



بررسی اثر روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده با آلژینات بر ویژگی‌های میکروبی و حسی گاناش شکلاتی

بنفشه مهیمنی¹، شیلا صفائیان^{2*}، رضوان موسوی ندوشن²، محمد ربانی³، حمید توکلی پور⁴
 1- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
 2- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
 3- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
 4- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: 1401/03/13

تاریخ پذیرش: 1401/04/30

کلمات کلیدی:

مدل غذایی،

فراسودمند،

سیاه‌دانه ،

خاصیت ضد میکروبی،

ریزپوشانی.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.333

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.28.1

* مسئول مکاتبات:

Shila2462462@yahoo.co.in

امروزه با ارتقاء سطح آگاهی و تغییر نگرش مردم، تقاضا برای مواد غذایی فراسودمند افزایش یافته است. ترکیبات مؤثره سیاه‌دانه با دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی مورد توجه محققان زیادی است. این تحقیق با هدف بهره‌مندی از خواص عملگرایی روغن سیاه‌دانه در یک مدل غذایی انجام شد. در فاز اول عدد پراکسید، رنگ و ویژگی‌های ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده با آلژینات بررسی شد. در فاز دوم ویژگی‌های میکروبی و حسی 4 نمونه گاناش شکلاتی (بدون نگهدارنده (G)، بدون نگهدارنده+میکروب‌های تلقیح شده (GM)، حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه آزاد+میکروب‌های تلقیح شده (GOM) و حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده+میکروب‌های تلقیح شده (GEOM)) با یکدیگر مقایسه شدند. نتایج فاز اول نشان داد حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد بر سالمونلا تیفی‌موریوم، اشریشیاکلای، استافیلوکوکوس اورئوس، اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس بیشتر از حالت ریزپوشانی شده بود. همچنین بیشترین و کمترین اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه به ترتیب بر روی کاندیدا آلبیکانس و اشریشیاکلای مشاهده شد. عدد پراکسید و رنگ روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد بیش از حالت ریزپوشانی شده بود. نتایج فاز دوم نیز نشان داد حضور روغن سیاه‌دانه در فرمولاسیون گاناش شکلاتی سبب کاهش بار میکروبی نمونه‌های تولیدی شد. این در حالی بود که عملکرد ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد در کاهش بار میکروبی مدل غذایی بیشتر از حالت ریزپوشانی شده بود. در نهایت نتایج ارزیابی حسی نشان داد گاناش شکلاتی حاوی روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده از ویژگی‌های حسی بهتری در مقایسه با نمونه حاوی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد برخوردار بودند.

1- مقدمه

فلاونوئیدهای کاکائو و شکلات ترکیبات حیاتی برای سلامتی انسان بوده و به علت عملکردهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیک دارای اثرات مفیدی هستند. ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی کاکائو باعث افزایش غلظت اپیکاتچین پلاسما می‌شود. همچنین کاکائو با دارا بودن ترکیبات فلاونوئیدهای کاکائو باعث بهبود عملکرد سیستم ایمنی شده و اثرات حفاظتی قلب دارد. همچنین به علت وجود ترکیبات فنیل اتیل‌آمین و آسپیل اتانولآمین در کاکائو و شکلات اثرات شغف‌بخش و شادی‌زایی در آن وجود دارد. با آگاهی مصرف‌کنندگان از اثرات سلامتی‌زای کاکائو و شکلات تهیه شده از آن، استفاده این فراورده روند رو به رشدی دارد [10]. اگرچه کاکائو از نظر ترکیبات ضداکسایشی غنی است ولی در اثر برشته شدن آن از مقدار این ترکیبات مؤثره آن کاسته می‌شود [11]. شکلات به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین تنقلات در رژیم‌های غذایی می‌تواند فرآورده مناسبی برای غنی‌سازی و حامل مناسبی برای انتقال ریزمغذی‌ها باشد [12].

از این رو این تحقیق با هدف بهره‌مندی از خواص عملگرایی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده در یک مدل غذایی که به شدت مورد استقبال عموم مردم و رده‌های مختلف سنی است (شکلات با مغز گاناش)، انجام شد. در فاز اول این پژوهش عدد پراکسید، رنگ و ویژگی‌های ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در دو حالت (آزاد و ریزپوشانی‌شده) بررسی شد. در فاز دوم ویژگی‌های میکروبی و حسی 4 نمونه شکلات با مغز گاناش (بدون نگهدارنده (G)، بدون نگهدارنده+میکروب‌های تلقیح شده (GM)، حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه آزاد+میکروب‌های تلقیح شده (GOM) و حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی‌شده+میکروب‌های تلقیح شده (GEOM)) با یکدیگر مقایسه شدند.

2- مواد و روش‌ها

2-1- مواد

دانه روغنی سیاه‌دانه از شرکت پاکان بذر اصفهان (تولیدکننده بذر گیاهان دارویی)، آلژینات سدیم از شرکت سیگما و سایر مواد شیمیایی از شرکت مرک خریداری شد.

2-2- روش‌ها

2-2-1- استخراج روغن سیاه‌دانه

امروزه اثرات زیان‌آور نگهدارنده‌های شیمیایی بر سلامت انسان به اثبات رسیده است. از این رو با ارتقاء سطح آگاهی و تغییر نگرش مردم، تقاضا برای مواد غذایی فراسودمند حاوی گیاهان دارویی افزایش یافته است [1]. گیاهان دارویی به گیاهانی گفته می‌شوند که دارای ترکیبات مؤثره مشخصی هستند و در درمان بیماری‌ها یا جهت پیش‌گیری از بروز آن‌ها استفاده می‌شود [2]. از میان گیاهان دارویی که دارای پتانسیل اقتصادی بالایی در ایران و جهان است، می‌توان به سیاه‌دانه اشاره نمود. سیاه‌دانه از دسته گیاهان گلدار رده دو لپه‌ای‌ها، راسته گل‌های ساعت، تیره آلانگان، سرده سیاه‌دانه و گونه *N. sativa* می‌باشد [1]. در ایران این گیاه به ویژه در اراک و اصفهان به فراوانی می‌روید. از دانه این گیاه به عنوان دارو استفاده می‌شود. سیاه‌دانه دارای اثر ضد کرم، ضد باکتری، مسهل و زیادکننده ترشحات شیر است. سیاه‌دانه مزه‌ای تلخ و ادویه‌ای دارد و در صنعت پخت و نوشیدنی‌ها از آن استفاده می‌شود [3]. روغن سیاه‌دانه سرشار از امگا 6 و 9 است که افزایش‌دهنده قابلیت ارتجاعی سلول‌های رگ‌های خونی و کاهش‌دهنده سطوح قند و کلسترول خون در بدن است [4]. همچنین سیاه‌دانه منبعی غنی از پتاسیم، آهن، کلسیم، سدیم، برخی ویتامین‌ها، فیبر و اسیدهای آمینه است. مشکل اصلی ترکیبات زیست فعال موجود در دانه‌های روغنی مثل سیاه‌دانه، حلالیت و نفوذپذیری کم و در نتیجه محدودیت دسترسی زیستی آن‌ها در بدن است [5]. که می‌تواند به علت محدودیت‌های موجود در آزاد شدن آن‌ها از ماتریکس غذایی، تشکیل ترکیبات نامحلول در دستگاه گوارشی (GIT) و یا حتی تبدیل زیستی آن‌ها در GIT باشد [6]. امروزه برای بهبود تأثیرپذیری ترکیبات ضد میکروبی با استفاده از تکنیک ریزپوشانی، مواد مؤثره مورد نظر را از تأثیر عوامل خارجی محفوظ می‌دارند. ریزپوشانی فرایندی است که طی آن ذرات بسیار ریز، قطره‌ها یا حباب‌ها پوشش داده می‌شوند. جهت جلوگیری از تشخیص مزه با زبان یا تغییر بافت ماده غذایی، اندازه ذرات روغنی ریزپوشانی شده بایستی کمتر از 100 میکرومتر باشد [8]. ریزپوشانی اسیدهای چرب امگا-3 در مواد دیواره مناسب می‌تواند ارزش غذایی و ویژگی‌های حسی این مواد را حفظ نماید [9].

