

## اثر اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیونش بر خواص بافتی، رنگ و رشد میکروبی ماست میوه‌ای

فاطمه چهری<sup>۱</sup>، نفیسه دعوتی<sup>۲</sup>، مصطفی کرمی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران  
پست الکترونیکی: [n.davati@basu.ac.ir](mailto:n.davati@basu.ac.ir)

۳- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۱/۲۱

### چکیده

**سابقه و هدف:** هدف از این مطالعه ارزیابی مصرف اسانس و میکروامولسیون اسانس نعنای فلفلی بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست، رنگ، بافت و بار میکروبی ماست انبه در طی مدت نگهداری بود.

**مواد و روش‌ها:** ابتدا اثر مهارکنندگی اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست اندازه‌گیری شد. سپس اسانس نعنای فلفلی ( $6 \text{ mg mL}^{-1}$ ) و  $24 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  و میکروامولسیون آن  $2 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  و  $4 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  به ماست انبه اضافه و رشد میکروارگانیسم‌های اسیدوست، کلی‌فرم‌ها، درصد رطوبت، رنگ، ویسکوزیته، خواص بافتی نمونه‌های ماست در طی ۲۵ روز نگهداری اندازه‌گیری شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که افزودن اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن تأثیری بر تولید اسید توسط باکتری‌های آغازگر ماست نسبت به نمونه کنترل نداشت. اثر زمان بر رطوبت و ویسکوزیته ماست میوه‌ای ( $p < 0.05$ ) معنی‌دار ولی اثر اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن بر سفتی و چسبندگی بافت ماست میوه‌ای غیر معنی‌دار بود. همچنین غلظت‌های متفاوت اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن بر شاخص‌های  $L^*$  و  $b^*$  رنگ ماست میوه‌ای در طی زمان نگهداری معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) و بر شاخص  $a^*$  غیر معنی‌دار بود. رشد کلی‌فرم در حضور اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن در اولین روز تولید نسبت به نمونه کنترل مهار گردید. اما در تعداد باکتری‌های اسید دوست ماست میوه‌ای در طی نگهداری اختلاف معنی‌داری دیده نشد.

**نتیجه‌گیری:** افزودن اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون اسانس نعنای فلفلی ضمن عدم تأثیر بر رشد آغازگرهای ماست می‌تواند باعث کنترل رشد کلی‌فرم‌ها گردد و بدون تأثیر بر بافت می‌تواند باعث تغییرات رنگی در ماست میوه‌ای شود.

**واژگان کلیدی:** ماست میوه‌ای، اسانس نعنای فلفلی، میکروامولسیون، بافت، رنگ

### پیام‌های اصلی

- افزودن اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن بر رشد باکتری‌های آغازگر ماست تأثیری ندارد.
- اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن باعث کنترل رشد کلی‌فرم‌ها در ماست میوه‌ای گردید.
- اسانس نعنای فلفلی و میکروامولسیون آن تأثیری بر بافت ماست میوه‌ای نداشت اما دچار تغییر رنگ آن گردید.

## • مقدمه

ماست یک محصول لبنی است که از تخمیر شیر توسط دو باکتری *استریپتوکوکوس سالواریوس* زیرگونه *ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی* زیرگونه *بولگاریکوس* به دست می‌آید و شامل انواع متنوعی نظیر ماست‌های ست، همزده، نوشیدنی شیرین، میوه‌ای، پنیری، منجمد و خشک می‌باشد. ماست میوه‌ای به دلیل داشتن مزه، رنگ، فیبر، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بافت خاص خود ۷۴ درصد از بازار مصرف ماست دنیا را تشکیل داده است. مصرف این ماست همچنین باعث کاهش بیماری‌ها و اختلالات روده‌ای می‌گردد (۱). اما همواره به دلیل استفاده از قطعات میوه خطر رشد میکروارگانیسم‌های اسید دوستی نظیر قارچ‌ها و سایر باکتری‌های بیماری‌زا از جمله کلی‌فرم‌ها وجود دارد که می‌تواند به دلیل عدم رعایت نکات بهداشتی در طی فرآوری میوه و از محیط آلوده بخصوص دست کارگران منتقل گردد (۲). همواره تولید کنندگان جهت جلوگیری از رشد میکروبی محصولات غذایی ناگزیر به مصرف نگهدارنده‌های شیمیایی هستند که از نظر سلامتی عوارضی را برای مصرف کنندگان به همراه دارد. یکی از جایگزین‌های مناسب برای نگهدارنده‌های شیمیایی استفاده از جایگزین‌های طبیعی نظیر اسانس‌های گیاهی بخصوص اسانس نعناع فلفلی با ویژگی آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی می‌باشد (۳، ۴). این اسانس به جهت فعالیت‌های ضد ویروسی، ضد میکروبی، ضد قارچی و ضد حشرات در صنایع دارویی، غذایی و آرایشی کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده است (۵). با وجود فواید زیاد اسانس‌های روغنی اما به دلیل حلالیت پایینشان در حلال‌های آبی، فراریت بالا، تغییرات نامطلوب رنگ و داشتن بو و مزه تند و زننده همواره مشکلاتی در کاربرد آن‌ها در فرآوری مواد غذایی وجود دارد. امروزه یکی از روش‌های مناسب جهت حل این معضلات انکپسولاسیون اسانس‌های روغنی در ساختار ریز ذرات امولسیون می‌باشد که علاوه بر بهبود حل پذیری اسانس‌ها در سیستم‌های غذایی به دلیل تشدید خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن‌ها باعث افزایش ماندگاری محصولات نیز می‌گردند (۶). اما به دلیل ماهیت روغنی و رنگی بودن اسانس‌ها احتمال تغییرات رنگی و بافتی محصولات غذایی وجود دارد. از طرف دیگر به دلیل خواص ضد میکروبی آن‌ها احتمال اثر منفی بر رشد باکتری‌های آغازگر محصولات تخمیری نظیر ماست وجود دارد. از این‌رو هدف از این مطالعه ارزیابی مصرف اسانس و میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی بر فعالیت باکتری‌های

آغازگر ماست و سپس اثر افزودن آن بر رنگ، بافت و بار میکروبی ماست انبه در طی مدت ۰، ۱۳ و ۲۵ روز انبارداری یخچالی (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) بود.

## • مواد و روش‌ها

### تهیه مواد اولیه

اسانس نعناع فلفلی از شرکت طب سبز حکیم بوعلی سینا همدان، ماست کم چرب از شرکت پگاه همدان و انبه از بازار محلی همدان تهیه گردیدند.

### تهیه میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی

به منظور تهیه میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی از اسانس و توئین ۸۰ هریک به میزان ۷/۵٪ حجمی/حجمی برداشت گردید و با آب مقطر به میزان ۸۵٪ حجمی/حجمی توسط مگنت و همزن مغناطیسی با دور ۸۰۰ rpm به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط گردید، سپس جهت هموژنیزاسیون آن توسط هموژنایزر اولتراسونیک SONOPULS HD 3100 (BANDELIN، آلمان) با پروب ۲۵ کیلوهرتز، توان ۲۲۵ وات و زمان ۱۰ دقیقه به خوبی هموژن شد (۷).

### عکس برداری ذرات میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی

#### توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی SEM

مورفولوژی قطرات میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی با استفاده از SEM مدل Quanta 450- FEI ساخت کشور آمریکا مورد سنجش قرار گرفت. میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی ابتدا لیوفیلیزه شده سپس با یک لایه نازک طلا پوشش‌دهی گردید. تصاویر تحت ولتاژ ۳۰ کیلو ولت گرفته شد.

### بررسی تاثیر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن

#### بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست

به منظور بررسی اثر مهارکنندگی اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر باکتری‌های آغازگر در تولید ماست، سرعت کاهش pH در طی ساعات اولیه تا تشکیل دلمه ماست بررسی گردید. به این منظور برای هر تست که شامل نمونه‌های کنترل، حاوی اسانس نعناع فلفلی و حاوی میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی بود ابتدا یک لیتر شیر جوشانده و تا دمای حدوداً ۴۲ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. برای نمونه‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی، اسانس به مقدار ۲۴ و ۶ گرم و برای نمونه‌های حاوی میکروامولسیون اسانس، ۴ و ۲ گرم از آن اضافه شد که این غلظت‌های انتخابی از مطالعه قبلی به دست آمده بود. سپس براساس دستور شرکت سازنده استارتر کالچر

در محیط کشت اورنج سرم آگار کشت عمقی گردید و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت تا ۵ روز در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردیدند (۱۱، ۱۲).

