مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

تأثیر اسانس ریزدرون پوشانی شده بولاغ اوتی وحشی (*Nasturtium officinale* L.) و شوید (*Anethum graveolens* L.) بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی، رئولوژیکی و ارزیابی حسی دوغ پروبیوتیک

محمدسامی اصولی‌زاده نوبری[1]، شیما یوسفی[2*]، وریا ویسانی[2]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران.

۲- دانشکده علوم کشاورزی و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۴/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۹

کلمات کلیدی:

اسانس،

کپسولاسیون،

دوغ،

فعالیت آنتی‌اکسیدانی،

پروبیوتیک.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.113

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4

* مسئول مکاتبات:

shyousefi81@gmail.com

چکیده

در مرحله اول مطالعه حاضر ترکیبات موجود در اسانس شوید (*Anethum graveolens*) و بولاغ اوتی وحشی (*Nasturtium officinale*) تهیه شده با استفاده از کلونجر، توسط دستگاه GC-Mass مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت بازدارندگی رشد، حداقل غلظت کشندگ باکتری و فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌های مورد نظر در غلظت‌های ۳۵۰mg/L، ۴۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰ و ۶۵۰ در مدت ۶۰ روز جهت شناسایی بهتر اسانس‌های مورد نظر ارزیابی شد. سپس به روش هم‌رسوبی و با استفاده از مالتودکسترین اسانس‌های شوید و بولاغ اوتی در غلظت‌های ذکر شده کپسوله شده و ویژگی‌های توزیع اندازه ذرات و ریخت شناسی مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت برای دست‌یابی به غلظت بهینه اسانس‌های مورد نظر در جهت حفظ بیشتر جمعیت پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس، میزان زنده مانی این باکتری در دوغ طی مدت ۲۱ روز مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله دوم مطالعه، پس از تعیین غلظت بهینه در جهت بررسی تأثیر افزودن اسانس به محصول میزان ماده خشک، pH، اسیدیته، میزان دوفاز شدن، رئولوژی و ارزیابی حسی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد اسانس-های مورد استفاده دارای محتوا ترپنی و فنلی بالایی بوده که سبب بروز فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی مناسبی شدند. میزان ویسکوزیته، ضریب قوام و اسیدیته در محصول نهایی افزایش و میزان pH و دوفاز شدن محصول به طور معنی‌دار کاهش یافت. با توجه به نتایج ارزیابی حسی و عدم ایجاد تأثیر منفی مبنی بر افزودن اسانس‌های مورد مطالعه در غلظت‌های ۴۰۰mg/L و ۵۰۰mg/L به ترتیب برای اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی بر محصول دوغ، امکان تولید صنعتی آن قابل بررسی است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]

[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

۱- مقدمه

دوغ یک نوشیدنی ایرانی بر پایه ی لبنیات است که در اکثر موارد در مقیاس صنعتی از ماستی که اسیدیته ی بالایی دارد، تهیه می‌شود. مدت نگه‌داری این محصول یک ماه بوده، در نخستین روزهای تهیه، به دلیل pH پائین دو فاز می شود. به عبارتی آب موجود در محصول از لخته‌ی کازئینی آن جدا شده، در بالای ظرف قرار می‌گیرد [۱]. دوغ با ویژگی‌های تکنولوژیک و سلامت بخش خود از پرطرفدارترین محصولات شیری است که جای دادن باکتری‌های پروبیوتیک در این محصول می‌تواند به ارتقای سلامت جامعه کند. همچنین دوغ به علت pH پایین و غنی بودن از مواد مغذی به خصوص در دمای محیط، مستعد آلودگی با کپک‌ها و مخمرها و بعضی از باکتری‌ها می‌باشد که موجب تغییر طعم و عطر محصول و بادکردگی آن در طول زمان نگهداری می‌شود [۱].

شوید (Dill) با نام علمی (*Anethume graveolen* L.) گیاه یک ساله‌ای است که در قسمت‌های مختلف ایران از جمله نواحی جنوبی بطور گسترده‌ای کاشته می‌شود. به طور کلی از برگ‌ها و تخم شوید به عنوان چاشنی استفاده می‌شود. شوید از زمان‌های قدیم برای رفع مشکلات گوارشی دستگاه گوارشی مورد استفاده قرار میگیرد، قسمت اعظم عصاره میوه شوید، د -کارون، لیمونن، آلفا-فلاندرن هست که هر سه ۹۰ درصد عصاره را شامل می‌شوند. عصاره شوید دارای خاصیت ضد میکروبی، درمان کمبود اشتها، کاهش چربی، درمان درد معده، سرماخوردگی، مشکلات مجاری ادراری، مشکلات مجاری گوارشی، برونشیت، تشنج و اسپاسم موثر است [۲]. همچنین خواص ضدقارچی و ضدباکتریایی اسانس شوید تایید شده است. مواد موثره اسانس شوید، دو ترکیب عمده د-کارون و لیمونن هستند که دارای اثر انتی اکسیدانی نیز می باشند [۳].

گیاه بولاغ اوتی با نام علمی *Nasturtium officinale* L. از تیره شب بو می‌باشد که از زمان گذشته به عنوان گیاه دارویی در ایران، آذربایجان، مراکش استفاده شده و به علف چشمه معروف است. گیاه بولاغ اوتی دارای ترکیبات گلوکوناستورین و انواع ویتامین‌ها (B_1, B_2, B_3, B_6, E, C) و نیز دارای فلاوونوئیدهای مهمی از جمله لوتئین و کوئرستین است [٤]. این گیاه دارای خواص دارویی گسترده است و در کاهش قند خون بالا، چربی خون بالا، فشار خون بالا و بیماری قلبی عروقی و ریوی موثر است. گیاه بولاغ اوتی دارای بتاکاروتن، اسید اسکوربیک، کلسیم و اسید فولیک، آهن، فسفر، ید و اسید های امینه است. این گیاه به صورت خام یا پخته در سالاد، سوپ و سایر غذاهای اروپایی و ترکی و همچنین برای درمان درد شکم در طب سنتی استفاده می شود [۵].

در این تحقیق با بررسی اثر اسانس گیاهان بولاغ اوتی و شوید به صورت درون پوشانی شده، سعی شده است تا کارایی و خواص ترکیبات آنتی اکسیدانی و میکروبی این اسانس ها بر میزان کیفیت دوغ پروبیوتیک با انجام آزمون های فیزیکوشیمیایی آن مشخص شود. در نتیجه هدف از این پژوهش، تولید دوغ پروبیوتیک بر پایه اسانس های درون پوشانی شده با ویژگی های فیزیکوشیمیایی، مطلوب خواهد بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه اسانس گیاهان بولاغ اوتی و شوید و بررسی ترکیبات آن‌ها

۲۰۰ گرم گیاه بولاغ اوتی و شوید در سایه و در شرایط مناسب خشک شد سپس در بالن ۱۰۰mL ریخته و تا نیمه از آب مقطر پر گردید. اسانس گیاه بولاغ اوتی و شوید با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت به روش تقطیر با آب استخراج گردید. سپس به منظور تعیین اجزای اسانس و ترکیب درصد آن‌ها، با استفاده از کروماتوگرافی گازی مجهز به طیف سنج جرمی MS-GC آنالیز شد. به این منظور از ستون ZB-WAX (۲۰متر طول، ۰/۱۸ میلی‌متر قطر داخلی و ۱۸/۱۰ میکرومتر ضخامت) و هگزان به عنوان رقیق کننده استفاده شد. به میزان ۱ میکرون نمونه رقیق شده در هگزان به دستگاه تزریق شد به گونه‌ای که دمای تزریق ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. برنامه دمایی دستگاه بدین صورت که دمای اولیه آن ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه با گرادایان دمایی ۳ درجه سانتی گراد در هر دقیقه تا دمای نهایی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. در نهایت دمای محفظه یونیزه کننده دستگاه Mass spectrometry بر ۱۵۰ درجه سانتی‌گراد، دمای ۲۳۰ درجه سانتی‌گراد برای تشخیص دهنده (Detector) و انرژی یونیزاسیون ۷۰eV تنظیم گردید. شناساگر مورد استفاده از نوع چهار قطبی بوده و بازه‌ی اسکن جرمی بین ٤۰m/z تا ۵۵۰m/z در نظر گرفته شد[٦].

