مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

ارزیابی اثر ضدمیکروبی نانو ذرات بر افزایش انبارمانی دوغ

نسیم پاسدار[۱]، علی مرتضوی[۲*]، محمدرضا سعیدی اصل[۳]، رضا صفری[٤]

۱- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

۲-گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

دانشگاه فردوسی مشهد، گروه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران.

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

٤- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

پژوهشکده اکولوژی دریای خزر، موسسه تحقیقات علوم شیلاتی کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/ ۱۰/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰۷/۱۸

کلمات کلیدی:

نانوذرات،

اشرشیاکلی O157:H7،

اولتراسوند،

دوغ،

عصاره،

ماندگاری.

DOI: 10.52547/fsct.18.120.23

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1

* مسئول مکاتبات:

morteza1937@yahoo.com

چکیده

عصاره گیاه نعناع فلفلی حاوی ترکیبات فنولی، فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی بالایی می‌باشد. به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌های مولد فساد از این عصاره به عنوان یک عامل نسبتا" قوی ضد میکروبی استفاده می‌شود. یکی از راهکارهای مناسب در جهت رفع محدودیت های استفاده از عصاره ها و اسانس‌های غنی از ترکیبات فنولی، ریزپوشانی است. هدف از این تحقیق تهیه نانوذرات از عصاره استخراج شده نعناع فلفلی توسط اولتراسوند و بررسی اثرات ضدمیکروبی نانوذره در دوره ماندگاری دوغ می باشد. موارد مورد بررسی شامل متداستخراج عصاره ها، متد تهیه نانوذرات، بررسی سایز ذرات، خواص فیزیکی، آماده سازی دوغ و بررسی پارامترهای شیمیایی و میکروبی شامل اثر نانوعصاره براشرشیاکلی 0157:H7 و بررسی خواص حسی دوغ می باشد .کلیهآنالیزهای آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد.آزمایش به صورت فاکتوریل بود که فاکتورT (متغیردمای نگهداری)در ۳ سطح (٤،۱۹ و ۳۵ درجه سانتیگراد)و متغیر زمان نگهداری (Z) در ۳ سطح (زمان صفر و روزهای ۲۲ ام و ٤۵ ام نگهداری) کلیه نتایج با سه تکرار انجام شده است.نتایج حاکی از ان است که با افزایش دما رشد باکتری اشرشیاکلی افزایش می یابد(p ≤۰/۰۵). تمامی اثرات متقابل دو جانبه بر تعداد باکتری اشرشیاکلی در دوغ معنی دار بودند (p<۰/۰۱). با افزایش زمان نگهداری رشد باکتری اشرشیا روند کاهشی داشته است رشد باکتری اشرشیاکلی در طی زمان نگهداری در نمونه های عصاره های نانوکپسول شده، بطور معنی دار کمتر از نمونه های شاهد بود(p ≤۰/۰۵). نانوعصاره ها با آزادسازی تدریجی ترکیبات فنلی در طول زمان اثربازدارندگی برای میکروارگانیسم ها دارند. اثر دما و زمان نگهداری برآزاد سازی ترکیبات فنلی معنی دار بودند (p<۰/۰۱). همچنین تمامی اثرات متقابل دو جانبه (دما و زمان، زمان و نوع عصاره، نوع عصاره، دما) برآزادسازی ترکیبات فنلی معنی دار بودند (p<۰/۰۱). نتایج تست حسی نشان می دهد نمونه های نانو عصاره بیشترین امتیاز را داشتند.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]

