

## بررسی تأثیر اسانس گلپر بر برخی از ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی دوغ حرارت دیده

علیرضا یوسفی<sup>۱\*</sup>، جواد سیفی هاجه‌سو<sup>۲</sup>، حسین شیخلویی بناب<sup>۳</sup>، مهدی حاتمی<sup>۴</sup>

۱. استادیار گروه مهندسی شیمی، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بناب، بناب، ایران

۲. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

۳. استادیار گروه شیمی و مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران

۴. استادیار گروه مهندسی پلیمر، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه بناب، بناب، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: a\_yousefi@bonabu.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۵/۹/۲۸ پذیرش نهایی: ۹۶/۳/۳)

### چکیده

امروزه تحقیقات زیادی در مورد جایگزینی نگره‌دارنده‌های شیمیایی با ترکیبات طبیعی در حال انجام است که اسانس‌های گیاهی از جمله این مواد هستند. در این تحقیق اسانس گلپر در سطوح صفر (نمونه کنترل)، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر به نمونه‌های دوغ حرارت دیده اضافه و بعد از بسته‌بندی به مدت ۴۰ روز در یخچال نگهداری شدند. سپس تحت آزمون‌های میکروبی (شمارش کپک‌ها و مخمرها، باکتری‌های آغازگر و کلی فرم‌ها)، شیمیایی (اسیدیته، pH، درصد چربی، درصد ماده خشک بدون چربی) و حسی (عطر و طعم) قرار گرفتند. طبق نتایج مطالعه، افزایش غلظت اسانس موجب کاهش جمعیت کپک و مخمر دوغ شد اما اثر اسانس گلپر بر شمار باکتری‌های آغازگر معنی‌دار نبود. طی زمان نگهداری، شمار باکتری‌های آغازگر تا روز دهم افزایش و در ادامه کاهش یافت. در طول زمان نگهداری، اسیدیته و pH نمونه‌ها به ترتیب افزایش و کاهش یافت، ولی نوع تیمار بر روی مقادیر اسیدیته و pH نمونه‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت. تأثیر اسانس گلپر و زمان نگهداری بر درصد چربی و درصد ماده خشک بدون چربی نمونه‌های دوغ معنی‌دار نبود. بررسی ویژگی‌های حسی نشان داد که نمونه‌های دارای اسانس از نظر عطر و طعم، اختلاف معنی‌داری با نمونه کنترل داشتند ( $p < 0.05$ ) و نمونه‌های دارای ۲۵۰  $\mu\text{L/l}$  اسانس، بیش‌ترین امتیاز را کسب کردند. با توجه به نتایج به‌دست آمده اسانس گلپر می‌تواند به‌طور کارآمدی در فرمولاسیون دوغ به‌عنوان یک عامل نگره‌دارنده و طعم‌دهنده استفاده گردد.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس گلپر، باکتری‌های آغازگر، دوغ، ضد میکروبی، کپک و مخمر

## مقدمه

اسانس‌های استخراج شده از گیاهان دارای ترکیبات ضد میکروبی مختلفی می‌باشند که می‌توان به آلدئیدها، الکل‌ها، فنول‌ها، کتون‌ها، استرها و هیدروکربن‌های ترپنی اشاره کرد (Thormar, 2011).

گلپر از خانواده چتریان (Umbelliferae) و با نام علمی *Heracleumpersicum* دارای ۶ گونه است و دارای مس بوده و در ترکیب شیمیایی آن استات هلسیلیک، استات استیلیک، بوتیرات متیلیک و بوتیرات وجود دارد. دارای طبیعت گرم بوده و از نظر دارویی باعث تقویت معده و دستگاه گوارش می‌شود. هم‌چنین سموم بدن را دفع کرده و ضدنفخ بودن آن ثابت شده است و در رفع سوء هاضمه نقش زیادی دارد. این گیاه خاصیت قوی ضد عفونی کنندگی و ضد میکروبی دارد (Poursorkhabi, 2009).

به‌علت بومی بودن گیاه گلپر، مطالعات انجام گرفته محدود به داخل کشور بوده و مقالات و منابع بسیار کمی در مورد کاربرد اسانس یا عصاره گیاه گلپر در مواد غذایی و بررسی اثرات آن موجود است. در مطالعه‌ای اثر اضافه شدن اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus*) به دوغ بررسی شده است (Mahmoudzadeh et al., 2016). نتایج آن‌ها نشان داد که این اسانس دارای خواص ضد میکروبی بوده و از رشد کلی فرم‌ها جلوگیری می‌کند. هم‌چنین بدون این‌که در خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آن تغییر خاصی ایجاد کند، سبب بهبود عطر و طعم دوغ می‌شود. در تحقیقات دیگری اثر اضافه کردن اسانس‌های گیاهی به فرآورده‌های شیر مورد مطالعه قرار گرفته است (Roshani et al., 2015). در مطالعه‌ای دیگر اثر

طبق استاندارد ملی ایران، دوغ نوشیدنی حاصل از تخمیر لاکتیکی شیر است که ماده خشک آن از راه رقیق کردن ماست دوغ‌سازی (پس از تخمیر) یا شیر دوغ‌سازی (پیش از تخمیر) استاندارد شده باشد (ISIRI, 10899-1/ 2008). دوغ به‌علت pH پایین و غنی بودن از مواد مغذی به‌خصوص در دمای محیط، مستعد آلودگی با کپک‌ها و مخمرها و بعضی از باکتری‌ها می‌باشد که موجب تغییر طعم و عطر محصول و باکتری‌ها در طول زمان نگهداری می‌شود (Salminen et al., 2004). این موضوع به‌عنوان یک چالش مهم در صنعت شیر مطرح است؛ بنابراین استفاده از مواد طعم‌دهنده طبیعی و ضد میکروبی مناسب برای حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری دوغ هم‌گام با بهبود طعم و افزایش بازارپسندی آن، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. استفاده از ادویه‌ها، اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی برای طعم‌دار کردن دوغ از سالیان پیش مورد استفاده قرار می‌گیرد که از میان آن‌ها می‌توان به نعنا، پونه، آویشن، کاکوتی و غیره اشاره نمود. اسانس‌ها، ترکیبات گیاهی فرار، هیدروکربنی و معطری هستند که گاهی به آن‌ها روغن‌های اسانسی (Essential Oils) یا گیاهی گفته می‌شود (Bakkali et al., 2008). گیاهان به‌دلیل داشتن ترکیبات مؤثر مانند ترکیبات پلی‌فنولی، فلاونوئیدها، تانن‌ها و اسیدهای فولیک به‌عنوان یک منبع مهم آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه قرار گرفته‌اند؛ این ترکیبات علاوه بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت‌های ضد میکروبی، ضد جهش‌زایی و ضد سرطانی دارند (Dawidowicz et al., 2008).