۲-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌های تولیدی

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

ارزیابی حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC) روی باکتری‌های *سالمونلا* و *اشرشیا کلی*، *استافیلوکوکوس اورئوس* و *لیستریا مونوسایتوژنز* انجام شد. در ابتدا برای تهیه سوسپانسیون میکروبی، چند کلنی از کشت تازه و ۲٤ ساعته باکتری به محیط کشت نوتریت آگار منتقل و کدورتی معادل با نیم مک فارلند (معادل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ باکتری در هر میلی لیتر) تهیه و جذب نوری در طول موج ٦۳۰ نانومتر خوانده شد. سپس این سوسپانسیون به نسبت ۰/۰۱ رقیق شد تا کدورت $۱/۵ \times ۱۰^{٦}$ بدست آمد. برای تعیین حداقل غلظت ممانعت کننده رشد (MIC)، رقت‌های متوالی از اسانس گیاهان تا رقت $۱۰^{۱۲}$ در در لوله‌های آزمایش استریل حاوی ۱۰ میلی لیتر براث تهیه شد. سپس همه لوله‌های آزمایش به مدت ۲٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. پس از گرمخانه گذاری، کدورت ناشی از رشد باکتری تلقیح شده از طریق خواندن جذب در طول موج ٦۳۰ نانومتر مورد بررسی قرار گرفت. حداقل غلظت اسانس که در آن تغییر دانسیته نوری مشاهده نشود به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی محاسبه شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، از تمام لوله‌هایی که در آن‌ها باکتری رشد نکرده، نمونه برداری شد و بر روی محیط کشت جامد نوترینت آگار کشت سطحی انجام شد. در ادامه برای بررسی رشد یا عدم رشد باکتری‌ها، تشتک‌ها به مدت ۲٤ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. لوله‌ای که حاوی کمترین غلظت اسانس باشد و در پلیت مربوطه عدم رشد باکتریایی مشاهده گردد به عنوان MBC در نظر گفته شد [۷].

۲-۳- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس‌ها به روش به دام اندازی رادیکال آزاد DPPH

اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) DPPH انجام شد. این روش برای تعیین مقدار فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد بکار می‌رود. واکنش بر اساس کاهش رنگ رادیکال آزاد پایدار در اثر قرار گرفتن اتم هیدروژن از ترکیبات آنتی اکسیدانی می‌باشد و از رنگ بنفش به رنگ زرد تبدیل خواهد شد. در این روش، ۵۰ میکرولیتر از اسانس‌ها، با ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰٤٪ DPPH مخلوط گردید. محلول کنترل از ترکیب ۲ میلی‌لیتر DPPH و ۲ میلی‌لیتر متانول تهیه شد. سپس محلول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی و در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر در مقابل شاهد متانول خوانده شد. درصد مهار رادیکال آزاد (I%) هر اسانس به کمک فرمول محاسبه شد [٦]:

$$\%I = (A_{control} - A_{sample}) / A_{control} \times 100 \quad (۱-۳)$$

۲-٤- درون پوشانی اسانس‌ها به روش هم‌رسوبی (Coacervation)

فرایند درون پوشانی اسانس‌های گیاهی با استفاده از پلیمر مالتودکسترین و به روش هم‌رسوبی انجام شد. در این روش ابتدا ۳۰ گرم مالتودکسترین به ml ۷۰ آب مقطر اضافه و به مدت یک ساعت همزده شد. برای انحلال کامل مالتودکسترین، فرایند حرارت دهی تا دمای ٤۰ درجه سانتیگراد انجام شد تا یک محلول شفاف و یکنواخت بدست آمد. سپس مقادیر مختلف از اسانس‌های تولید شده از گیاه بولاغ اوتی و شوید (۳۵۰، ٤۰۰، ۵۰۰، ٦۰۰ و ٦۵۰ میلی گرم) به محلول مالتودکسترین اضافه شد و با هموژنایزر با دور rpm ۱۰۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه هموژن شد. در ادامه برای تهیه رسوب از اتانول به عنوان ضدرسوب استفاده شد. در مرحله بعد، ml ۱۰۰ اتانول در یک ارلن ml ۲۵۰ ریخته و در حالیکه با همزن مغناطیسی همزده شد، محلول پلیمری مالتودکسترین حاوی اسانس‌ها حاصل از مرحله قبل، قطره قطره به مدت ۳۰ دقیقه به اتانول اضافه گردید و به این ترتیب رسوب‌های ریز پلیمری تشکیل شد. پس از کامل شدن رسوب گیری، رسوب حاصل صاف و به روش خشک کن تصعیدی خشک و پودر شدند [۸].

۲-۵- توزیع اندازه و ریخت شناسی کپسول-های تولیدی

جهت بررسی توزیع اندازه ذرات پودر اسانس‌های درون پوشانی شده، از دستگاه مخصوص اندازه گیری ذرات (Particle Size Analyser) مدل Malvern 2000، ساخت کشور انگلستان استفاده شد. در این روش، ابتدا مقدار کمی از نمونه در ۲ -پروپانول حل و سپس چند قطره از آن به مخزن حوضچه مانند دستگاه که حاوی آب بود اضافه شد. اندازه گیری ذرات بر اساس تفرق نور لیزر و با چند بار مکش آب مخزن که حاوی نمونه بود انجام پذیرفت [۹].

ویژگی مورفولوژی سطح کپسول‌های تولید شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی (KYKY, EM3200-KYKY) مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۰].

۲-٦- تولید دوغ فراسودمند

ابتدا شیر خام پس‌چرخ در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه پاستوریزه شد. سپس تا دمای ٤٤ درجه سانتی‌گراد سرد شد و استارتر ماست طبق دستورالعمل شرکت سازنده آن

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

به شیر اضافه شد. مخلوط در دمای ٤٤ درجه سانتیگراد گرم‌خانه‌گذاری گردید تا pH به ٤/٦ برسد. بعد از تهیه ماست، دوغ با نسبت ٥٠ درصد آب حاوی یک درصد نمک و ٥٠ درصد ماست تهیه شد [١١]. مطابق با جدول ٢-١، باکتری *پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم لاکتیس* در مقدار ثابت و اسانس درون پوشانی شده بولاغ اوتی در پنج سطح (٣٥٠، ٤٠٠، ٥٠٠، ٦٠٠ و ٦٥٠ میلی‌گرم بر میلی لیتر) و اسانس درون پوشانی شوید در پنج سطح (٣٥٠، ٤٠٠، ٥٠٠، ٦٠٠ و ٦٥٠ میلی‌گرم بر میلی لیتر) در دوغ‌های مختلف اضافه شد. تیمارها در طول دوره آزمایش در دمای ٤ درجه سانتیگراد نگهداری و در روزهای ١، ٧، ١٤ و ٢١ پس از تولید مورد ارزیابی قرار گرفتند.

٢-٧- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی دوغ فراسودمند

٢-٧-١-ارزیابی زنده مانی باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94)

تعداد سلول‌های زنده مانده باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* (LAFTI-B94) در هر یک از نمونه‌های دوغ در فواصل زمانی مختلف (١، ٧، ١٤ و ٢١ روز) تعیین گردید [١٢]. به این منظور نمونه‌های دوغ توسط محلول بافری آب پپتونه و به روش سریالی رقیق شده و سپس روی محیط کشت اختصاصی MRS-NNLP[1] کشت داده شد. در نهایت شرایط گرمخانه گذاری ٣٧ درجه سانتی‌گراد به مدت ٧٢ ساعت در شرایط بی هوازی تنظیم گردید.