شکلات نوعی سیستم کلئیدی است که در آن فاز پیوسته را کره کاکائو و فاز پراکنده را پودر کاکائو و شکر تشکیل می‌دهد.

چرب (FAME) با صابون سازی در 0/5 مولار NaOH-MeOH و متیلاسیون توسط BF₃-MeOH (14 درصد) تهیه شدند. نمونه‌های متیل استرهای اسید چرب (اسید لوریک، اسید میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید پالمیتوئیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک) به دستگاه گاز کروماتوگراف (سیستم YL Instrument 6500 GC) مجهز به آشکارساز یونیزاسیون شعله و ستون مویرگی (60 m×0.32 mm×0.20μm) تزریق شدند. نیتروژن، به عنوان گاز حامل، با سرعت جریان ثابت 0/1 میلی‌لیتر در دقیقه استفاده شد. برنامه دمایی تنظیم شده عبارت بود از: دمایی اولیه 50 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 دقیقه، سپس دما با سرعت 4 درجه سانتی‌گراد در دقیقه به 140 درجه سانتی‌گراد رسید و به مدت 40 دقیقه در این دما نگه داشته شد. سپس دما به 210 درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و به مدت 8 دقیقه در این دما باقی ماند. دمایی آنزکتور و آشکارساز به ترتیب 250 و 280 درجه سانتی‌گراد بود [14].

2-2-5- ریزپوشانی روغن سیاه‌دانه

بدین منظور 30 گرم آلزینات سدیم به 1000 میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و سپس استریل شد. پس از آن که محلول آلزینات با محیط هم دما شد، با 20 گرم نشاسته مقاوم ذرت (Hi-maize 260 National starch UK) مخلوط و جهت همگن شدن به مدت 5 دقیقه هم‌زده شد. عملیات هم‌زدن و همگن‌سازی اولیه به کمک همزن مغناطیسی (Hielscher 220, V.108L.T. ساخت آلمان) انجام گردید. برای تشکیل امولسیون یکنواخت، 500 میلی‌لیتر از مخلوط حاصله به 2 لیتر روغن اضافه و با سرعت (3000 دور در دقیقه) به مدت 20 دقیقه هم زده شد. به منظور تشکیل کپسول‌ها به محلول مورد نظر کلرید کلسیم 0/1 مولار اضافه شد، پس از 30 دقیقه کپسول‌ها ته‌نشین شد. به منظور جداسازی کپسول‌ها از سانتریفیوژ 350 g به مدت 10 دقیقه استفاده شد. در نهایت کپسول‌های جدا شده با محلول آب پپتونه 0/1 درصد شسته شد و در دمایی درجه 4 نگهداری شد [17].

2-2-6- رنگ روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و

ریزپوشانی شده

بدین منظور جذب نمونه‌های روغن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 420 نانومتر خوانده شد [18].

دانه‌های تأیید شده سیاه‌دانه از نظر جنس و گونه (با نام علمی نایجلا ساتیوا) از شرکت پاکان بذر اصفهان (تولیدکننده بذر گیاهان دارویی) تهیه شد. ابتدا دانه‌های سیاه‌دانه الک و از ناخالصی‌های احتمالی تمیز شد. دانه‌های تمیز شده با جریان هوا خشک شدند. استخراج روغن با دستگاه سوکسله (مدل Buchi) به مدت 5 ساعت در دمایی 50 درجه سانتی‌گراد و با پترولیوم صورت گرفت. تیخیر حلال تحت خلاء و در دمایی 25 درجه سانتی‌گراد (دمای اتاق) انجام شد. سپس نمونه‌ها در ظروف تیره و در سردخانه با دمایی 18- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند [13].

2-2-2- تعیین راندمان روغن سیاه‌دانه

درصد روغن استخراج شده از سیاه‌دانه براساس روش ژانگ و همکاران (2008) و با استفاده از رابطه 1 محاسبه گردید [14]:

رابطه 1

$$W_2 = W_1 \times 100 = \text{راندمان روغن سیاه‌دانه}$$

W₂: مقدار روغن به‌دست آمده از نمونه (گرم) و W₁: مقدار نمونه (گرم).

2-2-3- تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی روغن

سیاه‌دانه

تعیین عدد پراکسید روغن سیاه‌دانه براساس روش AOCS (1997) و مطابق با رابطه 2 محاسبه شد [15].

رابطه 2

$$W = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{AOCS}$$

که در این رابطه S حجم مصرفی تیوسولفات سدیم برای نمونه، B حجم مصرفی تیوسولفات سدیم برای شاهد، N درصد نرمالیت و W وزن نمونه بود.

عدد یدی، عدد اسیدی، صابونی و ضریب شکست این روغن براساس روش AOAC (2010) انجام شد. عدد آنیزیدین نیز طبق همین روش و با استفاده از رابطه 3 محاسبه گردید [16].

رابطه 3-

$$W = \frac{25 \times (AS-AB)}{AOAC}$$

در رابطه بالا، AS میزان جذب محلول حاوی نمونه، AB میزان جذب محلول حاوی نمونه خالص و W وزن نمونه بر حسب گرم بود.