[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

۱- مقدمه

در سال‌های اخیر عصاره‌های گیاهی به عنوان عوامل ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. ویژگی‌های ضداکسایشی و ضدمیکروبی عصاره‌ها به حضور متابولیت‌های ثانویه از جمله ترکیبات فنولی نسبت داده شده است. ترکیبات فنولی از متابو لیت‌های ثانویه بوده و دارای اثرات زیستی فراوانی از جمله فعالیت‌های ضداکسایشی، ضدالتهابی، ضدمیکروبی و ضدویروسی می‌باشند[۱]. در کنار فواید فراوان عصاره‌های حاوی ترکیبات فنولی، استفاده از آنها با محدودیت‌هایی همراه است. ترکیبات فنولی مسئول برخی ویژگی‌های حسی مرتبط با کیفیت مواد غذایی گیاهی می‌باشند که از آن جمله می‌توان به تأثیر آنها در رنگ و طعم مواد غذایی اشاره کرد. از آن جا که فنول‌ها مولکول‌های فعالی می‌باشند، به سرعت با سایر فنول‌ها و یا دیگر ترکیبات موجود در مواد غذایی واکنش می‌دهند و رنگدانه‌های پلیمری ایجاد می‌کنند[۲] .تلخی و گسی دو ویژگی حسی دیگر می‌باشند که به واسطه حضور ترکیبات فنولی موجود در مواد غذایی در دهان احساس می‌شوند[۳].علاوه بر این، مانند همه ترکیبات فعال زیستی، هنگامی که عوامل ضدمیکروبی از جمله ترکیبات فنولی داخل یک سامانه غذایی قرار می‌گیرند، اثرات منفی بر پایداری و یکپارچگی شیمی مواد غذایی می‌گذارند. علاوه بر این، کارایی غذا، داروها از جمله ترکیبات فنولی در پیشگیری از بیماری‌ها بستگی به قابلیت دسترسی زیستی این ترکیبات دارد. این موضوع چالش بزرگی است چرا که فقط بخش کوچکی از ترکیبات فنولی به دلیل زمان کوتاه اقامت در معده، نفوذپذیری پایین و حلالیت کم در روده و نیز عدم پایداری تحت شرایط حاکم بر عملیات نگهداری و انبارمانی محصول غذایی (حرارت‌دهی، PH اسیدی، نور و اکسیژن) یا دستگاه گوارشی (pH اسیدی، آنزیم‌ها، حضور سایر مواد مغذی) در دسترس باقی می‌مانند .در نتیجه، نیاز به استفاده از غلظت‌های بسیار بالا برای جلوگیری از رشد میکروبی و بروز فعالیت آنتی‌اکسیدانی است. [۱].یکی از راهکارهای مناسب در جهت رفع محدودیت های استفاده از عصاره ها و اسانس‌های غنی از ترکیبات فنولی، ریزپوشانی است. گیاه نعناع فلفلی گستردگی زیادی در کشور ایران دارند. با این حال استفاده مناسبی از گیاه آنها به عنوان ترکیبات ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی نمی‌شود و بیشتر به جنبه طعم دهندگی آنها در صنایع غذایی اهمیت داده می شود. عصاره نعناع فلفلی حاوی ترکیبات فنولی، فعالیت ضداکسایشی و ضدمیکروبی بالایی می‌باشد. به منظور جلوگیری از رشد باکتری‌ها و قارچ‌های مولد فساد از این عصاره به عنوان یک عامل نسبتا" قوی ضد میکروبی استفاده می‌شود[٤]. با این حال تاکنون پژوهشی در زمینه کاربرد عصاره نعناع فلفلی به صورت ریزپوشانی‌شده جهت افزایش ماندگاری محصولات لبنی از جمله دوغ صورت نگرفته است. از طرفی، دوغ یک منبع پروتئینی ارزشمند و محصول تخمیری حاوی میکروارگانسیم های مفید بوده است.دوغ به علت PH پایین و غنی بودن از مواد مغذی، به خصوص در دمای محیط مستعد آلودکی با کپک و مخمره و بعضی از باکتری ها است که سبب افت کیفیت دوغ و کاهش زمان ماندگاری آن می شود. این موضوع به عنوان یک چالش مهم در صنعت لبنیات مطرح است. متاسفانه کارخانجات صنعتی جهت افزایش ماندگاری از نگهدارنده های شیمیایی و سنتزی استفاده می کنند که اثرات سویی دارد. از این رو، در این پژوهش اثر عصاره ریزپوشانی شده نعناع فلفلی بر دوغ گرمادیده بدون گاز بررسی شده است. بنابراین علاوه بر فواید عصاره های مذکور و مزایای ریزپوشانی، به دلیل استفاده از نگهدارنده‌های مصنوعی در فرمولاسیون و اثرات نامطلوب آنها بر سلامتی، انجام این پژوهش در جهت کاهش مصرف نگهدارنده‌های مصنوعی و افزایش ایمنی غذایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش ها

۲-۱-مواد

مواد مورد نیاز شامل گیاه مرزه، گیاه نعناع فلفلی، ترپیتیک سوی براث، سرم فیزیولوژی ،استوک لیوفیلیزه E.coli o157:H7، استارتر استاتر لاکتوباسیلوس بولگاریکوس واستریتوکوکوس ترموفیلوس از شرکت کریستین هانسن،n -هگزان، ایزوپروپانل، بتاسیکلودکسترین، اسیدگالیک، معرف فولین سیتوکالتو استفاده شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

۲-۲-آماده سازی و تهیه عصاره

گیاه نعناع فلفلی از منطقه مازندران تهیه شده و پس از جداسازی ساقه و خشک کردن و عصاره گیری با اتانول ۷۰ درصد و اولتراسونیک، به نسبت ۱ به ۱۰ نعناع با آب مخلوط شده، با دستگاه اولتراسوند در فرکانس ۱۰ کیلو هرتز به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤٥ درجه سونیکه شد. برای کلیه نمونه ها زمان و شدت اعمال امواج فراصوت به عنوان کمیت های ثابت در نظر گرفته شد سپس مخلوط تهیه شده با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۱ صاف شد و با استفاده از دستگاه روتاری تغلیظ شده و سپس در آون تحت خلاء آون خشک گردید[۵]

۲-۳-تهیه فرم کپسوله نعناع فلفلی

ابتدا سوسپانسیونی از عصاره نعناع فلفلی تهیه شد. پس از آن عصاره با دیواره مورد استفاده که در این تحقیق بتاسیکلودکسترین بوده است به نسبت ٤ به ۱ ترکیب شده و سوسپانسیون بتاسیکلو- عصاره تهیه شد. پس از شیک کردن هر یک از مخلوط های تهیه شده، مخلوط واحد از آنها تهیه شده و برای مدت ٤٥ دقیقه مجددا شیک گردیدند. . بعد از این مرحله از اولتراسوند جهت سونیکه کردن مخلوط تهیه شده با فرکانس ۱۰ کیلو هرتز و زمان ۵ دقیقه استفاده گردید. برای کلیه نمونه ها زمان و شدت اعمال امواج فراصوت به عنوان کمیت های ثابت در نظر گرفته شد. مخلوط های به دست آمده بلافاصله بعد از نیم ساعت هم خوردن با همزن مغناطیسی، با اولتراتورکس Ultra- Turrax) (IKA T25 در سرعت 12000 دور در دقیقه هریک به مدت ۵ دقیقه هموژنیزه شدند. مرحله نهایی با استفاده از فریزدرایر عمل انکپسوله کردن تکمیل گردید. سپس پودرهای خشک شده با هاون چینی نرم شده و در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا تا زمان مصرف در جای خشک و خنک نگهداری شدند.

