

## تأثیر افزودن اسانس آویشن بر برخی ویژگی‌های کیفی و میکروبی حلوا ارده در طی زمان نگهداری

مریم عظیمی<sup>۱</sup>، حمیدرضا اخوان<sup>۲\*</sup>، محسن رادی<sup>۳</sup> و<sup>۴</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

۲- استادیار بخش علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

۴- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۴/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۳۱)

### چکیده

پایداری اکسایشی حلوا ارده با وجود دارا بودن ضداکساینده‌های طبیعی می‌تواند در اثر شرایط نگهداری تحت تأثیر قرار گیرد. استفاده از اسانس آویشن شیرازی (غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد) و ضداکساینده سنتزی BHT و تأثیر آنها بر ویژگی‌های شیمیایی (اسیدیته، عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید)، حسی و میکروبی حلوا ارده در مقایسه با نمونه کنترل در طی ۲ ماه نگهداری در دمای ۴ °C و ۲۵ °C مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در دمای ۴ °C پایداری اکسایشی نمونه‌های حلوا ارده حاوی BHT بیشتر از نمونه‌های دارای اسانس بود، ولی در دمای ۲۵ °C عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک نمونه‌های دارای اسانس آویشن کمتر از نمونه‌های دارای BHT بود. در هر دو دمای نگهداری، فعالیت ضدقارچی اسانس بیشتر از BHT بود. همچنین، ارزیابی‌ها خصوصیات حسی نمونه‌ها را از نظر عطر و بو، طعم و مزه، رنگ، بافت و پذیرش کلی ارزیابی کردند. نتایج نشان داد که به استثنای رنگ، سایر امتیازات حسی نمونه‌ها در طی دوره نگهداری در هر دو دما روندی کاهشی داشتند. کمترین میزان پذیرش به نمونه حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن تعلق گرفت و بین بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. بطورکلی می‌توان بیان کرد افزودن اسانس آویشن به حلوا ارده تا سطح ۰/۰۵ درصد سبب بهبود ویژگی‌های ضداکسایشی و میکروبی نمونه‌ها شده و در راستای تنوع بخشی در حلوا ارده می‌تواند در فرمولاسیون آن مورد استفاده قرار گیرد.

**کلید واژگان:** حلوا ارده، اسانس آویشن، ضداکسایشی، ضد میکروبی.

## ۱- مقدمه

های اخیر، استفاده از گیاهان دارویی به دلیل دارا بودن ترکیبات فنولی و توانایی ضداکسایشی بالای این ترکیبات مورد توجه قرار گرفته است [۱۲]. گزارش شده است بعضی از گیاهان دارویی مقدار زیادی از انواع ضداکساینده های طبیعی مثل اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و تانن ها را در خود دارند [۱۳]. آویشن (*Thymus vulgaris*) یکی از شناخته شده ترین گیاهان دارویی از تیره نعنا است و اسانس آن علاوه بر دارا بودن اثرات ضد میکروبی و ضد اکسایشی بالا، دارای مصارف خوراکی نیز می باشد که نشان دهنده کم بودن اثرات جانبی مصرف آن نسبت به سایر ترکیبات است [۱۴]. با وجود گزارش اثر مهارکنندگی اسانس ها بر رشد برخی از پاتوژن های غذایی، ذکر این نکته لازم است که این پژوهش ها در کشت خالص باکتری انجام شده است و عمل ضد میکروبی اسانس ها در بافت غذایی می تواند بسیار متفاوت باشد و نیاز به مطالعه جداگانه در مواد غذایی دارد. در این پژوهش تأثیر افزودن اسانس آویشن و ضد اکساینده BHT بر برخی ویژگی های کیفی از قبیل اسیدیت، عدد پراکسید و عدد تیوباریتوریک اسید همراه با تأثیر آنها بر رشد میکروبی و حفظ خواص حسی نمونه های حلوا ارده در طی نگهداری به مدت ۶۰ روز در دو دمای °C ۴ و °C ۲۵ مورد بررسی قرار گرفت تا تیماری انتخاب گردد که تأثیر بیشینه در بهبود ویژگی های کیفی حلوا ارده داشته باشد.

## ۲- مواد و روش ها

### ۲-۱- مواد

اسانس آویشن شیرازی از شرکت گل قطره فارس و شیره خرما و ارده تازه از بازار محلی بوشهر تهیه گردید. ضد اکساینده BHT، مواد شیمیایی و محیط های کشت میکروبی مورد استفاده در این پژوهش با درجه تجزیه ای از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

### ۲-۲- آماده سازی حلوا ارده

به منظور تهیه حلوا ارده، ۱۰ کیلوگرم شیره خرما در ظرف مسی دو جداره به مدت ۳ الی ۴ ساعت حرارت داده شده و هم زده می شود تا پس از حذف بخش قالب توجهی از رطوبت به درجه بریکس ۹۳ برسد. در مرحله بعد ۱۰ کیلوگرم ارده به شیره اضافه

حلوا ارده یک فرآورده سنتی در ایران و کشورهای خاورمیانه است که از مخلوط کردن ارده با یک شیرین کننده مناسب نظیر شیره انگور، خرما و عسل بدست می آید. این فرآورده بطور متوسط حاوی ۵۷-۶۵ درصد روغن است که امولسیون روغن در آب حاصله دارای قابلیت پخش شونده گی و مالش پذیری است [۱]. ارده به عنوان یک جزء ضروری در فرمولاسیون های مختلف حلوا ارده، از چرخ کردن دانه های خشک، پوست گیری شده و بو داده کنجد بدست می آید [۲]. بو دادن دانه کنجد، مرحله مهمی در فرآیند تولید حلوا ارده است که می تواند خاصیت ضد اکسایشی دانه را افزایش دهد [۳]. روغن دانه کنجد به علت دارا بودن توکوفرول و ضد اکساینده های فنولی مثل سزامول و سزامولین در برابر اکسایش پایداری بالایی دارد [۴، ۵]، با این وجود محتوای بالای اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در روغن کنجد آن را مستعد اکسایش می نماید [۶]. بنابراین شرایط نگهداری از نظر زمان و دما عاملی می باشد که می تواند اکسایش آن را تسریع یا کند نماید. ضد اکساینده های ترکیباتی هستند که با روش های مختلف از واکنش رادیکال های آزاد (مثل اکسیژن و نیتروژن فعال) با مولکول های زیستی نظیر پروتئین، آمینو اسید، لیپید، DNA جلوگیری کرده و منجر به کاهش آسیب و یا مرگ سلولی، بیماری های قلبی - عروقی و سرطان ها می شوند [۷]. در کنار نقش آن ها در واکنش های زیستی، در مواد غذایی سرشار از چربی های غیر اشباع نیز از کاهش کیفیت تغذیه ای، ایمنی، بدطعمی و بی رنگ شدن جلوگیری می کنند [۸]. امروزه در صنعت از ضد اکساینده های سنتزی مانند TBHQ، BHA و BHT برای به تاخیر انداختن اکسایش روغن ها و چربی ها استفاده می شود، اما به دلیل اثرات بد تغذیه ای و سرطان زا بودن برخی از این ترکیبات و نیز تمایل مصرف کنندگان به استفاده از ترکیبات طبیعی، استفاده از ضد اکساینده های طبیعی مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است. یکی از بهترین منابع ضد اکساینده طبیعی، ترکیبات فنلی موجود در نمونه های گیاهی هستند [۹، ۱۰]. اسانس ها، مایعات روغنی آروماتیک هستند که از مواد گیاهی مانند گل ها، جوانه ها، دانه ها، برگ ها، شاخه ها، پوست درخت، چوب، میوه ها و ریشه ها به دست می آیند [۱۱]. در سال -