2-2-4- تعیین ترکیب اسید چرب روغن سیاه‌دانه

ترکیب اسیدهای چرب سیاه‌دانه با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) ارزیابی شد. به طور خلاصه، متیل استرهای اسید

2-2-7- تهیه گاناش شکلاتی

تهیه شکلات براساس روش کیم و همکاران (2017) انجام شد. بدین منظور سوربیتول، اسید (محلول 50 درصد) و سوربات به ترتیب به شیر کندانس آماده شده، افزوده گردید. مخلوط حاصل از پری میکسر (با سرعت 50 دور در دقیقه و به مدت 10 الی 13 دقیقه) عبور داده شد. سپس مخلوط فوق به دیگ پخت دیگر که حاوی کرم وانیلی گاناش بود، منتقل و فرآیند اختلاط تا رسیدن به دمای 92 درجه سانتی‌گراد به مدت 5 دقیقه انجام پذیرفت. در انتهای فرآیند اختلاط، فرآیند سیرکولاسیون سه الی چهار نوبت، جهت حصول اطمینان از اختلاط مناسب انجام گرفت. پس از اختلاط کافی، لسیتین محلول شده با کره به فرمولاسیون اضافه شد و فرآیند اختلاط با سرعت 40 دور در دقیقه به مدت 15 دقیقه انجام شد. سپس روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مخلوط قبلی افزوده شد و فرآیند اختلاط با سرعت 50 دور در دقیقه به مدت 3 دقیقه انجام شد. در این پژوهش چهار نمونه شکلات به شرح ذیل تولید شد و آزمون‌های میکروبی و حسی بر روی آن‌ها انجام گردید [19].

نمونه 1: گاناش شکلاتی بدون نگهدارنده (G or Control)
نمونه 2: گاناش شکلاتی بدون نگهدارنده + میکروارگانسیم‌های تلقیح شده به تعداد 5×10^5 cfu/ml (GM)
نمونه 3: گاناش شکلاتی + 3 درصد روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد + میکروارگانسیم‌های تلقیح شده به تعداد 5×10^5 cfu/ml (GOM)

نمونه 3: گاناش شکلاتی + 3 درصد روغن سیاه‌دانه در حالت ریزپوشانی شده + میکروارگانسیم‌های تلقیح شده به تعداد 5×10^5 cfu/ml (GEOM)

2-2-9- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و**کشندگی (MBC) روغن سیاه‌دانه**

در این قسمت ابتدا حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده بر باکتری‌های سالمونلا تیفی موریوم، اشریشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، آسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس به طور جداگانه بررسی شد. همچنین مقایسه اثر این روغن در هر دو حالت (آزاد و ریزپوشانی شده) بر کاهش بار میکروبی شکلات با مغز گاناش ارزیابی گردید.

بدین منظور محیط کشت مولر هینتون برات و سوسپانسیون از هر یک از به طور جداگانه تهیه شد. سپس به میزان 160 میلی‌لیتر محیط مولر هینتون برات، 20 میلی‌لیتر باکتری، 10 میلی‌لیتر از هر کدام از روغن‌های مورد آزمایش با سمپلر به داخل چاهک‌های پلیت در هشت غلظت و در هشت خانه تزریق شد. پلیت‌ها بعد از مخلوط‌شدن در دمای 37 ± 1 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. بعد از 24 ساعت پلیت‌های 96 خانه‌ای از انکوباتور خارج و مشاهده شدند. رشد یا عدم رشد باکتری و میزان کدورت ایجاد شده در داخل چاهک‌ها بررسی شد. طبق تعریف MIC که عبارت است از کمترین غلظتی که باعث ممانعت از رشد یک باکتری می‌شود، نحوه ارزیابی به این صورت بود که آخرین چاهکی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نشد، به عنوان MIC در نظر گرفته شد. به منظور تعیین MBC مواد داخل هر یک از چاهک‌های شفاف روی پلیت حاوی محیط نوترینت آگار کشت سطحی شد. بعد از گرم‌خانه‌گذاری پلیت‌ها، طبق تعریف کمترین غلظتی که باعث از بین رفتن باکتری می‌شود، یعنی پلیتی که در آن هیچ‌گونه باکتری رشد نکرده بود به عنوان MBC در نظر گرفته شد [20].

2-2-10- ارزیابی حسی نمونه‌های گاناش شکلاتی

ارزیابی حسی نمونه‌ها بر مبنای پنج ویژگی طعم (بو و مزه)، بافت‌دهانی، ظاهر، بافت غیردهانی (شامل لطافت و یکپارچگی بافت) و پذیرش کلی انجام شد. 30 نفر ارزیاب زن و مرد از کارکنان کارخانه فرمند (تهران، ایران) انتخاب شدند. ارزیابی به صورت هدونیک نه نقطه‌ای در روز اول، 7، 14، 21 و 28 بین 4 نمونه شکلات با مغز گاناش انجام شد. امتیاز 1 به بدترین کیفیت (بسیار نامطلوب) و امتیاز 9 به بهترین کیفیت (بسیار مطلوب) شکلات اختصاص داده شد. گفتنی است که به نمونه‌ها کد سه رقمی به صورت تصادفی داده و از ارزیاب‌ها خواسته شد که بین دو ارزیابی آب مصرف نمایند.

2-2-8- تجزیه و تحلیل آماری

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار Mini-Tab 17 و به منظور مقایسه میانگین از آزمون توکی با سطح اطمینان 95 درصد استفاده شد ($P < 0.05$). کلیه آزمایش‌ها انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel بود.

3- نتایج و بحث

3-1- راندمان استخراج و ویژگی‌های

فیزیکوشیمیایی روغن سیاه‌دانه

راندمان استخراج روغن سیاه‌دانه 25/5 درصد بود. عدد پراکسید، عدد آنزیدین، عدد صابونی، عدد یدی، ضریب شکست و عدد اسیدی به ترتیب $2/65 \text{ Meq o}_2/\text{kg oil}$ ، $2/83$ ، $103/5$ ، $184/5 \text{ mg KOH/g}$ ، $1/46 \text{ ND40 C}^\circ$ و $9/68 \text{ mgKOH/kg oil}$ بود.

قربای و همکاران (2015) عدد پراکسید روغن سیاه‌دانه مراکشی استخراج شده با حلال و پرس سرد را به ترتیب 11/4 و 3/4 میلی‌اکی والان اکسیژن بر کیلوگرم روغن گزارش کردند. عدد پراکسید روغن استخراج شده در تحقیق حاضر کمتر از عدد پراکسید گزارش شده توسط این محققان بود. در تحقیقات چخ و همکاران (2007) میزان عدد صابونی روغن سیاه‌دانه ایرانی (در روش حلال با هگزان) را 218 میلی‌گرم پتاس بر گرم روغن گزارش نمودند. عدد یدی به طور معمول در بین روغن‌های گیاهی بین 15 تا 150 گرم ید در 100 گرم روغن است. براساس نتایج حاصل از تحقیق قربای و همکاران (2015) عدد یدی روغن استخراج شده از سیاه‌دانه با سوکسله و پرس سرد را به ترتیب 126 و 128 گرم ید در 100 گرم بود. بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره 13392 عدد یدی روغن‌های کنجد، آفتابگردان و ذرت به ترتیب 120-104، 118-141 و ذرت 103-135 گرم ید در 100 گرم روغن است. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و تحقیقات مشابه در زمینه عدد یدی روغن سیاه‌دانه می‌توان گفت عدد یدی این روغن مشابه با روغن کنجد، آفتابگردان و ذرت است.