۲-٤-بررسی خواص فیزیکی نانوذرات

۲-٤-۱-تعیین محتوای رطوبت پودرها:

محتوای رطوبت پودرها به روش وزنی توسط خشک کردن در آون تحت دمای ۱۰۲ درجه سانتیگراد تا رسیدن به وزن ثابت انجام می شود. سپس طبق معادله (۱) رطوبت پودر ها بدست میاید:

معادله۱

درصد رطوبت= M_1-M_2/وزن نمونه اولیه × ۱۰۰

۲-٤-۲-راندمان ریزپوشانی عصاره سطحی

۸ میلی لیتر هگزان به ۱ گرم پودر اضافه شده و با شیکر به مدت ۲ دقیقه همزده می شود و سپس سانتریفوژ می شود. محلول حاصل صاف شده و پس از تبخیر حلال ، عصاره در همین دما تا رسیدن به وزن ثابت خشک می شود..

تعیین عصاره کل: ۱۰ میلی لیتر آب مقطر ۵۰ درجه سانتیگراد به ۰/۵ گرم پودر اضافه شده و برای ۲ دقیقه با شیکر کاملا" همزده میشود، سپس مخلوط (ایزوپروپانل/هگزان) به نسبت (۳:۱) به آن اضافه شده و به مدت ۵ دقیقه با شیکر همزده می شود و پس از سانتریفوژ، فاز آلی(شفاف) صاف گردیده و محلول صاف شده روی بن ماری حلال آن تبخیر شده و تا رسیدن به وزن ثابت این عمل ادامه می یابد[٦].

درصد راندمان ریزوشانی =عصاره کل − عصاره سطحی / عصاره کل ×۱۰۰

۲-٤-۳-فعالیت آبی

فعالیت آبی پودر انکپسوله شده بلافاصله پس از تولید و پس از رسیدن دمای پودر به دمای اتاق، به کمک دستگاه سنجش فعالیت آبی، با دمای ۰/۱±°C ۲۵ در کلیه آزمون ها اندازه گیری می شود.

۲-٤-٤-حلالیت

یک گرم پودر ریز پوشانی شده را به ۱۰۰ میلی لیتر آب اضافه کرده و پس از آن با کمک همزن مغناطیسی هم زده و سپس سانتریفیوژ کرده و و مایع سطحی را جدا می کنیم و ۲۵ میلی لیتر از آن را در آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ ساعت خشک می کنیم درصد حلالیت با استفاده از تفاوت وزن ها محاسبه می شود [۷]

۲-٤-۵ - تعیین اندازه قطر ذرات

اندازه قطرات امولسیون توسط دستگاه Particle Sizer (مدل PMX 200C ساخت شرکت Particle Metrix کشور آلمان) مورد مطالعه قرار گرفت.کلیه اندازه گیری ها پس از تهیه پودر با ۳ بار تکرار انجام شد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

۲-۵-آماده سازی و تولید دوغ بدون گاز

نمونه ی شیر مورد نیاز با میزان اسیدیته حداکثر ۱۵ درجه درنیک صاف و چربی آن تنظیم گردید. سپس در دمای ۹۲-۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه و هموژنیزه شده و بلافاصله تا دمای ٤٥-٤٠ درجه سانتیگراد سرد و عمل استارتر زنی انجام گردید. پس از حدود ٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای حدود ٤٢ درجه سانتیگراد، تخمیر کامل و تولید ماست و رسیدن به pH=4.4 عمل سردکردن انجام شد. پس از آن محصول به تانکهای حاوی همزن منتقل و سایر مواد از جمله (آباستریل، نمک و نانو نعناع) به مخلوط افزوده شد. سپس، عمل همزدن، صورت گرفت.

در انتها، دوغ حاصل در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد پاستوریزه شده و با دمای خروجی ۲۵ درجه توسط دستگاههای پرکن در ظروف استریلپت یک و نیم لیتری دربندی گردید سپس تا زمان مصرف در یخچال نگهداری گردید.

۲-٦- آزمون شیمیایی

۲-٦-۱- شامل درصد ماده خشک و ماده خشک بدون چربی که طبق استاندارد شماره ٦٣٧ انجام شده است.

۲-٦-۲- Ph و اسیدیته مطابق با استاندارد شماره۲۸۵۲ انجام شده است.[۸]

۲-٦-۳- کلرید سدیم طبق استاندارد شماره (٦٩٤) انجام شده است[۹].

۲-٦-٤- چربی طبق استاندارد شماره (۳۸٤) انجام شده است.[۱۰]

۲-٦-۷- پروتئین طبق استاندارد شماره (٦٣٩) انجام شده است.