### شمارش کلی فرم‌ها

جهت شمارش کلی فرم‌ها، ابتدا نمونه در رینگر استریل تا رقت  $10^{-7}$  رقیق‌سازی گردید سپس از رقت مربوطه در محیط کشت ویولت رد بایل سالت آگار (مرک، آلمان) کشت مخلوط شده و پلیت‌ها به مدت ۴۸ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند (۱۱، ۱۳).

### اندازه‌گیری ویسکوزیته

خواص رئولوژیکی نمونه‌های ماست انبه توسط دستگاه ویسکومتر بروکفیلد با اسپیندل شماره ۳ اندازه‌گیری گردید. جهت این آنالیز از ۲۲۰ میلی لیتر نمونه ماست انبه استفاده شد و ویسکوزیته ظاهری آن در سرعت ۳۰ rpm در دمای  $20 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد تعیین گردید (۱۴).

### آنالیز خواص بافتی

ویژگی‌های بافتی نمونه‌های ماست انبه شامل چسبندگی و سختی نمونه‌ها توسط دستگاه سنجش بافت سنتام مدل STM-5 (ساخت ایران) در دمای  $4 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید. برای این آنالیز از روش بک اکستروژن با پروب استوانه‌ای به قطر ۳۰ mm و فنجانک استوانه‌ای به ارتفاع ۴۰ mm میلی‌متر استفاده شد که سرعت پروب ۸۰ mm بر دقیقه بود.

### رنگ سنجی

جهت آنالیز رنگ، از نمونه‌های ماست انبه با استفاده از دوربین در یک فضای تاریک عکس‌برداری شد و سپس تصاویر با نرم افزار Image G پردازش و شاخص‌های  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  تعیین گردید.

### آنالیز آماری

اثر زمان در سه سطح روزهای ۰، ۱۳ و ۲۵ و تیمار شامل اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر بافت، ویسکوزیته، رنگ و فعالیت میکروبی نمونه‌های ماست انبه بر اساس طرح آماری کاملاً تصادفی به روش فاکتوریل در سه تکرار بررسی گردید. تجزیه و تحلیل واریانس داده‌ها با نرم افزار SPSS 26 انجام شد. در صورت معنی‌داری، مقایسه میانگین‌ها بر اساس حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد بررسی شد.

### • یافته‌ها و بحث

بررسی مورفولوژی ذرات میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی توسط SEM

(کریستین-هانسن - دانمارک) به میزان  $0.02 - 0.04$  گرم استارترکالچر توزین گشته و به نمونه حاوی یک لیتر شیر اضافه شد و در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تا بستن دلمه (۴ ساعت) گرمخانه‌گذاری شد. در طی گرمخانه‌گذاری هر نیم ساعت pH نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (۸). در نهایت از دلمه تشکیل شده ماست، کشت میکروبی جهت بررسی تاثیر اسانس و میکروامولسیون آن بر میزان رشد باکتری‌های اسید لاکتیک انجام شد. به این منظور، نمونه تا رقت  $10^{-7}$  رقیق‌سازی گردید و در محیط کشت MRS آگار (مرک، آلمان) تحت شرایط بی‌هوازی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شد (۹).

### تهیه پوره انبه

ابتدا انبه‌ها بخوبی شسته شده، پوست گیری و هسته‌گیری گردیدند. جهت تولید پوره انبه یکدست از خردکن استفاده شد سپس میوه له شده با عبور از الک با مش ۱۰ به خوبی یکدست گردید. سرانجام پوره جهت کاهش بار میکروبی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد پاستوریزه گردید.

### تهیه ماست انبه

جهت بررسی اثر اسانس روغنی نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر خواص بافتی و میکروبی ماست انبه، پوره انبه به میزان ۲۰٪ به ماست افزوده گردید و سپس اسانس در دو غلظت  $6 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  و  $24 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  و میکروامولسیون آن در دو غلظت  $2 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  و  $4 \text{ (mg mL}^{-1}\text{)}$  به آن اضافه و با همزن Dragon Lab OS20-Pro به مدت ۱ دقیقه مخلوط گردید. نمونه‌های ماست در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۵ روز نگهداری شدند.

### اندازه گیری درصد رطوبت

به منظور اندازه گیری درصد رطوبت، ابتدا پلیت‌ها به مدت نیم ساعت در آون ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. سپس مقدار ۱۰۰ گرم نمونه داخل پلیت‌ها توزین شده و داخل آون با دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲/۵ ساعت قرار گرفت و تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردیدند. پلیت‌های حاوی نمونه‌ها در دسیکاتور قرار گرفت و پس از سرد شدن توزین گردیدند. درصد رطوبت از اختلاف وزن اولیه ماست انبه با وزن بعد از خشک کردن آن به دست آمد (۱۰).

### شمارش میکروارگانیزم‌های اسیدوست

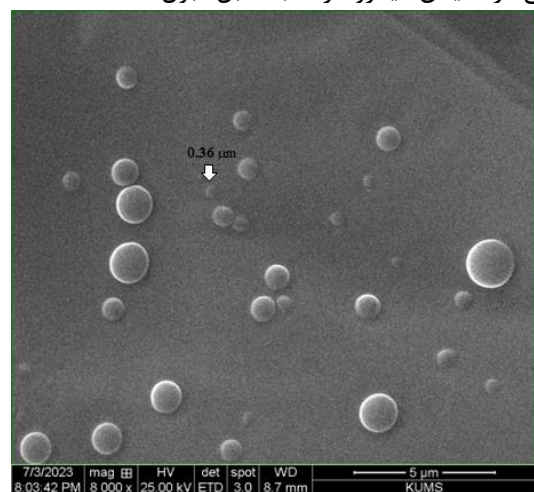
جهت شمارش باکتری‌های اسید دوست و قارچ‌ها که همواره احتمال رشد آن‌ها در ماست وجود دارد از محیط کشت اورنج سرم آگار (مرک، آلمان) استفاده شد. ابتدا نمونه در رینگر استریل تا رقت  $10^{-7}$  رقیق‌سازی گردید سپس از رقت مربوطه

باکتری‌های آغازگر ماست نمی‌شود. مطالعات مشابه متعددی نیز ثابت کرده است که افزودن اسانس‌های روغنی بر رشد آغازگرهای ماست بی‌تاثیر بوده و یا اثر تقویتی داشته است (۲۰، ۱۹). در مطالعه‌ای غضنفری و همکاران (۲۰۲۴) با افزودن باکتری *Limosilactobacillus fermentum* 4-17، ماست غنی شده از گاما آمینوبوتریک اسید تولید کردند، نتایج آن‌ها نشان داد که pH در نمونه‌های ماست در طی نگهداری کاهش یافت (۲۱). البته نتایج کشت میکروبی هیچگونه تشکیل کلنی از باکتری‌های اسید لاکتیک را نشان داد که دور از انتظار هم نیست زیرا این کشت‌های آغازگر تجاری طوری طراحی شده‌اند که روی محیط کشت جامد قابلیت کشت و تشکیل کلنی جهت تکثیر و در دسترس قرار گرفتن عموم نداشته باشند.

#### درصد رطوبت

شکل ۲، نتایج آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف اسانس و میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی بر درصد رطوبت ماست میوه‌ای در طی روزهای ۰، ۱۳ و ۲۵ نگهداری را نشان می‌دهد. بر طبق این جدول اثر زمان نگهداری بر میزان رطوبت ماست میوه‌ای معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بوده ولی اثر فرمولاسیون (افزودن اسانس و میکروامولسیون آن) و اثر متقابل فرمولاسیون و زمان نگهداری بر میزان رطوبت ماست میوه‌ای معنی‌دار نبود. بیشترین میزان رطوبت به نمونه کنترل در روز صفر نگهداری (۸۳/۷۴) و کمترین میزان رطوبت به نمونه ماست انبه حاوی میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در روز ۲۵ نگهداری (۸۲/۶۶) تعلق گرفت. بطور مشابهی اسماعیل و همکاران (۲۰۰۶) در مطالعه خود اختلاف قابل توجهی در مقدار ماده خشک نمونه‌های ماست حاوی شش اسانس مختلف گزارش نکردند (۲۲). براساس نتایج، درصد رطوبت نمونه‌های ماست میوه‌ای در طی زمان کاهش یافت. مقدار رطوبت ماست میوه‌ای می‌تواند متناسب با فرایند تخمیر، شرایط نگهداری و واکنش بین اجزاء ماست و میوه در طی زمان دستخوش تغییر باشد (۲۳). در طول ماندگاری ماست، تخمیر لاکتوز توسط باکتری‌های اسید لاکتیک منجر به کاهش pH و در نتیجه انعقاد بیشتر پروتئین‌های آن شده و در نهایت با خروج آب از بافت درصد رطوبت کاهش می‌یابد (۲۴). علاوه بر پروتئولیز میکروبی و تغییرات اسیدیته، فرایند تبخیر و واکنش ذرات روغنی اسانس با ترکیبات ماست نیز بر درصد رطوبت ماست انبه می‌تواند تاثیرگذار باشد.