تحقیق، تولیدی شرکت تجاری (Merck, Germany) بوده و مواد شیمیایی دارای درجه خلوص تجزیه‌ای بودند. کشت آغازگر (استارتر) نیز از نمایندگی شرکت دنیسکو تهیه شد.

#### - تولید دوغ

شیرخام پس از تأیید آزمایشات اولیه، دریافت و با خامه‌گیری توسط سپراتور (Memmert ICP 400, Germany) تا میزان ۲ درصد چربی استاندارد شد. سپس در فشار ۱۵۰ بار هموژنیزه و تیمار حرارتی با دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه روی آن اعمال گردید. شیر تا دمای ۴۵ درجه سلسیوس خنک شد و در این دما با استارتر تجاری که حاوی باکتری‌های ترموفیل *استریوتوکوکوس سالیواروس* زیرگونه *ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریوس* به نسبت ۱/۱ بود، به صورت مستقیم (Direct to vat inoculation) تلقیح گردید. شیر ماست تا رسیدن به pH (اسیدیته) مورد نظر، در این دما گرمخانه‌گذاری و سپس سرد شد. ماست حاصل با نسبت ۵۰ به ۵۰ با آب آشامیدنی و ۰/۸ درصد نمک تصفیه شده با درجه غذایی ترکیب و ترکیب حاصل در فشار ۱۰۰ بار هموژن و در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ثانیه پاستوریزه شد (دوغ حرارت دیده) و پس از سرد شدن تا ۵ درجه سلسیوس، در مخازن استریل کارخانه ذخیره گردید.

#### - روش تهیه نمونه‌ها

نمونه‌های دوغ، به ظروف استریل شماره‌گذاری شده انتقال داده شدند و غلظت‌های ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر از اسانس گلپر (سترون شده در دمای تبخیر اسانس) به آن‌ها اضافه و خوب مخلوط شد. به

اسانس‌های *Mentha pulegium* و *Mentha spicata* بر روی خواص حسی دوغ و هم‌چنین زنده‌مانی مخمر *دباریومایسس هانسنی (Debaryomyces hansenii)* بررسی گردید. نتایج نشان داد که هر دو اسانس تأثیر مطلوبی بر خواص عطر و طعمی دوغ داشتند، در حالی‌که تأثیر معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) بر کاهش زنده‌مانی مخمر *دباریومایسس هانسنی* داشتند، به طوری که با افزایش غلظت اسانس اثر بازدارندگی بیشتر می‌شد (Karim et al., 2016).

طبق گزارش‌های غیررسمی، از مواد ضد میکروبی مانند بنزوات‌ها و ناتامایسین به صورت غیرقانونی جهت جلوگیری از رشد کپک و مخمر و افزایش زمان ماندگاری در تولید صنعتی محصول دوغ استفاده می‌شود، در حالی‌که با توجه به خواص ضد میکروبی طبیعی برخی از اسانس‌های گیاهی، می‌توان در کنار خاصیت ایجاد عطر و طعم از ویژگی‌های ضد میکروبی آن‌ها نیز بهره برد. تاکنون در مورد تأثیر اسانس گلپر بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و میکروبی محصول دوغ بررسی خاصی انجام نگرفته است؛ بنابراین تحقیق حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس گیاهی گلپر بر برخی از ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی محصول دوغ حرارت دیده انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

##### - مواد

دوغ مورد استفاده در این تحقیق در کارخانه شیر پاستوریزه برگزیده لبن شهرستان بناب تولید شد. اسانس گلپر از شرکت جوهره طعم مشهد خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی و محیط‌های کشت مورد استفاده در این

## - اندازه‌گیری اسیدیته و pH

اندازه‌گیری pH از طریق فرو کردن مستقیم الکتروود دستگاه pH متر به داخل دوغ همگن شده و تنظیم دمای pH متر با دمای دوغ صورت گرفت و اندازه‌گیری اسیدیته به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال انجام شد (ISIRI, 2852/2006).

- اندازه‌گیری درصد چربی و ماده خشک بدون چربی شیر  
درصد چربی نمونه‌های دوغ به روش ژربر و طبق استاندارد ملی ایران اندازه‌گیری شد (ISIRI, 384/2009). درصد ماده خشک کل، از خشک کردن مقدار مشخصی از نمونه دوغ آزمایشی در  $102 \pm 2^\circ\text{C}$  تا رسیدن به وزن ثابت محاسبه گردید و پس از کسر درصد چربی، درصد ماده خشک بدون چربی دوغ (SNF) به دست آمد (ISIRI, 637/1970).

## - ارزیابی حسی

ارزیابی حسی به روش هدونیک پنج نقطه‌ای از لحاظ عطر و طعم و پذیرش کلی دوغ هنگام نوشیدن در روزهای ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ طی دوره نگهداری، توسط گروه ارزیاب ۱۵ نفره شامل ۹ مرد و ۶ زن (۴۰-۲۵ ساله) آشنا به محصول که آموزش‌های لازم به آنها داده شده بود، انجام پذیرفت. در این آزمون عدد یک نشان‌دهنده کم‌ترین مقبولیت و عدد ۵ نشان‌دهنده بیش‌ترین مقبولیت بود (ISIRI, 4691/2008).

## - تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های حاصل از آزمایش‌ها، بر اساس طرح کورت‌های خرد شده در زمان با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت (فاکتور اصلی غلظت اسانس گلپر و فاکتور فرعی زمان نمونه‌برداری بود). تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. مقایسه

یک نمونه نیز اسانس افزوده نشد و به‌عنوان نمونه کنترل در آزمایشات لحاظ گردید. سپس نمونه‌ها در یخچال نگهداری شدند و نمونه‌برداری از هر تیمار در روزهای ۱، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ نگهداری برای انجام آزمایش‌های لازم انجام گرفت.

