های سانتریفوژ با وزن مشخص ریخته شدند. لوله‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ دقیقه در ۲۰۰۰ دور در دقیقه، سانتریفوژ (NF 200, Nuve، ترکیه) شدند. سپس مایع رویی (آب جداسده) برداشته شده و توزین شد [۲۷، ۲۸ و ۲۹]. مقدار آب اندازی برحسب گرم وزن آب جداسده بر وزن نمونه محاسبه و برحسب درصد گزارش شد:

$$\text{میزان آب اندازی} = \frac{m}{m_0} \times 100$$

۲-۴-۵- آزمون رئولوژیکی

اندازه‌گیری نوسانی ویسکوزیته دینامیک مرکب با استفاده از هندسه استوانه هم‌محور دو شکافه^۱ (فنجان با قطر داخلی ۲۸ میلی‌متر و باب با قطر ۲۵ میلی‌متر) در یک دستگاه رئومتر مدل Anton Paar GmbH, Graz, Austria-) MCR 301 (Europe) انجام شد [۳۰]. برای مشخص کردن دوره زمانی

1. Double gap concentric cylinder

شکل‌گیری ساختار، رئومتر در دمای مناسب تخمیر تنظیم شد. ۳۰ دقیقه پس از تلقیح، ظرف ماست تلقیح شده جهت تهیه ماست هم زده به‌طور کامل با یک پیستون سوراخ‌دار هم زده شد (۱۵ بار به‌صورت بالا و پایین) و یک مقدار از ماست در دستگاه رئومتر قرار داده شد. ویسکوزیته دینامیک مرکب در یک فرکانس ثابت (1 rad/s) و کرنش ثابت (۰/۵ درصد) تا زمانی که pH نمونه به ۴/۵ رسید، انجام شد.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

این آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش برای بررسی ویژگی‌های نانو امولسیون طعم تولیدشده شامل ۳ سطح محتوای عطرمايه (۵، ۱۰ و ۱۵ درصد)، محتوای صمغ (۱/۰، ۲/۰ و ۳/۰ درصد) و زمان نگهداری در دو سطح (۱ و ۱۴) بودند. فاکتورهای آزمایش برای بررسی اثر نانو امولسیون طعم بر ویژگی‌های ماست شامل ۴ سطح نانو امولسیون طعم (۰، ۱، ۳ و ۵ درصد) و زمان نگهداری در سه سطح (۱، ۷ و ۱۴) بودند. این رهیافت برای تعیین میزان اثرات فاکتورهای مختلف به کار رفت [۳۱]. جهت مقایسه میانگین‌ها و بررسی اثرات ساده و متقابل فاکتورها از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار Minitab ver.16 مورد آزمون آماری قرار گرفتند. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار آماری Excel و Minitab ver.16 استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی نانو امولسیون طعم

۳-۱-۱- تعیین اندازه ذرات

توزیع اندازه ذرات، یک پارامتر مهم برای برخی از خواص امولسیون مانند بافت و عمر مفید است و در نتیجه کنترل و اندازه‌گیری آن بسیار مهم است [۳۲]. با توجه به تجزیه تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها مشاهده شد که نوع صمغ و غلظت صمغ بر روی $D[3,2]$ تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.05$). در اغلب موارد با افزایش غلظت صمغ و زمان نگهداری مقدار این فراسنجه افزایش یافت (شکل ۱). بالاترین میزان $D[3,2]$ مربوط به امولسیون صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۳ درصد محتوای ۵ درصد عطرمايه و در روز ۱۴ معادل

میانگین‌ها مشاهده شد که نوع صمغ و غلظت صمغ بر روی SSA تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.05$). در اغلب موارد با افزایش غلظت صمغ و زمان نگهداری مقدار این فراسنجه کاهش یافت (شکل ۳). بالاترین میزان SSA مربوط به امولسیون صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۱ درصد محتوی ۱۵ درصد عطرهای و در روز ۱ معادل ۲/۶۳ بود و کمترین میزان مربوط به صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۳ درصد محتوی ۵ درصد عطرهای و در روز ۱۴ معادل ۰/۸۹۳ بود.

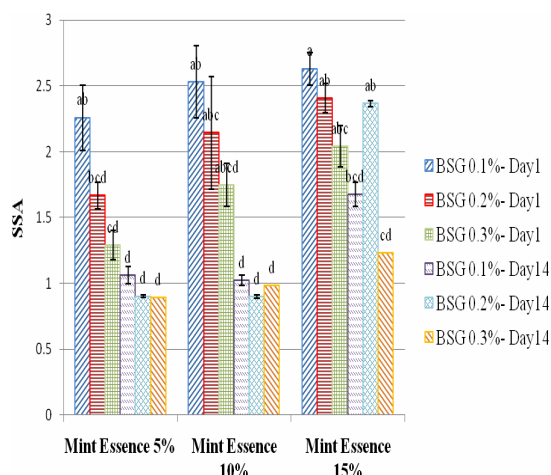


Fig 3 Influence of mint essence and Basil seed gum on SSA during storage of nano emulsion.

تفاوت معنی‌دار بین تأثیر غلظت‌های صمغ بر اندازه قطرات نشان‌دهنده حضور صمغ دانه ریحان در ناحیه بین سطحی و تعامل بین صمغ و پروتئین‌های کلئیدی (پروتئین‌های اطراف گلبول‌های چربی) می‌باشد. این موضوع نشان می‌دهد که مولکول‌های صمغ در کنار نقش پایدارکنندگی، به عنوان امولسیفایر در این امولسیون‌ها عمل کرده از طریق جذب آب سبب کند شدن سرعت جداسازی فازی شده است. حضور زیاده‌تر مولکول‌های صمغ منجر به فلوکولاسیون تجمعی، ایجاد پیوندهای عرضی بین قطرات، افزایش معنی‌دار در اندازه قطرات و به دنبال آن ناپایداری در امولسیون شده است. نتایج مشابهی توسط سان و همکاران (۲۰۰۷) در رابطه با اثر صمغ زانتان بر پایداری نمونه‌های امولسیونی حاوی ایزوله پروتئین آب‌پنیری گزارش شده است [۳۳].

علاوه بر این، نتایج بررسی اسپان منحنی‌های توزیع اندازه ذرات نمونه‌های امولسیونی (شکل ۴) بیانگر این است که کمترین درجه یکنواختی اندازه گویچه‌ها در روز اول و چهاردهم مربوط به نمونه‌های حاوی ۰/۱ درصد صمغ است ($P < 0.05$). با توجه به اینکه هر چه اسپان کمتر باشد، اندازه

۶/۲۱۲ بود و کمترین میزان مربوط به صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۱ درصد محتوی ۱۵ درصد عطرهای و در روز ۱ معادل ۲/۵۰۷ بود.