## ۲-۵- ارزیابی کیفیت میکروبی نمونه‌های حلوا

### ارده

کیفیت میکروبی نمونه‌های حلوا ارده از نظر *اشریشیاکلی*، *انتروباکتریاسه*، *استافیلوکوکوس کواگولاز* مثبت و *سالمونلا* به ترتیب بر اساس استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۲۹۴۶، ۱-۲۴۶۱، ۳-۶۸۰۸ و ۱۸۱۰ ارزیابی گردید [۲۱].

همچنین برای ارزیابی کپک و مخمر (استاندارد ملی ایران، ۲-۱۰۸۹۹)، با اضافه کردن ۱۰ گرم حلوا ارده به ۹۰ میلی لیتر محلول رینگر، سوسپانسیون اولیه تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون اولیه به پلیت‌های حاوی محیط کشت دی‌کلران گلیسرول آگار منتقل و به صورت خطی کشت داده شد. کلنی‌ها بعد از ۳-۵ روز گرمخانه‌گذاری در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  بر حسب cfu/g شمارش شدند [۲۱].

### ۲-۶- ارزیابی حسی

ارزیابی حسی از نظر رنگ، عطر و بو و پذیرش کلی توسط ۱۰ ارزیاب آموزش دیده (۵ زن و ۵ مرد، با میانگین سنی ۲۰-۵۰ سال)، در اتاقک ارزیابی حسی و بر اساس آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای انجام گرفت. نمونه‌ها با کدهای تصادفی، کدگذاری و در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفتند [۱۵].

### ۲-۷- تجزیه آماری

آزمون‌ها در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت و نتایج آزمایش‌ها به صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد بیان گردید. آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین نمونه‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ( $\alpha = 0/05$ ) با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت.

## ۳- نتایج و بحث

### ۳-۱- ارزیابی اسیدیته نمونه‌ها در طی نگهداری

هیدرولیز چربی نه تنها توسط آنزیم‌های غذایی بلکه توسط آنزیم‌های میکروبی نیز انجام می‌گیرد. بنابراین، اندازه‌گیری اسیدیته به عنوان شاخص فساد شیمیایی و میکروبی در نظر گرفته می‌شود و سطح آن بستگی به تازگی چربی و هیدرولیز چربی در نمونه دارد. به طوری که اسیدهای چرب آزاد شاخص مهمی در

و پس از خنک شدن به مدت ۱۵ دقیقه هم زده شد. بر اساس مطالعه‌های انجام گرفته در مورد افزودن اسانس به کیک [۱۵-۱۹] و کلمپه کرمانی [۲۰] سطوح افزودن اسانس بین ۰-۰/۲ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و در نهایت بر اساس ارزیابی حسی اولیه، اسانس آویشن (۰/۰۵ و ۰/۱ درصد) و ضداساینده BHT (۰/۰۱ درصد) در شرایط سترون (در اتاق کشت میکروبی) به حلوا ارده اضافه و همگن گردید. جهت اطمینان از همگن شدن بهتر اسانس و ضداساینده در حلوا ارده، سطوح مورد نظر این ترکیبات در بخشی از روغن جدا شده از ارده حل شده و به مخلوط نهایی اضافه شده و مخلوط گردید. سپس نمونه‌ها درون پوششی از جنس پلی اتیلن با دوخت حرارتی قرار گرفت و جهت جلوگیری از تاثیر نور بر آنها فویل آلومینیوم در اطراف بسته‌ها پیچیده شد. سپس نمونه‌ها در یخچال با دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و در انکوباتور با دمای  $25^{\circ}\text{C}$  نگهداری شدند تا در طی نگهداری به مدت ۶۰ روز آزمون‌های شیمیایی و میکروبی در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ و ارزیابی حسی در روزهای ۱، ۳۰ و ۶۰ انجام گیرد.

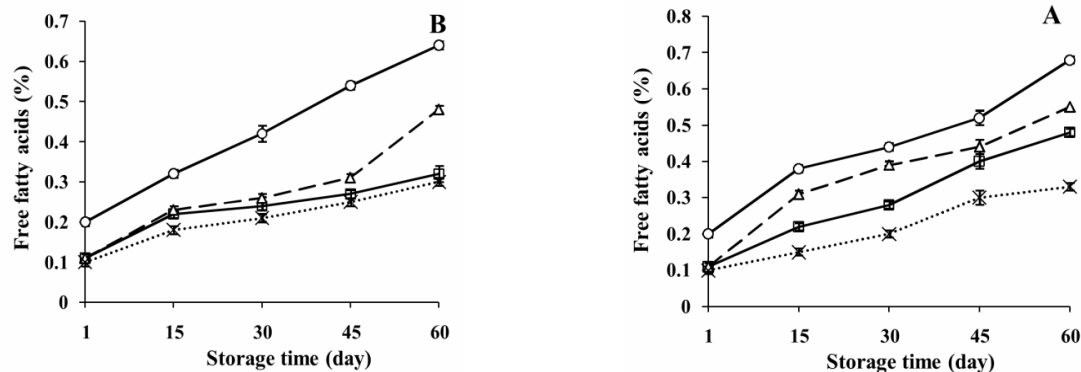
### ۲-۳- استخراج روغن حلوا ارده

برای این منظور نمونه حلوا ارده همگن شده و چربی موجود در ۵۰ گرم از آن با حلال هگزان بر اساس روش پیشنهادی استاندارد ملی ایران (شماره ۱۰۴۹۴) استخراج گردید. حلال موجود در روغن با استفاده از دستگاه تخییرکننده دوار تحت خلا (مدل BIBBY، انگلیس) در دمای  $70^{\circ}\text{C}$  جدا شد. روغن استخراج شده پس از توزین برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفت [۲۱].