٢-٧-٢- اندازه گیری مواد جامد کل (ماده خشک بدون چربی شیر)

ماده خشک دوغ به روش حرارت دادن دوغ در آون معمولی در دمای ٢±١٠٣ درجه سانتیگراد تا ثابت شدن وزن آن و اندازه گیری وزن باقیمانده انجام گرفت [١٣].

٢-٧-٣- اندازه‌گیری اسیدیته قابل تیتراسیون

اندازه گیری اسیدیته بر طبق روش استاندارد ملی ایران به شماره ٢٨٥٢ و بر حسب اسید لاکتیک انجام گرفت. در این روش، ١٠ میلی لیتر از هر نمونه را با آب مقطر به حجم ١٠٠ میلی لیتر رسید و با سود ٠/١ نرمال و معرف فنل فتالین تا ظهور رنگ صورتی کمرنگ تیتر شد. اسیدیته بر حسب درصد لاکتیک اسید محاسبه گردید.

1. Nalidixic acid, neomycin sulfate, lithium chloride, and paromomycin sulfate

٢-٧-٤- اندازه‌گیری pH

برای تعیین pH نمونه‌های دوغ، بعد از کالیبراسیون دستگاه pHمتر توسط بافر استاندارد ٤ و ٧، الکترود pH متر مستقیما در داخل نمونه‌های دوغ قرار گرفت و pH قرائت گردید. قبل از اندازه‌گیری، نمونه‌ها هم زده شدند.

٢-٧-٥- بررسی میزان دو فاز شدن دوغ

ارزیابی دو فاز شدن تیمارهای مختلف دوغ تولیدی، مطابق با روش لقایی و زمردی (١٣٩٥) اندازه گیری شد. برای بررسی میزان دو فاز شدن و جداسازی سرم، نمونه‌های دوغ به لوله-های فالکون ٥٠ میلی لیتری منتقل و در یخچال (دمای ٤ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. سپس میزان فاز سرمی اندازه گیری و بر مقدار دوغ درون فالکون تقسیم و بصورت درصد بیان شد[١٤].

٢-٧-٦- ارزیابی رفتار جریانی در تیمارهای دوغ تولیدی

برای بررسی رفتار جریانی دوغ و اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها، از دستگاه ویسکومتر بروکفیلد (LV-DVII) استفاده شد. به طوری که نمونه‌های دوغ درون محفظه استوانه ای ١٦ میلی لیتری ریخته شد و با استفاده از اسپندل شماره ٦١، سرعت برشی و تنش برشی در سرعت‌های ١٠ تا ٢٠٠ دور بر دقیقه، اندازه گیری شد [١٥].

٢-٧-٧- ارزیابی میکروبی

ارزیابی میکروبی تیمارهای مختلف دوغ جهت بررسی شمارش باکتری های کلی‌فرم‌ها، *اشرشیا کلی*، کپک و مخمر، *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شد. برای شمارش کپک و مخمر از محیط کشت YGC Agar استفاده شد و بعد از گرمخانه‌گذاری در دمای ٢٥ درجه سانتیگراد، بعد از سه تا پنج روز شمارش کلنی‌ها صورت گرفت. برای شمارش *استافیلوکوکوس اورئوس* نمونه‌ها در محیط کشت MSA[2] کشت شدند و بعد از گرمخانه گذاری پلیت‌ها در دمای ٣٧ درجه سانتیگراد، پس از ٢٤ تا ٤٨ ساعت کلنی‌ها شمارش شدند. همچنین برای شمارش *اشرشیا کلی* از محیط کشت VRBA[3] و گرمخانه گذاری در دمای ٣٧ درجه سانتیگراد به مدت ٢٤ ساعت استفاده شد [١٦].

٢-٧-٨- ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ فراسودمند

ارزیابی حسی تیمارهای مختلف دوغ توسط گروه‌های ارزیاب حسی با استفاده از آزمایش تمایل مصرف‌کننده و روش

2. Mannitol salt agar
3. Violet Red Bile Agar

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

هدونیک ۵ نقطه‌ای تعیین شد. برای این آزمون، تعداد ۲۰ نفر انتخاب شدند تا نمونه‌ها را از نظر شاخص‌های طعم، احساس دهانی و پذیرش کلی مورد بررسی قرار دهند. از هر تیمار تعداد ۲۰ نمونه یکسان تهیه و همراه با فرم مخصوصی که دارای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای بود به افراد داده شد تا با توجه به ذائقه خود فرم‌ها را تکمیل کنند. برای این منظور امتیاز ۵ برای کیفیت عالی و امتیاز ۱ برای کیفیت خیلی بد اختصاص داده شد. در بین فرم‌های تکمیل شده ارزیابی کلی مصرف کننده بصورت یک ارزش عددی در آورده شد و مطابق طرح آزمایشی آنالیز گردید [۱۷].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه تحلیل دستگاهی اسانس گیاهان بولاغ اوتی وحشی و شوید

با توجه به جدول ۱، اسانس شوید استخراج شده دارای محتوا بالایی از ترکیبات ترپنی در حدود ٦۰/۷۳ ٪ که شامل Carvone و مشتقات آن و همچنین Lemonene بوده است. Apiol که ترکیبی فنیل پروپن بوده به میزان ۳۰/۹۵ ٪ در اسانس به دست آمده وجود داشت. Babri و همکاران در سال ۲۰۱۲ با بررسی ترکیبات موجود در اسانس شوید دریافتند کلیه ترکیبات ترپنی در حدود ٦۸ ٪ و ترکیب Apiol به میزان ۳۰/۸۱ ٪ وجود داشته که نشان از استخراج مناسب اسانس شوید در این مطالعه دارد[۱۸]. همچنین مطابق جدول ۲، اسانس بولاغ اوتی وحشی دارای حدودا ۷٦/۰٤ ٪ ترکیبات ترپنی بوده که در مقایسه با مطالعه امیری در سال ۲۰۱۲، این میزان در حدود ۷۵ ٪ بود که حاکی از استخراج قابل قبول اسانس طبق روش مورد نظر این مطالعه بوده است[۱۹].

Table 1 Evaluation of chemical compounds in *Anethum graveolens* essential oil

Compounds	RT (min)	Concentration (%)
E,E-2,6-dimethyl-3,5-octatetraene	5.763	0.783
Limonene	6.970	12.938
Gamma-terpinene	7.404	0.152
m-cymene	8.177	0.594
Trans-dihydrocarvone	10.924	10.799
R-(-)-carvone	13.009	36.899
S-(+)-carvone	13.581	0.104
1-methoxy-4-[1-propenyl]-benzene	14.401	1.054
Myristicin	18.978	0.724
Apiol	22.253	30.952

Table 2 Evaluation of chemical compounds in *Nasturtium officinale* essential oil

Compounds	RT (min)	Concentration (%)
α-Pinene	15.583	0.399
β-Pinene	16.233	2.601
β-Myrcene	16.466	0.882
Limonene	17.083	43.623
Trans- β -ociemen	17.416	0.727
α-Terpinolene	18.116	19.668
p-Cymene-8-ol	19.720	7.618
α-Terpineol	19.866	2.282
α-Copaen	22.864	1.100
β-Caryophyllene	23.566	6.402
α-Humulene	24.153	1.503
β-Sesquiphellandrene	25.383	0.501
Caryophyllene oxide	26.759	6.360
δ-Cadinol	27.516	1.056

۳-۲- تعیین حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) اسانس‌های تولیدی

مطابق جدول ۳، حداقل غلظت اسانس شوید مورد نیاز برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های گرم منفی *سالمونلا* و *اشرشیاکلی* برابر ۰/۱۸ µg/mL بود که به طور معنی‌دار نسبت به مقدار لازم جهت بازدارندگی از باکتری های گرم مثبت

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

کمتر است. از طرف دیگر، حداقل غلظت مورد نیاز برای از بین بردن باکتری‌های *سالمونلا* و *اشرشیاکلی* معادل µg/mL ۰/۳۶ (دو برابر غلظت مورد نیاز جهت جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های گرم منفی) بوده که به طور معنی‌دار نسبت به باکتری‌های گرم مثبت مقادیر کمتری را به خود اختصاص داد. در مقابل برای جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه، غلظت‌های بالاتر اسانس بولاغ اوتی وحشی نسبت به اسانس شوید مورد نیاز بود. ترکیبات ترپنی و فنیل پروپن موجود در اسانس شوید سبب ایجاد خواص ضد میکروبی مناسبی در مقابل میکروارگانیسم‌های گرم منفی و گرم مثبت شده است. از جمله این ترکیبات می‌توان به Cymene اشاره کرد که خواص ضد میکروبی و ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. به گونه‌ای که این ترکیبات به دلیل خواص آبگریزی سبب ایجاد تورم در غشا سیتوپلاسم میکروارگانیسم‌ها داشته و این طریق سبب نابودی آن‌ها می‌شوند[۲۰].سایر ترکیبات ترپنی موجود در این اسانس همچون Carvone و Limonene به سبب تمایلی که به ایجاد پیوند با کلسترول موجود در غشاء سیتوپلاسم دارند سبب ایجاد حفره و در نهایت مرگ سلول می‌شوند[۲۱].