مطابق با شکل ۱، با کمک میکروسکوپ الکترونی روبشی شکل‌گیری ذرات در مقیاس میکرو مشاهده گردید و کوچکترین ذره با قطر ۰٫۳۶ میکرومتر تعیین شد. اندازه ذرات یکی از عوامل مهم و تعیین کننده پایداری امولسیون‌ها است (۱۵). با کاهش اندازه ذرات، فعالیت بیولوژیکی ترکیبات لیپوفیلی محصور در امولسیون‌ها نیز افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش جابجایی ترکیبات فعال زیستی از طریق غشاهای سلولی و افزایش نسبت فضای سطحی به حجمی این ذرات امولسیونی، واکنش‌پذیری ذرات بهبود می‌یابد (۱۶). سیفی و همکاران (۱۳۹۳) میانگین اندازه ذره‌ای ساختار امولسیونی اسانس نعناع فلفلی را حدوداً ۰٫۲ میکرومتر (۱۷)، مرادی و همکاران (۲۰۲۳) متوسط قطر حجمی ذرات ساختار امولسیونی اسانس زیره سبز را ۱۰۶/۱ نانومتر (۰٫۱ میکرومتر) (۱۸)، یاسگان (۲۰۲۰) اندازه ذرات ساختار امولسیونی اسانس مریم گلی را ۲۰۴/۴ نانومتر (۰٫۲ میکرومتر) و فالح و همکاران (۲۰۲۱) قطر متوسط ذرات امولسیونی اسانس نعناع فلفلی را کمتر از ۱۰۱ نانومتر (۰٫۱ میکرومتر) (۴) گزارش کردند. در مقایسه با این مطالعات مشابه، ذرات ریز ساختار تشکیل شده در سیستم امولسیونی نعناع فلفلی در مقیاس میکرومتر نسبتاً قابل قبول است.



شکل ۱. تصویر SEM از میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی

تهیه شده با بزرگنمایی ۸۰۰۰X

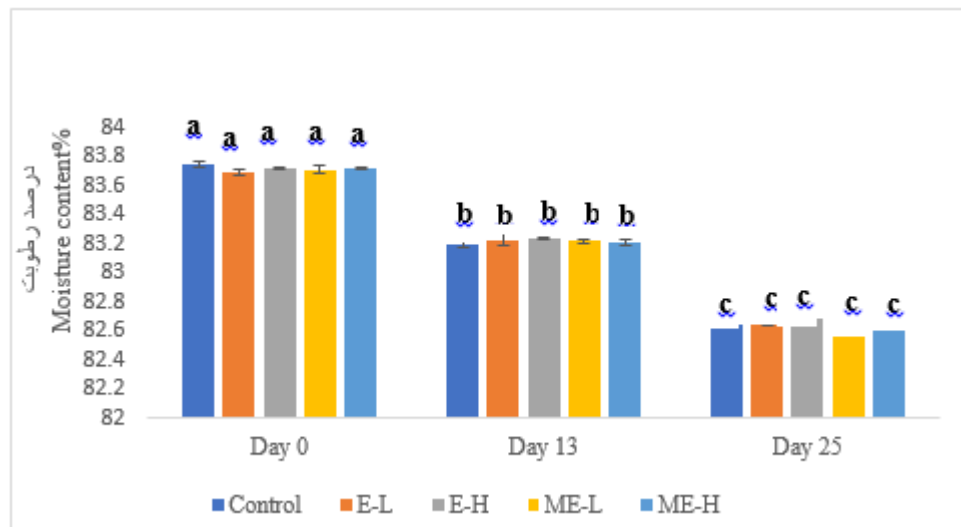
#### تاثیر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست

نتایج (جدول ۱) نشان داد که افزودن اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن تاثیر معنی‌داری بر تولید اسید توسط فلور لاکتیکی و در نتیجه کاهش pH در شیر نسبت به نمونه کنترل نداشت بنابراین افزودن این اسانس مانع از رشد و فعالیت

جدول ۱. اثر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر تغییرات pH شیر بواسطه فعالیت کشت آغازگر

	زمان (h)								
	۰	۰.۵	۱	۱.۵	۲	۲.۵	۳	۳.۵	۴
Control	۶.۱۹±۰.۰۰۵ <sup>a</sup>	۵.۹۶±۰.۰۰۵ <sup>b</sup>	۵.۷۲±۰.۰۰۵ <sup>c</sup>	۵.۴۹±۰.۰۰۵ <sup>d</sup>	۵.۲۵±۰.۰۰۵ <sup>e</sup>	۵.۰۲±۰.۰۰۵ <sup>f</sup>	۴.۷۹±۰.۰۰۵ <sup>g</sup>	۴.۵۵±۰.۰۰۵ <sup>h</sup>	۴.۳۲±۰.۰۰۵ <sup>i</sup>
E-L	۶.۱۸±۰.۰۰۵ <sup>a</sup>	۵.۹۵±۰.۰۰۵ <sup>b</sup>	۵.۷۲±۰.۰۰۵ <sup>c</sup>	۵.۴۹±۰.۰۰۵ <sup>d</sup>	۵.۲۵±۰.۰۰۵ <sup>e</sup>	۵.۰۲±۰.۰۰۵ <sup>f</sup>	۴.۷۹±۰.۰۰۵ <sup>g</sup>	۴.۵۵±۰.۰۰۵ <sup>h</sup>	۴.۳۲±۰.۰۰۵ <sup>i</sup>
E-H	۶.۱۹±۰.۰۰۵ <sup>a</sup>	۵.۹۶±۰.۰۰۵ <sup>b</sup>	۵.۷۲±۰.۰۰۵ <sup>c</sup>	۵.۴۹±۰.۰۰۵ <sup>d</sup>	۵.۲۵±۰.۰۰۵ <sup>e</sup>	۵.۰۲±۰.۰۰۵ <sup>f</sup>	۴.۷۹±۰.۰۰۵ <sup>g</sup>	۴.۵۵±۰.۰۰۵ <sup>h</sup>	۴.۳۲±۰.۰۰۵ <sup>i</sup>
ME-L	۶.۱۹±۰.۰۰۵ <sup>a</sup>	۵.۹۷±۰.۰۰۵ <sup>b</sup>	۵.۷۲±۰.۰۰۵ <sup>c</sup>	۵.۴۹±۰.۰۰۵ <sup>d</sup>	۵.۲۶±۰.۰۰۵ <sup>e</sup>	۵.۰۲±۰.۰۰۵ <sup>f</sup>	۴.۷۹±۰.۰۰۵ <sup>g</sup>	۴.۵۵±۰.۰۰۵ <sup>h</sup>	۴.۳۲±۰.۰۰۵ <sup>i</sup>
ME-H	۶.۱۹±۰.۰۰۵ <sup>a</sup>	۵.۹۶±۰.۰۰۵ <sup>b</sup>	۵.۷۲±۰.۰۰۵ <sup>c</sup>	۵.۴۹±۰.۰۰۵ <sup>d</sup>	۵.۲۵±۰.۰۰۵ <sup>e</sup>	۵.۰۲±۰.۰۰۵ <sup>f</sup>	۴.۷۹±۰.۰۰۵ <sup>g</sup>	۴.۵۵±۰.۰۰۵ <sup>h</sup>	۴.۳۲±۰.۰۰۵ <sup>i</sup>

حروف متفاوت آماری معنی داری را نشان می دهند ( $p < 0.05$ ). E-L: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی گرم در میلی لیتر)؛ E-H: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی گرم در میلی لیتر)؛ ME-L: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی گرم در میلی لیتر)؛ ME-H: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی گرم در میلی لیتر).