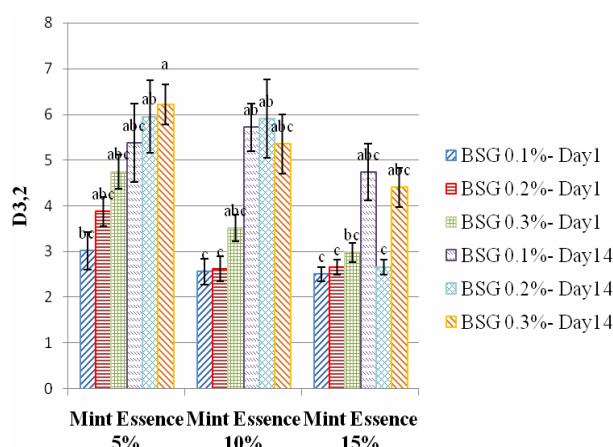


Fig 1 Influence of mint essence and Basil seed gum on D[3,2] during storage of nano emulsion.

با توجه به تجزیه تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها مشاهده شد که نوع صمغ و غلظت صمغ بر روی D[4,3] تفاوت معنی‌داری دارد ($P < 0.05$). در اغلب موارد با افزایش غلظت صمغ و زمان نگهداری مقدار این فراسنجه کاهش یافت (شکل ۲). بالاترین میزان D[4,3] مربوط به امولسیون صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۲ درصد محتوی ۵ درصد عطرهای و در روز ۱ معادل ۲۱۸/۳۱ بود و کمترین میزان مربوط به صمغ دانه ریحان با غلظت ۰/۲ درصد محتوی ۱۵ درصد عطرهای و در روز ۱۴ معادل ۱۸/۹۸۷ بود.

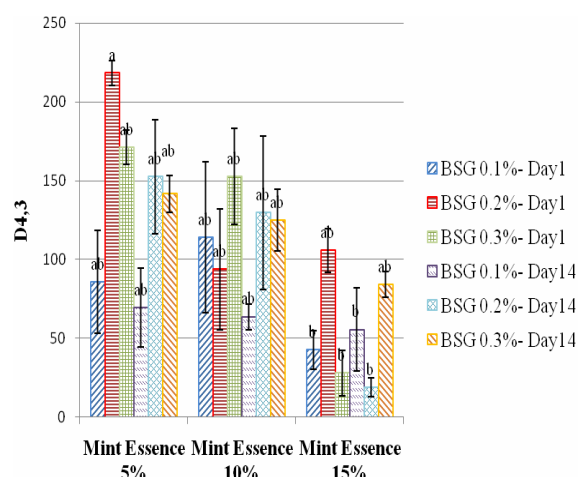


Fig 2 Influence of mint essence and Basil seed gum on D[4,3] during storage of nano emulsion.

در مورد بررسی SSA نیز می‌توان گفت هرچه سطح مخصوص قطرات (SSA) افزایش یابد اندازه ذرات کوچک‌تر می‌شود. با توجه به تجزیه تحلیل آماری داده‌ها و مقایسه

آسیاب کلونیدی را می‌توان به قابلیت هموژن کردن ذرات برای ایجاد ذرات کوچک و انعقاد مجدد نسبت داد [۳۷]. افزایش فشار تفاوت معنی‌داری در اندازه $D[4,3]$ ایجاد می‌کند که منجر به کاهش قابل‌توجهی در اندازه $D[4,3]$ می‌شود [۳۸ و ۳۹]. توزیع *monomodal* در امولسیون تولیدشده به روش آسیاب کلونیدی در نتیجه تغییر فلوکولاسیون (لخته سازی) به مرحله کوآگولاسیون (انعقاد) می‌باشد. توزیع *bimodal* در امولسیون روغن در آب با فشار بالای هموژناسیون را می‌توان با توجه پدیده فرآوری بیش‌ازحد ناشی از لخته شدن قطرات به‌دست‌آمده در زمانی که انرژی ورودی یا قطرات همگن و یا غلظت سورفاکتانت بر روی امولسیون تازه تولید شده دیده نمی‌شود [۴۰]. با بررسی اندازه $D[3,2]$ و $D[4,3]$ در نمونه‌های امولسیون شامل ریحان مشاهده شد که اندازه ذرات در روز اول کوچک بوده و باعث پایداری امولسیون شده و در روز ۱۴ به علت بزرگ بودن اندازه ذرات و ایجاد حالت کوآگولاسیون و فلوکولاسیون باعث ناپایداری شده است.

۳-۱-۲- آزمون پتانسیل زتا

پتانسیل زتا برای درک و کنترل خواص سوسپانسیون‌های کلونیدی بسیار حائز اهمیت است [۴۱]. عموماً می‌توان خصوصیات یک سوسپانسیون را با درک چگونگی برهمکنش کلونیدها با یکدیگر شناسایی نمود. در حوزه‌های که معلق ماندن فاز جامد در مایع و فاز مایع در مایع دارای اهمیت می‌باشد مانند داروسازی، سرامیک و مواد غذایی، اندازه‌گیری پتانسیل زتا می‌تواند سبب بهبود کیفیت محصولات غذایی شده و زمینه پیشرفت تحقیقات را با کاهش زمان انجام آزمون، بالا بردن دقت آزمون، کاهش خطای اندازه‌گیری و انجام آزمون برای نمونه‌های با رسانایی خیلی کم و نمونه‌هایی که مقاومت الکتریکی بالایی دارند را فراهم کند. پتانسیل زتا یک ابزار تحلیلی است که به وجود فعل‌وانفعالات شارژی قوی بین ۲ بیو پلیمر اشاره می‌کند [۴۲].

با توجه به نتایج حاصل از تعیین اندازه ذرات، نمونه‌های حاوی ۰/۳ درصد صمغ جهت ادامه کار انتخاب شدند. بر همین مبنا پتانسیل زتا برای این نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (شکل ۵). با توجه به نتایج تفاوت معنی‌داری در پتانسیل زتای نمونه‌های مختلف مشاهده نشد.

گویچه‌ها یکنواخت‌تر است، بنابراین حضور ۰/۳ درصد صمغ در تمام غلظت‌های عطرمايه و طی نگهداری، گویچه‌های یکنواخت‌تری را موجب شده است.