### ۲-۴- آنالیز شیمیایی

طی دوره نگهداری و در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ شاخص‌های اسیدیته، عدد پراکسید و عدد تیوباربیتوریک اسید روغن استخراج شده از حلوا ارده به ترتیب بر اساس استانداردهای ملی ایران به شماره‌های ۲۴۶۲، ۳۷ و ۱۰۴۹۴ اندازه‌گیری شد [۲۱].

نگهداری شده به مدت ۶۰ روز در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و  $25^{\circ}\text{C}$  در شکل ۱ نشان داده شده است.



**Fig 1** Free fatty acid variation in Halwa-Ardeh samples containing BHT and thyme essential oils during storage at  $4^{\circ}\text{C}$  (A) and  $25^{\circ}\text{C}$  (B) for 60 days (control ( $\circ$ ); BHT ( $\square$ ); 0.05% ( $\Delta$ ) and 0.1% ( $\times$ ) thyme essential oils). Error bars represent standard deviation between replicates ( $n = 3$ ).

بردن اسانس رشد کپک مهار شده و یا فعالیت آنزیم های آبکافتی کاهش یابد، در نتیجه روند افزایشی اسیدیت در نمونه های حاوی اسانس کند خواهد شد [۱۶، ۲۴]. البته در پژوهش حاضر تا روز ۴۵ در هر دو دمای نگهداری، همبستگی مناسبی بین رشد میکروبی و اسیدیت در نمونه های حاوی اسانس مشاهده نشد، اما در روز ۶۰ نگهداری همبستگی بیشتری مشاهده گردید. با توجه به اینکه شمارش میکروبی در نمونه های حاوی اسانس در طی دوره نگهداری کمتر از یک سیکل لگاریتمی است، عدم همبستگی نتایج اسیدیت و رشد میکروبی ممکن است در ارتباط با خطای ذاتی آزمون های میکروبی در شمارش جمعیت کم میکروارگانیسم ها باشد. مقدار اندک اسانس و احتمال همگن نبودن کامل آن در زمان نمونه برداری عامل دیگری است که توجه کننده این تفاوت و نوسان ها می باشد.

### ۳-۲- ارزیابی اندیس پراکسید و تیوباریتوریک اسید نمونه های حلوا ارده

اندیس پراکسید به طور کلی به عنوان یک شاخص برای نشان دادن توسعه اکسایش در روغن ها، چربی ها و غذاهای چرب استفاده می شود [۲۲]. با توجه به شکل ۲، عدد پراکسید نمونه های حلوا ارده در طی ۶۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و  $25^{\circ}\text{C}$ ، در مقایسه با روز اول نگهداری به صورت معنی داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). در مورد نمونه کنترل نیز این افزایش قابل توجه و

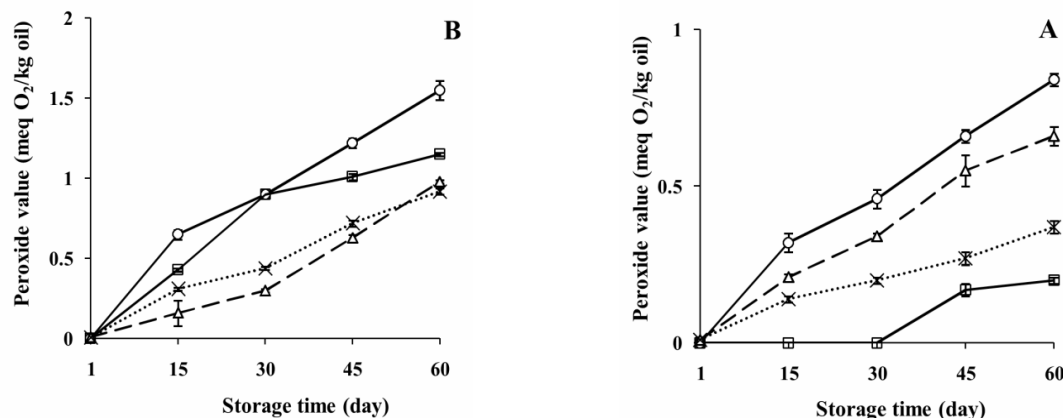
فساد ماده غذایی به حساب می آید [۲۲]. روند تغییر اسیدهای چرب آزاد (بر حسب اسید اولئیک) در نمونه های حلوا ارده

در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بالاترین مقدار اسیدیت (۰/۶۸ درصد) به نمونه کنترل و کمترین اسیدیت (۰/۳۳ درصد) به نمونه حلوا ارده دارای اسانس آویشن ۰/۱ درصد تعلق گرفت. نتایج نشان داد که مقدار اسیدیت نمونه های حلوا ارده حاوی اسانس آویشن کمتر از نمونه های حلوا ارده حاوی BHT بود و تفاوت معنی داری بین آن ها وجود داشت. بعد از ۶۰ روز نگهداری در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  نمونه حاوی اسانس آویشن ۰/۱ درصد کمترین مقدار اسیدیت (۰/۳۰ درصد) و نمونه کنترل بیشترین مقدار اسیدیت (۰/۶۴ درصد) را داشت. همچنین اسیدیت نمونه حاوی اسانس آویشن ۰/۱ درصد از نمونه حاوی BHT کمتر بود و این تفاوت در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و در روزهای ۴۵ و ۶۰ معنی دار بود. میزان اسیدیت نمونه های حلوا ارده در طول مدت نگهداری در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  بطور معنی داری بیشتر از نمونه های نگهداری شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بود. این موضوع می تواند به علت تاثیر دما در ایجاد اسیدهای چرب آزاد باشد زیرا دما عاملی است که می تواند بر میزان اسیدهای چرب آزاد تاثیر بگذارد [۲۳] که در پژوهش حاضر نیز اسیدیت نمونه های نگهداری شده در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  به میزان قابل توجهی بالاتر بود.