شکل ۲. اثر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر درصد رطوبت نمونه‌های ماست میوه‌ای در طی نگهداری

میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار ( $n = 3$ ) هستند. حروف متفاوت آماری معنی داری را نشان می دهند ( $p < 0.05$ ). E-L: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی گرم در میلی لیتر)؛ E-H: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی گرم در میلی لیتر)؛ ME-L: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی گرم در میلی لیتر)؛ ME-H: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی گرم در میلی لیتر).

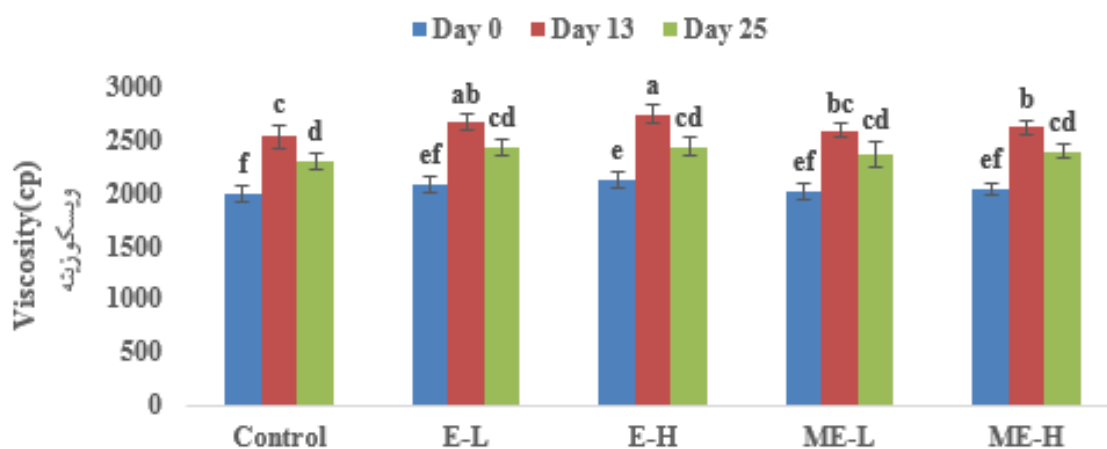
## ویسکوزیته

نتایج نشان داد که اثر زمان نگهداری، افزودن اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر ویسکوزیته ماست انبه ( $p < 0.05$ ) معنی دار است. ارزیابی خواص رئولوژیکی ماست انبه اطلاعات مهمی در ارتباط با ساختار و تعاملات اجزای درون ماده‌ای این محصول به عنوان یک مایع ویسکوالاستیک با ویژگی‌های چسبناکی و کشسانی حاصل می کند که متناسب با فرمولاسیون و شرایط فرایند قابل تغییر است (۲۵). در مطالعه جاری، با گذشت زمان، ویسکوزیته ماست انبه تا روز ۱۳ام افزایش پیدا کرد که می تواند به دلیل از دست دادن رطوبت در طی زمان نگهداری، فعالیت کشت‌های آغازگر، جذب آب توسط مولکول‌های پلی ساکاریدی و نهایتاً خواص ژل کنندگی ترکیبات پکتینی موجود در بافت انبه باشد (۲۶). استرپتوکوکوس

سالواریوس زیرگونه ترموفیلوس و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس به عنوان کشت‌های آغازگر با تولید اسید و کاهش pH از طریق هیدرولیز لاکتوز و تولید الیگوساکاریدها و پلی ساکاریدهای خارج سلولی بر خواص رئولوژیکی ماست موثرند (۲۶). پلی ساکاریدها قادرند با جذب آب آزاد موجود در بافت ماست باعث افزایش ویسکوزیته شوند. اسیدیته بالا منجر به کواگولاسیون پروتئین‌ها و در نتیجه تشکیل ژل با ثبات و قوی می گردد. بعلاوه حضور قطعات میوه به دلیل داشتن ترکیبات اسیدی و پلی ساکاریدی نظیر پکتین روی ویسکوزیته ماست تاثیرگذار است. زیرا پکتین به دلیل خواص ژل کنندگی باعث تثبیت و قوام بافت ماست می گردد (۲۷). در این مطالعه (شکل ۳) ویسکوزیته ماست میوه‌ای تا روز ۱۳ نگهداری افزایش یافت اما بعد از آن تا روز ۲۵ نگهداری به طور معنی داری روند کاهشی را نشان داد. بایستی توجه داشت که نگهداری در دمای پایین

در مقیاس بزرگتری نسبت به قطرات میکروامولسیون آن هستند که منجر به تشکیل شبکه در بافت ماست و متعاقبا افزایش ویسکوزیته می‌گردد (۲۹). همچنین کاهش اندازه قطرات اسانس در ساختار میکروامولسیونی امکان پراکندگی یکنواخت‌تر را فراهم کرده که منجر به بافت یکدست می‌گردد. اسانس‌ها بطور کلی قادرند با ترکیبات ماست بخصوص پروتئین‌ها تعامل داشته و منجر به قوام بیشتر گردند اما اسانس‌ها در ساختار میکروامولسیونی خود به دلیل شکل محصور و اینکپسوله شده قادر نیستند همانند اسانس‌ها این تعامل را بخوبی برقرار کنند. بعلاوه با افزایش سطح تماس ذرات میکروامولسیونی اسانس‌ها که مقدار مصرفی آن در مطالعه ما کمتر از اسانس بوده، حلالیت آن‌ها افزایش یافته و ویسکوزیته کلی آن‌ها در مقایسه با ذرات اسانس که بزرگتر و فاقد کپسولاسیون هستند کاهش می‌یابد (۳۰). نتایج ما با این یافته‌های اشاره شده همسو است. مصطفی یار و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که افزودن اسانس‌های گلپر و پونه کوهی منجر به کاهش ویسکوزیته ماست هلو نسبت به کنترل گردید.

نیز در افزایش سفتی و ویسکوزیته ماست موثر است. از طرفی دیگر با گذشت زمان pH کاهش یافته و منجر به تغییرات بارهای الکتریکی پروتئین‌ها شده که بر تعاملات بین مولکولی، سرعت پروتئولیز و متعاقبا بافت ماست تاثیر گذار است. پروتئولیز باعث تجزیه پروتئین‌ها به پپتیدها و اسیدهای آمینه کوچکتر شده که منجر به کاهش قوام ماست می‌گردد. همچنین تجزیه پروتئین‌ها ساختار ژل را تضعیف کرده و منجر به ناپایداری بافت می‌شود (۲۸). نتایج نشان داد مقدار ویسکوزیته بین نمونه‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی، میکروامولسیون اسانس و نمونه کنترل دارای اختلاف معنی‌داری است و ویسکوزیته ماست انبه با افزایش غلظت اسانس و میکروامولسیون آن افزایش مختصری می‌یابد بطوریکه ویسکوزیته برای نمونه کنترل در روز صفر کم‌ترین مقدار (cp) ۱۹۹۳ و برای ماست انبه حاوی اسانس (۲۷۴۲ cp) در روز ۱۳ نگهداری بیشترین مقدار (cp) ۲۷۴۲ در سطح احتمال ۹۵٪ مشاهده شد. عوامل متعددی در افزایش مختصر ویسکوزیته ماست انبه دارای اسانس نسبت به میکروامولسیون آن دخیل است از جمله اینکه قطرات اسانس



شکل ۳. اثر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر ویسکوزیته ماست میوه‌ای در طی نگهداری

میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار (n = 3) هستند. حروف متفاوت آماری معنی‌داری را نشان می‌دهند (p < 0.05). E-L: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ E-H: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ ME-L: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ ME-H: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر).