## - آزمایش‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی

تمامی آزمون‌ها در این پژوهش در بازه‌های زمانی ۱۰ روز (تا روز ۴۰ دوره نگهداری) انجام گرفت.

## - شمارش کپک‌ها و مخمرها

برای کشت کپک و مخمر طبق استاندارد ملی ایران از محیط کشت YGCA (Yeast Glucose Chloramphenicol Agar) و روش کشت سطحی استفاده شد. پلیت‌ها در ۲۵ درجه سلسیوس و به مدت ۷۲ ساعت قرار داده شدند (ISIRI, 10899-1/2008).

## - شمارش باکتری‌های آغازگر

برای شمارش لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریوس از روش کشت مخلوط (Poured plate) در محیط MRS agar (شرایط بی‌هوازی، به مدت ۷۲ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس) و برای شمارش استرپتوکوکوس سالیواروس زیرگونه ترموفیلوس از محیط M17Agar (شرایط هوازی به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس) استفاده شد (ISIRI, 7714/2004).

## - شمارش کلی‌فرم‌ها

برای شمارش کلی‌فرم طبق استاندارد ملی ایران از محیط کشت VRBA (Violet Red Bile Agar) و روش مخلوط استفاده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت به‌صورت وارونه در گرمخانه ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند (ISIRI, 5486-1/2002).

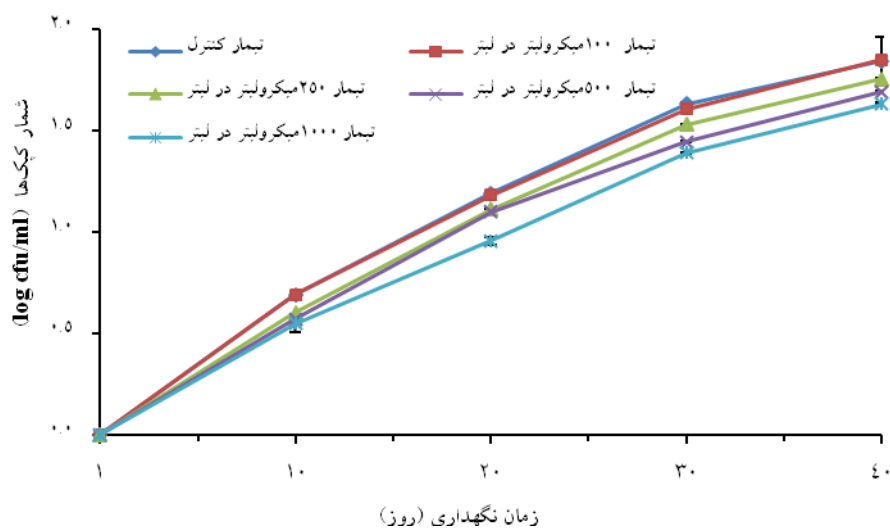
نمونه‌های دوغ کنترل و نمونه دوغ حاوی ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس گلپر اختلاف معنی‌داری از نظر شمار کپک‌ها و مخمرها وجود نداشت، اما نمونه‌های دوغ دارای ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس، دارای شمار پایین‌تر کپک و مخمر نسبت به نمونه‌های دیگر بودند به گونه‌ای که پایین‌ترین تعداد کپک و مخمر در پایان دوره نگهداری مربوط به تیمار ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس گلپر بود (نمودار ۱ و ۲).

میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای ۵ درصد انجام و نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

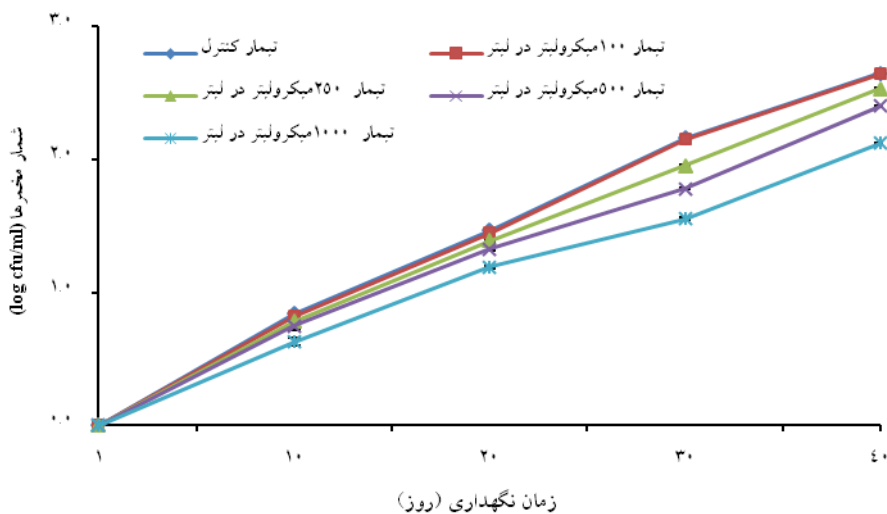
## یافته‌ها

### - شمارش کپک‌ها و مخمرها

با افزایش غلظت اسانس گلپر، شمار کپک‌ها و مخمرهای موجود در نمونه‌های دوغ به‌طور معنی‌داری ( $p < 0/05$ ) کاهش یافت و میزان کاهش در شمار مخمرها بیشتر از کپک‌ها بود. نتایج نشان داد بین



نمودار (۱)- تأثیر غلظت اسانس گلپر و زمان نگهداری بر شمار کپک‌ها در دوغ



نمودار (۲) - تأثیر غلظت اسانس گلپر و زمان نگهداری بر شمار مخمرها در دوغ

بالاترین تعداد باکتری‌های آغازگر ماست در روز ۱۰ دوره نگهداری مشاهده شد، اما از روز دهم روند نزولی در شمار باکتری‌ها آغاز و در روز ۴۰ دوره نگهداری پایین‌ترین شمار باکتری‌های آغازگر ماست ثبت شد (جدول ۱). هم‌چنین مقایسه میانگین تیمارهای مختلف در روز اول و آخر زمان نگهداری، دارای تفاوت معنی‌داری بود ( $p < 0/05$ ). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اسانس گلپر تأثیر منفی بر زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر ندارد.