۲-۷-آزمون های میکروبی

۲-۷-۱- تلقیح اشرشیاکلی و بررسی رفتار این میکروارگانیسم در طول زمان

سویه استاندارد و لیوفیلیزه باکتری *Eshershia Coli O157:H7* از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه شد. آمپول های لیوفیلیزه ابتدا در شرایط استریل باز شده، سپس به محیط کشت مایع (Tryptic soy broth) TSB انتقال یافته و به مدت ٢٤ ساعت در ۳۵ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. محیط کشت حاوی باکتری به مدت ۱۵ دقیقه با دور (g ×۵۰۰۰) سانتریفیوژ و مایع رویی با محلول رینگر جایگزین گردید. به منظور جداسازی کامل محیط کشت از باکتری های محلول حاصل دوباره به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. تعداد باکتری ها در مایع زیرین توسط روش کدورت سنجی در طول موج ۵۷۰ نانومتر به دست آمد؛ به طوری که جذب نوری ۰/۰۸ تا ۰/۱ تقریبا معادل ۱×۱۰^{۸} باکتری در هر میلی لیتر در نظر گرفته شد. به منظور دستیابی به این محدوده جذب نوری، رقیق سازی با رینگر استریل صورت می گرفت و به منظور تایید نتایج، شمارشباکتریایی به روش کشت سطحی روی محیط ECC (٢٤ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد) انجام پذیرفت. در پایان به همه نمونه های دوغ شامل (دوغ نانونعناع فلفلی و دوغ های شاهد با عصاره آزاد (نعناع) تعداد۱×۱۰^{۳} عدد باکتری در سانتی متر مربع اضافه شد[۱۲,۱۱].

سپس نمونه ها جهت اطمینان از اختلاط کامل باکتری با دوغ ها تکان داده شد. در نهایت رفتار باکتری در زمان های مختلف در حضور تیمار بررسی شد. تیمارها طی نگهداری در یخچال در دمای ٤ درجه سانتیگراد،در انکوباتور در دمای ۱۹ و ۳۵ درجه سانتی گراد در روزهای (صفر،۲۲و ٤٥ روز) مورد ارزیابی میکروبی (تعداد کل باکتری اشرشیاکلی O157:H7) قرار گرفتند.. برای شمارش باکتری از محیط کشت Ecc (کروم اگار) که Ecoli در ان آبی می باشد استفاده می شود.

۲-۸-ارزیابی حسی

این ارزیابی توسط تیم سنسوری آموزش دیده بر روی ۱۰۰ نفر ارزیاب داوطلب انجام شد. این آزمون شامل مقایسه طعم میان سه دمای نگهداری (٤-۱۹-۳۵) و مقایسه دوغ با نانو عصاره و دوغ با عصاره آزاد(فرم نانو نشده) صورت گرفت. عصاره ها به میزان ۰,۵٪ درصد به ۱۰۰ میلی لیتر دوغ اضافه شدند. سپس نمونه ها کد گذاری شدند.(کد M۱ ، کد M۲، کد M۳ ، کد M٤، کد M۵، کد M٦، کد M۷، کد M۸،کدM۹).ارزیاب ها نیز با کد ۱ تا ۱۰۰ ،کدبندی شدند. از ارزیاب ها خواسته شد تا دوغ ها را از نظر ویژگی های طعم و مزه، پس طعم، بافت، احساس دهانی، غلظت و رنگ نوشیدنی با استفاده از درجه بندی کیفی ۵ امتیازی (روش رتبه بندی) مطابق با جدول (۳-۳) امتیاز دهی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

نمایند برای بهترین کیفیت عدد ۱ و برای کمترین کیفیت عدد ۵ در نظر گرفته شد. نتایج بر اساس آنالیز واریانس داده ها و با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن جهت مقایسه میانگین ها در سطح ۵ درصد تجزیه و تحلیل شد.

۲-۹-طرح آماری

به منظور آنالیز داده های حاصل از آزمایش، جهت آنالیز های آماری از نرم افزار SPSS ورژن ۲۲ استفاده گردید. آنالیزهای انجام شده شامل تجزیه واریانس و مقایسه میانگین، انواع تجزیه تحلیل های سری های زمانی ،انواع مدل های خطی و غیر خطی ،روش های چند متغیره و انواع تحلیل های نموداری این پژوهش به کمک این نرم افزار انجام گردید. به طور کل به کمک این نرم افزار نتایج مورد تجزیه و تحلیل توصیفی و تحلیلی قرار گرفتند.

۳-نتایج و بحث

۳-۱- تایید شکل ریز پوشانی شده عصاره نعناع فلفلی

۳-۱-۱-تعیین اندازه ذرات توسط دستگاه تعیین کننده اندازه ذرات (Particle Size Analysis)

در مطالعه حاضر متوسط اندازه ذرات ریز پوشانی شده عصاره نعناع فلفلی توسط دستگاه تعیین کننده اندازه ذرات (Particle Size Analysis) تعیین شد. بر اساس نتایج به دست آمده متوسط اندازه ذرات ریز پوشانی شده به ترتیب 90.60 نانومتر و تراکم اندازه ذرات نیز 76.10٪ می‌باشد.

Table 1 Particle Size Determination

Size (d.nm)	Intensity(%)	Samples
90.60±.30	76.10±.10	Nano Peppermint

۳-۲-فعالیت آبی

فعالیت آبی برای نمونه های نانونعناع ۰,۲۳۵ می باشد. فعالیت آبی فاکتور مهمی برای کنترل دوره ماندگاری پودر ها می باشد. تمام میکروارگانیسم ها برای رشد خود به آب (بصورت مایع) نیاز دارند اگر مقدار آب کم بوده یا آب موجود، در دسترس میکروب نباشد رشد آن آهسته یا متوقف خواهد شد[۱۳].