## آنالیز بافت

مطابق با جدول ۲ نتایج بررسی تاثیر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر چسبندگی و سختی نمونه‌های ماست انبه در طی روزهای ۰، ۱۳ و ۲۵ نگهداری نشان داد که اثر زمان بر سختی بافت ماست میوه‌ای در سطح احتمال ۹۵٪ معنی‌دار ( $p > 0.05$ ) بوده ولی بر چسبندگی معنی‌دار نیست. همچنین اثر فرمولاسیون بر سختی و چسبندگی ماست انبه معنی‌دار نیست. در این آزمون رفتار سطحی بافت نمونه‌های ماست انبه از طریق اعمال فشار و نیرو به لایه‌های مختلف بافت محصول توسط دستگاه بافت سنج مورد سنجش قرار گرفت که در این بررسی، نیروی اولیه لازم جهت شکستگی ساختار ژل تعیین گردید. در این آنالیز چنانچه شیب نمودار بیش از ۴۵ درجه بوده، محصول در اثر فشار اولیه از ساختار ژل خارج نشده، قابلیت بازیابی ساختار پس از حذف نیرو بالا بوده، شکست اولیه اندک و نمودار تحت اعمال نیرو به صورت صعودی با شیب ثابت باشد، در این حالت ماست از بافت بسیار مناسبی با ساختار پایدار و یکدست برخوردار است (۳۱). خواص بافتی ماست معمولاً با ویژگی‌های سختی، چسبندگی، شکستگی و فنریت تعیین می‌گردد (۳۲). این ویژگی‌ها بخصوص چسبندگی و سختی بر درک و حس ما هنگام غذا خوردن موثر است. به مقدار مقاومت مواد در مقابل تغییر ساختار هنگام اعمال نیرو و فشار و در بافت ماده غذایی به نیروی لازم جهت فشردن غذا بین زبان و کام به منظور تغییر شکل مشخصی، سختی می‌گویند (۳۳). در این مطالعه، ابتدا

سفتی در همه نمونه‌ها با گذشت زمان به تدریج افزایش پیدا کرده و سپس کاهش یافت. این نتیجه می‌تواند به واسطه از دست دادن رطوبت و تراکم بافتی در طی زمان تا روز ۱۳ نگهداری بوده که منجر به افزایش سفتی بافت شده است. اما بعد از روز ۱۳ تا روز ۲۵ به واسطه افزایش اسیدیته و فرایندهای پروتئولیزی باکتری‌ها، بافت ژله‌ای شکسته شده و سفتی کاهش می‌یابد. این یافته با نتایج ویسکوزیته همسو بود. مشابه نتایج ویسکوزیته، بیشترین سفتی متعلق به نمونه ماست انبه حاوی اسانس با غلظت  $(\mu\text{g mL}^{-1})$  ۲۴۰۰۰ در روز ۱۳  $(0.46 \pm 0.03)$  بود. کمترین مقدار سفتی و قابلیت جویدگی نیز متعلق به نمونه‌های ماست انبه حاوی میکروامولسیون اسانس و نمونه کنترل در روز صفر  $(0.31 \pm 0.01)$  بود. چسبندگی ماست انبه که نشان‌دهنده الاستیسیته آن است در کلیه نمونه‌ها با افزایش غلظت اسانس و میکروامولسیون آن اختلاف معنی‌داری در مقایسه با کنترل نداشت. چون قابلیت چسبندگی ماست انبه تابعی از سفتی می‌باشد، از اینرو رفتاری مشابه سفتی در طی زمان نشان داد. بیشترین قابلیت چسبندگی به نمونه ماست انبه حاوی اسانس با غلظت  $(\mu\text{g mL}^{-1})$  ۲۴۰۰۰ در روز ۱۳  $(0.77 \pm 0.03)$  و کمترین مقدار به نمونه‌های ماست انبه حاوی میکروامولسیون اسانس (۲ و ۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)  $(0.23 \pm 0.01)$  در روز صفر تعلق گرفت.

جدول ۲. اثر اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر خواص بافتی نمونه‌های ماست میوه‌ای

	روز	روز ۰	روز ۱۳	روز ۲۵
		Day 0	Day 13	Day 25
سختی Hardness	Control	$0.31 \pm 0.01^c$	$0.44 \pm 0.03^a$	$0.26 \pm 0.03^b$
	E-L	$0.32 \pm 0.01^c$	$0.45 \pm 0.03^a$	$0.27 \pm 0.03^b$
	E-H	$0.34 \pm 0.01^c$	$0.46 \pm 0.03^a$	$0.28 \pm 0.03^b$
	ME-L	$0.31 \pm 0.01^c$	$0.45 \pm 0.03^a$	$0.26 \pm 0.03^b$
	ME-H	$0.31 \pm 0.01^c$	$0.45 \pm 0.03^a$	$0.26 \pm 0.03^b$
چسبندگی Adhesiveness	Control	$0.24 \pm 0.01^a$	$0.075 \pm 0.03^a$	$0.43 \pm 0.04^a$
	E-L	$0.25 \pm 0.01^a$	$0.076 \pm 0.03^a$	$0.44 \pm 0.04^a$
	E-H	$0.26 \pm 0.01^a$	$0.077 \pm 0.03^a$	$0.45 \pm 0.04^a$
	ME-L	$0.23 \pm 0.01^a$	$0.076 \pm 0.03^a$	$0.44 \pm 0.04^a$
	ME-H	$0.23 \pm 0.01^a$	$0.075 \pm 0.03^a$	$0.44 \pm 0.04^a$

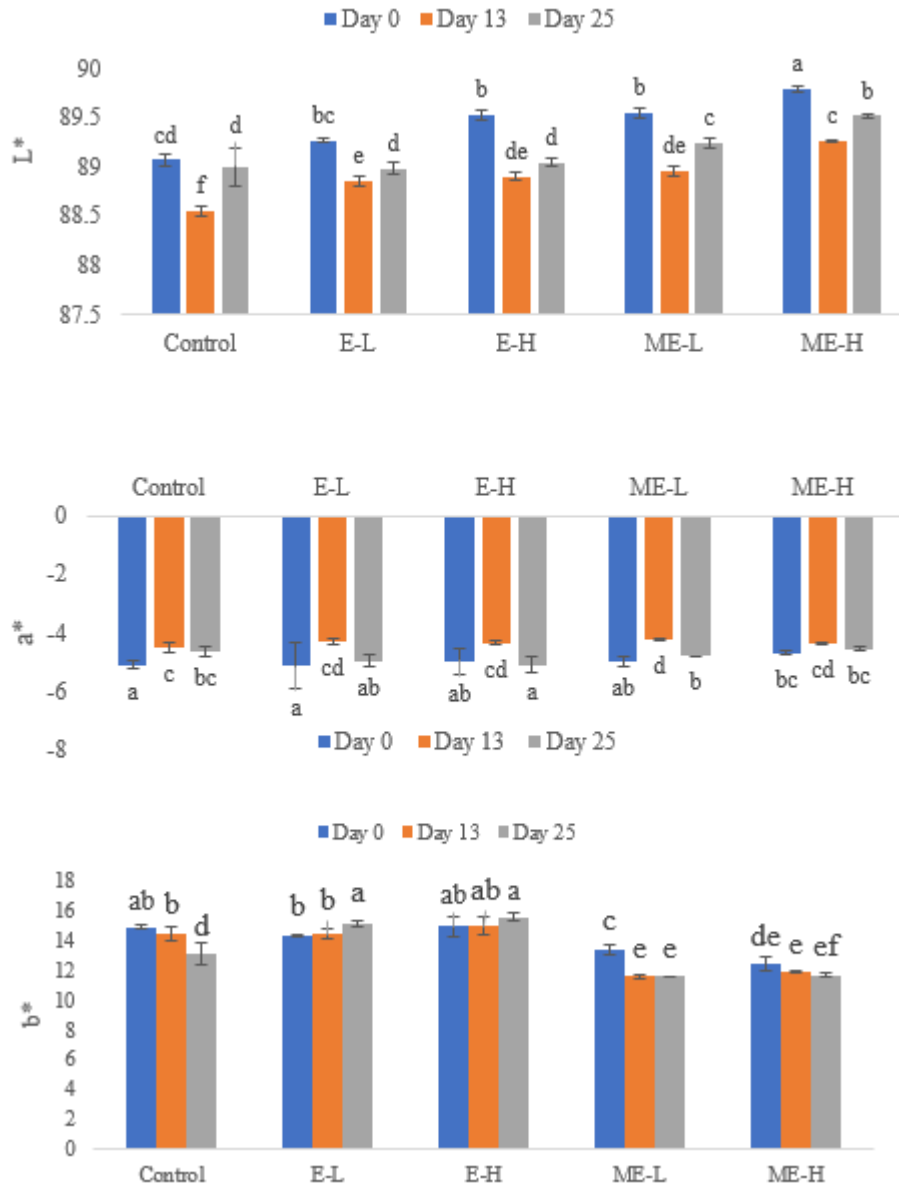
حروف متفاوت اختلاف آماری معنی‌دار را نشان می‌دهند ( $p < 0.05$ ). E-L: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ E-H: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ ME-L: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر). ME-H: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر).