نتایج کشت کلی‌فرم‌ها نشان داد که در هیچ‌یک از نمونه‌های دوغ، رشد کلی‌فرم مشاهده نشد. این امر نشان می‌دهد که در نمونه‌های دوغ هیچ‌گونه آلودگی مدفوعی وجود نداشته و از لحاظ بهداشتی همه نمونه‌ها سالمند.

بررسی نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان داد اثر زمان نگهداری بر شمار کپک‌ها و مخمرها معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ )، به‌طوری که در نمونه دوغ کنترل و دوغ حاوی اسانس در روز اول نگهداری هیچ‌گونه رشد قارچی مشاهده نشد ولی از روز دهم، پرگنه کپک‌ها و مخمرها در محیط‌های کشت ظاهر شدند و افزایش تعداد آن‌ها تا آخرین روز نگهداری، روند صعودی به خود گرفت و در روز ۴۰ نگهداری به بالاترین تعداد خود رسیدند (نمودار ۱ و ۲).

- شمارش باکتری‌های پایه تولیدکننده ماست و کلی‌فرم‌ها نتایج تحقیق نشان داد بین نمونه‌های کنترل و دوغ حاوی اسانس اختلاف معنی‌داری از نظر شمار باکتری لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس سالیواروس زیرگونه ترموفیلوس وجود ندارد (جدول ۱). نتایج نشان داد که اثر مدت زمان نگهداری روی شمارش باکتری‌های آغازگر در نمونه‌های دوغ معنی‌دار بود ( $p < 0/05$ )، به‌طوری که

جدول (۱) - تأثیر غلظت‌های مختلف اسانس گلپر و زمان نگهداری بر شمارش باکتری‌های آغازگر (Log CFU/ml) در دوغ

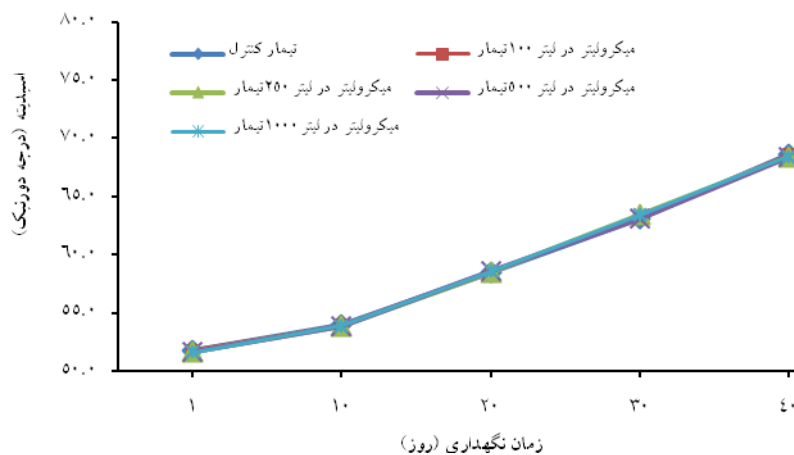
باکتری	زمان (روز)	غلظت اسانس (میکرولیتر در لیتر)*				
		کنترل	۱۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
لاکتوباسیلوس بولگاریکوس	۱	۳/۱۸±۰/۰۰۴۶ <sup>Ac</sup>	۳/۱۸±۰/۰۱۱ <sup>Ac</sup>	۳/۱۸±۰/۰۰۴۳ <sup>Ac</sup>	۳/۱۹±۰/۰۰۲۱ <sup>Ac</sup>	۳/۱۹±۰/۰۰۱۳ <sup>Ac</sup>
	۱۰	۳/۶۵±۰/۰۰۲۳ <sup>Aa</sup>	۳/۶۵±۰/۰۰۱۳ <sup>Aa</sup>	۳/۶۵±۰/۰۰۳۳ <sup>Aa</sup>	۳/۶۶±۰/۰۰۰۸ <sup>Aa</sup>	۳/۶۶±۰/۰۰۳۳ <sup>Aa</sup>
	۲۰	۳/۳۸±۰/۰۰۱۳ <sup>Ab</sup>	۳/۳۹±۰/۰۰۱۴ <sup>Ab</sup>	۳/۳۹±۰/۰۰۱۵ <sup>Ab</sup>	۳/۳۹±۰/۰۰۳۳ <sup>Ab</sup>	۳/۴۰±۰/۰۰۵۳ <sup>Ab</sup>
	۳۰	۳/۰۷±۰/۰۰۲۲ <sup>Ad</sup>	۳/۰۸±۰/۰۰۱۵ <sup>Ad</sup>	۳/۰۸±۰/۰۰۲۴ <sup>Ad</sup>	۳/۰۹±۰/۰۰۲۱ <sup>Ad</sup>	۳/۰۹±۰/۰۰۱۴ <sup>Ad</sup>
	۴۰	۲/۹۵±۰/۰۰۱۸ <sup>Ae</sup>	۲/۹۶±۰/۰۰۳۵ <sup>Ae</sup>	۲/۹۶±۰/۰۰۳۳ <sup>Ae</sup>	۲/۹۷±۰/۰۰۴۱ <sup>Ae</sup>	۲/۹۷±۰/۰۰۱۱ <sup>Ae</sup>
استرپتوکوکوس ترموفیلوس	۱	۳/۲۰±۰/۰۰۳۵ <sup>Ac</sup>	۳/۲۰±۰/۰۰۶۶ <sup>Ac</sup>	۳/۲۱±۰/۰۰۴۳ <sup>Ac</sup>	۳/۲۱±۰/۰۰۱۶ <sup>Ac</sup>	۳/۲۱±۰/۰۰۳۳ <sup>Ac</sup>
	۱۰	۳/۶۷±۰/۰۰۱۷ <sup>Aa</sup>	۳/۶۷±۰/۰۰۱۴ <sup>Aa</sup>	۳/۶۷±۰/۰۰۱۳ <sup>Aa</sup>	۳/۶۷±۰/۰۰۴۳ <sup>Aa</sup>	۳/۶۸±۰/۰۰۰۱ <sup>Aa</sup>
	۲۰	۳/۳۹±۰/۰۰۱۸ <sup>Ab</sup>	۳/۳۹±۰/۰۰۲۵ <sup>Ab</sup>	۳/۳۹±۰/۰۰۱۲ <sup>Ab</sup>	۳/۴۰±۰/۰۰۵۲ <sup>Ab</sup>	۳/۴۰±۰/۰۰۲۵ <sup>Ab</sup>
	۳۰	۳/۱۳±۰/۰۰۲۳ <sup>Ad</sup>	۳/۱۳±۰/۰۰۱۴ <sup>Ad</sup>	۳/۱۳±۰/۰۰۲۲ <sup>Ad</sup>	۳/۱۴±۰/۰۰۱۳ <sup>Ad</sup>	۳/۱۴±۰/۰۰۵۲ <sup>Ad</sup>
	۴۰	۲/۹۸±۰/۰۰۳۳ <sup>Ae</sup>	۲/۹۹±۰/۰۰۴۴ <sup>Ae</sup>	۲/۹۹±۰/۰۰۳۱ <sup>Ae</sup>	۲/۹۹±۰/۰۰۳۳ <sup>Ae</sup>	۳/۰۰±۰/۰۰۲۳ <sup>Ae</sup>