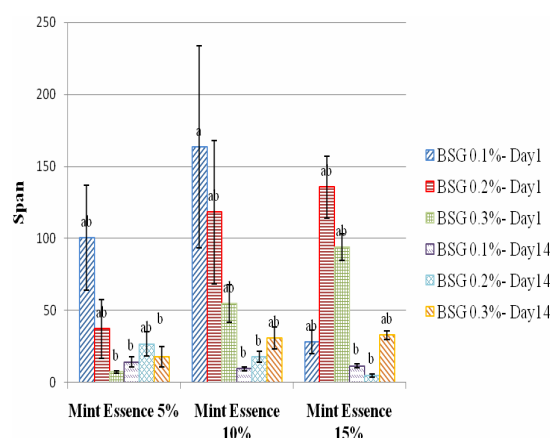


Fig 4 Influence of mint essence and Basil seed gum on Span during storage of nano emulsion.

پارامتر $D[4,3]$ برای تشخیص کوآگولانس (انعقاد) و فلوکولاسیون (لخته) را با حساسیت بیشتری نسبت به پارامتر $D[3,2]$ بیان می‌کند. افزایش زیاد در $D[4,3]$ نشان‌دهنده فلوکولاسیون بیشتر است [۳۴]. این اتفاق به دلیل تجمع قطرات است که منجر به تشکیل یک توزیع *bimodal* می‌شود که متوسط قطر ذرات نسبتاً بالا ($D[4,3] > 30m$) بود که به دلیل تجمع قابل توجه ذرات در امولسیون می‌باشد. وجود پیک کاملاً مشخص در منحنی توزیع اندازه قطرات امولسیون، نشان‌دهنده اندازه قطرات بزرگ است که در تسریع جداسازی فاز امولسیون تأثیرگذار می‌باشد. وجود قطرات درشت در امولسیون بیانگر وقوع پدیده‌های ناپایداری از جمله تجمع، به هم پیوستن و درهم آمیختن قطرات بوده که از نظر رئولوژیکی، وقوع این پدیده‌ها معمولاً با تغییر در ویسکوزیته و از نظر ظاهری با خامه بستن و شکست امولسیون همراه است [۳۵].

هوانگ و همکاران در سال ۲۰۰۱ خصوصیات هیدروکلونیدها در امولسیون روغن در آب را مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که امولسیون شامل صمغ شنبلیله در غلظت ۰/۵ بسیار پایدار است زیرا متوسط اندازه قطرات $D[3,2]$ برابر ۱ میکرومتر بوده است از طرفی صمغ شنبلیله دارای ۱۳ درصد پروتئین بوده که در تشکیل یک امولسیون پایدار مؤثر است [۳۶].

هیبشی و همکاران (۲۰۱۳) بر روی امولسیون سدیم کازئینات همگن شده با فشار بالا مطالعه کردند و دریافتند که اندازه ذرات سدیم کازئینات با ۲۰٪ روغن تولیدشده توسط روش

وجود داشته باشد که این ناخالصی‌ها می‌توانند به سطوح قطره متصل شده و بار قطره را تغییر دهد [۴۳].

۳-۲- آزمون‌های ماست

۳-۲-۱- زمان گرمخانه گذاری

طی فرایند تولید ماست، پس از تیمار حرارتی، شیر تا دمای مایه‌زنی که دمای موردنیاز برای رشد باکتری‌های آغازگر می‌باشد، خنک می‌شود. دمای بهینه برای باکتری‌های اسیدلاکتیک گرمادوست بین ۴۰-۴۵ درجه سانتی‌گراد است [۴۴]. در طول تخمیر باکتریایی، لاکتوز به اسیدلاکتیک تبدیل می‌شود که در نتیجه آن pH کاهش می‌یابد. ضمن اسیدی شدن شیر pH از ۶/۷ به ۴/۶ می‌رسد [۳۰ و ۴۴]. مدت زمان موردنیاز برای رسیدن به pH مطلوب مدت زمان گرمخانه گذاری محسوب می‌شود.

نانو امولسیون طعم نعنای استفاده‌شده اثر معنی‌داری بر زمان گرمخانه گذاری نمونه‌های ماست گذاشت ($P < 0.05$). با افزایش سطح نانو امولسیون طعم نعنای استفاده‌شده زمان گرمخانه گذاری افزایش یافت (شکل ۶). زمان گرمخانه گذاری بیانگر میزان فعالیت باکتری‌های آغازگر فرایند تخمیر در دمای بهینه می‌باشد. اجزای موجود در محیط تخمیر بر فعالیت آنها مؤثر است و هدف اندازه‌گیری زمان تخمیر بررسی میزان تأثیر محتوای طعم‌دهنده بر فعالیت باکتری‌های آغازگر می‌باشد.

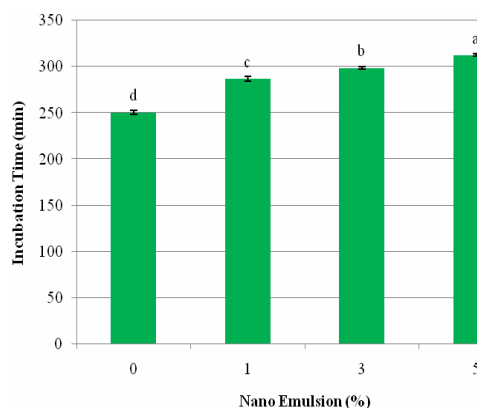


Fig 6 Influence of nano emulsion on incubation time (min) of yoghurt.

میسلهای کازئین عناصر اساسی شیر هستند که به هنگام تخمیر باعث تشکیل دلمه می‌گردند و در pH طبیعی شیر به شکل ذرات مجزایی با بار منفی وجود دارند. بخش سطحی میسل‌های کازئین را تعداد زیادی از مولکول‌های کاپاکازئین تشکیل داده است. مولکول‌های دوقطبی آب به همراه یون‌های مثبت موجود در سرم شیر، لایه‌ای محافظ را در اطراف میسل

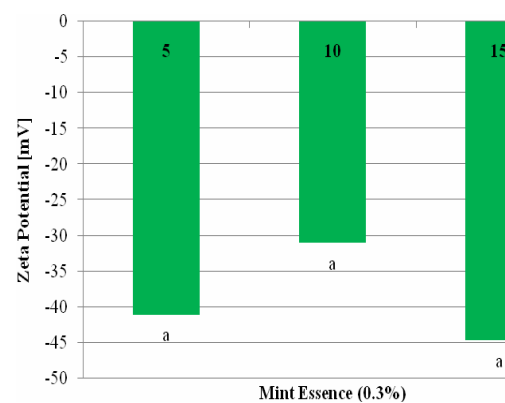


Fig 5 Influence of mint essence on Zeta Potential (mV) of nano emulsion.