## آنالیز رنگ

رنگ یکی از ویژگی‌های حسی تعیین کننده کیفیت ظاهری مواد غذایی است که همان ابتدا توسط مصرف کننده درک شده و بر پذیرش آن تاثیرگذار است (۳۴). شاخص  $L^*$  با مقیاس ۰ - ۱۰۰ نشان دهنده درجه روشنی و درخشانی رنگ است. طبق آنالیز آماری نتایج، غلظت‌های متفاوت اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر شاخص  $L^*$  رنگ ماست انبه در طی زمان نگهداری معنی دار ( $p < 0.05$ ) است. با توجه به شکل ۴ با افزایش غلظت اسانس و میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی شاخص  $L^*$  افزایش نشان داد که می‌تواند به واسطه پراکندگی نور به دلیل افزایش غلظت اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن باشد. در طی زمان در روز ۱۳ شاهد کاهش  $L^*$  بودیم و کمترین شاخص به نمونه کنترل (۸۸/۵۵) در این زمان تعلق گرفت که می‌تواند به دلایل مختلف نظیر فعالیت باکتری‌های لاکتیکی باشد که منجر به تغییرات در محتوای پروتئینی و چربی محصول گردید. اما در روز ۲۵ شاهد افزایش شاخص  $L^*$  هستیم که بیشترین شاخص به نمونه ماست میوه‌ای حاوی میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) (۸۹/۵۲) در این زمان تعلق گرفت. این امر نیز می‌تواند به عوامل مختلفی از جمله دو فاز شدگی آب و چربی به دلیل سفت‌تر شدن بافت ماست، چسبیدن ذرات چربی در طی زمان و ترسیب یا تجمع رنگدانه‌های ماست مربوط باشد که همگی این موارد می‌توانند به کاهش جذب و افزایش بازتابندگی نور موثر بوده و در نهایت باعث افزایش شاخص  $L^*$  گردد. در این مطالعه بیشترین شاخص  $L^*$  (۸۹/۷۹) مربوط به نمونه ماست میوه‌ای حاوی میکروامولسیون اسانس با غلظت (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در روز صفر و کمترین مقدار (۸۸/۵۵) مربوط به نمونه کنترل روز ۱۳ نگهداری بود. شاخص  $a^*$  متعلق به مولفه رنگ سبز تا قرمز است که با کاهش آن رنگ نمونه مایل به سبز می‌گردد. نتایج نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر این شاخص ماست انبه غیرمعنی‌دار بوده اما اثر زمان نگهداری در سطح احتمال ۰.۹۵٪ معنی‌دار بود. در این مطالعه شاخص  $a^*$  با گذشت زمان تا روز ۱۳ در همه نمونه‌های ماست انبه افزایش و سپس تا روز ۲۵ کاهش نشان داد که می‌تواند به واسطه تغییرات فیزیکوشیمیایی

از جمله تغییرات pH و اسیدیته و فعالیت میکروبی رخ داده در ماست انبه باشد. رنگ اکثر رنگدانه‌های طبیعی بخصوص در میوه‌هایی نظیر انبه با تغییرات pH محیط تغییر می‌کند و تغییرات pH ماست در طی زمان باعث تغییر در یونیزاسیون و متعاقباً تغییر رنگ رنگدانه‌ها می‌گردد. به‌علاوه تغییرات pH بر سایر ترکیبات ماست نظیر پروتئین‌ها نیز موثر بوده و در نتیجه بر میزان پراکنش نور و سایر شاخص‌های رنگی نظیر  $a^*$  موثر است. شاخص  $b^*$  مرتبط با رنگ آبی تا زرد است که با افزایش آن رنگ محصول تمایل به زردی پیدا می‌کند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن بر شاخص  $b^*$  ماست انبه در طی زمان نگهداری معنی‌دار است ( $p < 0.05$ ). شاخص  $b^*$  در طی زمان نگهداری محصول متاثر از عوامل متعددی نظیر پراکندگی نور، فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، واکنش‌های اکسایشی و پایداری رنگ است. با افزایش غلظت اسانس شاخص  $b^*$  افزایش نشان داد که می‌تواند به دلیل پراکندگی نور و مات بودن محصول به دلیل غلظت بالای اسانس نسبت به سایر نمونه‌های ماست باشد. کاهش شاخص  $b^*$  در اغلب نمونه‌ها در روز ۱۳ ام می‌تواند به دلیل فعالیت‌های لاکتیکی منجر به تغییر ترکیبات ماست باشد. در روز ۲۵ احتمالاً به دلیل حضور میکروامولسیون اسانس که با خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی خود بر پایداری فعالیت‌های میکروبی و اکسایشی ماست میوه موثر بوده، باعث حفظ تقریبی شاخص  $b^*$  شده است که پایداری نسبی این مولفه رنگی در نمونه حاوی اسانس تا روز ۱۳ ام نگهداری محسوس بود. اما در نمونه کنترل به دلیل اکسیداسیون و تجزیه رنگدانه‌ها کاهش شاخص  $b^*$  در طی زمان مشاهده گردید. در این مطالعه کمترین شاخص  $b^*$  (۱۱/۵۳) متعلق به ماست میوه‌ای حاوی میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در روز ۱۳ نگهداری و بیشترین شاخص  $b^*$  (۱۵/۵) متعلق به ماست میوه‌ای حاوی اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) در روز ۲۵ نگهداری بود. پوپسکو و همکاران (۲۰۲۲) با افزودن رنگدانه زرد گلرنگ به ماست در طی دوره زمانی ۲۸ روزه نشان دادند که شاخص‌های رنگی  $L$ ،  $a$  و  $b$  نمونه‌های ماست در طی زمان نگهداری ثابت بوده و دچار تغییرات زیادی نشده است (۳۵).





شکل ۴. اثر اسانس نعناع فلفلی و میکرومولسیون آن بر رنگ نمونه‌های ماست میوه‌ای در طی نگهداری

میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار ( $n = 3$ ) هستند. حروف متفاوت اختلاف آماری معنی دار را نشان می‌دهند ( $p < 0.05$ ). **E-L**: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ **E-H**: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ **ME-L**: ماست میوه‌ای + میکرومولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)؛ **ME-H**: ماست میوه‌ای + میکرومولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر).

حاوی اسانس و میکرومولسیون آن در طی زمان نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل رشد نکرده بود که می‌تواند به دلیل خواص ضد میکروبی اسانس نعناع فلفلی و میکرومولسیون آن در کنار pH پایین و خواص ضد میکروبی متابولیت‌های تولیدی توسط باکتری‌های اسید لاکتیک در ماست باشد (۳۶، ۳۷). ترکیبات فنلی اسانس نفوذپذیری دیواره سلولی را با دخالت بر فعالیت آنزیم‌های مرتبط با تولید انرژی و تخریب نیرو محرکه پروتونی تغییر داده که منجر به مرگ سلولی می‌شوند (۳۸). همچنین ترکیبات فنلی به دلیل خواص لیپوفیلیکی خود در

#### شمارش کلی‌فرم‌ها و میکروارگانیسم‌های اسیددوست

در محصولات لبنی نظیر ماست انبه که از میوه جهت تولید آن استفاده می‌شود به دلیل تماس کارگران دخیل در فراوری میوه شامل شستن، پوست‌گیری و قطعه کردن میوه، همواره خطر انتقال آلودگی‌های خانواده انتروباکتریاسه بخصوص کلی‌فرم‌ها و میکروارگانیسم‌های اسیددوست به دلیل طبیعت اسیدی میوه در محصول وجود دارد. از این‌رو در این مطالعه احتمال رشد این باکتری‌ها بررسی گردید. نتایج نشان داد (جدول ۳) هیچ باکتری کلی‌فرمی در نمونه‌های ماست انبه

محصولات غذایی می‌باشند همسو است (۶، ۱۰، ۱۹، ۴۳-۴۶). در این مطالعه اختلاف معنی‌داری در تعداد میکروارگانیزم‌های اسیددوست در بین نمونه‌های ماست انبه در طی نگهداری مشاهده نگردید. جمعیت غالب باکتری‌های اسید دوست در ماست را می‌توان به گروه باکتری‌های اسید لاکتیک نسبت داد که بسیاری از پروبیوتیک‌ها نیز در این گروه قرار دارند. مطالعات ثابت کرده است که افزودن ترکیبات گیاهی و فراورده‌های آن نظیر اسانس‌ها در تقویت فلور لاکتیکی موجود در مواد غذایی می‌تواند موثر باشد. شیرانی و همکاران (۲۰۲۲) ثابت کردند که افزودن خار شکر به ماست پروبیوتیک باعث تقویت باکتری‌های پروبیوتیک گردید (۴۷). همچنین غضنفری و همکاران (۲۰۲۴) نشان دادند که تعداد باکتری پروبیوتیک *Limosilactobacillus fermentum* 4-17 در نمونه‌های ماست جهت غنی‌سازی گاما آمینوبوتریک اسید افزایش یافت (۲۱).