هر ردیف نشانگر نبود معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در یک زمان معین است. حروف غیرمشابه در هر ستون نشانگر اختلاف معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) در زمان‌های مختلف برای یک تیمار معین است؛<sup>A</sup> حروف مشابه در هر ردیف نشانگر نبود معنی‌دار بین تیمارهای مختلف در یک زمان معین است.

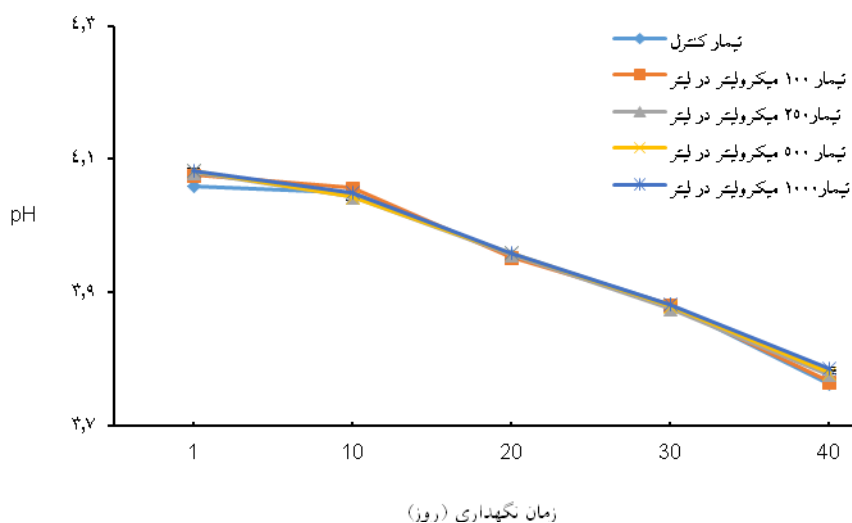
نشان نداد (نمودار ۳). به علاوه، نتایج نشان داد که pH نمونه‌های دوغ حاوی اسانس گلپر و نمونه کنترل، با گذشت زمان روند نزولی داشتند اما تتر نوع تیمار روی این روند معنی‌دار نبود (نمودار ۴).

#### مقادیر اسیدیته و pH

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که مدت زمان نگهداری بر تغییرات اسیدیته در نمونه‌های دوغ حاوی اسانس و نمونه کنترل، اثر معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) داشت، طوری که با گذشت زمان، میزان اسیدیته نمونه‌ها افزایش یافت، اما نوع تیمار اثر معنی‌داری بر اسیدیته



نمودار (۳) - تأثیر غلظت اسانس گلپر و زمان نگهداری بر مقادیر اسیدیته دوغ



نمودار (۴) - تأثیر غلظت اسانس گلپر و زمان نگهداری بر مقادیر pH دوغ

واریانس داده‌ها نشان داد، مدت زمان نگهداری و نوع تیمار اثر معنی‌داری بر درصد ماده خشک بدون چربی و درصد چربی نمونه‌ها نداشت.

- درصد چربی و درصد ماده خشک بدون چربی بر اساس نتایج جدول (۲) چربی به‌دست آمده برای نمونه‌ها بین ۰/۹۱ تا ۱/۰۵ درصد و ماده خشک بدون چربی بین ۳/۷۶ تا ۳/۸۲ درصد متغیر بود. آنالیز

جدول (۲) - تأثیر غلظت اسانس و زمان نگهداری بر درصد چربی و درصد ماده خشک بدون چربی دوغ