وقتی ذره درون سیال حرکت می‌کند، لایه‌های درونی و بیرونی اطراف آن نیز به همراه ذره جابجا می‌شوند و با ذره حرکت می‌کنند و می‌توان یک فاصله فرضی بین ذره و محیط سیال تصور کرد که این فاصله عرضی همان لایه مضاعفی است که ذره را احاطه کرده است. این فاصله را اصطلاحاً تنش هیدرودینامیکی^۱ می‌نامند و پتانسیلی که در این فاصله وجود دارد را بنام پتانسیل زتا می‌شناسند. درواقع پتانسیل زتا یک پارامتر برای ثبات بالقوه سیستم کلوئیدی می‌باشد. اگر همه ذرات داخل سوسپانسیون دارای بار منفی یا مثبت باشند، ذرات تمایل به دفع یکدیگر دارند و تمایل به هم انباشتگی از خود نشان نمی‌دهند. تمایل ذرات هم بار به دفع یکدیگر، رابطه مستقیمی با پتانسیل زتا دارد. به‌طورکلی مرز پایداری و ناپایداری سوسپانسیون را می‌توان برحسب پتانسیل زتا تعیین کرد. ذراتی که پتانسیل زتای آنها از ۳۰ میلی‌ولت بیشتر و یا از ۳۰ میلی‌ولت کمتر باشد، دارای پایداری هستند؛ بنابراین تمام نمونه‌ها دارای پایداری مناسبی ارزیابی شدند. نظر به این مورد نمونه حاوی ۰/۳ درصد صمغ و ۱۵ درصد طعم‌دهنده عطرهای نعناع برای طعم دار کردن ماست انتخاب شد.

کلین و همکاران (۲۰۱۰) فعل‌وانفعالات بین آب‌پنیر ایزوله شده و صمغ عربی را بررسی کردند و دریافتند که پتانسیل زتا در تمام pH ها منفی است در pH~4 پتانسیل زتا در حدود -۷ تا -۳۰ میلی‌ولت می‌باشد. از طرفی پروتئین آب‌پنیر در pH پائین مثبت است. این اندازه‌گیری‌ها نشان‌دهنده خنثی‌سازی بار است که با افزایش pH، افزایش یافته است [۴۲]. لزوماً بیشتر بودن بار منفی دلیل بر پایداری امولسیون نمی‌باشد زیرا ممکن است در سطوح مختلف بینابینی ناخالصی‌های یونی معدنی

1. Hydrodynamic shear

کازئین تشکیل می‌دهند. در حقیقت این لایه به اتفاق بارهای منفی اضافی، مانع از به هم چسبیدن میسل‌های مجزای کازئین در pH طبیعی شیر می‌شود. هنگام فرایند تخمیر، اسیدلاکتیک و به بیان دقیق‌تر، یون‌های هیدروژن ایجاد می‌شود. با افزایش تولید یون هیدروژن، بار منفی کازئین تدریجاً تا حدی خشی می‌شود تا انرژی جنبشی میسل‌ها بتواند بر نیروی دافعه الکترواستاتیک بین آن‌ها غلبه نماید و درواقع، این همان لحظه‌ای است که انعقاد شروع می‌شود [۴۵].

۳-۲-۲ pH

طی بررسی‌های آماری مشاهده شد که مقدار طعم‌دهنده و زمان نگهداری تأثیر معنی‌داری بر میزان pH نمونه‌های ماست نمی‌گذارد ($P > 0.05$)؛ به‌طورکلی با گذر زمان pH کاهش یافته که ناشی از فعالیت باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک می‌باشد (جدول ۱). این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده در پژوهش‌های پیشین در خصوص استفاده از جایگزین‌های چربی نظیر گوار، زانتان، بتاگلوکان و... نیز مطابقت دارد. به‌طورکلی کاهش pH نمونه‌های ماست طی زمان نگهداری طبیعی است و مشابه نتایج حاصل از مطالعات سایر پژوهشگران است [۲۹ و ۴۶، ۴۷ و ۴۸].

Table 1 Influence of nano emulsion on pH, acidity and syneresis during storage of yoghurt.

Syneresis (%)	Acidity (%)	pH	Time (Day)	Nano Emulsion (%)
36.38±0.60 ^a	1.14±0.03 ^b	4.45±0.05 ^a	1	0
28.48±2.72 ^{abcd}	1.48±0.05 ^{ab}	4.26±0.05 ^a	7	
22.28±2.00 ^{def}	1.52±0.06 ^a	4.27±0.02 ^a	14	
26.30±0.83 ^{bcd}	1.23±0.02 ^{ab}	4.42±0.04 ^a	1	1
19.82±0.37 ^{ef}	1.51±0.04 ^{ab}	4.21±0.05 ^a	7	
16.19±1.33 ^f	1.54±0.09 ^a	4.19±0.03 ^a	14	
30.76±1.47 ^{abc}	1.18±0.06 ^{ab}	4.42±0.06 ^a	1	3
26.58±0.86 ^{bcd}	1.34±0.08 ^{ab}	4.23±0.09 ^a	7	
23.40±1.33 ^{cdef}	1.36±0.08 ^{ab}	4.21±0.05 ^a	14	
31.71±0.77 ^{ab}	1.28±0.02 ^{ab}	4.38±0.02 ^a	1	5
25.71±1.48 ^{bcd}	1.49±0.06 ^{ab}	4.25±0.03 ^a	7	
21.88±0.79 ^{def}	1.51±0.06 ^{ab}	4.25±0.01 ^a	14	

سahان و همکاران (۲۰۰۶) نشان دادند که افزودن بتاگلوکان به‌عنوان جایگزین چربی تأثیر معنی‌داری بر pH ماست نداشته است و نیز نگهداری نمونه‌ها به مدت یک هفته موجب کاهش pH آن می‌گردد [۴۹]. عزیزنیا و همکاران در سال ۲۰۰۸ تأثیر صمغ تراگاکانت و وی پروتئین را بر روی خصوصیات ماست موردبررسی قرار دادند و گزارش کردند که صمغ تراگاکانت به‌عنوان جایگزین چربی بر روی pH مؤثر نیست [۵۰].