3-2- ترکیب اسید چرب روغن سیاه‌دانه

اسیدهای چرب شناسایی شده در روغن سیاه‌دانه استخراجی شامل اسید میریستیک، اسید پالمیتیک، اسید پالمیتولیک، اسید استئاریک، اسید اولئیک، اسید لینولئیک و اسید لینولنیک بودند که مقادیر آن‌ها به ترتیب 0/2، 12/5، 0/1، 3/2، 25/7، 57/7 و 0/3 درصد بود. اسید چرب لینولئیک با میزان 57/7 درصد بیشترین اسید چرب روغن سیاه‌دانه بود. همچنین اسید اولئیک و اسید پالمیتیک با میزان 25/7 و 12/5 در رده دوم و سوم قرار گرفتند. نیکاواری و همکاران (2003)، قربای و همکاران (2015)

و کارالان و همکاران (2014) با بررسی اسیدهای چرب روغن سیاه‌دانه سه اسید چرب لینولئیک، اولئیک و پالمیتیک به عنوان عمده ترین اسیدهای چرب این روغن معرفی نمودند که با نتایج پژوهش حاضر مشابهت دارد [22، 23 و 24]. لاترود و همکاران (2010) با بررسی اسیدهای چرب روغن حاصل از پرس سرد شش واریته سیاه‌دانه میزان اسید لینولئیک، اولئیک و پالمیتیک را به ترتیب 58/8-61/2، 22/6-24/5 و 12/5-13 درصد گزارش کردند [25]. براساس نتایج داپورتا و همکاران (2012) میزان اسید لینولئیک، اولئیک و پالمیتیک در روغن سیاه‌دانه تونسسی 50/31، 20/18 و 25/23 درصد و در روغن سیاه‌دانه ایرانی 49/1، 20/17 و 25 درصد بود [26].

3-3- شاخص رنگی روغن سیاه‌دانه در حالت

آزاد و ریزپوشانی شده

شکل 1 نشان‌دهنده شاخص رنگی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد (روغن خالص) و ریزپوشانی شده است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد تیره‌تر از نمونه ریزپوشانی شده، بود.

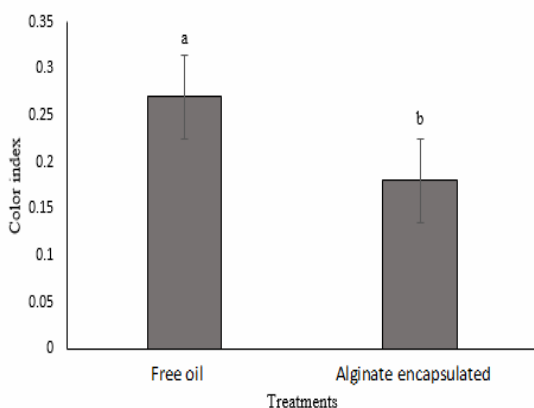


Fig 1 The effect of free and alginate encapsulated oil on color index
Different letters represent significant difference from one another ($p < 0.05$).

رنگ از شاخص‌های مهم بررسی کیفیت روغن‌ها محسوب می‌شود [27]. افزایش شاخص رنگی به انجام فرآیند اکسایشی نسبت داده می‌شود که به طور معمول به تولید هیدروپراکسیدها، اسیدهای دی ان مزدوج، اپوکسیدها، هیدروکسیدها و کتون‌ها منجر می‌گردد. این ترکیبات ممکن است متحمل اکسایش بیشتری شده، به ترکیبات کوچکتری تجزیه شوند یا آنکه متصل به بخش تری‌گلیسریدی باقی بمانند

است [32]. سیاه‌دانه (روغن، عصاره یا اسانس این گیاه) یکی از منابع گیاهی است که برای آن اثرات ضد میکروبی زیادی گزارش شده است. رامادان و همکاران (2012) در زمینه بررسی خواص ضد میکروبی روغن پرس سرد سیاه‌دانه علیه گونه‌های میکروبی متفاوت از قبیل اشیشیاکلی، سودوموناس آئروژنس، استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سوبتیلیس، اسپرژیلوس نایجر، اسپرژیلوس فلاووس، کاندیدا آلبیکانس و ساکارومایسس سرویزیه مشخص شد این روغن علیه همه میکروارگانیسم‌ها به جز اسپرژیلوس نایجر و اسپرژیلوس فلاووس اثر بازدارندگی داشت [33]. اثرات ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در وهله اول با حضور تیموکینون (یکی از ترکیبات عمده در روغن سیاه‌دانه) در ارتباط است. مکانیسم اثر تیموکینون، بازدارندگی آن از سنتز RNA و پروتئین در باکتری است. همچنین آلفا-پینین موجود در روغن سیاه‌دانه نیز دارای فعالیت ضدباکتریایی است [34]. اریسی و همکاران (2005) نیز نتایجی موافق نتایج این پژوهش بدست آوردند. آن‌ها اثر ضد باکتریایی روغن سیاه‌دانه ترکیه را در غلظت‌های مختلف بر اشیشیاکلی بررسی کردند و گزارش نمودند که این روغن در غلظت‌های 1 و 2 درصد اثر بازدارندگی بر این باکتری داشت و با افزایش غلظت از 1 به 2 درصد این اثر افزایش یافت [35]. روژین و همکاران (2012) و طاه‌ها و همکاران (2010) اثرات ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه را با محتوای کینون‌ها (تیموکینون و تیموهیدروکینون) مرتبط دانستند. این ترکیبات با ایجاد کمپلکس برگشت‌ناپذیر با پروتئین‌های هسته باعث غیرفعال شدن پروتئین می‌شوند.

و بر اثر ایجاد اتصالات عرضی، تری‌گلیسیریدهای دیمیری و پلیمیری را پدید آوردند [28]. چرانپوتی و همکاران (2015) از مواد مالتودکسترین، صمغ عربی، نشاسته اصلاح شده و کیتوزان جهت ریزپوشانی عصاره های گیاهی استفاده نمودند. نتایج این محققان نشان داد نمونه‌های پوشش داده شده در مقایسه با حالت آزاد از رنگ روشن‌تری برخوردار بودند [29]. تغییرات رنگ در روغن سیاه‌دانه ممکن است مربوط به اکسایش گاماتوکوفرول به محصولات دیمیری باشد. این فرآیندها به وسیله رادیکال‌های پراکسید چربی افزایش می‌یابند [30]. بنابراین ترکیبات انکسوله شده می‌توانند از اکسایش و تولید ترکیبات مولد رنگ جلوگیری کنند [31].