Table 3 Evaluation of minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of *Nasturtium officinale* and *Anethum graveolens* essential oils

Essential oil / Microorganism	*Nasturtium officinale*		*Anethum graveolens*	
	MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)	MBC (µg/mL)	MIC (µg/mL)
Staphylococcus aureus	0.50^{c}	0.25^{c}	0.36^{c}	0.18^{c}
Listeria monocytogenes	0.50^{c}	0.25^{c}	0.36^{c}	0.18^{c}
Salmonella	2.10^{a}	1.05^{a}	1.14^{a}	0.73^{a}
Escherichia coli	1.05^{b}	0.50^{b}	0.73^{b}	0.36^{b}

Superscript lower letters (a–c) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

مطابق جدول ۳ باکتری های گرم مثبت دارای حساسیت بیشتری در برابر اسانس گیاهان مورد نظر می باشد. این امر می تواند به دلیل اختلاف در ساختمان دیواره سلولی باکتری ها می باشد. باکتری های گرم مثبت در دیواره خود دارای موکوپپتید[1] بوده، در حالیکه باکتری های گرم منفی فقط لایه نازکی از موکوپپتید دارند و قسمت اعظم ساختمان دیواره در آنها لیپوپروتئین[2] و لیپوپلی ساکارید[3] است. اسانس بولاغ اوتی وحشی نیز از ترکیبات فعال در زمینه خواص ضد میکروبی غنی بوده است. ترکیباتی همچون Terpinolene، Cymene و Limonene که خواص ضد میکروبی آن‌ها در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است[۲۲،۲۳]. یکی از دلایل خواص ضدمیکروبی بالاتر اسانس شوید نسبت به اسانس بولاغ اوتی وحشی، بیشتر بودن ترکیبات ترپنی و وجود ترکیب فنیل پروپن است.

۳-۳- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به روش به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH

همانطور که در جدول ٤ نشان داده می‌شود، با افزایش غلظت اسانس شوید از mg/L ۳۵۰ تا mg/L ٦٥٠ میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به طور معنی‌دار تا میزان حداکثر ۱۵/۰۱ ٪ افزایش یافت. در مقابل فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بولاغ اوتی وحشی به طور کلی در غلظت یکسان نسبت به اسانس شوید کمتر بوده است. حداکثر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس بولاغ اوتی وحشی در غلظت mg/L ٦٥٠ برابر ۱۳/۷۹ ٪ بود. گروه هیدروکسیل موجود در ساختار ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی موجب انتقال هیدروژن از این ترکیبات به رادیکال‌های DPPH می-شوند. این نتایج در راستای مطالعه عشاقی و همکاران در سال ۲۰۱٦ بود، به طوری که آن‌ها بیان کردند عمده فعالیت آنتی اکسیدانی شوید به ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در این اسانس مربوط می‌شود[٢٤]. براساس مطالعه سایر محققین، Limonene در بین ترکیبات موجود در اسانس از فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری برخوردار است[۲۵]. مطابق جدول ٤ با افزایش غلظت اسانس میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دلیل افزایش ترکیبات فنلی و ترپنی افزایش قابل ملاحظه‌ای داشت. اسانس شوید به دلیل بیشتر بودن ترکیبات ترپنی در مجموع و Apiol به عنوان ترکیبی فنلی از خواص آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به اسانس بولاغ اوتی وحشی برخوردار بود.

1. MucoPeptid
2. Lipoprotein
3. Lipopolysaccharide

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

Table 4 Evaluation of antioxidant activity (%) of *Nasturtium officinale* and *Anethum graveolens* essential oils in different concentrations

Essential oil	Concentration (mg/L)				
	650	600	500	400	350
Anethum graveolens	15.01±0.21[a]	13.91±0.27[a]	10.50±0.23[a]	8.37±0.20[a]	7.65±0.25[a]
Nasturtium officinale	13.79±0.25[b]	11.15±0.30[b]	7.41±0.26[b]	5.16±0.19[b]	4.13±0.23[b]

Superscript lower letters (a–b) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

۳-٤- توزیع اندازه و ریخت شناسی کپسول‌های تولیدی

همانگونه که در شکل ۱ نشان داده می‌شود، غلظت و نوع اسانس در محدوده تعریف شده (۳۵۰mg/L تا ٦۵۰) تأثیر چندانی بر شکل ظاهری کپسول‌های تشکیل شده مالتودکسترین نداشت. محدوده اندازه کپسول‌های تشکیل شده نیز وابستگی چندانی به نوع و غلظت اسانس نداشت به طوری که در نمونه‌های اسانس شوید در مجموع محدوده اندازه ذرات کپسول از ۲۰/۱۰µm تا ۳۲/۹۳ µm بود و این مقادیر در مورد اسانس بولاغ اوتی وحشی بین ۰۹/۳۰ µm تا ٦۹/۵۳ µm متغیر بود (جدول ۵). فرآیند خشک کردن تصعیدی از سه مرحله تشکیل شده است. مرحله اول فریز شدن، مرحله دوم خشک شدن اولیه و مرحله آخر مربوط به خشک شدن ثانویه است.

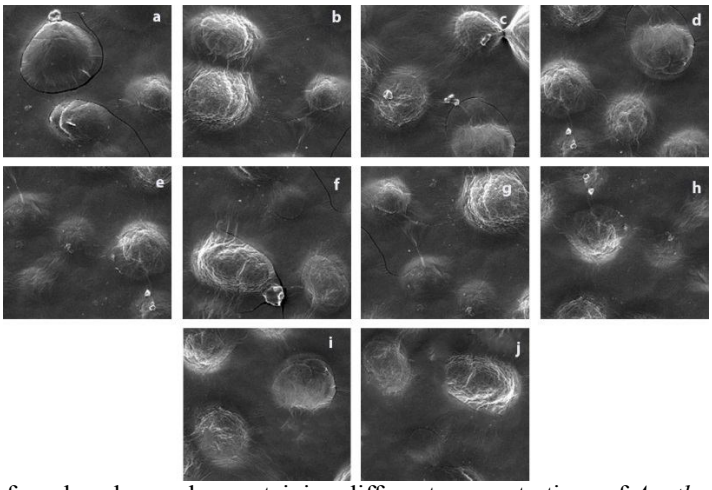

Fig 1 SEM images of produced capsules containing different concentrations of *Anethum graveolens* L. and *Nasturtium officinale* L. essential oils at 80% magnification. (a) 350 mg/L, (b) 400 mg/L, (c) 500 mg/L, (d) 600 mg/L and (e) 650 mg/L of *A. graveolens* essential oil. (f) 350 mg/L, (g) 400 mg/L, (h) 500 mg/L, (i) 600 mg/L and (j) 650 mg/L *N. officinale* essential oil.