۳-۲-۳ اسیدیته

نتایج بررسی نشان می‌دهد مقدار اسیدیته نمونه ماست شاهد (فاقد طعم‌دهنده) در روز اول به‌طور معنی‌داری نسبت به روز چهارده کمتری است ($P < 0.05$). به‌طورکلی در تمام مقادیر طعم‌دهنده، با گذشت زمان نگهداری، مقدار اسیدیته افزایش یافت (جدول ۱). اسیدلاکتیک محصول عمده کاتابولیز لاکتوز توسط باکتری‌های اسیدلاکتیک است. با تولید تدریجی اسیدلاکتیک، میسل کازئین ناپایدار شده و به دنبال آن پروتئین‌های آب‌پنیر دناتوره می‌شوند که به دلیل حل شدن فسفات کلسیم کلونیدی است. به‌طوری‌که با انعقاد کازئین ژل

ماست تشکیل می‌شود. اسیدلاکتیک به ماست مزه خاص و معینی نظیر مزه اسیدی و ترش می‌دهد و باعث تشدید طعم‌های معطر می‌شود [۵۱]. اسیدیته ماست طی زمان نگهداری به دلیل افزایش فعالیت متابولیکی آغازگرها افزایش می‌یابد [۴۸]. نتایج به‌دست‌آمده مطابق نتایج حاصل از مطالعه سرا و همکاران (۲۰۰۹) بر ویژگی‌های فیزیکی ماست هم زده و قالبی طی نگهداری سرد با استفاده از هوموژنیزاسیون با فشار بالا بود [۴۸]. آن‌ها اظهار داشتند که اسیدیته تمامی ماست‌ها طی زمان نگهداری بیست‌وهشت روزه افزایش می‌یابد. پژوهشگران دلیل این امر را افزایش اسیدیفیکاسیون بعدی باکتری‌های اسیدلاکتیک دانستند، زیرا که فعالیت آنزیمی این باکتری‌ها کاملاً متوقف نمی‌شود بلکه کاهش می‌یابد [۵۲]. بر اساس نظریه لی و لوسی (۲۰۰۴) به دلیل این‌که اسیدی شدن بر ساختار و رفتار رئولوژیکی ماست تأثیر می‌گذارد همواره باید طی تولید و نگهداری به‌طور مستقیم کنترل شود [۴۶].

۳-۲-۴- میزان آب اندازی

نانو امولسیون طعم نعنای استفاده شده اثر معنی داری بر میزان آب اندازی نمونه های ماست گذاشت ($P < 0.05$). با افزایش سطح نانو امولسیون طعم نعنای استفاده شده میزان آب اندازی کاهش یافت (جدول ۱). مشاهده می شود بالاترین میزان آب اندازی متعلق به نمونه های شاهد می باشد. میزان آب اندازی نمونه های حاوی صمغ به طور معناداری کاهش یافته است و این روند در روزهای اول، هفتم و چهاردهم مشهود است. از سوی دیگر با افزایش درصد صمغ میزان آب اندازی افزایش می یابد. همچنین بررسی آب اندازی طی دوره نگهداری چهارده روزه مبین کاهش میزان آب اندازی طی زمان بوده است. جدا شدن آب ماست که با ظهور مایع بر روی سطح دلمه نمایان می شود، یک عیب شایع در فرآورده های لبنی تخمیری می باشد. اگر شبکه دلمه ای آسیب ببیند و یا دستخوش نوارایی ساختمانی گردد، جدا شدن آب ماست می تواند صورت گیرد. آب اندازی به صورت جمع شدن دلمه تعریف می شود که این امر با جدا شدن آب ماست همراه می باشد. آب اندازی خودبه خودی، انقباض دلمه بدون استفاده از هر نیروی خارجی است و با ناپایداری (عدم ثبات) شبکه ژلی یا دلمه در ارتباط می باشد. تولیدکنندگان سعی دارند تا با افزایش میزان مواد جامد کل، حرارت دهی و یا با افزودن پایدار کننده هایی از قبیل ژلاتین، پکتین و... از جداسازی آب ماست جلوگیری کنند [۴۸، ۵۳ و ۵۴].

بوئکه و آریانا (۲۰۰۸) در مطالعه ای که بر روی ماست های لیمویی غنی شده با اسید فولیک انجام دادند، افزایش معنی داری را در میزان آب اندازی ماست های غنی شده بعد از ۵ هفته مشاهده کردند [۵۵]. در حالی که تمیز و همکاران (۲۰۱۴) در بررسی اثر افزودن مارمالاد گیلان لورل بر آب اندازی ماست هم زده طی زمان نگهداری مشاهده کردند که تا روز چهاردهم نگهداری سینرسیس کاهش می یابد [۵۶]. این کاهش میزان سینرسیس را می توان به شرایط نگهداری و عمل تبخیر در سطح نسبت داد.

یکی از عوامل مؤثر بر میزان آب اندازی ماست، pH آن است. بهترین محدوده pH بین ۴/۵ - ۴/۲ گزارش شده است و در

خارج از این محدوده به دلیل ناپایدار شدن شبکه ژل در اثر افزایش رانش الکترواستاتیک بین میسل های کازئین، به ویژه در شرایطی که دمای نگهداری بالا باشد احتمال آب اندازی افزایش می یابد [۵۱ و ۵۳]. تأثیر تیمارهای مختلف بر میزان آب اندازی در پژوهش های مختلف متناقض است. لوسی در سال ۲۰۰۲ اعلام کرد افزودن صمغ به ماست باعث کاهش میزان آب اندازی آن طی دوره نگهداری خواهد شد [۵۴]. محققین دریافتند که با افزودن ۲ درصد مکمل پروتئینی و یا ۰/۰۱٪ هیدروکلوئید می توان بافت ماست را بهبود داد. آنها دریافتند که صمغ گوار و زانتان می تواند بافت ماست را بهبود و میزان آب انداختگی را کاهش دهد افزایش ویسکوزیته ماست به دلیل افزایش ماده جامد کل و در نتیجه افزایش سفیدی محصول می تواند در نهایت آب اندازی محصول را کاهش دهد [۵۱].