3-4- فعالیت ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده

جدول 1 نشان‌دهنده حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده بر 5 میکروارگانیسم سالمونلا تیفی موریوم، اشیشیا کلی، استافیلوکوکوس اورئوس، اسپرژیلوس نایجر و کاندیدا آلبیکانس است. نتایج به وضوح نشان می‌دهد بیشترین و کمترین اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه به ترتیب بر روی کاندیدا آلبیکانس و اشیشیاکلی مشاهده شد. برخی از پاتوژن‌های موجود در غذا مانند سالمونلا تیفی موریوم و استافیلوکوکوس اورئوس در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت بالایی دارند، بنابراین شناسایی ترکیبات ضدباکتری طبیعی (منشأ گیاهی) علیه آن‌ها مورد توجه محققان زیادی

Table 1 The effect of antimicrobial activity (MIC and MBC) of free and alginate encapsulated oil by the microdilution method

Microorganism	Free Oil		Encapsulated Oil	
	MIC(μg/ml)	MBC(μg/ml)	MIC(μg/ml)	MBC(μg/ml)
<i>Salmonella typhimurium</i> (PTCC: 1761)	34.77±4.90Cb	38.16±3.03Bb	36.25 ± 0.12 Db	40.11±0.10Cb
<i>Escherichia coli</i> (PTCC:1769)	35.01±5.14Da	39.19±5.34Ba	38.34 ± 0.20 Da	42.88±0.13Ba
<i>Staphylococcus aureus</i> (PTCC:1337)	28.33±2.31Dd	33.33±1.41Bd	31.96 ± 0.21 Dd	36.20±0.45Bd
<i>Aspergillus niger</i> (PTCC:5154)	32.12±6.33Cc	37.19±7.40Bc	34.73 ± 0.71 Dc	39.20±0.26Bc
<i>Candida albicans</i> (PTCC:5027)	26.66±7.98De	31.32±6.53Be	29.61 ± 0.72 De	32.03±0.62Be

Different small letters in each column and capital letters in each row represent significant difference from one another (p< 0.05).

گزارش کردند روغن سیاه‌دانه بر اشیشیاکلی اثر بازدارنده داشت. این محققان علت این امر را اثر بازدارندگی تیموکینون بر اشیشیاکلی، از طریق مهار آنزیم ATP سنتاز و جلوگیری از رشد سلولی دانستند [38]. براساس نتایج تحقیق محجوب و همکاران (2013) اثر روغن سیاه‌دانه و افزایش غلظت آن بر کاهش شمارش استافیلوکوکوس اورئوس اثبات شد [39].

همچنین تیموکینون به پلی‌پپتیدهای دیواره سلولی و آنزیم‌ها و پروتئین‌های محدود شده در غشای پلاسمایی متصل شده و باعث از دست رفتن عملکرد آن‌ها و بازدارندگی رشد قارچ‌ها می‌شود. به علاوه سیاه‌دانه دارای دو پپتید ضدقارچی به نام های Ns-D1 و Ns-D2 است که از اثرات ضدقارچی قدرتمندی برخوردارند [36 و 37]. احمد و همکاران (2015)

به طور کل اثر ضد میکروبی می‌تواند علاوه بر ترکیبات ضد میکروبی موجود در روغن سیاه‌دانه که قبلاً به آن اشاره شد ناشی از اسیدهای چرب موجود در آن شود. در بین اسیدهای چرب اشباع، اسید لوریک (C12) و در بین اسیدهای چرب غیر اشباع (شامل یک پیوند دوگانه)، اسید پالمیتوئیک (C16:1) و در بین چند غیر اشباع (شامل بیش از یک پیوند دوگانه)، اسید لینولئیک (C18:2) بیشترین اثر ضد میکروبی را نشان می‌دهند. معمولاً اسیدهای چرب بر روی باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها تأثیر می‌گذارند، بطوری که اسیدهای چرب 12-16 کربنه فعال‌ترین اسیدها در مقابل باکتری‌ها و 10-12 کربنه فعال‌ترین اسیدها در برابر مخمرها هستند [44]. همانگونه که انتظار می‌رود روغن سیاه‌دانه دارای درصد بالایی از اسیدهای چرب C18:2 است و این عامل باعث شده تا بتواند میزان مخمر را در شکلات با مغز گاناش به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش دهد. این کاهش در مورد استافیلوکوکوس اورئوس نیز قابل مشاهده است. اما کاهشی که در تعداد اولیه اشریشیاکلی صورت گرفته کمتر از کاهش استافیلوکوکوس اورئوس است و علت این امر می‌تواند به این اصل که اسیدهای چرب بر روی گرم مثبت‌ها بیشتر مؤثرند، مربوط باشد.

Table 2 The effect of antimicrobial activity of free and alginate encapsulated oil in chocolate ganache (Log CFU/g)

Microorganism	G (Control)	GM	GOM	GEOM
<i>Salmonella typhimurium</i> (PTCC: 1761)	-	+	-	-
<i>Escherichia coli</i> (PTCC:1769)	0.52 bD	3.11bB	2.84aC	3.47aA
<i>Staphylococcus aureus</i> (PTCC:1337)	1.07 aD	3.25aA	2.14bC	2.41bB
<i>Aspergillus niger</i> (PTCC:5154)	-	2.84cA	1.72cC	1.82cB
<i>Candida albicans</i> (PTCC:5027)	-	2.48dA	1.69dC	1.77dB

Different small letters in each column and capital letters in each row represent significant difference from one another ($p < 0.05$).

G (control): Chocolate with Ganache GM: Chocolate with Ganache + Inoculation of microorganisms GOM: Chocolate with Ganache + free oil + Inoculation of microorganisms GEOM: Chocolate with Ganache + encapsulated oil + Inoculation of microorganisms.

امتیاز ویژگی‌های حسی طی 28 روز نگهداری برخوردار بودند. همچنین نتایج به وضوح نشان داد نمونه گاناش شکلاتی حاوی روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده نسبت به نمونه گاناش شکلاتی حاوی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد دارای ویژگی‌های حسی مطلوب‌تری بود. لازم به ذکر است نمونه گاناش شکلاتی بدون نگهدارنده + میکروارگانسیم‌های تلقیح شده به تعداد 5×10^5 cfu/ml (GM) به دلیل بالا بودن فلور میکروبی و مثبت بودن باکتری سالمونلا تیفی موریوم مورد ارزیابی حسی قرار نگرفت.