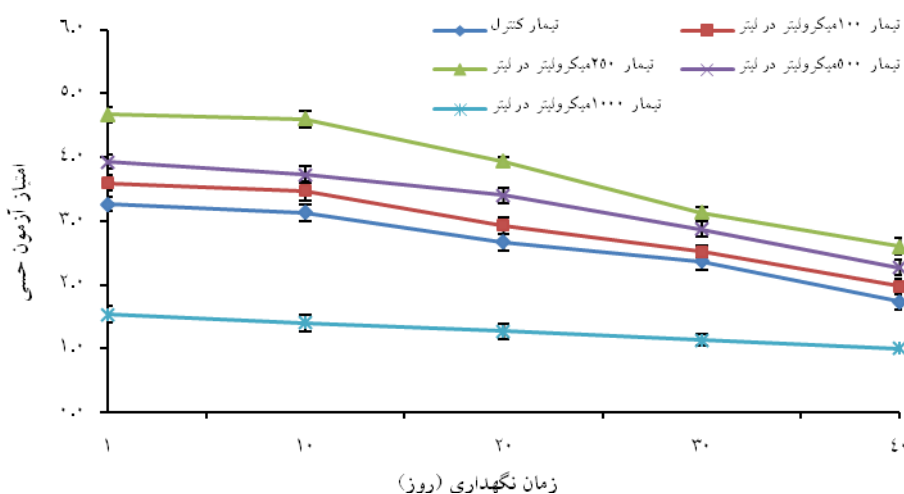
غلظت اسانس (میکرولیتر در لیتر)					زمان (روز)	پارامتر
۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	۱۰۰	کنترل		
۱/۰۱±۰/۰۱	۰/۹۸±۰/۰۵	۰/۹۵±۰/۰۲	۰/۹۳±۰/۰۳	۰/۹۸±۰/۰۳	۱	درصد چربی
۰/۹۸±۰/۰۶	۰/۹۳±۰/۰۳۳	۰/۹۵±۰/۰۲	۱/۰۵±۰/۰۳	۱±۰/۰۰	۱۰	
۰/۹۶±۰/۰۳	۰/۹۸±۰/۰۴۴	۱/۰۱±۰/۰۴	۰/۹۵±۰/۰۲	۰/۹۲±۰/۰۲	۲۰	
۱±۰/۰۰	۱±۰/۰۲	۰/۹۳±۰/۰۳	۰/۹۳±۰/۰۳	۰/۹۳±۰/۰۳	۳۰	
۰/۹۵±۰/۰۲	۰/۹۶±۰/۰۳	۰/۹۵±۰/۰۲	۱±۰/۰۰	۰/۹۱±۰/۰۱	۴۰	
۳/۷۹±۰/۰۰۶	۳/۷۹±۰/۰۰۶	۳/۷۹±۰/۰۰۵	۳/۷۹±۰/۰۰۶	۳/۸۰±۰/۰۰۵	۱	درصد ماده خشک بدون چربی
۳/۸۰±۰/۰۰۶	۳/۸۲±۰/۰۰۷	۳/۸۰±۰/۰۰۳	۳/۸۰±۰/۰۰۵	۳/۸۰±۰/۰۰۰	۱۰	
۳/۷۸±۰/۰۰۹	۳/۸۰±۰/۰۰۴	۳/۸۲±۰/۰۰۶	۳/۸۲±۰/۰۰۶	۳/۸۱±۰/۰۰۵	۲۰	
۳/۷۹±۰/۰۰۶	۳/۷۶±۰/۰۰۷	۳/۸۰±۰/۰۰۳	۳/۸۰±۰/۰۰۳	۳/۸۰±۰/۰۰۰	۳۰	
۳/۸۰±۰/۰۰۳	۳/۷۸±۰/۰۰۳	۳/۷۷±۰/۰۰۳	۳/۷۹±۰/۰۰۳	۳/۸۰±۰/۰۰۰	۴۰	



## - ارزیابی حسی

روزهای دوره نگهداری بود. دومین و سومین رتبه امتیازی به نمونه‌های دوغ حاوی ۵۰۰ و ۱۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس تعلق داشت و نمونه‌های کنترل از نظر ارزیابی حسی در رتبه چهارم قرار داشتند. کم‌ترین امتیاز در ارزیابی حسی به نمونه‌های دوغ حاوی ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر اسانس اختصاص یافت که علت آن را می‌توان با غلظت بالای این اسانس و تلخی ایجاد شده در طعم مرتبط دانست.

زمان نگهداری و نوع تیمار بر ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ کنترل و دوغ حاوی اسانس تأثیر معنی‌داری داشت ( $p < 0.05$ ). بیش‌ترین امتیاز حسی به نمونه‌ها در روز اول نگهداری تعلق گرفت و با افزایش زمان نگهداری، امتیاز نمونه‌های دوغ روند نزولی نشان داد، به‌گونه‌ای که کم‌ترین امتیاز را نمونه‌های دوغ در روز ۴۰ نگهداری اختصاص یافت (نمودار ۵). در میان نمونه‌های دوغ حاوی اسانس، تیمار دارای ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس دارای بالاترین امتیاز در تمامی



نمودار (۵)- تأثیر غلظت اسانس گلپر و زمان نگهداری بر ارزیابی حسی دوغ از نظر عطر و طعم

## بحث و نتیجه‌گیری

سازگاری با محیط باشد؛ از سوی دیگر با افزایش اسیدیته و کاهش pH، شرایط مناسب برای رشد مخمرها فراهم می‌شود. برخی محققین در بررسی‌های خود بر روی چند نوع ماست طعم‌دار بیان کردند که در ابتدا کم‌ترین مقدار کپک و مخمر در نمونه‌های حاوی ذغال‌آخته مشاهده شد اما با گذشت زمان نگهداری، این تعداد افزایش یافت (Zekai and Erdogan, 2003).

بر اساس نتایج به‌دست آمده از شمارش کپک‌ها و مخمرها، به‌نظر می‌رسد با افزایش زمان نگهداری و با توجه به حذف باکتری‌های رقیب از محیط و مساعد شدن شرایط، رشد کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌ها روند افزایشی نشان داده است. یکی از علل این امر می‌تواند تبدیل فرم اسپوری این ارگانیسیم‌ها به فرم رویشی و

بر رشد کلی فرم‌ها در نمونه‌های دوغ گزارش شده است (Mahmoudzadeh *et al.*, 2016).

در مطالعه حاضر در طول زمان اسیدیته افزایش یافت که این تغییرات به تبدیل لاکتوز به اسید لاکتیک در طول زمان مربوط می‌شود. هم‌چنین باکتری آغازگر لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس که توانایی پروتولیتیکی بالایی دارد به فعالیت خود ادامه می‌دهد و در نتیجه اسیدیته افزایش می‌یابد. محققین نشان داده‌اند که میزان اسیدیته فرآورده‌های شیر در طی مدت زمان نگهداری افزایش می‌یابد (Al-kadmany *et al.*, 2003). در همین راستا طبق نظر محققین، کاهش در میزان pH طی دوره نگهداری در فرآورده‌های تخمیری شیر می‌تواند به دلیل مصرف کربوهیدرات‌های باقی‌مانده (لاکتوز) به وسیله میکروارگانیسم‌ها و تولید اسیدلاکتیک، مقدار کمی CO<sub>2</sub> و اسید فرمیک باشد (Panesar and Shinde, 2011). نتایج نشان داده است که کاهش pH در طول زمان می‌تواند به دلیل فعالیت میکروارگانیسم‌ها در دوغ باشد (Vahedi *et al.*, 2008). هم‌چنین گزارش شده است که کاهش pH می‌تواند به علت فرآیند پس‌اسیدسازی (Postacidification) در طول نگهداری به دلیل فعالیت آنزیم بتاگالاکتوزیداز باشد که در دماهای صفر تا پنج درجه سلسیوس می‌تواند فعال باقی بماند (Kailasapathy, 2006). برخی محققان کاهش pH را به دلیل آنزیم‌های باقی‌مانده از فعالیت باکتری‌های آغازگر در حین فرآیند تخمیر می‌دانند (Christopher, 2009). در نتیجه‌ای مشابه گزارش است که اضافه کردن اسانس آویشن کوهی تأثیر معنی‌داری بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی دوغ ندارد (Mahmoudzadeh *et al.*, 2016).