در مرحله اول دمای کپسول‌های تشکیل شده به روش هم رسوبی کاهش پیدا کرده و پیوندهای مابین مولکول‌های آب و سایر ترکیبات با قدرت باقی می‌مانند که سبب می‌شود آب موجود در این پیوندها منجمد نشوند. مرحله دوم فرآیند مربوط به تصعید کامل مولکول‌های آب منجمد شده بوده و در نهایت مولکول‌های آب منجمد نشده در مرحله نهایی از محیط خارج می‌شوند. خروج آب‌های منجمد نشده در محیط می‌تواند سبب آسیب به ساختار کپسول‌های تشکیل شده به روش هم‌رسوبی شود. بعضی ترکیبات نقش محافظت کنندگی داشته و از ایجاد آسیب به ساختار کپسول در طول فرآیند خشک کردن محافظت می‌کنند. Muhoza و همکاران در سال ۲۰۲۰ بیان داشتند که افزودن ترهالوز و در مجموع قند در هنگام تشکیل کپسول به روش هم‌رسوبی، نقش محافظت کنندگی داشته و سبب ایجاد کپسول‌هایی کروی و بدون منفذ می‌شود. همچنین این ترکیب از رشد کریستال‌های درشت جلوگیری کرده و از این طریق سبب جلوگیری از آسیب به ساختار کپسول می‌شود[۲٦]. Gheonea و همکاران در سال ۲۰۲۱، به بررسی کپسوله کردن لیکوپن موجود در گوجه به روش هم‌رسوبی و استفاده از خشک کردن تصعیدی پرداختند. آن‌ها بیان کردند کپسول‌های تشکیل شده دارای سطوحی نرم و بدون آسیب دیدگی یا حفره بوده که سبب ایجاد کپسول‌هایی گرد با دیواره‌ای پیوسته شد[۲۷]. نتایج مطالعه حاضر نیز با

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

نتایج Gheonea و همکاران در سال ۲۰۲۱ مطابقت داشته است. همانطور که در شکل ٤-١ مشاهده می‌شود، ظاهر کپسول‌های تشکیل شده برای اسانس‌های مورد استفاده در دوغ به روش هم‌رسوبی و خشک کردن تصعیدی نرم و بدون آسیب دیدگی و یا حفره بوده است. همچنین کپسول‌هایی با اندازه یکنواخت و کروی شکل نتیجه استفاده توام روش‌های هم‌رسوبی و خشک کردن تصعیدی بود.

Table 5 Capsule particle size range (μm) containing *Nasturtium officinale* and *Anethum graveolens* essential oils in different concentrations

Essential oil	Concentration (mg/L)				
	650	600	500	400	350
Anethum graveolens	20.10-78.01	21.11-32.93	20.10-01.34	20.10-35.13	20.10-12.75
Nasturtium officinale	21.10-61.24	20.10-09.30	21.10-41.76	20.11-73.15	20.10-69.53

۳-۵- بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی دوغ فراسودمند

۳-۵-۱- ارزیابی زنده مانی باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس*

هدف از این آزمون تعیین غلظت مناسب اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی به منظور حفظ بیشترین جمعیت پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* بوده است. یکی از مهم‌ترین مشخصه‌های محصولات پروبیوتیک، وجود حداقل میزان کفایت بار پروبیوتیک در هنگام مصرف توسط مصرف کنندگان است بدین منظور بررسی اسانس‌های افزوده شده در دوغ و تأثیر آن‌ها بر باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* حائز اهمیت است. مطابق شکل ۲، اسانس شوید در غلظت‌های ٥٠٠ mg/L تا ٦٥٠ mg/L باعث سرکوب جمعیت پروبیوتیکی محصول در طول دوره نگهداری (۲۱ روزه) شد.

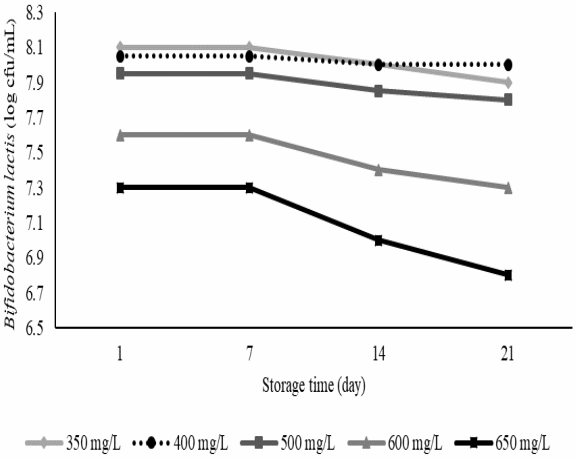

Fig 2 Evaluation of *Bifidobacterium lactis* in dough prepared from different concentrations of *Anethum graveolens* essential oil during storage time

همچنین اسانس بولاغ اوتی وحشی نیز در غلظت‌های mg/L ٦٠٠ تا mg/L ٦٥٠ سبب کاهش جمعیت پروبیوتیک محصول گردید (شکل ۳).

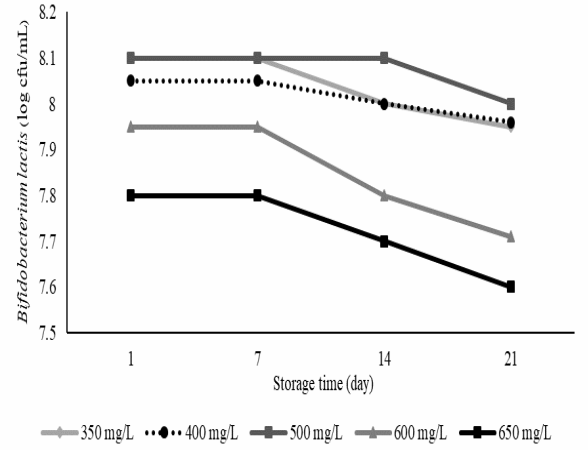

Fig 3 Evaluation of *Bifidobacterium lactis* in dough prepared from different concentrations of *Nasturtium officinale* essential oil during storage time

ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در این اسانس‌ها و خواص ضدمیکروبی آن‌ها در غلظت‌های بالا که در بخش ۳-۲ توضیح داده شده است می‌تواند یکی از دلایل حائز اهمیت باشد. از سوی دیگر غلظت‌های mg/L ٤٠٠ و mg/L ٥٠٠ به ترتیب برای اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی پایداری مناسبی در میزان *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* ایجاد کردند که یکی از دلایل آن میتواند سرکوب سایر میکروارگانیسم‌های رقیب در محصول باشد. بنابراین غلظت‌های mg/L ٤٠٠ و mg/L ٥٠٠ به ترتیب برای اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی به عنوان غلظت بهینه به منظور تولید دوغ تعیین گردید.

۳-۵-۲- ویژگی‌های اولیه دوغ‌های فراسودمند تولید شده

همانطور که در جدول ٦ دیده می‌شود، در طول دوره نگهداری ٦٠ روزه نمونه‌های تهیه شده ضمن غیر معنی‌دار بودن تغییرات ماده خشک، میزان pH و اسیدیته تغییرات معنی‌دار داشتند. در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

طول دوره نگهداری میزان اسیدیته روند افزایشی داشته است اما با افزودن اسانس میزان اسیدیته کاهش داشت. این نتایج در راستای مطالعه دین پژوه و همکاران در سال ۲۰۱۹ بود، به طوری که آن‌ها در نمونه‌های دوغ حاوی اسانس شوید و سیر کاهش معنی دار در میزان اسیدیته نسبت به نمونه شاهد در پایان دوره ۴۲ روزه مشاهده کردند[۲۸]. اسیدیته به دلایل مختلفی در طول دوره نگهداری افزایش می‌یابد. یکی از دلایل افزایش اسیدیته فعالیت میکروبی و تولید ترکیباتی با خاصیت اسیدی از جمله اسیدلاکتیک بوده که توسط دستگاه pH متر تأثیر آن‌ها دیده نمی‌شود و دیگری فعالیت‌هایی که منجربه تولید هیدروژن شده که علاوه بر میزان اسیدیته بر نتایج حاصل از pH متر نیز موثر هستند. همگام با افزایش اسیدیته، نتایج حاصل از اندازه‌گیری pH، روند کاهشی این عامل در طول دوره نگهداری را نشان داد. این نتایج هم راستا با نتایج سایر محققین در مورد روند کاهشی pH موجود در دوغ در طول دوره نگهداری بود[۲۸،۲۹].