در این راستا، افزایش مقدار اسیدیت نمونه کنترل در مقایسه با نمونه های حاوی اسانس می تواند در ارتباط با افزایش رشد کپک و تولید آنزیم های آبکافتی باشد. به طوری که ممکن است با بکار

یکی والان در کیلوگرم روغن) را نشان دادند. همچنین در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  کمترین میزان افزایش عدد پراکسید ( $0/92$  میلی اکی والان در کیلوگرم روغن) برای نمونه حلوا ارده حاوی آویشن  $0/1$  مشاهده گردید.

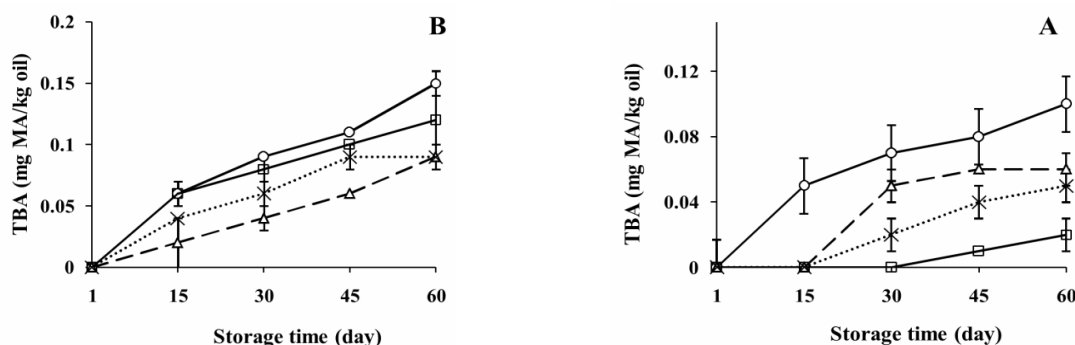
معنی دار بود. بر اساس نتایج حاصله در روز ۶۰ دوره نگهداری، نمونه کنترل در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  بالاترین مقدار عدد پراکسید ( $2/5$  میلی اکی والان در کیلوگرم روغن) و نمونه حلوا ارده حاوی BHT در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  کمترین میزان عدد پراکسید ( $0/2$  میلی



**Fig 2** Variation of peroxide value in in Halwa-Ardeh samples containing BHT and thyme essential oils during storage at  $4^{\circ}\text{C}$  (A) and  $25^{\circ}\text{C}$  (B) for 60 days (control (○); BHT (□); 0.05% (Δ) and 0.1% (×) thyme essential oils). Error bars represent standard deviation between replicates ( $n = 3$ ).

از عدد تیوباریتوریک اسید جهت سنجش محصولات ثانویه اکسایش استفاده می‌شود و مالون آلدئید به عنوان محصول ثانویه اکسایش ممکن است در بدطعمی روغن اکسیده شده نقش داشته باشد [۳۰]. روند تغییرات تیوباریتوریک اسید در حلوا ارده طی ۶۰ روز نگهداری در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  و  $25^{\circ}\text{C}$  در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج پژوهش حاضر، بعد از ۶۰ روز نگه‌داری بالاترین عدد تیوباریتوریک اسید ( $0/15$  میلی گرم مالون آلدئید) به نمونه کنترل در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و کمترین این مقدار ( $0/02$  میلی گرم مالون آلدئید) به نمونه‌های حاوی ضداکساینده سنتزی BHT در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  تعلق داشت. با توجه به شکل ۳ به استثنای روز اول و روز ۱۵ نگهداری، تفاوت معنی‌داری بین مقدار تیوباریتوریک اسید در غلظت‌های  $0/1$  و  $0/05$  درصد اسانس آویشن مشاهده شد. نتایج مشابهی در ارتباط با اثر ضداکسایشی اسانس و عصاره زرماری [۳۱]، اسانس تخم گشنیز [۱۷]، اسانس زیره سیاه [۱۶] و عصاره سرخارگل [۱۸] گزارش شده است.

بر اساس متون علمی بالا بودن فعالیت ضداکسایشی اسانس آویشن شیرازی به دو ترکیب فنولی کارواکرول و تیمول نسبت داده می‌شود [۲۵]. در این راستا روبرتو و همکاران نیز فعالیت ضداکسایشی بالای تیمول، کارواکرول، گاما و آلفا-ترپینن و ترپینولن را گزارش کردند [۲۶]. در حقیقت ضداکساینده‌های فنلی با دادن پروتون واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی را در اکسایش خود به خودی مواد آلی مهار می‌نمایند [۲۷]. همانطور که نتایج نشان داد عدد پراکسید نمونه‌های نگهداری شده در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  بیشتر از نمونه‌های نگهداری شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  بود. این افزایش عدد پراکسید را می‌توان به تاثیر دما در اکسایش چربی‌ها نسبت داد. در این راستا پایداری بالاتر ارده نگهداری شده در دمای اتاق نسبت به ارده نگهداری شده در دمای  $65^{\circ}\text{C}$  گزارش شده است. به طوری که مقادیر اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین ارده نگهداری شده در دمای اتاق کمتر بود [۲۸]. همچنین افزایش غلظت اسانس آویشن از  $0/05$  درصد به  $0/1$  درصد، سبب افزایش فعالیت ضداکسایشی در نمونه های حاوی اسانس گردید که با نتایج حاصل از پژوهش ازکان و همکاران (۲۰۰۷) مطابقت داشت [۲۹].



**Fig 3** Variation of thiobarbituric acid value (TBA, mg malonaldehyde/ kg oil) in Halwa-Ardeh samples containing BHT and thyme essential oils during storage at 4 °C (A) and 25 °C (B) for 60 days (control (○); BHT (□); 0.05% (Δ) and 0.1% (×) thyme essential oils). Error bars represent standard deviation between replicates (n = 3).

است. در پژوهش حاضر افزایش جمعیت میکروبی کمتر از ۱ سیکل لگاریتمی بود که شمارش این جمعیت کم ممکن است با خطاهایی همراه باشد. از طرفی مقدار اندک اسانس و احتمال همگن نبودن کامل آن در زمان نمونه برداری می تواند توجیه کننده نوسان جمعیت میکروبی باشد. همانطور که مشاهده می شود شمارش کپک و مخمر طی دوره نگهداری به مدت ۶۰ روز در تمام نمونه ها بجز نمونه کنترل کاهش یافت. نتایج نشان داد که تفاوت معنی داری از نظر رشد میکروبی بین جمعیت قارچی نمونه های حلوا ارده در هر دو دمای نگهداری ۴ و ۲۵ وجود ندارد. با توجه به وجود شرایط مطلوب رشد میکروبی در حلوا ارده جمعیت قارچی به تدریج تا روز ۳۰ نگهداری افزایش یافت، به طوری که تعداد کلنی به بیشینه خود رسید و به دنبال آن به دلیل فعالیت ضد میکروبی اسانس، شمارش مخمرها و کپک ها در روز ۴۵ و ۶۰ به صورت معنی داری کاهش یافت.