همچنین نتایج این بخش نشان داد اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده با آلژینات کمتر از حالت آزاد بود. این امر به دلیل اثر دما بر کاهش ترکیبات زیست فعال روغن سیاه‌دانه طی تهیه امولسیون است [40 و 41]. علاوه بر این به دلیل محصور شدن ترکیبات روغن سیاه‌دانه با آلژینات طی فرایند ریزپوشانی نسبت به حالت آزاد، اثر ضدباکتریایی این روغن با ریزپوشانی کردن کاهش یافت. در این راستا گیل و هالی (2006) و خلیل و همکاران (2015) نتایج مشابهی را با کپسوله کردن اسانس و روغن‌های گیاهی گزارش کردند [42 و 43].

4-5- مقایسه اثر روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد و ریزپوشانی شده بر کاهش بار میکروبی شکلات با مغز گاناش

همانطور که نتایج ارائه شده در جدول 2 نشان می‌دهد با افزودن روغن سیاه‌دانه به فرمولاسیون شکلات با مغز گاناش از بار میکروبی نمونه‌های تولیدی کاسته شد. اما لازم به ذکر است که اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده با آلژینات کمتر از حالت آزاد بود.

4-6- ویژگی‌های حسی

شکل 2 نشان‌دهنده طعم، بافت، ظاهر و پذیرش نمونه‌های گاناش شکلاتی طی 28 روز نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد نمونه گاناش شکلاتی (G) از بیشترین امتیاز و نمونه گاناش شکلاتی + 3 درصد روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد + میکروارگانسیم‌های تلقیح شده به تعداد 5×10^5 cfu/ml (GEOM) از کمترین

ویژگی‌های حسی شکلات نقش مهمی در بازارپسندی و پذیرش آن از جانب مصرف‌کننده دارد [45]. برتری نمونه گاناش شکلاتی حاوی روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده در مقایسه با نمونه گاناش شکلاتی حاوی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد اینچنین می‌توان توجیه نمود که با کپسوله نمودن روغن سیاه‌دانه با آلژینات پایداری روغن در برابر اکسیداسیون افزایش و خواص حسی نامطلوب ناشی از حضور روغن سیاه‌دانه در فرمولاسیون شکلات کاهش یافت. سانکسون و همکاران (2016) با کپسوله نمودن اسانس آویشن و اسطوخودوس جهت تولید بسته‌بندی‌های ضد میکروبی نتایج مثبتی را گزارش کردند. این محققان ریزپوشانی نمودن اسانس و عصاره‌های گیاهی را عامل مؤثر جهت بهره‌مندی از اثرات مفید ترکیبات گیاهی بدون ایجاد تغییرات نامطلوب در ویژگی‌های حسی نمونه‌ها دانستند [46]. لازم به ذکر است گاه ریزپوشانی عصاره و اسانس‌های گیاهی باعث کاهش امتیاز پذیرش کلی (بویژه به لحاظ طعم) می‌شود. به طور مثال پردونز و همکاران (2012) با کپسوله کردن اسانس توت فرنگی با کیتوزان باعث کاهش امتیاز پذیرش کلی فرآورده تولیدی شد [47].

4- نتیجه‌گیری

روغن سیاه‌دانه دارای اثرات مفید برای سلامتی از جمله فعالیت ضد سرطانی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی است. اما پایداری کم این روغن در برابر اکسیدان و طعم تلخ آن مانع باعث شده است تا در صنایع غذایی کاربرد محدودی داشته باشند. ریزپوشانی روغن‌های گیاهی یکی از راهکارهای مؤثر جهت غلبه بر این چالش است. با ترکیبات حامل مختلف می‌تواند بر این چالش‌ها غلبه کند. بنابراین، در این تحقیق روغن سیاه‌دانه توسط آلژینات ریزپوشانی شد. نتایج بدست آمده نشان داد حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و کشندگی (MBC) سالمونلا تیفی‌موریوم، اشریشیاکالی، استافیلوکوکوس اورئوس، اسپرژیلوس‌نایجر و کاندیدا آلبیکانس در حالت آزاد و ریزپوشانی شده روغن سیاه‌دانه مشابه بود. همچنین براساس نتایج بیشترین و کمترین اثر ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه به ترتیب بر روی کاندیدا آلبیکانس و استافیلوکوکوس اورئوس مشاهده شد. عدد پراکسید و رنگ روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد بیش از حالت ریزپوشانی شده بود. نتایج فاز دوم نیز نشان

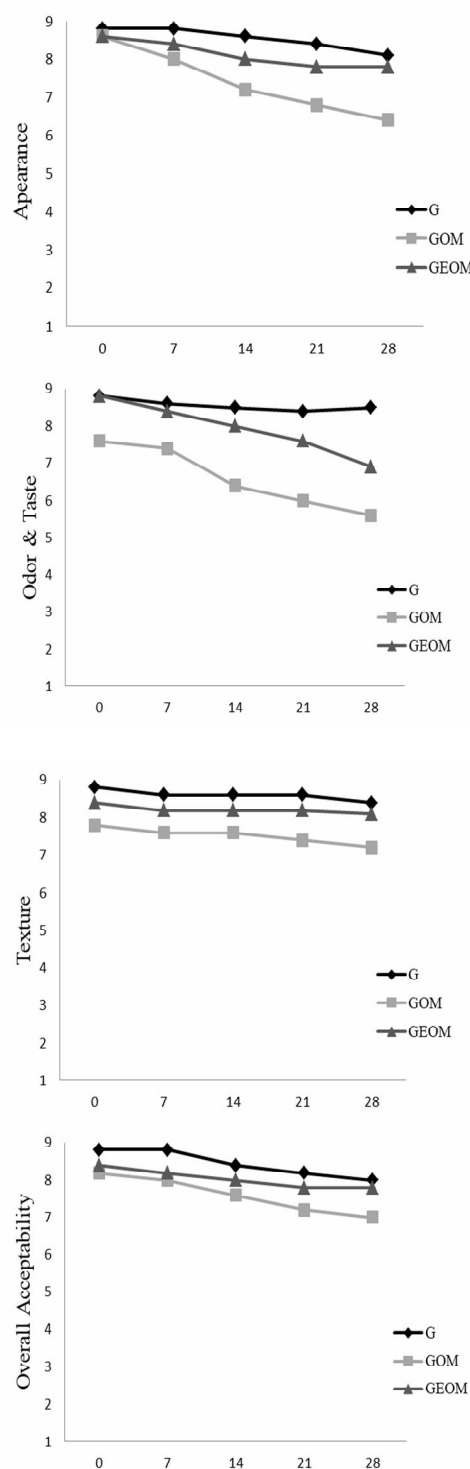


Fig 2 Sensory properties of chocolate ganache treatments during 28 days
 G (control): Chocolate with Ganache GOM: Chocolate with Ganache + free oil + Inoculation of microorganisms GEOM: Chocolate with Ganache + encapsulated oil + Inoculation of microorganisms