Table 6 Evaluation of non-fat dry matter, acidity and pH of doogh produced in optimal concentrations of essential oils

Sample	Concentration (mg/L)	Storage time (day)	pH	Acidity	Non-fat dry matter (%)
Control	-	1	4.44±0.25^{a}	60.18±0.53^{c}	4.21±0.33^{a}
		15	4.23±0.21^{ab}	60.50±0.55^{c}	4.26±0.33^{a}
		20	4.04±0.21^{ab}	60.62±0.51^{c}	4.31±0.33^{a}
		45	3.85±0.27^{b}	62.62±0.61^{b}	4.11±0.33^{a}
		60	3.04±0.23^{c}	65.62±0.51^{a}	4.41±0.33^{a}
Doogh with *Anethum graveolens* L.	400	1	4.46±0.23^{a}	60.34±0.57^{c}	4.44±0.25^{a}
		15	4.24±0.27^{ab}	60.27±0.67^{c}	4.28±0.35^{a}
		20	4.04±0.29^{ab}	60.43±0.61^{c}	4.43±0.29^{a}
		45	3.83±0.26^{b}	61.43±0.61^{cb}	4.37±0.25^{a}
		60	3.25±0.23^{c}	62.43±0.51^{cb}	4.40±0.31^{a}
Doogh with *Nasturtium officinale* L.	500	1	4.46±0.24^{a}	60.45±0.43^{c}	4.21±0.42^{a}
		15	4.24±0.21^{ab}	60.51±0.51^{c}	4.36±0.29^{a}
		20	4.04±0.24^{ab}	60.57±0.40^{c}	4.27±0.34^{a}
		45	3.80±0.28^{b}	61.37±0.61^{cb}	4.18±0.39^{a}
		60	3.36±0.26^{c}	62.42±0.51^{cb}	4.18±0.41^{a}

Superscript lower letters (a–c) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

۳-۵-۳- بررسی میزان دو فاز شدن دوغ

همانطور که در جدول ۷ نشان داده می‌شود، افزودن اسانس سبب کاهش قابل توجه میزان دو فاز شدگی محصول دوغ گردید.

Table 7 The rate of phase separation in doogh samples at the optimal concentrations of essential oils

Sample	Concentration (mg/L)	Storage time (day)	Phase separation (%)
Control	-	1	50.21±0.33^{c}
		15	50.37±0.31^{c}
		20	50.20±0.42^{c}
		45	53.46±0.39^{b}
		60	57.54±0.43^{a}
Doogh with *Anethum graveolens* L.	400	1	1.41±0.25^{m}
		15	6.56±0.57^{k}
		20	8.24±0.35^{i}
		45	20.52±0.61^{g}
		60	28.48±0.85^{e}
Doogh with *Nasturtium officinale* L.	500	1	3.17±0.39^{l}
		15	9.42±0.39^{j}
		20	12.36±0.39^{h}
		45	25.12±0.39^{f}
		60	33.17±0.39^{d}

Superscript lower letters (a–m) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

یکی از دلایلی که باعث مشاهده این نتایج شده می‌تواند وجود ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در اسانس گیاهان شوید و بولاغ اوتی وحشی باشد. ترکیبات ترپنی به دلیل دارا بودن ساختار آبدوست و آبگریز سبب برقراری پیوند و افزایش همبستگی کازئین‌ها و آب شده به طوری که سمت آب دوست با کازئین و قسمت آبگریز سبب راندن آب به سمت بخش‌های درونی تر میسل‌های کازئینی شده و از این طریق میزان دو فاز شدن محصول دوغ را کاهش می‌دهند[۳۰]. یکی دیگر از عوامل موثر افزایش ویسکوزیته محصول در اثر افزودن اسانس به دوغ است که خود موجب به دام افتادن میسل‌های کازئین می‌شود[۳۱]. در این بین اسانس شوید به دلیل محتوای ترپنی و وحود ترکیبات فنلی آبدوست تأثیر بیشتری ببر کاهش میزان دوفاز شدن دوغ نسبت به نمونه شاهد و نمونه حاوی اسانس بولاغ اوتی وحشی داشته است.

۳-۵-٤- ارزیابی رفتار جریانی در تیمارهای دوغ تولیدی

ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در اسانس‌های شوید و بولاغ اوتی وحشی به دلیل دارا بودن ساختاری آبدوست و آبگریز سبب ایجاد پیوند و همبستگی مابین کازئین‌ها و آب سبب شده تا در مقابل نیروی خارجی وارد شده مقاومت بیشتری کرده و در نتیجه از ویسکوزیته ظاهری بالاتری برخوردار باشند که نتیجه این امر افزایش ضریب قوام نیز بوده است[۳۰]. با توجه به جدول ۸، بیشترین ضریب قوام و ویسکوزیته ظاهری مربوط به دوغ حاوی اسانس شوید بوده و پس از آن دوغ حاوی اسانس بولاغ اوتی وحشی به دلیل محتوای کمتر ترکیبات ترپنی و نبود ترکیبات فنلی قابل ملاحظه در مرتبه بعدی قرار گرفت. اندیس رفتار جریان یکی دیگر از خواص رئولوژگی دوغ بوده که هرچه به یک نزدیک‌تر باشد رفتار سیال بیشتر به سمت نیوتنی تمایل پیدا می‌کند در نتیجه با افزودن اسانس به ویژه اسانس شوید رفتار دوغ در مقادیری به سمت رفتار غیر نیوتنی میل کرده است. این نتایج با مطالعه عقدایی و اعلمی در سال ۲۰۱۱ نیز که تأثیر اسانس ریحان بر خواص رئولوژیک دوغ را مورد بررسی قرار داند مطابقت دارد[۱۵].

Table 8 Evaluation of rheological properties of doogh samples

Sample	Concentration (mg/L)	n (flow behavior index)	Coefficient of consistency(Pa.s^n)	Relative viscosity (mPa.s)	R^2
Control	-	0.893^a	1.10^c	5.01^c	0.99
Doogh with *Anethum graveolens* L.	400	0.690^c	1.97^a	6.13^a	0.99
Doogh with *Nasturtium officinale* L.	500	0.791^b	1.59^b	5.52^b	0.99

Superscript lower letters (a–c) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

۳-۵-۵- ارزیابی میکروبی

مطابق جدول ۹ که نشان‌دهنده تأثیر اسانس موجود در نمونه‌های دوغ تولید شده بر بار میکروبی محصول است، جمعیت میکروبی باکتری‌های کلی‌فرم، *اشرشیا کلی* و *استافیلوکوکوس اورئوس* در طول دوره نگهداری کاهش و در مقابل جمعیت کپک و مخمری افزایش یافته است.یکی از دلایل افزایش میزان کپک و مخمری می‌تواند کاهش اسیدیته محصول در طول دوره نگهداری و ایجاد شرایط مناسب به منظور رشد کپک و مخمر باشد.

از سوی دیگر غلظت‌های انتخاب شده از اسانس‌ها بر مبنای رشد مناسب باکتری پروبیوتیک *بیفیدوباکتریوم لاکتیس* که تولید کننده اسید لاکتیک بوده و خود در کاهش pH و ایجاد شرایط جهت رشد کپک و مخمر است. همانطور که در بخش ۳-۲ بیان گردید، ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در این اسانس-ها سبب ایجاد خواص ضد میکروبی مناسبی در مقابل میکروارگانیسم‌های گرم منفی و گرم مثبت می‌شوند. یکی از این ترکیبات Cymene بوده به گونه‌ای که این ترکیب به دلیل خواص آبگریزی سبب ایجاد تورم در غشا سیتوپلاسم میکروارگانیسم‌ها شده و این طریق سبب نابودی آن‌ها می-شود[۲۰].سایر ترکیبات ترپنی موجود در این اسانس همچون Carvone و Limonene به سبب تمایلی که به ایجاد پیوند با کلسترول موجود در غشاء سیتوپلاسم دارند سبب ایجاد حفره و در نهایت مرگ سلول می‌شوند[۲۱].