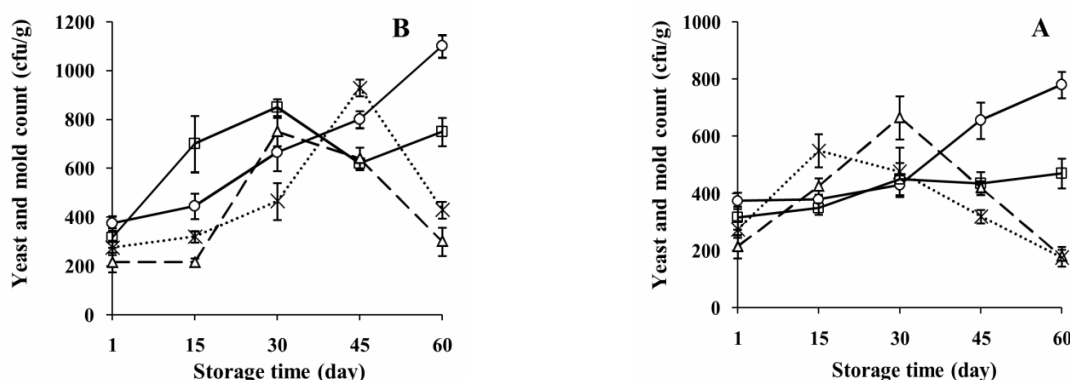
در طی دوره نگهداری کمترین میزان افزایش شمارش کپک و مخمر در نمونه حلوا ارده حاوی آویشن ۰/۱ درصد در دمای ۲۵ °C ۴ مشاهده گردید. به طوری که جمعیت قارچی این نمونه cfu/g ۱۷۵ بود. بعد از نمونه کنترل بیشترین میزان افزایش شمارش کپک و مخمر (۲۹۵ cfu/g) مربوط به نمونه حلوا ارده حاوی BHT بود. در حالی که در دمای ۲۵ °C بعد از نمونه کنترل، بیشترین شمارش کپک و مخمر (۴۳۰ cfu/g)، مربوط به نمونه حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن بود.

### ۳-۳- بررسی جمعیت میکروبی اشریشیا کلی، انتروباکتریاسه، سالمونلا، استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت

با توجه به بهداشت ضعیف در طول بسته بندی و حمل و نقل ارده این احتمال وجود دارد که آلودگی ارده پس از فرآوری رخ دهد [۳۲]. نتایج حاصل از بررسی جمعیت میکروبی اشریشیا کلی، سالمونلا و استافیلوکوکوس کواگولاز مثبت نمونه های حلوا ارده در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ منفی و شمارش آنتروباکتریاسه کمتر از ۱۰cfu/g مشاهده گردید. دمای بالای بو دادن دانه کنجد و رطوبت کم و محتوای بالای چربی و قند در حلوا ارده و همچنین حضور ترکیبات ضد میکروبی ارده شرایط را برای رشد میکروارگانیسم ها نامساعد می کند [۲۰]. به عبارتی استفاده از مدت زمان و درجه حرارت بو دادن پذیرفته شده (۲۰ °C) ۱۱۰ به مدت ۶۰ دقیقه) برای غیر فعال شدن سالمونلا کافی به نظر می رسد [۳۳]. همچنین اثرات باکتریواستاتیکی قوی اسانس آویشن بر باکتری های گرم مثبت مثل استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری های گرم منفی مثل اشریشیا کلی در رابطه با میزان بالای کارواکرول موجود در اسانس گزارش شده است [۳۴].

### ۳-۴- شمارش کپک و مخمرها

روند تغییرات شمارش کپک و مخمر در نمونه کنترل و نمونه های مختلف حلوا ارده در طی دوره نگهداری در دمای ۴ °C و ۲۵ °C در روزهای ۱، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰ در شکل ۴ نشان داده شده



**Fig 4** Yeast and mold count (cfu/g) in Halwa-Ardeh samples containing BHT and thyme essential oils during storage at 4 °C (A) and 25 °C (B) for 60 days (control (○); BHT (□); 0.05% (△) and 0.1% (×) thyme essential oils). Error bars represent standard deviation between replicates (n = 3).

### ۳-۵- ارزیابی حسی نمونه های حلوا ارده در طی دوره نگهداری

در این پژوهش نمونه‌های حاوی اسانس آویشن (۰/۱ و ۰/۰۵ درصد)، ضداکساید سنتزی BHT و نمونه کنترل در طی دوره نگهداری (روزهای ۱، ۳۰ و ۶۰) در دو دمای ۴ °C و ۲۵ °C مورد بررسی قرار گرفتند. ارزیاب‌ها ویژگی‌های حسی نمونه‌ها را از نظر عطر و بو، طعم و مزه، رنگ، بافت و پذیرش کلی ارزیابی کردند که نتایج آن در شکل ۵ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد به استثنای رنگ نمونه‌ها، بین سایر ویژگی‌های حسی در دو دمای نگهداری ۴ °C و ۲۵ °C تفاوت معنی‌داری وجود داشت و نمونه‌های نگهداری شده در دمای ۴ °C از نظر حسی مطلوب‌تر بودند.

در روز اول بالاترین امتیازات عطر و بو مربوط به نمونه کنترل و کمترین امتیاز مربوط به نمونه حاوی آویشن ۰/۱ درصد بود. پذیرش نمونه‌ها از نظر عطر و بو در انتهای دوره نگهداری در هر تیمار روند کاهشی داشتند. کمترین امتیاز عطر و بو به نمونه حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن تعلق گرفت و بین بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

همچنین نتایج نشان داد که قدرت ضد میکروبی اسانس آویشن با افزایش غلظت اسانس از ۰/۰۵ درصد به ۰/۱ درصد افزایش یافت. بر اساس پژوهش‌های انجام شده می‌توان تاثیر اسانس آویشن را ناشی از ترکیبات ضد میکروبی موجود در آن از قبیل کارواکرول، اوژنول و تیمول دانست، به طوری که خواص ضد میکروبی با افزایش محتوای ترکیبات فنولی اسانس افزایش می‌یابد [۱۱].