غشاء تجمع می‌یابند که منجر به افزایش اختلال در فعالیت غشاء، آسیب به اسیدهای چرب و مختل کردن ساختار دیواره سلولی می‌گردند. اسانس‌ها باعث همجوشی غشای لیپیدی سلول‌های باکتریایی شده و نانوامولسیون‌های آن‌ها منجر به نفوذپذیری بالاتر غشاء، نشت سیتوپلاسمی بیشتر و تخریب بیشتر یکپارچگی غشای سلولی باکتری‌ها در مقایسه با اسانس خالص می‌شود (۳۹-۴۱). در نمونه کنترل تنها در روز صفر حضور کلی فرم (CFU/gr) ۷ تایید گردید که در طی زمان نگهداری به دلیل تولید ترکیبات بازدارنده بیشتر توسط فلور لاکتیکی رشد آن کاملاً کنترل گردید. عزیزخانی و توریان (۲۰۱۴) نشان دادند که به دلیل اثر ضد میکروبی عصاره‌های رزماری، نعناع فلفلی و مخلوطی از توکوفرول‌ها، فساد میکروبی سوسیس گوشت گاو به تعویق افتاد (۴۲). نتایج مطالعه حاضر با سایر مطالعات مشابه که نشان دهنده فعالیت ضد میکروبی اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در کنترل فساد و رشد میکروبی

جدول ۳. تعداد کلی‌فرم در نمونه‌های ماست میوه‌ای در طی انبارداری (n = 3).

	روز ۰ Day 0	روز ۱۳ Day 13	روز ۲۵ Day 25
Control	۷±۰.۰۲ <sup>a</sup>	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>
E-L	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>
E-H	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>
ME-L	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>
ME-H	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>	۰ <sup>b</sup>

حروف متفاوت اختلاف آماری معنی دار را نشان می‌دهند (p<0.05): E-L: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۶ میلی‌گرم در میلی‌لیتر); E-H: ماست میوه‌ای + اسانس نعناع فلفلی (۲۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر); ME-L: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر); ME-H: ماست میوه‌ای + میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی (۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر).

### نتیجه‌گیری کلی

فعالیت باکتری‌های آغازگر ماست در ساعات اولیه تولید، تاثیر بر رشد میکروبی، رنگ، ویسکوزیته و ویژگی‌های بافتی در طی ۲۵ روز نگهداری انجام شد. تغییرات رنگی نمونه‌های مختلف ماست انبه براساس شاخص a\* معنی دار نبود، اما برای شاخص‌های L\* و b\* معنی دار بود. از طرف دیگر تغییرات قابل توجهی بر بافت و ویسکوزیته نمونه‌های حاوی اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن نسبت به نمونه کنترل مشاهده نگردید. بنابراین افزودن اسانس نعناع فلفلی و میکروامولسیون آن ضمن عدم تاثیر بر رشد آغازگرهای ماست می‌تواند باعث کنترل رشد میکروبی نظیر کلی‌فرم‌ها گردد و افزودن آن‌ها تاثیر بر ویژگی‌های بافتی نداشته اما می‌تواند باعث تغییرات رنگی در محصول شود. با وجود اینکه اسانس نعناع فلفلی همانند میکروامولسیون آن توانست رشد میکروبی را کنترل کند اما

از آنجایی که همواره افزودن میوه فراوری شده بعضاً با فراوری دستی احتمال انتقال آلودگی با باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه را به‌همراه دارد و همچنین میوه به دلیل طبیعت اسیدی خود می‌تواند ناقل طیف وسیعی از میکروارگانیزم‌های اسید دوست به ماست باشد، افزودن نگهدارنده‌های طبیعی شامل اسانس‌های روغنی نظیر اسانس نعناع فلفلی جهت کنترل رشد میکروبی می‌تواند انتخاب موثری باشد. اما همواره حضور اسانس‌ها به دلیل خواص ضد میکروبی، ماهیت روغنی و رنگ زننده آن می‌تواند مانع احتمالی بر سر رشد باکتری‌های آغازگر ماست بوده و باعث تغییراتی در بافت و رنگ ماست گردد. از این‌رو این پژوهش با هدف بررسی تاثیر افزودن اسانس و میکروامولسیون اسانس نعناع فلفلی در ماست انبه بر رشد و

میکروامولسیون اسانس روغنی نعناع فلفلی را به عنوان جایگزینی مناسب و مطمئن برای نگهدارنده‌های شیمیایی در صنعت لبنیات پیشنهاد داد.

بایستی توجه داشت خواص ضد میکروبی و پتانسیل میکروامولسیون‌های اسانس‌های روغنی به دلیل اندازه ذرات کوچک‌تر و نسبت سطح به حجم وسیع‌تر نسبت به خود اسانس‌ها در مهار رشد میکروب‌ها بیشتر است. از این رو می‌توان

## • References

1. Wulansari PD, Kusmayadi A. Chemical Properties and Characteristics of Cow Milk Yogurt with Different Additional Fruit and Storage Time. *Animal Production*. 2016;18(2):113-7.
2. Jiang Y. The Health Effects of Yogurt and Its Safety Hazards. *Highlights in Science, Engineering and Technology*. 2022;19:119-24.
3. Kang J, Jin W, Wang J, Sun Y, Wu X, Liu L. Antibacterial and anti-biofilm activities of peppermint essential oil against *Staphylococcus aureus*. *Lwt*. 2019;101:639-45.
4. Falleh H, Jemaa MB, Neves MA, Isoda H, Nakajima M, Ksouri R. Peppermint and Myrtle nanoemulsions: Formulation, stability, and antimicrobial activity. *Lwt*. 2021;152:112377.
5. Barzegar H, Mehrnia MA, Nasehi B, Alipour M. Fabrication of peppermint essential oil nanoemulsions by spontaneous method: Effect of preparing conditions on droplet size. *Flavour and Fragrance Journal*. 2018;33(5):351-6.
6. Mehraban A, Vazifedoost M, Didar Z, Haddadkhodaparast MH, Mehraban Sang Atash M. Evaluation of antimicrobial activity of macroemulsion and nanoemulsion of *Salvia chorassanica* essential oil against pathogenic and food spoilage microorganisms. *Journal of Food Microbiology*. 2022;9(1):1-15.
7. Gahruei HH, Ziaee E, Eskandari MH, Hosseini SMH. Characterization of basil seed gum-based edible films incorporated with *Zataria multiflora* essential oil nanoemulsion. *Carbohydrate polymers*. 2017;166:93-103.
8. zaman m, davati n, Karami M. Evaluation of textural and organoleptic properties of yogurts produced using lactic acid bacteria isolated from ewe's yogurts from Mashhad, Hamedan and Dezful. *Journal of food science and technology (Iran)*. 2022;19(122):171-82.
9. Pommerville JC. *Alcama's laboratory fundamentals of microbiology*: Jones & Bartlett Learning; 2007.
10. Fadavi A, Pajohi-Alamoti M, Karami M. Synergistic effect of peppermint and garlic essential oil on fate of *Kluyveromyces marxianus* in Zucchini Bouranee. *Journal of Food Safety*. 2020;40(3):e12779.
11. Downes F, Ito K. *Compendium of Methods for the Microbiology examination of foods*. America Publisher: Health Association, Washington; 2001.
12. Mac Faddin JF. *Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria*. (No Title). 1985.
13. ISIRI. *Microbiology of milk and milk products- Specifications and test methods*; 2406. 4th revision ed: Iran National Standards Organization; 2024.
14. Tarrega A, Marcano J, Fiszman S. Yogurt viscosity and fruit pieces affect satiating capacity expectations. *Food Research International*. 2016;89:574-81.
15. Nie Y, Pan Y, Jiang Y, Xu D, Yuan R, Zhu Y, et al. Stability and bioactivity evaluation of black pepper essential oil nanoemulsion. *Heliyon*. 2023;9(4).
16. Donsì F, Ferrari G. Essential oil nanoemulsions as antimicrobial agents in food. *Journal of biotechnology*. 2016;233:106-20.
17. Seifi F, Farzaneh M, Rafati H, Rezadoost H. Antifungal potency of some medicinal plants essential oils nanoemulsions to control soft rot in strawberry fruit caused by *Rhizopus stolonifer*. *Biocontrol in Plant Protection*. 2014;2(1):69-79.
18. Moradi A, Davati N, Emamifar A. Effects of *Cuminum cyminum* L. essential oil and its nanoemulsion on oxidative stability and microbial growth in mayonnaise during storage. *Food Science & Nutrition*. 2023;11(8):4781-93.
19. Azizkhani M, Parsaeimehr M. Probiotics survival, antioxidant activity and sensory properties of yogurt flavored with herbal essential oils. *International Food Research Journal*. 2018;25(3).
20. Yangilar F, Yildiz PO. Effects of using combined essential oils on quality parameters of bio-yogurt. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2018;42(1):e13332.
21. Ghazanfari N, Falah F, Yazdi FT, Behbahani BA, Vasiee A. Development and characterization of gamma-aminobutyric acid (GABA)-enriched functional yogurt using *Limosilactobacillus fermentum* 4-17. *Applied Food Research*. 2024;4(2):100557.
22. Ismail A, Harby S, Salem AS. *Production of flavoured labneh with extended shelf life*. 2006.
23. Bulgaru V, Cușmenco T, SANDULACHI E, Macari A, Sturza R. Evolution of Physico-chemical Indices and Functional Properties of Fruit Yogurt during Storage. *ACTA SCIENTIFIC NUTRITIONAL HEALTH (ASNH)*. 2021.
24. Güler-Akın MB, Akın MS. Effects of cysteine and different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt made from goat's milk. *Food Chemistry*. 2007;100(2):788-93.
25. Clark S, Michael M, Schmidt KA. Rheological properties of yogurt: effects of ingredients, processing and handling. *Rheology of semisolid foods*. 2019:203-29.
26. Amal A, Eman A, Nahla SZ. Fruit flavored yogurt: Chemical, functional and rheological properties. *International journal of environmental and agriculture research*. 2016;2(5):57-66.
27. Lucey J, Singh H. Formation and physical properties of acid milk gels: a review. *Food research international*. 1997;30(7):529-42.
28. Terpiłowski K, Lange I, Kowalczyk K, Tomczyńska-Mleko M, Sapiga V, Wesolowska-Trojanowska M, et al. Impact of Storage Conditions of Yogurt Dry Ingredients on the Physicochemical Properties of the Final Product. *Applied Sciences*. 2023;13(24):13201.