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

Table 9 Investigation of microbial properties (log cfu/mL) of doogh produced in optimal concentrations of essential oils

Sample	Concentration (mg/L)	Storage time (day)	*Staphylococcus* ***aureus***	mold and yeast	*Escherichia coli*	coliform
Control	-	1	10.56±0.38[a]	9.45±1.05[e]	10.89±0.38[a]	31.25±0.32[a]
		15	10.54±0.35[a]	12.52±1.12[d]	10.32±0.40[ab]	30.68±0.38[ab]
		20	10.23±0.34[a]	15.65±1.09[c]	9.70±0.35[b]	30.06±0.34[b]
		45	8.96±0.30[b]	18.21±0.99[b]	7.87±0.29[c]	28.23±0.31[c]
		60	6.23±0.38[d]	21.36±0.97[a]	4.81±0.37[d]	25.17±0.40[d]
Doogh with *Anethum graveolens* L.	400	1	9.25±0.38[b]	9.53±1.11[e]	10.01±0.35[b]	30.37±0.37[b]
		15	9.12±۰0.38[b]	9.87±0.95[e]	9.12±0.49[b]	29.48±0.45[b]
		20	9.01±0.38[b]	9.23±1.12[e]	7.89±0.21[d]	28.25±0.27[d]
		45	7.23±0.38[c]	9.64±1.15[e]	4.84±0.31[f]	25.20±0.29[f]
		60	4.37±0.38[f]	9.78±1.30[a]	1.89±0.24[h]	22.25±0.28[h]
Doogh with *Nasturtium officinale* L.	500	1	9.45±0.28[b]	9.56±0.99[a]	10.23±0.26[b]	30.59±0.30[b]
		15	9.35±0.38[b]	9.34±0.97[a]	9.76±0.35[b]	30.22±0.31[b]
		20	9.25±0.38[b]	9.62±1.10[a]	8.24±0.10[c]	28.60±0.15[c]
		45	7.98±0.38[c]	9.82±1.08[a]	6.63±0.37[e]	26.99±0.35[e]
		60	5.34±0.38[e]	9.89±1.30[a]	3.41±0.33[g]	23.77±0.36[g]

Superscript lower letters (a–h) beside mean values in the same column show the difference in Duncan's multiple range test ($p < 0.05$)

۳-۵-٦- ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ فراسودمند

مطابق شکل ٤، دوغ‌های تهیه شده با اسانس شوید و بولاغ اوتی از نظر طعم به طور معنی‌دار نسبت به دوغ ساده بیشتر مورد مقبول بوده است. از نظر احساس دهانی تمامی نمونه‌های دوغ بالاترین امتیاز (۵ امتیاز) را کسب کردند. در مجموع افزودن اسانس سبب افزایش معنی‌دار میزان پذیرش کلی محصول توسط ارزیاب‌های حسی شد به طوری که نمونه شاهد پذیرش کلی ٤/۱ و نمونه‌های حاوی اسانس ۵ بود.

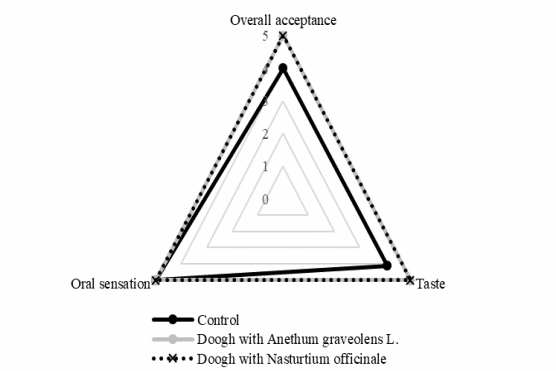

Fig 4 Sensory evaluation of control doogh sample, doogh containing 400 mg/L dill essential oil and doogh containing 500 mg /L essential oil of *Nasturtium officinale*

ارزیابی حسی به منظور بررسی دوغ‌های تولیدی از نظر ارزیاب‌های حسی که به نوعی متقاضی محصول خواهند بود بسیار حائز اهمیت است. از این رو ۲۰ نفر ارزیاب نیمه آموزش دیده به صورت داوطلبانه برای بررسی ویژگی‌های مورد نظر در محصولات تولیدی انتخاب شدند. مطابق شکل ٤، دوغ‌های تولیدی حاوی اسانس از نظر طعم در نظر مصرف کننده از امتیاز بیشتری برخوردار بودند. از سوی دیگر احساس دهانی و ویسکوزیته ایجاد شده از طریق افزودن مصرف کننده امری نامطلوب تلقی نشده و نسبت به نمونه شاهد امتیاز یکسانی دریافت کردند. نتایج ارزیابی حسی حاکی از افزودن موفقیت آمیز اسانس شویید و بولاغ اوتی وحشی به دوغ بدون ایجاد ویژگی منفی از دید مصرف کننده بود.

٤- نتیجه‌گیری

مقادیر و انواع ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در اسانس شوید و بولاغ اوتی وحشی مورد استفاده در تولید دوغ بر خواص فیزیکوشیمیایی محصول نهایی بسیار مهم است. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، ترکیبات عمده و کلیدی موجود در اسانس شوید شامل Carvone، Lemonene و Apiol بوده و در مقابل ترکیبات Lemonene و α-Terpinolene در اسانس بولاغ اوتی وحشی به وفور یافت شدند. به طوری کلی ترکیبات ترپنی و فنلی موجود در اسانس‌ها به دلیل توانایی اهدا هیدروژن دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و همچنین به دلیل تمایل به کلسترول موجود در غشا میکروبی و ایجاد حفراتی در آن سبب نابودی و سرکوب میکروارگانیسم‌های مضر می‌شوند. یکی دیگر از مهم‌ترین ویژگی‌های تکنولوژیکی این دسته از ترکیبات آمفیپاتیک بودن و ایجاد پیوند بین فازهای آبی و غیر آبی در جهت افزایش ویسکوزیته، ضریب قوام و در

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

نتیجه جلوگیری از دو فاز شدن محصول دوغ است. غلظت‌های بهینه ٤٠٠mg/L و ٥٠٠mg/L به ترتیب برای اسانس‌های شوید و بولاغ اوتی وحشی به منظور حفظ هرچه بهتر جمعیت پروبیوتیکی محصول بدون ایجاد اثرات منفی بر محصول با توجه به نتایج آزمون ارزیابی حسی جهت تولید دوغ پروبیوتیک به صورت صنعتی پیشنهاد می‌شود.

٥- منابع

[1] Reichert CL, Salminen H, Bönisch GB, Schäfer C, Weiss J, 2018, Concentration effect of Quillaja saponin–Co-surfactant mixtures on emulsifying properties. J Colloid Interface Sci. 519:71–80.

[2] Ashrafi yourghanloo, R., Gheybi, N, 2019, Investigation the effect of Dill extract (Anethumegraveolens) using on the Antioxidant and Physicochemial properties of Set Yogurt. JFST. No. 84, Vol. 15.

[3] Alizadeh Doughikollaee E, Sayyad M, Nourzaei K, 2016, Effects of edible whey protein coating and essential oil of Anethum graveolens on the quality of Hypophthalmichthys molitrix fillet during refrigerated storage. Fisheries Science and Technology. 10;5(2):87-98.

[4] Klimek-Szczykutowicz M, Szopa A, Ekiert H, 2018, Chemical composition, traditional and professional use in medicine, application in environmental protection, position in food and cosmetics industries, and biotechnological studies of Nasturtium officinale (watercress)–a review. Fitoterapia.129:283–92.

[5] Omidi A, Sharifi A, 2018, Effect of methanolic extract of Nasturtium officinale on growth and biofilm formation of Pseudomonas aeruginosa. J Gorgan Univ Med Sci. 20 (2) :102-108.