به طور کلی باید گفت اسانس‌های روغنی سازوکارهای متفاوتی در نابودی میکروارگانیسم‌ها دارند. این ترکیبات با دارا بودن خواص ضد میکروبی به لیپیدهای غشاء سلولی و میتوکندری وارد شده و همین مسئله سبب اختلاف در ساختمان سلول‌ها و ایجاد نفوذپذیری آن‌ها می‌گردد و در نتیجه خروج یون و دیگر محتویات سلولی اتفاق می‌افتد. اگر چه خروج مقادیر مشخصی از مواد داخلی باکتری می‌تواند برای سلول قابل تحمل باشد ولی خروج مقادیر زیاد محتویات سلولی و یا خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی سبب مرگ سلول می‌شود و از این رو بازدارنده رشد میکروارگانیسم‌ها خواهند بود [۳۵]. در پژوهشی گزارش شد که آلودگی قارچی کیک‌های حاوی ۰/۰۵-۰/۱۵ درصد اسانس آویشن شیرازی و دارچین در مقایسه با نمونه‌های کنترل در طی دوره نگهداری کمتر بود [۱۹].

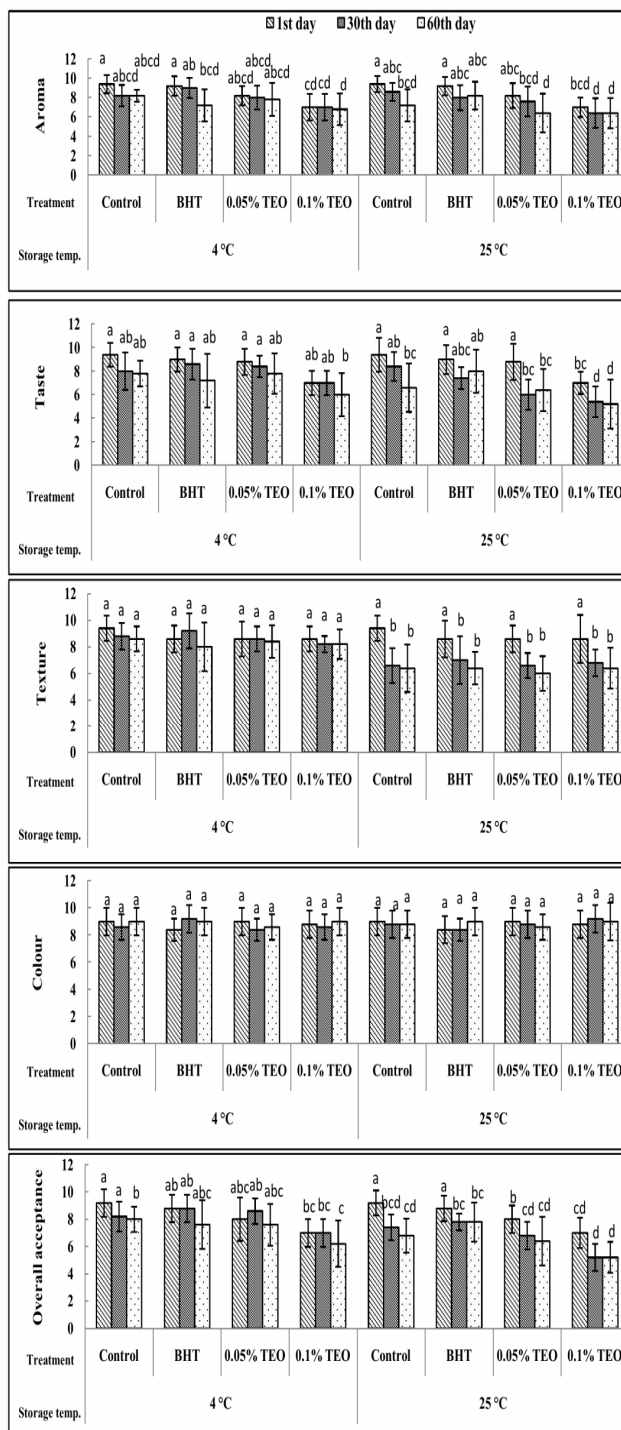
بر اساس نتایج، مطلوبیت نمونه های حلوا ارده از نظر طعم و مزه تحت تاثیر دما و مدت زمان نگهداری روند کاهشی داشته است. نمونه های نگهداری شده در دمای ۴ °C تفاوت معنی داری نشان ندادند. از نظر ارزیابها تفاوت معنی داری بین نمونه کنترل و نمونه های حاوی BHT و ۰/۰۵ درصد اسانس در طی دوره نگهداری در دمای ۲۵ °C مشاهده نشد و نسبت به نمونه های حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن پذیرش بیشتری داشتند، به طوری که نمونه حاوی آویشن ۰/۱ درصد کمترین امتیاز را در انتهای دوره نگهداری کسب کرد.

امتیاز مربوط به بافت نمونه های حلوا ارده از نظر ارزیابها در طی دوره نگهداری در هر دو دمای ۴ °C و ۲۵ °C روند کاهشی داشت اما تفاوت معنی داری بین نمونه ها در دمای ۴ °C مشاهده نگردید. اما در طی نگهداری در دمای ۲۵ °C میزان پذیرش بافت در هر تیمار به صورت معنی داری کاهش یافت، زیرا در این دما، روغن از حلوا ارده جدا شده و یکنواختی بافت نسبت به روز اول کاهش یافت، اما پذیرش بافت بین تیمارهای مختلف معنی دار نبود.

با توجه به شکل ۵، رنگ نمونه های حلوا ارده تحت تاثیر افزودن اسانس، BHT و دما و زمان نگهداری قرار نگرفتند، در واقع افزودن اسانس سطوح ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد، تغییری در رنگ حلوا ارده از نظر ارزیابها ایجاد نکرده بود.

از نظر ارزیابها میزان پذیرش کلی نمونه های حلوا ارده در طی دوره نگهداری روند کاهشی داشت. در روز اول نمونه حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن کمترین و نمونه کنترل بالاترین میزان پذیرش را از طرف ارزیابها کسب کردند. پذیرش کلی نمونه حلوا ارده حاوی ۰/۱ درصد اسانس آویشن در انتهای دوره نگهداری به صورت معنی داری کمتر از بقیه بود.