- physicochemical properties of microencapsulated fish oil by spray drying. *Food Bioprocess Technology*, 51(8), 348-355. (in Persian).
- [8] Truelstrup-Hansen, L. Allan-Wojtas, P.M. Jin, Y.L. and Paulson, A.T. (2002). Survival of free & Caalginate microencapsulated *Bifidobacterium* spp. in simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiology*, 19(1), 35-45.
- [9] Eratte, D. Wang, B. Dowling, K. Barrow, C.J. and Adhikari, B.P. (2014). Complex coacervation with whey protein isolate & gum arabic for the microencapsulation of omega-3 rich tuna oil. *Food Function*, 5(11), 2743-2750.
- [10] Paoletti, R. Poli, A. Conti, A. and Visioli, F. (2012). *Chocolate and Health*. Springer-Verlag Italia.
- [11] Harrington, W. L. (2011). The Effects of Roasting Time and Temperature on the Antioxidant Capacity of Cocoa Beans from Dominican Republic, Ecuador, Haiti, Indonesia, and Ivory Coast. University of Tennessee, Knoxville, M.S. Trace: Tennessee Research and Creative.
- [12] Eyre, C. (2008). Functional chocolate creeps up on main steam, UPL.
- [13] Özcan, M. M., Al-Juhaimi, F. Y., Ahmed, I. A. M., Osman, M. A., and Gassem, M. A. (2019). Effect of soxhlet and cold press extractions on the physico-chemical characteristics of roasted and non-roasted chia seed oils. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13(1), 648-655.
- [14] Zhang, Z., Wang, L., Li, D., Jiao, S., Dong, X., & Mao, Z. (2008). Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed. *Separation and Purification Technology*, 62(1), 192-198.
- [15] AOCS. (1997). Official methods and recommended practices of the AOCS. American Oil Chemists' Society.
- [16] AOAC. (2010). Official methods of analysis of AOAC International. Volume I, agricultural chemicals, contaminants, drugs/edited by William Horwitz. Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 1997.
- [17] Homayouni, A. Ehsani, M.R. Azizi, A. Yarmand, M.S. and Razavi, S.H. (2007). Effect of Lecithin and Calcium Chloride Solution on the Microencapsulation Process Yield of Calcium Alginate Beads. *IRAN POLYM J*;16(9):597-606 (in Persian).

داد حضور روغن سیاه‌دانه در فرمولاسیون گاناش شکلاتی سبب کاهش بار میکروبی نمونه‌های تولیدی شد. این در حالی بود که عملکرد ضد میکروبی روغن سیاه‌دانه در حالت آزاد بر بار میکروبی مدل غذایی بیشتر از حالت ریزپوشانی شده بود. در نهایت نتایج ارزیابی حسی نشان داد نمونه گاناش شکلاتی شاهد (G) از بیشترین امتیاز و نمونه گاناش شکلاتی حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه به حالت آزاد از کمترین امتیاز ویژگی های حسی برخوردار بودند. با وجود آن که حالت آزاد روغن سیاه‌دانه فعالیت ضد میکروبی بیشتری از خود نشان داد، اما با توجه به اثر مثبت فرایند ریزپوشانی بر شرایط نگهداری (عددپراکسید کمتر و رنگ مطلوب‌تر) و ممانعت از بدطعمی گاناش شکلاتی که به شدت بر بازارپسندی محصول نقش دارد، نمونه گاناش شکلاتی حاوی 3 درصد روغن سیاه‌دانه ریزپوشانی شده با آلزینات به عنوان بهترین نمونه این تحقیق معرفی می‌شود.

5-منابع

- [1] Czemplik, M., Zuk, M., Kulma, A., Kuc, S. and Szopa, J. G.M. (2011). flax as a source of effective antimicrobial compounds. *Sci Microb Pathog Commun Curr Res Technol Adv*. 2:1216-24.
- [2] Silva, V.M., Vieira, G.S. and Hubinger, M.D. (2014). Influence of different combinations of wall materials and homogenisation pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. *Food Res Int*. Jul 1;61:132-43 .
- [3] Roller, S. (1995). The quest for natural antimicrobials as novel means of food preservation: Status report on a European research project. *Int Biodeterior Biodegrad*. 1;36(3):333-45 .
- [4] Fisher, K. and Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends Food Sci Technol*. Mar 1;19(3):156-64 .
- [5] Randhawa, M.A. and Al-Ghamdi, M.S. (2002). A review of the pharmacotherapeutic effects of *Nigella sativa*. *Pak J Med Res*.41(2):77-83.
- [6] Lautenbacher, L.M.(1997). eine neue quelle ungesättigter fettsauren. *Dtsch Apoth-Ztg*. 137(50):68-9 .
- [7] Pourashouri, P. Shabanpour, B. Razavi, S.H., Jafari, S.M., Shabani, A., and Aubourg, S. (2014). Impact of wall materials on