گزارش دیگری نیز مؤید این موضوع می‌باشد که با افزایش زمان نگهداری، تعداد کپک‌ها و مخمرها در نمونه‌های ماست میوه‌ای افزایش یافت (Salwa *et al.*, 2004). نتایج تحقیقی بر اثرات ضدقارچی عصاره علف لیمو در ماست در سطح ۰/۳ درصد اشاره داشت (Abdel-Fattah *et al.*, 2010).

در تحقیق حاضر اسانس گلپر بر زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر تأثیر منفی اثر منفی نداشت اما باکتری‌های آغازگر طی زمان نگهداری روند نزولی داشتند. مشابه نتایج به دست آمده، جمعیت استرپتوکوکوس ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در نمونه‌های دوغ محلی تولید شده در ترکیه با افزودن نعناع، آویشن و سیر تغییر معنی‌دار نشان نداد، اما جمعیت این باکتری‌ها در طول زمان نگهداری به صورت معنی‌داری کاهش یافتند (Simsek *et al.*, 2005). نتایج مطالعه دیگری که در آن تأثیر گیاه کاکوتی کوهی بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست بررسی شده بود، نشان داد که تعداد باکتری‌های آغازگر در همه نمونه‌های ماست در طول نگهداری کاهش معنی‌داری داشتند و زنده‌مانی باکتری‌های آغازگر در نمونه‌های حاوی اسانس کاکوتی کوهی اگرچه کم‌تر از نمونه‌های شاهد بود ولی این اختلاف در سطح خطای ۰/۰۱ معنی‌دار نبود (Mehraban Sangatash *et al.*, 2007).

نتایج تحقیقی در مورد بررسی اثر اسانس آویشن بر پنیر موزارلای نگهداری شده در دمای یخچال نشان داد که مقدار کلی فرم نمونه‌های حاوی درصدهای ۰/۰۰۳ و ۰/۰۰۵ تا روز ۱۷ نگهداری صفر بود (Roshani *et al.*, 2015). نتایج مشابهی در مورد اثر اسانس آویشن کوهی

کاهش جمعیت کپک و مخمر می‌شود و از سوی دیگر بر زنده‌مانی باکتری‌های پایه تولید کننده ماست اثر منفی ندارد که جنبه‌ای مثبت برای کاربرد اسانس گلپر در فرآورده‌های تخمیری شیر می‌باشد. همچنین مقبولیت حسی نمونه‌های دوغ حاوی ۲۵۰ میکرولیتر در لیتر اسانس گلپر از نظر عطر و طعم بیشتر از نمونه کنترل و سایر نمونه‌ها بود، که این میزان می‌تواند به‌عنوان یک مقدار قابل قبول در صنعت تولید دوغ به کار گرفته شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از جناب آقای دکتر بدبدک که در انجام این تحقیق و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها کمک شایانی نمودند قدردانی می‌شود. همچنین از همکاری مدیریت و کارکنان کارخانه شیرپاستوریزه برگزیده لبن شهرستان بناب قدردانی می‌گردد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

نتایج نشان داده است که اضافه کردن اسانس آویشن کوهی به جز اثر معنی‌دار بر مواد جامد محلول، تغییر خاصی در دیگر خصوصیات فیزیکوشیمیایی دوغ ایجاد نمی‌کند (Mahmoudzadeh *et al.*, 2016).

دلیل روند کاهش امتیاز ارزیابی حسی با گذشت زمان می‌تواند به افزایش اسیدیته و کاهش pH در نمونه‌های دوغ مرتبط باشد. برخی محققین نیز کاهش پذیرش حسی چند نوع ماست را با افزایش زمان نگهداری گزارش نموده‌اند (Cinabs and Yazici, 2008; Mumtaz *et al.*, 2008). محققین علت کاهش امتیاز عطر و طعم در نمونه‌های ماست در طی دوره نگهداری را افزایش اسیدیته و کاهش استالدئید بیان نموده‌اند (Guler-Akin and Serdar Akin, 2005). بیان شده است که اضافه کردن ۰/۰۰۵ درصد اسانس آویشن به پنیر موزارلا سبب بهبود خصوصیات عطر و طعمی و پذیرش کلی نمونه‌ها می‌گردد (Roshani *et al.*, 2015). نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های دوغ دارای اسانس آویشن کوهی نشان داد که دوغ دارای ۵۰ ppm از این اسانس دارای پذیرش بالاتری در بین گروه ارزیاب بود (Mahmoudzadeh *et al.*, 2016).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که افزودن اسانس گلپر به دوغ موجب ایجاد خاصیت ضدقارچی و