۳-۳-محتوای رطوبت

محتوای رطوبت در نانونعناع ٪۰٦می باشد. کیفیت بعضی از محصولات غذایی مانند پودرها با افزایش رطوبت کاهش میابد و موجب کلوخه ای شدن آنها می شود. کنترل و اندازه گیری رطوبت برای کاهش فساد میکروبی، جلوگیری از دیفراست محصولات منجمد، جلوگیری از کندانس شدن رطوبت و جلوگیری از اکسیداسیون چربیها و رشد میکروارگانیسمها امری ضروری تلقی میشود. پایداری پودرها به محتوای رطوبت و درجه حرارت نگهداری بستگی دارد. طبق نتایج یو و همکاران درسال(۲۰۰۹) افزایش دما درصد رطوبت نمونه ها را با توجه به تاثیری که روی افزایش سرعت انتقال رطوبت از ذرات دارد کاهش میدهد.

۳-٤-بررسی پارامترهای شیمیایی دوغ گرمادیده بدون گاز

Table 2 Chemical parameters of doogh

Chemical properties thermized doogh without gas	Results
Fat	1.5
pH	4.33
Dry matter including fat	6.79
Protein	1.32

۳-۵-حلالیت

میزان حلالیت نانونعناع فلفلی با میزان ۹۷,۳۹ بوده است. روش خشک کردن بر روی حلالیت پودرها تاثیرگذار می باشد.
رزنبرگ و همکاران در سال (2007) نشان دادند که ریزپوشانی عصاره برگ زیتون توسط بتاسیکلودکسترین حلالیت عصاره افزایش می دهد.

۳-٦-بررسی پارامترهای میکروبی دوغ گرمادیده بدون گاز

بررسی باکتری اشرشیاکلی O157:H7

۳-٦-۱-اثر فاکتور دمای نگهداری بر باکتری اشرشیا

با توجه به مقایسه میانگین فاکتور دمای نگهداری برتعداد باکتری اشرشیاکلی (جدول۳)، بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

ای دانکن مشخص گردید که بـا افـزایش دمـای نگهـداری تعـداد باکتری اشرشیاکلی بطور معنی دار افزایش یافت($p \leq$ ۰/۰۵).

Table (3) Compare means of temperature factor on the number of Escherichia coli

Storage temperature °C	Escherichia coli bacterial count (log cfu / ml)
4	2/97 ± 0 / 72c
19	3/25 ± 0 / 40b
35	3/75 ± 0 / 30a

Values with similar letters were not significantly different ($p < 0.05$)

بر اساس رگرسیون خطی معادله زیر بین متغیر دما و تعداد باکتری اشرشیاکلی بدست آمد:

Equation 1 Escherichia coli bacterial count = 0.083 + 2.025; holding temperature (linear regression equation)

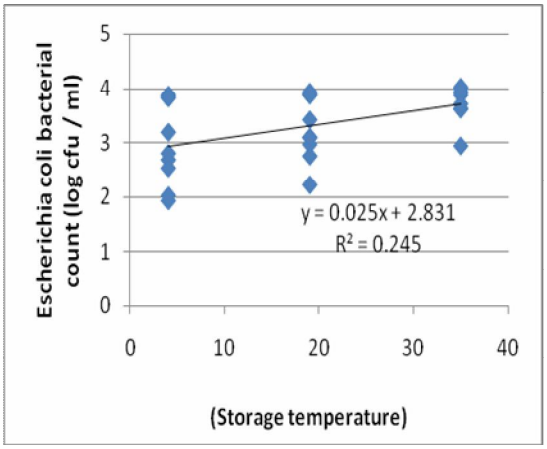

Fig 1 Influence of temperature factor on the number of Escherichia coli

با توجه به جدول ۳ تاثیر متغیر دما بر تعداد باکتری اشرشیاکلی مشاهده میگردد با افزایش دمای نگهداری، تعداد باکتری اشرشیاکلی افزایش یافته است.نتایج بدست آمده حاکی از آن است که در همه تیمارها افزایش دما از ٤ به ۳۵ درجه، رشد باکتری اشرشیاکلی را تقویت کرده است، بهترین دما ٤ درجه می باشد که بیشترین کاهش در آن مشاهده شده است. با توجه به آنکه با افزایش دما به دمای بهینه رشد میکروارگانیسم مذکور نزدیک تر می شویم، لذا بیشترین تعداد باکتری در دمای ۳۵ درجه مشاهده شده است.

با افزایش دما، واکنشهای آنزیمی و شیمیایی درون سلول با سرعت بیشتری انجام شده و رشد سریعتر میشود. در دمای بالاتر از حد معین آسیب غیرقابل جبرانی به اجزای سلولی وارد میگردد. در بالاتر از این نقطه دما، فعالیت سلول به صفر کاهش میابد. دمای مناسب برای بیشتر سویه های E.coli حدود ۳۹ درجه سانتیگراد و دمای حداکثر و حداقل به ترتیب ٤۸ درجه و ۸ درجه سانتیگراد میباشد. بنابراین، محدوده دمایی E.coli حدود ٤۰ درجه میباشد که به بالاترین حد دما در این تحقیق نزدیک بوده است [۱۳]. در مطالعه ایدرسال(۲۰۱۰) اثر تیمول وکارواکرولرابرروبباکتری اشریشیاکلی در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. با افزایش شرایط اسیدی و کاهش دما، رشد باکتری کاهش یافت. دماهای پایین تر موجب افزایش خواص ضدباکتریایی ترکیبات شده است[۱۵].