در این راستا صبوری و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند اختلاف معنی داری بین کیک های حاوی اسانس سرخارگل و نمونه کنترل وجود ندارد و کیک حاوی اسانس سرخارگل در غلظت های ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی گرم/لیتر از نظر رنگ، طعم، بافت و پذیرش کلی در مقایسه با نمونه های حاوی ضد اکساید سنتزی بهتر بودند [۱۸]. همچنین، در پژوهش داروغه و همکاران (۲۰۱۲) مشاهده شد که کیک حاوی اسانس گشنیز با غلظت ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۱۵ درصد از نظر رنگ و بافت در مقایسه با نمونه کنترل و نمونه



**Fig 5** Sensory attributes of Halwa-Ardeh samples containing BHT and thyme essential oils (TEO) during storage (4 °C and 25 °C) on days 1, 30 and 60. Scoring system of aroma, taste, texture, colour and overall acceptance ranging from dislike extremely (1) to like extremely (10). Different values with the same letter are not significantly different at  $p < 0.05$



را افزایش داد، اما سبب بهبود پذیرش حسی حلوا ارده نشد و تفاوت معنی‌داری ایجاد نکرد. به طور کلی می‌توان گفت افزودن اسانس آویشن به میزان ۰/۰۵ درصد می‌تواند سبب بهبود برخی ویژگی‌های کیفی آن گردد ولی غلظت‌های بالاتر اسانس آویشن به دلیل کاهش پذیرش حسی توصیه نمی‌گردد.

## ۵- منابع

- [1] Razavi, S.M.A., Habibi Najafi, M.B. and Alaei Roozbahani, A. 2006. The effect of fat substitutes on the emulsion stability and sensory characteristics of reduced fat sesame paste/date syrup blends (reduced fat Halwa-Ardeh). *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 1(2): 1-10.
- [2] Oezcan, M. and Akguel, A. 1994. Physical and chemical properties and fatty acid composition of tahini (sesame paste). *Gida*, 19(6): 441-416.
- [3] Bedigian, D. 2011. Current market trend: Critical issues and economic importance of sesame. In D. Bedigian (Ed.), *Sesame: the genus Sesamum. Medicinal and aromatic plants industrial profiles series*. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor & Francis Group. pp. 423-490.
- [4] Wan, Y., Li, H., Fu, G., Chen, X., Chen, F. and Xie, M. 2015. The relationship of antioxidant components and antioxidant activity of sesame seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(13): 2571-2578.
- [5] Jannat, B., Oveisi, M., Sadeghi, N., Hajimahmoodi, M., Behzad, M., Choopankari, E. and Behfar, A. 2010. Effects of roasting temperature and time on healthy nutraceuticals of antioxidants and total phenolic content in Iranian sesame seeds (*Sesamum indicum* L.). *Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 7(1): 97-102.
- [6] Hernández-Hernández, E., Ponce-Alquicira, E., Jaramillo-Flores, M.E. and Guerrero-Legarreta, I. 2009. Antioxidant effect rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts on TBARS and color of model raw pork batters. *Meat Science*, 81: 410-417.

حاوی ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد ضداکساینده سنتزی BHA قابل قبول بود. کیک حاوی اسانس از نظر طعم پذیرش کمتری داشت. پذیرش کلی کیک حاوی ۰/۰۵ درصد اسانس نزدیک به نمونه حاوی ضداکساینده سنتزی BHA بود. افزایش غلظت اسانس به ۰/۱۵ درصد، اثر منفی کوچکی در پذیرش کلی داشت [۱۷]. در تحقیقی که توسط خاکی و همکاران (۲۰۱۲) صورت گرفت مشاهده شد کیک‌های حاوی اسانس بابونه در برخی از ویژگی‌ها و کیفیت کلی، نسبت به سایر نمونه‌ها نمره پایین‌تری دریافت کرده است. کیک حاوی ۰/۱۵ درصد اسانس بابونه پایین‌ترین نمره را داشت و با کاهش مقدار اسانس نمره حسی افزایش یافت. بالاترین نمره از کیفیت کلی متعلق به نمونه حاوی مواد نگه‌دارنده تجاری بود به طوری که نسبت به سایر تیمارها قابل قبول‌تر بودند [۲۱].

به طور کلی و با بررسی نظر ارزیاب‌ها می‌توان بیان کرد که تفاوت معنی‌داری بین نمونه کنترل و نمونه‌های حلوا ارده حاوی ۰/۰۵ درصد اسانس آویشن و BHT وجود نداشت. با توجه به تاثیر مطلوب اسانس آویشن بر ارزش تغذیه‌ای و خواص ضداکسایشی حلوا ارده می‌توان از این ترکیب در فرمولاسیون حلوا ارده استفاده کرد. یکی از جنبه‌های موثر در موفق بودن و قابل اجرا بودن نوآوری‌ها و دستکاری فرمولاسیون‌های متداول محصولات غذایی، فاکتور قابلیت پذیرش این محصولات است. به صورتی که اگر تغییرات اعمال شده در فرمولاسیون‌های غذایی از جنبه نتایج آزمون‌های مختلف موفق باشند اما نتوانند در آزمون‌های حسی نمرات قابل قبولی کسب کنند، در حقیقت قابلیت اجرایی نخواهند داشت.

## ۴- نتیجه گیری کلی

حلوا ارده یک فرآورده سنتی در ایران و کشورهای خاورمیانه است که از مخلوط کردن ارده با یک شیرین کننده مناسب نظیر شیره انگور، خرما و عسل بدست می‌آید. با توجه به اینکه حلوا ارده بومی کشورهای خاورمیانه بوده و در ایران نیز مصرف بالایی دارد، لازم است در مورد این فرآورده پژوهش‌هایی انجام پذیرد. بر اساس پژوهش حاضر مشخص گردید که افزودن اسانس آویشن به حلوا ارده پایداری اکسایشی و کیفیت میکروبی فرآورده