## منابع

- Abdel-Fattah, S.M., Yahia Hassan, A.S., Bayoum, H.M. and Eissa, H.A. (2010). The use of lemongrass extracts as antimicrobial and food additive potential in yoghurt. *Journal of American Science*, 6: 582-259.
- Al-kadmany, E., Khattar, M., Haddad, T. and Toufeili, I. (2003). Estimation of shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physiological changes during storage. *Journal of Dairy Science*, 85: 1023-1030.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Zhiri, A. and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils, *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Christopher, M.D., Reddy, V.P. and Venkateswarlu, K. (2009). Viability during storage of two *Bifidobacterium bifidum* strains in set and stirred yoghurts containing whey protein concentrate. *Natural Products*, 8: 25-31.
- Cinabs, A. and Yazici, F. (2008). Effect of addition of blueberries on selected physicochemical and sensory properties of yoghurts. *Food Technology and Biotechnology*, 46: 434-441.
- Dawidowicz, A.L., Wianowska, D. and Baraniak, B. (2006). The antioxidant properties of alcoholic extracts from *Sambucus nigra* L. (antioxidant properties of extracts). *LWT-Food Science and Technology*, 39: 308-315.
- Guler-Akin, B. and Serdar Akin, M. (2005). Effect of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristic of bio-yoghurt made from goat's milk. *Food Chemistry*, 100: 788-793.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). Microbiology of food and animal feeding stuffs Horizontal method for the enumeration of yeasts and molds -Part 1: Colony count technique in products with water activity greater than 0.95. ISIRI No. 10899-1. [In Persian].
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2004). Yogurt -Enumeration of characteristic microorganisms-Colony count technique at 37 °C. 3<sup>rd</sup> revision, ISIRI No. 695 [In Persian].
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2002). Milk and milk products - Enumeration of coliforms part 1: colony count technique at 30 °C without resuscitation. ISIRI No. 7714. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2006). Milk and milk products-Determination of titrable acidity and value pH-Test method. ISIRI No. 2852. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009). Milk-Determination of fat content. ISIRI No. 384. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (1970). Determination of milk dry matter. ISIRI No. 637. [In Persian]
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2008). General method for sensory evaluation of dairy products. ISIRI No. 4691. [In Persian]
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT-Food Science and Technology*, 39: 1221-1227.
- Karim, G., Meshgi, M.A., Ababil, R.K. and Bokaie, S. (2016). Antimicrobial effect of *Mentha spicata* and *Mentha pulegium* essential oils in two storage temperatures on the survival of *Debaryomyces hansenii* in Iranian Doogh. *Applied Food Biotechnology*, 3: 99-104.
- Mahmoudzadeh, F., Qajarbeigi, P., Mahmoudi, R. and Mohammadpoorasl, A. (2016). Effect of *thymus kotschyanus* essential oil on the physicochemical and sensory properties of Doogh. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 13: 91-101. [In Persian]
- Mehraban Sangatash, M., Karazhyan, R., Hadad Khodaparast, M.H., Habibi Najafi, M.B. and Beiraghi Toosi, S. (2007). Effect of essential oil and extract of *Ziziphora clinopodioides* on yoghurt starter culture activity. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 4: 48-55.

- Mumtaz, S., Rehman, S.U., Huma, N., Jamil, A. and Nawaz, H. (2008). Xylooligosaccharide enriched yoghurt: Physicochemical and sensory evaluation. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7: 566-569.
- Panesar, P. and Shinde, C.H. (2011). Effect of storage on syneresis, pH, *Lactobacillus acidophilus* count, Bifidobacterium count of Aloe vera fortified probiotic yoghurt. *Current Research in Dairy Science*, 11: 935-942.
- Poursorkhabi, Sh.M. (2009). Importance and identifying of Golpar as medicinal plant. *Journal of SabzZist*, 4: 55-56. [In Persian]
- Roshani, S., Gohari Ardebili, A. and Arianfar, A. (2015). Investigation on antimicrobial and antioxidant effects of *Thymus vulgaris* on mozzarella cheese. *Research and Innovation in Food Science*, 4: 233-246. [In Persian]
- Salminen, S., von Wright, A. and Ouwehand, A. (2004). Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects. 3<sup>rd</sup> edition. Marcel Dekker Inc. New York.
- Salwa, A.A., Galal, E.A. and Neimat, A. (2004). Carrot yoghurt: sensory, chemical, microbiological properties and consumer acceptance. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3: 322-330.
- Şimşek, B., Sogdic, D. and Ozcelik, S. (2005). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 during the storage of Ayran produced with different spices. *Journal of Food Engineering*, 79: 679-680.
- Thormar, H. (2011). *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*. Wiley and Sons Ltd. pp. 267-270.
- Vahedi, N., Mazaheri-Tehrani, M. and Shahidi, F. (2008). Optimizing of fruit yoghurt formulation and evaluating quality during storage. *American Journal of Agriculture and Environment Science*, 3: 922-927.
- Zekai, T. and Erdogan, K. (2003). Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yoghurt. *Van Veterinary Journal*, 14: 10-14.

## Effect of *Heracleum persicum* (Golpar) essential oil on some microbial, chemical and sensory characteristics of heat treated Dough

Yousefi, A.R.<sup>1\*</sup>, Seyfi Hachesou, J.<sup>2</sup>, Sheikhoie Bonab, H.<sup>3</sup>, Hatami, M.<sup>4</sup>

1. Assistant Professor, Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Bonab, Bonab, Iran
2. M.Sc Graduate of Food Engineering, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
3. Assistant Professor, Department of Chemistry and Food Science and Technology, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, Iran
4. Assistant Professor, Department of Polymer Science and Engineering, Faculty of Engineering, University of Bonab, Bonab, Iran

\*Corresponding Author's E.mail: a\_yousefi@bonabu.ac.ir  
(Received: 2016/12/18 Accepted: 2017/5/24)

### Abstract

Nowadays, many studies have been conducted to substitute the chemical preservatives with naturally occurring compounds, including plant essential oils. In this research, Golpar essential oil was added to Dough samples at concentrations of 0 (control), 100, 250, 500 and 1000 µl/l and after packaging, were stored at refrigerator for 40 days. The samples were subjected to microbial (enumeration of yeasts and molds, yoghurt starter bacteria and coliforms), chemical (acidity, pH, fat and solids-non-fat) as well as sensory characteristics (taste and odor) assays. Results showed that with the increasing of the essence concentration, the populations of yeast and mold were reduced ( $P < 0.05$ ), however, the effect of Golpar essential oil on starter bacteria was insignificant. The number of starter bacteria increased towards day 10, followed by a decrease until the end of storage time. Although during the storage period, acidity and pH were increased and decreased, respectively, the effect of essential oil on fat content and solids-non-fat was not significant. Sensory evaluations in terms of taste and odor revealed that the treated samples had significant ( $p < 0.05$ ) difference in comparison with control groups. Besides, the samples containing 250 µl/l gained the highest score. It was concluded that Golpar essential oil can be efficiently used in Dough formula as a good natural preservative and flavoring agent.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Golpar essential oil, Dough, Yeast and mold, Antimicrobial, Starter culture