۳-٦-۲-اثر فاکتور زمان نگهداری بر باکتری اشرشیا

با توجه به مقایسه میانگین فاکتور زمان نگهداری برتعداد باکتری اشرشیاکلی (جدول٤)، بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که با افزایش زمان نگهداری تعداد باکتری اشرشیاکلی بطور معنی دار کاهش یافت($p \leq$ ۰/۰۵).

Table (4) Compare means of shelf life factor on the number of Escherichia coli

Storage time (days)	Escherichia coli bacterial count (log cfu / ml)
0	3/90 ± 0 / 07a
22	3/28 ± 0 / 33b
35	2/76 ± 0 / 61c

Values with similar letters were not significantly different ($p < 0.05$).

بر اساس رگرسیون خطی معادله زیر بین متغیر زمان و تعداد باکتری اشرشیاکلی بدست آمد:

Equation 2 Escherichia coli bacterial count = 0.0893 / 03 = 0.061; storage time (linear regression equation)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

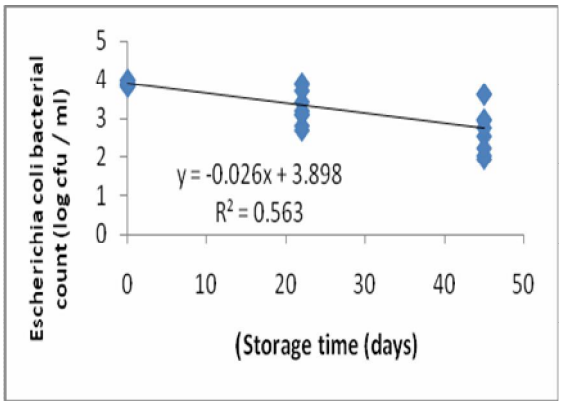

Fig 2 Influence of time factor on the number of Escherichia coli

با توجه به جدول ٤ تاثیر متغیر زمان بر تعداد باکتری اشرشیاکلی مشاهده میگردد. با افزایش زمان نگهداری، تعداد باکتری اشرشیاکلی کاهش یافته است.با افزایش زمان نگهداری در همه نمونه ها از صفر تا آخرین روز ماندگاری که ٤٥ روز بوده است، رشد باکتری اشرشیاکلی در همه دماها به خصوص دمای ٤ درجه روند کاهشی داشته است. کمتر بودن شمارش کلی باکتریها در دمای یخچال امرمنطقی بوده و به اثر بازدارندگی دمای یخچال بر روی باکتری ها مربوط می شود. همچنین کاهش رشد اشرشیاکلی در همه تیمارها در طول زمان ماندگاری نشان دهنده اثر تدریجی نانوکپسول ها و آزادسازی مواد ضدمیکروبی عصاره ها در طول زمان بوده است.روند کاهش در رابطه با نمونه های تیمار شده با نانو نعناع فلفلی به دلیل کنترل آزاد سازی ترکیبات فعال نعناع فلفلی (منتول، منتون و متیل استات، فلاونوییدها، پلی فنول های پلیمریزه شده) می باشد. در نتیجه فرایند نانوکپسولاسیون طی گذشت زمان با آزاد سازی به موقع این ترکیبات اثر ضدمیکروبی این ترکیبات حفظ شده است و سبب کاهش فعالیت باکتری‌های فاسد کننده دوغ و در نتیجه تولید کمتر ترکیبات فرار حاصل از فعالیت آن‌ها در طول زمان نگهداری شده است. نانوکپسول عصاره ها، محتویات خود را به صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد می‌کنند. این تکنولوژی باعث حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در مدت نگهداری، جلوگیری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب و مانع هدر رفتن ارزش تغذیه‌ای محصول می‌شود Barbosa [١٦] و همکاران در سال (٢٠٠٥) با ریزپوشانی بیکسین حاصل از درخت آناتو با صمغ عربی و مالتودکسترین مشاهده کردند که زمان نگهداری پیگمانهای رنگی تا ده برابر افزایش یافت[١٧].

٣-٦-٣-میانگین اثر متقابل دما و زمان بر باکتری اشرشیاکلی

با توجه به مقایسه میانگین اثرمتقابل دما *زمان برتعداد باکتری اشرشیاکلی (جدول ٥)و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که تعدادباکتری اشرشیاکلی در تیمارهای بررسی شده در زمان صفر و دمای نگهداری ٣٥ درجه سانتیگراد بیشترین تعداد بود که با تیمارهای بررسی شده در دمای ٤ و ١٩ درجه سانتیگراد در زمان صفر و اثر متقابل دمای ٣٥ درجه سانتیگراد و روز ٢٢ ام نگهداری تفاوت معنی دار نداشتند ($p \geq$ ٠/٠٥).در روز ٤٥ ام نگهداری و دمای ٤ درجه سانتیگراد کمترین میانگین تعدادباکتری اشرشیاکلی را شاهد بودیم که با سایر بررسی های اثر متقابل زمان * دما تفاوت معنی دار داشتند($p \leq$ ٠/٠٥).

Table 5 Compar Meansof Time Interaction * Temperature on Escherichia coli

Time Interaction * Temperature Escherichia coli (log cfu / ml)	Time Interaction * Temperature Escherichia coli (log cfu / ml)
Time 0 * Temperature 4	3/84 ± 0 / 02a
Time 0 * Temperature 19	3/89 ± 0 / 03a
Time 0 * Temperature 35	3/98 ± 0 / 04a
Time 22 * 4 temperature	2/88 ± 0 / 26cd
Time 22 * Temperature 19	3/19 ± 0 / 18bc
Time 22 * Temperature 35	3/83 ± 0 / 11a
Time 45 * Temperature 4	2/15 ± 0 / 32e
Time 45 * Temperature 19	2/64 ± 0 / 38d
Time 45 * Temperature 35	3/39 ± 0 / 39b

Values with similar letters were not significantly different ($p < 0.05$).