۳-۲-۲- آزمون رئولوژیکی

پس از اندازه گیری نوسانی ویسکوزیته دینامیک مرکب در نمونه های ماست طعم دار شده و شاهد به منظور بررسی چگونگی شکل گیری ساختار ژل در آنها، مشاهده شد که با افزایش طعم دهنده نقطه آغاز تشکیل ژل نیز به تأخیر می افتد (شکل ۷). به طوری که زمان شروع تشکیل ژل در نمونه شاهد حدود ۷۰۰۰ ثانیه می باشد در حالی که نقطه شروع تشکیل در نمونه حاوی ۱ درصد طعم دهنده حدود ۸۰۰۰ ثانیه می باشد. هرچند که با افزایش غلظت طعم دهنده، نقطه شروع تشکیل ژل کمتر می شود. انعقاد پروتئین و تشکیل ژل ماست زمانی رخ می دهد که pH شیر مورد استفاده در تولید ماست کاهش یابد. در غیر این صورت وجود رانش الکترواستاتیک میان میسل های کازئین مانع همجوشی آنها می شود؛ زیرا میسل های کازئین دارای بار خالص منفی هستند. با کاهش pH از نیروی رانش میان میسل های کازئین کاسته می شود و سرانجام در pH هم بار میسل ها (۴/۶-۷/۴)، میسل های کازئین به هم می پیوندند و پدیده هم جوشی و در نهایت انعقاد رخ می دهد [۳۰، ۴۵ و ۵۱]. کاهش pH و افزایش اسیدیته موجب انحلال فسفات کلسیم کلوئیدی و افزایش میزان یون کلسیم در سرم شیر می شود. یون های H مثبت جایگزین یون های فلزی کلسیم، منیزیم و سدیم در پل های نمکی میسل های کازئین می شوند [۵۷].

ویسکوزیته مرکب نشان‌دهنده جریان ویسکوالاستیک ماده است، بنابراین تا زمانی که انعقادی صورت نگرفته، مقادیر این پارامتر ثابت بوده و با شروع تشکیل ژل مقدار آن‌ها افزایش می‌یابد. با پیشرفت عمل انعقاد و تشکیل شبکه ژل به تدریج ویسکوزیته مرکب افزایش می‌یابد که بیانگر افزایش میزان سفتی، قوام یا سختی ژل تشکیل‌شده است.

۴- نتیجه‌گیری

در این پژوهش ابتدا نانو امولسیون طعم نعنای توسط صمغ دانه ریحان با نسبت‌های مختلف صمغ و طعم‌دهنده تولید شد. با افزایش غلظت صمغ، سطح مخصوص قطرات (SSA) کمتر شد که به معنی بزرگتر شدن اندازه ذرات است. از طرف دیگر با توجه به اینکه هر چه اسپان کمتر باشد، اندازه گویچه‌ها یکنواخت‌تر است، بنابراین حضور ۰/۳ درصد صمغ در تمام غلظت‌های عطرمايه و طی نگهداری، گویچه‌های یکنواخت‌تری را موجب شد. همچنین افزایش زیاد در $D[4,3]$ نشان‌دهنده فلوکولاسیون بیشتر است که در نمونه‌های حاوی ۰/۳ درصد صمغ این ویژگی کمتر بود. بر اساس نتایج آزمون توزیع اندازه ذرات و پتانسیل زتا نمونه حاوی ۰/۳ درصد صمغ و ۱۵ درصد طعم‌دهنده عطرمايه برای طعم دار کردن ماست انتخاب شد. ماست حاوی نانو امولسیون طعم نعنای توسط صمغ دانه ریحان به لحاظ فاکتورهای بااهمیت قابل‌مقایسه با سایر نمونه‌ها بود؛ بنابراین محصول مناسبی برای جایگزینی به‌جای ماست است. چراکه علاوه بر برخورداری از ویژگی‌های سلامت بخشی دارای قابلیت رقابت پذیری با ماست‌های موجود در بازار نیز می‌باشد.

۵- منابع

- [1] Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. & Vernon-Carter, E. J. 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. *International Dairy Journal*, 14, 151-159.
- [2] Cayot, P., Nongonierma, A., Houzé, G., Schenker, F., Seurve, A.M. and Voilley, A., 2006. Requirement for a global design to remove fat from flavoured yoghurts. *Developments in Food Science*, 43, pp.457-460.

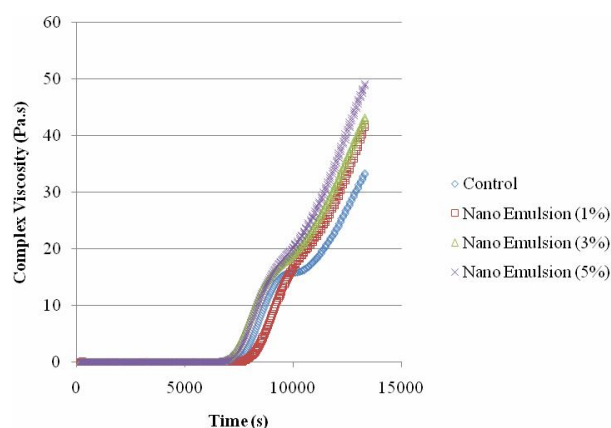


Fig 7 Change of complex viscosity (Pa.s) of yoghurt during fermentation.

نانو امولسیون طعم نعنای استفاده شده اثر معنی‌داری بر مقدار نهایی ویسکوزیته مرکب نمونه‌های ماست گذاشت ($P < 0.05$). با افزایش سطح نانو امولسیون طعم نعنای استفاده شده مقدار نهایی ویسکوزیته مرکب افزایش یافت (شکل ۸). با توجه به این‌که مقدار نهایی ویسکوزیته مرکب نمونه‌های ماست طعم دار شده در پایان زمان تخمیر بالاتر از مقدار ویسکوزیته مرکب نمونه شاهد بود، لذا می‌توان گفت که ماست‌های طعم دار شده از قوام و سفتی بالاتری نسبت به نمونه شاهد برخوردار می‌باشند. افزایش سفتی نمونه‌های ماست طعم دار شده را می‌توان به افزایش مقدار صمغ در این ماست‌ها نسبت داد؛ زیرا ذرات صمغ به‌عنوان کانون‌هایی عمل می‌کنند که توسط میسل‌ها و زیرمیسل‌های کازئینی که به‌عنوان امولسیون‌کننده عمل می‌کنند، جذب می‌شوند و از این‌رو به گسترش و تکمیل شبکه ژل ماست کمک می‌کنند و پیوستگی شبکه و سفتی ژل را افزایش می‌دهند [۴۵ و ۵۱]. قرار گرفتن ذرات صمغ میان میسل‌ها و زیر میسل‌های کازئین با کمک به همجوشی آن‌ها موجب تشکیل رشته‌های کازئینی ضخیم‌تر می‌شود [۱۲].