[6] Mahdavi S, Kheyrollahi M, Sheikhloei H, Isazadeh A, 2019, Antibacterial and Antioxidant Activities of Essential Oil on Food Borne Bacteria. The Open Microbiology Journal. Mar 28;13(1).

[7] Soltan Dallal M M, Bayat M, Yazdi M H, Aghaamiri S, Ghorbanzadeh Meshkani M, Abedi Mohtasab T P et al, 2012, Antimicrobial effect of Zataria multiflora on antibiotic-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from food. SJKU. 17 (2) :21-29.

[8] Najafi GR, Ahmadi H, A. Sharif M, 2019, Preparation of Mint essential oil and its encapsulation using Sodium Alginate, Starch and Maltodextrin Polymers. Appl Biol.;8(32):79–89.

[9] Hojjati M, Razavi H, Rezaei K, Gilani K, 2013, Effect of wall components on characteristics of natural canthaxanthin microencapsulated using spray-drying. Iran J Nutr Sci Food Technol. 8(3):45–54.

[10] Tavares L, Noreña CPZ, 2020, Encapsulation of ginger essential oil using complex coacervation method: coacervate formation, rheological property, and physicochemical characterization. Food Bioprocess Technol. 13(8):1405–20.

[11] National Standard of Iran, No. 2852, Doogh - Production Procedure, First Edition.

[12] Dezyani M, Khosrowshahi asl A ZS, 2017, The effect of Different Concentrations of Aloe Vera Gel on Qualitative Characteristics and Viability of Probiotic Bacteria in Symbiotic Dough, Iranian-J-Nutr-Sci-Food-Technol. p. 121–8.

[13] Iranian National Standard, No. 695, .Mast - Features and Test Methods.

[14] Lehaee L, zomorodi S. The effect of some gums on stability and qualitative properties of doogh produced by the fluid gel technology using Response Surface Methodology (RSM). J Food Res [Internet]. 2016;26(1):23–35.

[15] Amiri Aghdaei s.s, Aalami M, 2011, Effect of ocimum basilicum mucilage on rheological properties and stability of doogh (yoghurt drink). Innovation in food science and technology (journal of food science and technology). 3(3 (9)):17-24.

[16] Ahmadi S.M., Moslehishad M, 2020, Evaluation of physicochemical and sensory properties of the dough samples containing essential oil of Pistacia Atlantica during shelf-life. Journal of food microbiology. 7(1):50-61.

[17] Ghafarloo MH, Jouki M, Tabari M, 2020, Production and characterization of synbiotic Doogh, a yogurt-based Iranian drink by gum arabic, ginger extract and B. bifidum. J Food Sci Technol. 57(3):1158–66.

[18] Babri RA, Khokhar I, Mahmood Z, Mahmud S 2012, Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of Anethum graveolens L. seeds. 5:10.

[19] Amiri H, 2012, Volatile constituents and antioxidant activity of flowers, stems and

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

2020, The protection effect of trehalose on the multinuclear microcapsules based on gelatin and high methyl pectin coacervate during freeze-drying. Food Hydrocoll. 105:105807.

[27] Gheonea I, Aprodu I, Cîrciumaru A, Râpeanu G, Bahrim GE, Stănciuc N, 2021, Microencapsulation of lycopene from tomatoes peels by complex coacervation and freeze-drying: Evidences on phytochemical profile, stability and food applications. J Food Eng. 288:110166.

[28] Dinpajhooh F, Khani MR, Fadaei N V. Investigating the effect of dill and garlic extracts on shelf-life and sensory properties of heat treated non-carbonated doogh. Journal of food hygiene. 1 (33) ; Page(s) 97-112.

[29] Kiani, H., Mousavi, S.A. and Emam, D.Z., 2008. Rheological properties of Iranian yoghurt drink, Doogh. International journal of dairy science. 71-78.

[30] Laghaei L, Zomorodi S, 2016, The effect of some gums on stability and qualitative properties of doogh produced by the fluid gel technology using Response Surface Methodology (RSM). 23-35.

[31] Allan-Wojtas P, Hansen LT, Paulson AT, 2008, Microstructural studies of probiotic bacteria-loaded alginate microcapsules using standard electron microscopy techniques and anhydrous fixation. LWT-Food Sci Technol.41(1):101–8.

leaves of Nasturtium officinale R. Br. Nat Prod Res. 26(2):109–15.

[20] Burt SA, van der Zee R, Koets AP, de Graaff AM, van Knapen F, Gaastra W, et al, 2007, Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in Escherichia coli O157: H7. Appl Environ Microbiol. 73(14):4484–90.

[21] Said-Al Ahl HAH, Sarhan AM, Abou Dahab M, Abou-Zeid E-SN, Ali MS, Naguib NY, et al, 2015, Essential oils of Anethum graveolens L.: Chemical composition and their antimicrobial activities at vegetative, flowering and fruiting stages of development. Int J Plant Sci Ecol. 1:98–102.

[22] Chouhan S, Sharma K, Guleria S, 2017, Antimicrobial activity of some essential oils—present status and future perspectives. Medicines. 4(3):58.

[23] Eftekhar F, Yousefzadi M, Azizian D, Sonboli A, Salehi P, 2005, Essential oil composition and antimicrobial activity of Diplotaenia damavandica. Zeitschrift für Naturforsch C. 60(11–12):821–5.

[24] Oshaghi EA, Khodadadi I, Tavilani H, Goodarzi MT, 2016, Aqueous extract of Anethum Graveolens L. has potential antioxidant and antiglycation effects. Iran J Med Sci. 41(4):328.

[25] Kazemi M, 2015, Phenolic profile, antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of Anethum graveolens L. essential oil. Nat Prod Res. 29(6):551–3.

[26] Muhoza B, Xia S, Wang X, Zhang X,

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]

[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]

Effect of encapsulated wild watercress (*Nasturtium officinale* L.) and dill (*Anethum graveolens* L.) essential oils on the physicochemical, microbial, rheological and sensory properties of probiotic Doogh

Osuli Zadeh Noubari, M. [1], Yousefi, Sh.[2*], Weisany, W. [2]

1. MSc of food technology, Department of Food Science and Technology Science and Research Branch, Islamic Azad University Tehran, Iran.
2. Department of Agriculture and Food Science, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 06/ 29
Accepted 2021/ 12/ 20

Keywords:

Essential oils,
Encapsulation,
Doogh,
Antioxidant activity,
Probiotics.

DOI: 10.52547/fsct.19.124.113

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4

*Corresponding Author E-Mail:
shyousefi81@gmail.com

ABSTRACT

In the first step of this study, *Anethum graveolens* and *Nasturtium officinale* essential oils prepared with Clevenger apparatus and then, essential oils ingredients evaluated by GC-Mass. Minimum Inhibitory (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and antioxidant activity of essential oils were evaluated at concentrations of 350, 400, 500, 600 and 650 mg/L during 60 days. Then, encapsulated essential oils of *A. graveolens* and *N. officinale* in the mentioned concentrations by maltodextrin and coacervation methods to evaluate morphology and particle size distribution. Finally, to achieve the optimal concentration of essential oils in order to further preserve the probiotic population of *Bifidobacterium lactis*, the viability of this bacterium in doogh was evaluated for 21 days. In the second step of the study, the effect of adding essential oils on optimal concentration to the product investigated according to dry matter content, pH, acidity, serum separation rate, rheology and sensory evaluation. The results showed the essential oils have high terpene and phenolic content, which caused proper antioxidant and antimicrobial activity. The viscosity, consistency and acidity of the final product increased on the other hand, pH and serum separation rate decreased significantly. Considering the results of sensory evaluation and lack of any negative effects at optilam concentrations of 400 mg/L and 500 mg/L for *A. graveolens* and *N. officinale* essential oils, respectively, the possibility of its industrial application can be examined.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2023-12-01]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.124.7.4]
[DOI: 10.52547/fsct.19.124.113]