- [17] Darougheh, F., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2012. Antioxidant and antifungal activity of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil in cake. *International Food Research Journal*, 19(3): 1253-1260.
- [18] Sabouri, Z., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdi Badi, H. 2012. Antioxidant and antimicrobial potential of Echinacea purpurea extract and its effect on extension of cake shelf life. *Journal of Medicinal Plant*, 11(43): 28-40.
- [19] Kordsardouei, H., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2013. Application of *Zataria multiflora* Boiss. and *Cinnamon zeylanicum* essential oils as two natural preservatives in cake. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(3): 238-247.
- [20] Noorolahi, Z., Sahari, M.A., Barzegar, M., doraki, N. and Naghdi Badi, H. 2013. Evaluation antioxidant and antimicrobial effects of cinnamon essential oil and echinacea extract in Kolompe. *Journal of Medicinal Plant*, 12(45): 14-28.
- [21] Anonymous, *Iranian National Standards Organization*, <http://isiri.org/Portal/Home/>. 2016.
- [22] Bhanger, M.I., Iqbal, S., Anwar, F., Imran, M., Akhtar, M. and Zia-Ul-Haq, M. 2008. Antioxidant potential of rice bran extracts and its effects on stabilisation of cookies under ambient storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 43: 779 - 786.
- [23] Malek, F. 2009. *Vegetable Fats and Oils - Properties and Processing*. Gholami press, Iran. pp. 98-113.
- [24] Ibrahim, M., El-Ghany, M.A. and Ammar, M. 2013. Effect of clove essential oil as antioxidant and antimicrobial agent on cake shelf life. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 8(2): 140-146.
- [25] Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdiabadi, M. 2008. Antioxidant activity and chemical characterization of essential oil of *Bunium persicum*. *Plant Food and Human Nutrition*, 63: 183-188.
- [26] Ruberto, G. and Baratta, M.T. 2000. Antioxidant activity of selected essential oil components in two lipid model systems. *Food Chemistry*, 69(2): 167-174.
- [27] Rehman, Z., Habib, F. and Shah, W.H. 2004. Utilization of potato peels extract as a
- [7] Venkatesan, P. and Rao, M.N. 2000. Structure-activity relationships for the inhibition of lipid peroxidation and the scavenging of free radicals by synthetic symmetrical curcumin analogues. *Pharm Pharmacol*, 52(9): 1123-1128.
- [8] Koksall, E. and Gulcin, I. 2008. Antioxidant activity of cauliflower. *Turk J Agric*, 32: 65-78.
- [9] Dormana, H.J.D., Peltoketo, A., Hiltunen, R. and Tikkanen, M.J. 2003. Characterisation of the antioxidant properties of de-odourised aqueous extracts from selected lamiaceae herbs. *Food Chemistry*, 83: 255-262.
- [10] Lee, S.J., Umamo, K., Shibamoto, T. and Lee, K.G. 2005. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91: 131-137.
- [11] Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223–253.
- [12] Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and Vidal, N. 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 654-660.
- [13] Wong, C., Li, H., Cheng, K. and Chen, F. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. *Food Chemistry*, 97: 705-711.
- [14] Sharafati Chaleshtori, R., Rafieian Kopaei, M., Rokni, N., Mortezaei, S. and Sharafati Chaleshtori, A. 2013. Antioxidant activity of *Zataria Multiflora* hydroalcoholic extract and its antibacterial effect on *Staphylococcus Aureus*. *Journal Mazandran University Medicine*, 23: 88-94 [in Persian].
- [15] Khaki, M., Sahari, M.A. and Barzegar, M. 2012. Evaluation of antioxidant and antimicrobial effects of chamomile (*Matricaria chamomilla* L.) essential oil on cake shelf life. *Journal of Medicinal Plant*, 11(43): 9-18.
- [16] Darougheh, F., Barzegar, M. and Sahari, M.A. 2014. Antioxidant and anti-fungal effect of caraway (*Carum Carvi* L.) essential oil in real food system. *Current Nutrition & Food Science*, 10(1): 76-70.

- [32] Lake, R., King, N., Cressey, P. and Gilbert, S. 2010. Salmonella (non-typhoidal) in high lipid foods made from sesame seeds, peanuts or cocoa beans, Prepared for New Zealand Food Safety Authority under project MRP/08/01.
- [33] Torlak, E., Sert, D. and Serin, P. 2013. Fate of Salmonella during sesame seeds roasting and storage of tahini. *International Journal of Food Microbiology*, 163(2): 214-217.
- [34] Karaman, S., Digrak, M., Ravid, U. and Ilcim, A. 2001. Antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Thymus revolutus Celak* from Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(2): 183-186.
- [35] Pauli, A. 2006.  $\alpha$ -Bisabolol from chamomile-A specific ergosterol biosynthesis inhibitor. *Journal of Aromatherapy*, 16: 5-21.
- natural antioxidant in soy bean oil. *Food Chemistry*, 85: 215-220.
- [28] Abou-Gharbia, H., Shehata, A., Youssef, M. and Shahidi, F. 1996. Oxidative stability of sesame paste (tehina). *Journal of Food Lipids*, 3(2): 129-137.
- [29] Ozkan, G., Simsek, B. and H. Kuleasan. 2007. Antioxidant activities of *Satureja cilicica* essential oil in butter and in vitro. *Journal of Food Engineering*, 79: 1391-1396.
- [30] Rossel, J.B. 2005. Measurements of rancidity. In: Allen, J.C., Hamilton, R.J. (eds) *Rancidity in Foods*. 3rd Edn. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK.
- [31] Cheman, Y. and Jaswir, I. 2000. Effect of rosemary and sage extracts on frying performance of refined, bleached and deodorized (RBD) palm olein during deep-fat frying. *Food Chemistry*, 69: 301 - 307.

## The Effect of *Thymus vulgaris* essential oil addition on some quality and microbial properties of sesame blends (Halwa-Ardeh) during storage time

Azimi, M.<sup>1</sup>, Akhavan, H. R.<sup>2\*</sup>, Radi, M.<sup>3,4</sup>

1. Department of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

3. Young Researchers and Elite Club, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

4. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

(Received: 2016/03/04 Accepted: 2016/06/20)

Despite the presence of natural antioxidant the Halwa-Ardeh oxidative stability can be affected by storage condition. The use of thyme essential oils (0.05 and 0.1%) and BHT and their impact on the chemical (acidity, peroxide value and thiobarbituric acid number), sensory and microbiological characteristics of Halwa-Ardeh during the 2 months storage at 4 and 25 °C compared to control samples were evaluated. Based on the results, the oxidative stability of Halwa-Ardeh samples containing BHT were higher than samples containing essential oil during storage at 4 °C, but the peroxide and thiobarbituric values of samples containing essential oil at 25 °C were lower than samples containing BHT. In both storage temperatures, the antifungal activity of essential oil was more than BHT. Also, the panelists were evaluated the sensory characteristics of samples in terms of aroma, taste, color, texture and overall acceptance. The results showed that except for the color, other sensory scores were decreased during storage at both temperatures. The sensory scores of the sample containing 1.0% thyme essential oil were significantly lower than others, and no significant differences were observed among other treatments. In general it can be stated that the addition of thyme essential oil up to 0.05% to Halwa-Ardeh improves antioxidant and antimicrobial properties of samples, and in order to creating diversify of the Halwa-Ardeh can be used in its formulations.

**Keywords:** Halwa-Ardeh, *Thymus vulgaris* essence, Antioxidant, Antimicrobial

---

\* Corresponding Author E-mail address: hr.akhavan@uk.ac.ir