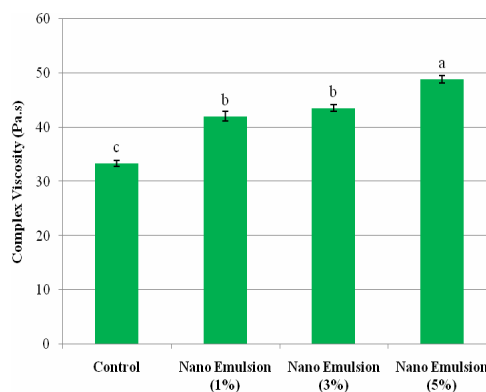


Fig 8 Influence of nano emulsion on complex viscosity (Pa.s) of yoghurt.

- [12] Mortazavian, A. M. & Sohrabvandi, S. 2004. A review on sensory properties of yoghurt. *Ata*, 245.
- [13] Tabari, M.A., RezaYoussefi, M., Ghasemi, F., Tabari, R.G., Esmaili, R.H. and Behzadi, M.Y., 2012. Comparison of antibacterial effects of Eucalyptus essence, mint essence and combination of them on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* isolates. *World Applied Sciences Journal*, 16(10), pp.1473-7.
- [14] Wang, L., Li, X., Zhang, G., Dong, J. and Eastoe, J., 2007. Oil-in-water nanoemulsions for pesticide formulations. *Journal of colloid and interface science*, 314(1), pp.230-235.
- [15] Sonnevile-Aubrun, O., Simonnet, J.T. and L'aloret, F., 2004. Nanoemulsions: a new vehicle for skincare products. *Advances in colloid and interface science*, 108, pp.145-149.
- [16] Madene, A., Jacquot, M., Scher, J. and Desobry, S., 2006. Flavour encapsulation and controlled release—a review. *International journal of food science & technology*, 41(1), pp.1-21.
- [17] Mirhosseini, H., Salmah, Y., Nazimah, S.A.H. and Tan, C.P., 2007. Solid-phase microextraction for headspace analysis of key volatile compounds in orange beverage emulsion. *Food Chemistry*, 105(4), pp.1659-1670.
- [18] Dziezak, J.D., 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. *Food Technology*, 42(4), p.136.
- [19] Jackson, L.S. and Lee, K., 1991. Microencapsulation and the food industry. *Lebensm. Wiss. Technol*, 24(4), pp.289-297.
- [20] Shahidi, F. and Han, X.Q., 1993. Encapsulation of food ingredients. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 33(6), pp.501-547.
- [21] Razavi, S. M. A., Mohammadi Moghaddam, T. and Mohammad Amini, A. 2008. Physico-mechanic and chemical properties of Balangu seed. *International Journal of Food Engineering*, 4: 1–12.
- [22] Hosseini-Parvar, S.H. 2009. Basil seed gum (BSG): Physico-Chemical, Rheological and Emulsifying Characterization and Its Synergistic Interactions in Combination with Locust Bean Gum and Guar Gum, PH.D thesis, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.
- [3] Damin, M. R., Alca^Ntara, M. R., Nunes, A. P. & Oliveira, M. N. 2009. Effects of milk supplementation with skim milk powder, whey protein concentrate and sodium caseinate on acidification kinetics, rheological properties and structure of nonfat stirred yogurt. *Food Science and Technology*, 42, 1744–1750.
- [4] Lorenzi, L. D., Pricl, S. & Torriano, G. 1995. Rheological Behaviour of Low-fat and Full-fat Stirred Yoghurt. *Int. Dairy Journal*, 5, 661-671.
- [5] Ramchandran, L. & Shah, N. P. 2008. Effect of Addition of Versagel on Microbial, Chemical, and Physical Properties of Low-Fat Yogurt. *Journal of Food Science*, 73, 360-367.
- [6] Yazici, F. & Akgun, A. 2004. Effect of some protein based fat replacers on physical, chemical, textural, and sensory properties of strained yoghurt. *Journal of Food Engineering*, 62, 245–254.
- [7] Bostan, A., Razavi, S. M. A. & Farhoosh, R. 2010. Optimization of hydrocolloid extraction from wild sage seed (*salvia macrosiphon*) using response surface. *International Journal of Food Properties*, 13, 1380–1392.
- [8] Hosseini-Parvar, S. H., Matia-Merino, L., Goh, K. K. T., Razavi, S. M. A. & Mortazavi, S. A. 2010. Steady shear flow behavior of gum extracted from *Ocimum basilicum* L. seed: Effect of concentration and temperature. *Journal of Food Engineering*, 101, 236–243.
- [9] Razavi, S. M. A., Mortazavi, S. A., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S. H., Motamedzadegan, A. & Khanipour, E. 2009. Optimisation study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1755–1762.
- [10] Razmkhah sharabiani, S., Razavi, S., Behzad, K., & Mazaheri Tehrani, M. 2010. The Effect of Pectin, Sage Seed Gum and Basil Seed Gum on Physicochemical and Sensory Characteristics of Non Fat Concentrated Yoghurt. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 6(1). 33-45.
- [11] Razavi, S. M. A., Taheri, H. & Quinchia, L. A. 2011. Steady shear flow properties of wild sage (*Salvia macrosiphon*) seed gum as a function of concentration and temperature. *Food Hydrocolloids*, 25, 451-458.