29. Trujillo-Ramirez D, Olivares-Martinez I, Lobato-Calleros C, Rodriguez-Huezo E, Jaime Vernon-Carter E, Alvarez-Ramirez J. Impact of the droplet size of canola oil-in-water emulsions on the rheology and sensory acceptability of reduced-milk fat stirred yogurt. *Journal of Food Science and Technology*. 2022;59(12):4853-62.
30. Barradas TN, de Holanda e Silva KG. Nanoemulsions of essential oils to improve solubility, stability and permeability: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 2021;19(2):1153-71.
31. Shihata A, Shah N. Influence of addition of proteolytic strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* to commercial ABT starter cultures on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria. *International Dairy Journal*. 2002;12(9):765-72.
32. Ayar A, Gurlin E. Production and sensory, textural, physicochemical properties of flavored spreadable yogurt. *Life Science Journal*. 2014;11(4):58-65.
33. Mousavi M, Heshmati A, Daraei Garmakhany A, Vahidinia A, Taheri M. Texture and sensory characterization of functional yogurt supplemented with flaxseed during cold storage. *Food science & nutrition*. 2019;7(3):907-17.
34. Ścibisz I, Ziarno M, Mitek M. Color stability of fruit yogurt during storage. *Journal of food science and technology*. 2019;56:1997-2009.
35. Popescu L, Ghendov-Moşanu A, Baerle A, Savcenco A, Tatarov P. Color stability of yogurt with yellow food dye from safflower (*Carthamus Tinctorius* L). *Journal of Engineering Sciences*. 2022(1):142-50.
36. Stoyanova L, Ustyugova E, Netrusov A. Antibacterial metabolites of lactic acid bacteria: their diversity and properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2012;48:229-43.
37. Kotz CM, Peterson LR, Moody JA, Savaiano DA, Levitt MD. In vitro antibacterial effect of yogurt on *Escherichia coli*. *Digestive diseases and sciences*. 1990;35:630-7.
38. Mishra AP, Devkota HP, Nigam M, Adetunji CO, Srivastava N, Saklani S, et al. Combination of essential oils in dairy products: A review of their functions and potential benefits. *Lwt*. 2020;133:110116.
39. Donsi F, Annunziata M, Vincenzi M, Ferrari G. Design of nanoemulsion-based delivery systems of natural antimicrobials: effect of the emulsifier. *Journal of biotechnology*. 2012;159(4):342-50.
40. Valgas C, Souza SMD, Smânia EF, Smânia Jr A. Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian journal of microbiology*. 2007;38:369-80.
41. Zhang H, Shen Y, Weng P, Zhao G, Feng F, Zheng X. Antimicrobial activity of a food-grade fully dilutable microemulsion against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *International journal of food microbiology*. 2009;135(3):211-5.
42. Azizkhani M, Tooryan F. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extract, mint extract and a mixture of tocopherols in beef sausage during storage at 4 C. *Journal of Food Safety*. 2015;35(1):128-36.
43. Milanović V, Sabbatini R, Garofalo C, Cardinali F, Pasquini M, Aquilanti L, et al. Evaluation of the inhibitory activity of essential oils against spoilage yeasts and their potential application in yogurt. *International Journal of Food Microbiology*. 2021;341:109048.
44. Moghaddam M, Pourbaige M, Tabar HK, Farhadi N, Hosseini SMA. Composition and antifungal activity of peppermint (*Mentha piperita*) essential oil from Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2013;16(4):506-12.
45. Khusniati T, Widyastuti Y. The preservation of milk with the addition of antibacterial and aromatic supplements produced in Indonesia. *Biotropia*. 2008;15(1):50-64.
46. Razaee A, KHOSROWSHAHI AA, Zomorodi S, Malekinajad H. Effect of addition of sodium caseinate and peppermint extract on viability of *Lactobacillus casei* and physicochemical properties and antioxidant activity of non-fat probiotic yogurt. 2013.
47. Shirani K, Falah F, Vasiee A, Yazdi FT, Behbahani BA, Zanganeh H. Effects of incorporation of *Echinops setifer* extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2022;16(4):2899-907.

## Effect of Peppermint Essential Oil and Its Microemulsion on the Textural Properties, Color and Microbial Growth Control of Fruit Yogurt

Chehri F<sup>1</sup>, Davati N<sup>2\*</sup>, Karami M<sup>3</sup>

1. M.Sc. Graduate, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.
2. \*Corresponding author: Associate professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran. Email: n.davati@basu.ac.ir
3. Associate professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Industry, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Received 9 Feb, 2025

Accepted 18 Mar, 2025

**Background and objectives:** The aim of this study was to evaluate the use of peppermint essential oil and its microemulsion on the activity of yogurt starter culture bacteria, color, texture and microbial load of fruit yogurt during storage.

**Materials and methods:** The inhibitory effect of peppermint essential oil and its microemulsion on the activity of starter culture bacteria was measured. Peppermint essential oil (6 and 24 (mg mL<sup>-1</sup>) and its microemulsion (2 and 4 (mg mL<sup>-1</sup>)) were added to fruit yogurt and the growth of *acidophiles* microorganisms, coliforms, moisture%, color, viscosity, and textural properties of the samples were measured during 25 days.

**Results:** The results showed that the addition of peppermint essential oil and its microemulsion had no effect on acid production by the starter culture compared to the control sample. The effect of time on the moisture content and viscosity of the fruit yogurt ( $p < 0.05$ ) was significant, but the effect of peppermint essential oil and its microemulsion on the hardness and adhesiveness of the fruit yogurt was not significant. Also, the peppermint essential oil and its microemulsion on the b\* and L\* indexes of fruit yogurt color during storage were significant ( $p < 0.05$ ) and insignificant for the a\* index. The growth of coliforms in the presence of peppermint essential oil and its microemulsion was inhibited on the first day of production compared to the control sample. However, there was no significant difference in the number of acidophilic bacteria in the samples during storage.

**Conclusion:** The addition of peppermint essential oil and its microemulsion has no effect on the growth of starter culture, but can control the growth of coliforms and cause color changes in fruit yogurt without affecting the texture.

**Keywords:** Fruit yogurt, Peppermint essential oil, Microemulsion, Texture, Color