٣-٦-٤-بررسی مقایسه میانگین شمارش باکتری اشرشیاکلی

با توجه به مقایسه میانگین شمارش باکتری اشرشیاکلی و بررسی داده ها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن مشخص گردید که کمترین تعداد باکتری اشرشیاکلی(١/٩٢log cfu/ml) متعلق به تیمار حاوی دوغ ٠/٥ درصد نانومرزه در دمای نگهداری ٤ درجه سانتیگراد در روز ٤٥ ام نگهداری بود که با سایر تیمارها اختلاف

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

معنـــی دار داشـــت ($p \leq ۰/۰۵$). بیـــشترین تعـــداد بـــاکتری اشرشیاکلی(٤/۰۲log cfu/ml) متعلق بـه تیمـار حـاوی دوغ ۰/۵ درصد نانومرزه در دمای نگهداری ۳۵ درجـه سـانتیگراد در زمـان صفر بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت ($p \leq ۰/۰۵$).

۳-٦-۵-بررسی مقایسه میانگین نانو عصاره و شاهد برتعداد باکتری اشرشیاکلی

مقایسه میانگین تیمارهای حـاوی نـانو نعنـاع نمونـه هـای شـاهد برتعداد باکتری اشرشیاکلی و بررسی داده ها با روش آزمـون چنـد دامنه ای دانکن مشخص گردید که رشد باکتری اشرشیاکلیدر طـی زمان نگهداری در نمونه های نانو بطور معنـی دار کمتـر از نمونـه های شاهد بود($p \leq ۰/۰۵$). در بررسی تعـداد بـاکتری اشرشـیاکلی در طی زمان نگهداری در نمونه های شاهد کمترین تعداد بـاکتری اشرشیاکلی (۳/۸۱log cfu/ml) متعلق به تیمـار حـاوی دوغ ۰/۵ درصد عصاره مرزه در دمای نگهداری ٤ درجه سـانتیگراد در روز ٤۵ ام نگهداری بود که با سایر تیمارها اخـتلاف معنـی دار داشـت ($p \leq ۰/۰۵$). بیـــشترین تعـــداد بـــاکتری اشرشـــیاکلی (٤/۱۷log cfu/ml) متعلـق بـه تیمارحـاوی دوغ ۰/۵ درصـد عصاره مرزه در دمای نگهداری ۳۵ درجه سانتیگراد در زمان صـفر بود که با سایر تیمارها اختلاف معنی دار داشت ($p \leq ۰/۰۵$).رشـد بـاکتری اشرشـیاکلی در طـی زمـان نگهـداری در نمونـه هـای نانوعصاره بطور معنی دار کمتر از نمونه های عصاره آزاد (شـاهد) بوده است. نتایج تاثیر ریزپوشانی را بر افزایش عملکرد عصاره هـا نشان می دهد.

ریزپوشانی، فرایندی است که طی آن مواد یا ترکیبات جامد، مایع یا گاز درون کپسول‌هایکوچک پوشانده می‌شوند. طعم نامطبوع بسیاری از ترکیبات فنولی کاربرد آن‌ها را محدود کرده است. استفاده از پلی فنلهای انکپسوله شده به جای ترکیبات آزاد ثابت کرده است که خواص آن‌ها را بهبود می‌بخشد و حتی از ایجاد بوی بد آن‌ها جلوگیری می‌کند[۱]

با توجه به نتایج کامکار و همکاران در سال ۱۳۸۹ بر روی نانو عصاره زیره که حاوی ترکیبات فنلی است. این ترکیبات پلی فنولی خاصیت ضد میکروبی دارند و با فرآیند نانو کپسولاسیون بر طبق نتایج Alishahi و همکاران در سال ۲۰۱۱ مبنی بر حفظ ترکیبات فعال با استفاده از فرآیند نانوکپسولاسیون سبب حفظ بهتر این ترکیبات فعال می‌شود[۱۹].

٤-نتیجه گیری

به طور کلی نتایج نشان می دهد عصاره نانوکپسوله شده نعناع فلفلی به عنوان یک ماده ضد میکروب طبیعی و با توجه به آزاد سازی تدریجی مواد موثره به دلیل کپسوله کردن جهت افزایش زمان ماندگاری دوغ قابل استفاده هستند. عصاره نانوکپسوله شده نسبت به عصاره معمولی توانست روند رشد میکروارگانیسم را بیشتر کاهش دهد. نتایج این تحقیق میتواند گامی در جهت کاهش استفاده از نگهدارنده های سنتتیک و افزایش کاربرد نگهدارنده های طبیعی باشد. همچنین میتواند مورد استفاده صنایع غذایی، سازمانهای نظارت بر مواد غذایی و مؤسسه استاندارد، مؤسسات تحقیقاتی گیاهان دارویی، تحقیقات پزشکی، صنایع تبدیلی کشاورزی و کارشناسان مربوطه، صنایع دارویی و آرایشی -بهداشتی قرارگیرد.

۵-منابع

[1] Fang, Z. and B. Bhandari, Encapsulation of polyphenols – a review. Trends in Food Science & Technology, 2010. 21(10): p. 510-523.