- [36] Huang, X., Kakuda, Y., & Cui, W. 2001. Hydrocolloids in emulsions: particle size distribution and interfacial activity. *Food Hydrocolloids*, 15, 533-542.
- [37] Hebishy E, Martin B, Buenaventura Guamis, Antonio-José Trujillo, 2013. Stability of Sub-Micron Oil-in-Water Emulsions Produced by Ultra High Pressure Homogenization and Sodium Caseinate as Emulsifier. *Chemical Engineering Transactions*.32, 1813-1818.
- [38] Cruz N., Capellas M.M., Hernández M., Trujillo A.J., Guamis B. and Ferragut V., 2007, Ultra high pressure homogenization of soymilk: microbial, pHysicochemical and microstructural characteristics, *Food Research International*, 40, 725-732.
- [39] Pereda J., Ferragut V., Quevedo J.M., Guamis B. and Trujillo A.J., 2007, Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and pHysicochemical shelf life of milk, *Journal of Dairy Science*, 90, 1081-1093.
- [40] Jafari, S. M., He, Y., & Bhandari, B. 2007. Production of sub-micron emulsions by ultrasound and microfluidization techniques. *Journal of Food Engineering*, 82, 478-488.
- [41] Lewis, J. A., 2000. Colloidal Processing of Ceramics”, *J. Am. Ceram. Soc.*, 83 [10] 2341-59.
- [42] Klein, Miri, Abraham Aserin, Paul Ben Ishai, Nissim Garti. 2010. Interactions between whey protein isolate and gum Arabic. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 79: 377-383.
- [43] Ekasit Onsaard, Manee Vittayanont, Sukoncheun Srigam,§ And D. Julian McClements. 2005. Properties and Stability of Oil-in-Water Emulsions Stabilized by Coconut Skim Milk Proteins., Affairs and a Grant-in-Aid for Dissertation from the Graduate School, Prince of Songkla University, Thailand. JF050312R.
- [44] Lee, W. & Lucey, J. 2010. Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Aust. Journal of Animal Science*, 23, 1127-1136.
- [45] Walstra, P., Walstra, P., Wouters, J.T. and Geurts, T.J., 2005. *Dairy science and technology*. CRC press.
- [46] Lee, W. & Lucey, J. 2004. Structure and physical properties of yogurt gels: Effect of inoculation rate and incubation temperature. *Journal of dairy science*, 87, 3153-3164.
- [23] Rao, J. and McClements, D.J., 2011. Formation of flavor oil microemulsions, nanoemulsions and emulsions: influence of composition and preparation method. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(9), pp.5026-5035.
- [24] Ralph, E. 1992. The technology of dairy products. Glasgow, Blackie, New York, VCH Publishers.
- [25] Iranian national standard. 1376. Milk and milk product – Determination of titrable acidity and value pH- Test method, No. 2852, the first revision.
- [26] Yousef, A. E. & Rusli, M. 1995. Modification of starter culture for production of calcium fortified yoghurt. *The Ohio State University. Columbus. OH*. 30(4)
- [27] Fiszman, S., Lluch, M. & Salvador, A. 1999. Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. *International Dairy Journal*, 9, 895-901.
- [28] Bhullar, Y., Uddin, M. & Shah, N. 2002. Effects of ingredients supplementation on textural characteristics and microstructure of yoghurt. *Milchwissenschaft*, 57, 329-332.
- [29] Kucukcetin, A. 2008. Effect of heat treatment and casein to whey protein ratio of skim milk on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Food research international*, 41, 165-171.
- [30] Haque, A., Richardson, R. & Morris, E. 2001. Effect of fermentation temperature on the rheology of set and stirred yogurt. *Food Hydrocolloids*, 15, 593-602.
- [31] Montgomery, D. C. 2008. *Design and analysis of experiments*, John Wiley & Sons.
- [32] McClements DJ. 2005. Food emulsions: Principles, Practice, and Techniques. 2nd Edition. Boca Raton: CRC Press.
- [33] Sun, C., Gunasekaran, S. and Richards, M.P. 2007. Effec of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsion. *Food Hydrocolloids*, 21: 555-564
- [34] Anton M., Beaumal V., Brossard C., Llamas G. and le Denmat M., 2002, Droplet flocculation and pHysicalstability of oil-in-water emulsions prepared with hen egg yolk, Food emulsions and dispersions, Ed.Anton M., Research Signpost, Kerala.
- [35] Tadros, Tharwat, P. Izquierdo, J. Esquena, C. Solans. 2004. Formation and stability of Nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science*, 108 –109: 303-318

- Scientific grounds, technology, manufacture and preparations.*
- [53] Lucey, J. A. 2001. The relationship between rheological parameters and whey separation in milk gels. *Food Hydrocolloids*, 15: 603-608.
- [54] Lucey, J. A. 2002. Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*, 85: 281-294.
- [55] Boeneke, C. & Aryana, K. 2008. Effect of folic acid fortification on the characteristics of lemon yogurt. *LWT-Food Science and Technology*, 41, 1335-1343.
- [56] Temiz, H., Taraklı, Z. & Islam, A. 2014. Effect of cherry laurel marmalade on physicochemical and sensorial characteristics of the stirred yogurt during storage time. *stress*, 5, 7.
- [57] Bringe, N. A. & Kinsella, J. E. 1991. Effects of cations and anions on the rate of the acidic coagulation of casein micelles: the possible roles of different forces. *Journal of dairy research*, 58, 195-209.
- [47] Küçükçetin, A. 2008. Influence of different incubation temperatures on graininess and roughness of stirred yoghurt. *Journal of Food Physics*, 54-58.
- [48] Serra, M., Trujillo, A., Guamis, B. & Ferragut, V. 2009. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food hydrocolloids*, 23, 82-91.
- [49] Sahan, N., Yasar, K., Hayaloglu, A. A. 2008. Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22: 1291-1297.
- [50] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., J. Rahimi. 2008. Whey Protein Concentrate and Gum Tragacanth as Fat Replacers in Nonfat Yogurt: Chemical, Physical, and Microstructural Properties. *J. Dairy Sci*, 91: 2545-2552.
- [51] Tamime, A. Y. and Robinson, R. K. 1999. Yogurt science and Technology. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press Uc.
- [52] Rasic, J. L. & Kurmann, J. A. 1978. Yoghurt. Scientific grounds, technology, manufacture and preparations. *Yoghurt*.

The effect of Nano-emulsion mint essence produced with *Ocimum Basilicom* Gum on characteristics of low-fat stirred yogurt

Yazdinezhad, M.¹, Ghorbani Hasan-Saraei, A.^{2*}, Shahram Naghizadeh Raeisi²

1. M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

2. Department of Food Science and Technology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran

(Received: 2018/01/22 Accepted:2018/04/11)

Nanoemulsions fabricated from food-grade ingredients are being increasingly utilized in the food industry to encapsulate, protect, and deliver lipophilic functional components, such as biologically-active lipids (e.g., ω -3 fatty acids, conjugated linoleic acid) and oil-soluble flavors, vitamins, preservatives, and nutraceuticals. The aim of the present study was to determine the effect of Nano-emulsion mint essence produced with *Ocimum Basilicom* Gum on textural and chemical properties of stirred yogurt. In this research yoghurt prepared by addition of Nano-emulsion mint essence produced with *Ocimum Basilicom* Gum at four levels (0, 1, 3 & 5%). Structural and physicochemical characteristics were carried out after 1, 7 and 14 days storage at 4-5 °C. Experiments were carried out in three replicates and a completely randomized factorial design was used for statistical analysis. Viscosity and physicochemical measurements (incubation time, acidity, syneresis and complex viscosity) showed that Nano-emulsion mint essence make significant differences ($P<0.05$) in most characteristics that means Nano-emulsion mint essence can be used in yoghurt. Based on the obtained results it seems that enrichment of yoghurt by Nano-emulsion mint essence can be easily done without changes in rheological and physicochemical properties.

Keywords: Nano-emulsion, Yoghurt, Basil seed gum, Mint essence.

* Corresponding Author E-Mail Address: azade380@yahoo.com