- [29] Chranioti, C. Nikoloudaki, A. and Tzia, C. (2015). Saffron and beetroot extracts encapsulated in maltodextrin, gum Arabic, modified starch and chitosan: Incorporation in a chewing gum system. *Carbohydrate polymers*, 127: 252-263.
- [30] Shahidi, F. and Zhong, Y. (2005). Lipid oxidation: measurement methods. In F. Shahidi (Ed.), *Bailey's industrial oil and fat products*. pp. 357-385 .
- [31] Taghvaei, M. Jafari, S.M. Mahoonak, A.S. Nikoo, A.M. Rahmanian, N. Hajitabar, J. and Meshginfar, N. (2014). The effect of natural antioxidants extracted from plant and animal resources on the oxidative stability of soybean oil. *LWT-Food Science and Technology*, 56: 124-130.
- [32] Mattazi, N., Farah, A., Fadil, M., Chraibi, M., & Benbrahim, K. F. (2015). Essential oils analysis and antibacterial activity of the leaves of *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Mentha piperita* cultivated in Agadir (Morocco). *Int J Pharm Pharm Sci*, 7(9), 73-79.
- [33] Ramadan, M. F. and Mörsel, J. (2004). Oxidative stability of black cumin (*Nigella sativa* L.), coriander (*Coriandrum sativum* L.) and niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) crude seed oils upon stripping. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(1), 35-43.
- [34] Kahsai, A.W. (2002). Isolation and characterization of active ingredients from *Nigella sativa* for antibacterial screening. MSc thesis. East Tennessee State University, USA. Arici M, Sagdic O. and Gecgel U. (2005). Antibacterial effect of Turkish black cumin (*Nigella sativa* L.) oils. *Grasas Aceites*. 56(4):259-62 .
- [35] Rogozhin, E.A., Oshchepkova, Y.I., Odintsova, T.I., Khadeeva, N.V., Veshkurova, O.N. and Egorov, T.A. (2011). Novel antifungal defensins from *Nigella sativa* L. seeds. *Plant Physiol Biochem*. 49(2): 131-137.
- [37] Taha, M., Abdelazeiz, A. and Saudi, W. (2010). Antifungal effect of thymol, thymoquinone and thymohydroquinone against yeasts, dermatophytes and non-dermatophyte molds isolated from skin and nails fungal infections. *Egypt J Biochem Mol Biol*. 23: 109-126.
- [37] Ahmad, Z., Laughlin, T. and Kady, I. (2015). Thymoquinone Inhibits *Escherichia*
- [18] Yoshida, H. and Kajimoto, G. (1989). Effects of Microwave Energy on the Tocopherols of Soybean Seeds. *Journal of food science*, 54(6), 1596-1600.
- [19] Kim, Y.J. Kang, S. Kim, D.H. Kim, Y.J. Kim, W.R. and Kim, Y.M. (2017). Calorie reduction of chocolate ganache through substitution of whipped cream. *J Ethn Foods*. 1;4(1):51-7.
- [20] Wikler, M. and Matthew, A. (2006). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: Approved standard. CLSI (NCCLS). 26(2):9-16.
- [21] Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., Blecker, C., Deroanne, C. and Attia, H. (2007). *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chemistry*, 101(2), 673-681.
- [22] Nickavar B, Mojab F, Javidnia K, and Amoli MAR. (2003). Chemical composition of the fixed and volatile oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z Für Naturforschung C*. 58(9-10):629-31 .
- [23] Gharby, S., Harhar, H., Guillaume, D., and Roudani, A. (2015). Chemical investigation of *Nigella sativa* L. seed oil produced in Morocco. *J. of the Saudi Society of Agricultural Sciences*. 14: 172-177.
- [24] Kiralan, M., Özkan, G., Bayrak, A., and Ramadan, M.F. (2014). Physicochemical properties and stability of black cumin (*Nigella sativa*) seed oil as affected by different extraction methods. *J. Industrial Crops and Products*. 57: 52- 58.
- [25] Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J.J., Parry, J., Gao, J.M., and Yu, L. (2010). Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. *LWT - Food Science and Technology*. 43: 1409-1413
- [26] Da Porto, C., Decorti, D., and Tubaro, F. (2012). Fatty acid composition and oxidation stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) seed oil extracted by supercritical
- [27] Farzaneh, V. and Carvalho, I.S. (2015). A review of the health benefit potentials of herbalplant infusions and their mechanism of actions. *Industrial Crops and Products*. 65: 247-258.
- [28] White, P.J. (1991). Methods for measuring changes in deep-fat frying oils. *Food Technology*, 45: 75-80.

- A. and Tabatabaei, M. (2015). Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 502–508.
- [44] Shilling M, Matt L, Rubin E, Visitacion MP, Haller N. A. and Grey S. F. (2013). Antimicrobial effects of virgin coconut oil and its medium-chain fatty acids on *Clostridium difficile*. *J Med Food*. 16(12):1079–85 .
- [45] Ostrowska-Ligeza, E., Marzec, A., Górska, A., Wirkowska-Wojdyła, M., Bryś, J., Rejch, A., and Czarkowska, K. (2019). A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates. *Thermochimica Acta*, 671, 60–69.
- [46] Sangsuwan, J., Pongsapakworawat, T., Bangmo, P. and Sutthasupa, S. (2016). Effect of chitosan beads incorporated with lavender or red thyme essential oils in inhibiting *Botrytis cinerea* and their application in strawberry packaging system. *LWT*, 74, 14–20.
- [47] Perdones, A., Sánchez-González, L., Chiralt, A. and Vargas, M. (2012). Effect of chitosan–lemon essential oil coatings on storage-keeping quality of strawberry. *Postharvest Biology and Technology*, 70, 32–41.
- coli ATP Synthase and Cell Growth. *PLOS One*. 10(5): e0127802
- [38].Kaveh, S., Mahoonak, A. S., Ghorbani, M., & Jafari, S. M. (2022). Fenugreek seed (*Trigonella foenum graecum*) protein hydrolysate loaded in nanosized liposomes: Characteristic, storage stability, controlled release and retention of antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 182, 114908.
- [39] Mahgoub, S., Ramadan, M., and El-Zahar, K. (2013). Cold pressed *Nigella sativa* oil inhibits the growth of foodborne pathogens and improves the quality of domiati cheese. *J FoodSafet*. 33: 470-480.
- [40] Taylor, T. M., Davidson, P. M., Bruce, B. D., & Weiss, J. (2005). Liposomal nanocapsules in food science and agriculture. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(7–8), 587–605.
- [41] Frascareli, E.C. Silva, V.M. Tonon, R.V. and Hubinger, M.D. (2012). Effect of process conditions on the microencapsulation of coffee oil by spray drying. *Food Bioprod Process*. 90(3):413–24 .
- [42] Gill, A. O., & Holley, R. A. (2006). Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International Journal of Food Microbiology*, 108(1), 1–9.
- [43] Khalili, S. T., Mohsenifar, A., Beyki, M., Zhavah, S., Rahmani-cherati, T., Abdollahi,



Evaluation of free and alginate encapsulated black seed oil on microbial and sensory properties chocolate ganache

Mohimani, B. ¹, Safaeian, Sh. ^{2*}, Mousavi Nadoshan, R. ², Rabbanim, M. ³,
Tavakolipour, H. ³

1. Ph.D Student, Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
4. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 06/ 03

Accepted 2022/ 07/ 21

Keywords:

Food model,
Functional,
Black seed,
Antimicrobial properties,
Encapsulation.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.333

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.28.1

*Corresponding Author E-Mail:
Shila2462462@yahoo.co.in

ABSTRACT

Today, with the rise of awareness and changing attitudes, the demand for healthy foods has increased. The effective compounds of black seed with its antioxidant and antimicrobial properties are of interest to many researchers. The aim of this study was to benefit from the functional properties of black seed oil in a food model. In the first phase, the peroxide index, color and antimicrobial properties of free and alginate encapsulated black seed oil were investigated. In the second phase, microbial and sensory properties of 4 chocolate ganache samples (preservative free (G or Control), preservative free + inoculated microorganisms (GM), containing 3% free black seed oil + inoculated microorganisms (GOM) And containing 3% of encapsulated black seed oil + inoculated microorganisms (GOM)) were compared. The results of the first phase showed that MIC and MBC of free black seed oil on *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* and *Candida albicans* were higher than the encapsulated black seed oil. Also, the highest and lowest antimicrobial effects of black seed oil were observed on *Candida albicans* and *Escherichia coli*, respectively. The peroxide index and color of free black seed oil was more than encapsulated black seed oil. Also, the results of the second phase showed that the presence of black seed oil in the chocolate ganache formulation reduced the microbial load of the produced samples. However, the antimicrobial action of free black seed oil on the microbial load of the food model was more than encapsulated black seed oil. Finally, the results of sensory evaluation showed that chocolate ganache containing encapsulated black seed oil had better sensory properties compared to the sample containing free black seed oil.