[2] Shoji, T., Polyphenols as Natural Food Pigments: Changes During Food Processing. American Journal of Food Technology, 2007. 2: p. 570-581.

[3] Lesschaeve, I. and A.C. Noble, Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. Am J Clin Nutr, 2005. 81(1 Suppl): p. 330s-335s.

[4] Muliawan, S.Y., et al., Inhibitory potential of Quercus lusitanica extract on dengue virus type 2 replication. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2006. 37 Suppl 3: p. 132-5.

[5] Farahmandfar, R., et al., The Effect of Ajwain (Trachyspermum ammi) Extracted by Ultrasound-Assisted Solvent on Quality Properties of Silver Carp (Hypophthalmichthys molitrix) Surimi Stored at 4C. Journal of Food

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

Processing and Preservation, 2016. 40(2): p. 291-297.
[6] Klaypradit, W. and Y.-W. Huang, Fish oil encapsulation with chitosan using ultrasonic atomizer. LWT - Food Science and Technology, 2008. 41(6): p. 1133-1139.
[7] AOAC, Association of Official Analytical Chemists, in Moisture in Dried Fruits 934.06. 1990.
[8] AOAC, pH of Acidified Foods.
[9] AOAC, Salt (Chlorine as Sodium Chloride) in Seafood in Volumetric Method. 1937.
[10] AOAC, Fat (Total, Saturated, and Unsaturated) in Foods, in Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method. 1990, Association of Official Agricultural Chemists.
[11] Vanden, D.A., Vlietinck, A.J., In Dey, P.M., Harborne,J.B., Methods in plant biochemistry: screening medthods for antibacterial and antiviral agents from higher plants. Academic Press, 1991: p. 47-69.
[12] Das, K., Tiwari, R. K. S., Shrivastava, D. K., Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. Journal of Medicinal Plants Research, 2010. 4(2): p. 104-111.
[13] H.Fatemi, Food Chemistry, ed. 11. 2013: sahami enteshar. 480.
[14] C, H., Microencapsulation solve time depend-ent problems for foodmakers. European Food and Drink, 2002. 3(27-30).
[15] Rivas, L., et al., Inhibition of verocytotoxigenic Escherichia coli in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. International Journal of Food Microbiology, 2010. 139(1): p. 70-78.
[16] Wilson, N.a.S., N.P., Microencapsulation of Vitamins. ASEAN Food Journal, 2007. 14(1): p. 1-14.
[17] Ortega-Rivas, E., P. Juliano, and H. Yan, Food Powders: Physical Properties, Processing, and Functionality. 2006: Springer US.
[18] Basti, A., et al., Effect of Zataria multiflora Boiss. Essential Oil on the Growth of Staphylococcus aureus in a Commercial Barley Soup. Journal of Medicinal Plants, 2007. 2(22): p. 91-98.
[19] Alishahi, A., et al., Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. Food Chemistry, 2011. 126(3): p. 935-940.
[20] Khalili, S.T., et al., Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against Aspergillus flavus. LWT - Food Science and Technology, 2015. 60(1): p. 502-508.
[21] Jay, J.M., Loessner, Martin J., Golden, David A., Modern Food Microbiology. Food Science Texts Series. 2005, University of Nevada, Las Vegas, Las Vegas, United States Institute of Food Science and Nutrition, Zürich, Switzerland University of Tennessee at Knoxville, Knoxville, United States.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluation of Antimicrobial Effect of Nanoparticles on Increasing Doogh Storage

Pasdar, N. [1], Mortazavi, S. A. [2*], Saeidi Asl, M. [3], Safari, R. [4]

1. PhD Studentof Food Science and Technology,Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar,Iran.
2. Professor, Department of Food Science and Technology,Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad.
3. Associate professor, Department of Food Science and Technology,Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
4. Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.
Assistant professor, Caspian Sea Ecology Research Institute.

ARTICIE INFO

Article History:

Received 2019/ 12/ 26
Accepted 2021/ 10/ 10

Keywords:

Nanoparticles,
Ultrasound,
Ecoli O157:H7,
Doogh,
Shelf life.

DOI: 10.52547/fsct.18.120.23

DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1

*Corresponding Author E-Mail:
morteza1937@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of this study was to produce nanoparticles of plant extract such as peppermint in,β-Cyclodextrin by ultrasonication. This study was meant to investigate method of extract, size of the Nano particles, physical properties of Nanoparticles, microbial analysis such as the effect of Nano extract on Ecoli O157:H7 in doogh and sensory test. A randomized complete design (RCD) was used to characterize the factors, Factor T (variable storage temperature) in 3 levels (4,19 and 35 ° C) and a variable storage time (Z) in 3 levels (time and days of the 22,45 and zero maintenance) was investigated. The results represent the means of three replicates. The results showed that with increasing temperature the growth of E. coli will be increase($P \leq 0.05$).All interaction between bilateral interactionson the number of E. coli were significant on Dough($p<0.01$).E. coli bacteria decreased with increasing storage time, Escherichia coli yeast growth during the storage in Nano samples was significantly lower than control samples ($P \leq 0.05$). Nano extracts with gradual release of phenolic compounds over time have inhibitory for micro-organisms. Temperature and storage were significant ($p<0.01$).As well as the interaction between bilateralreleases of phenolic compounds were significant($p<0.01$).And the result of sensory test showed that the Nano extract sample got the highest score.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-04-23]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1400.18.120.19.1]
[DOI: 10.52547/fsct.18.120.23]