مقاله تحقیقی

بررسی اثر ضد میکروبی عصاره شاه بلوط بر زمان ماندگاری سس مایونز

سمیرا نادری [۱]، علیرضا رحمن *[۲]، سید ابراهیم حسینی [۳]

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران
۲. استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران
۳. [۳]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران

***مسئول مکاتبات:** آدرس الکترونیکی: alireza_rahman@yahoo.com

محل انجام تحقیق: گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر قدس، تهران، ایران

تاریخ دریافت:۹۹/۸/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱/۲۶

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۵- شماره ۱- بهار ۹۹

چکیده

رعایت اصول بهداشتی در تولید سس مایونز، بعنوان محصولی مغذی و پَر طرفدار، همچنین جلوگیری از فساد فیزیکی، شیمیایی، میکروبی و در نتیجه جلوگیری از کاهش کیفیت آن از نظر خواص حسی از اهمیت بالایی برخوردار است. بنابراین، طی این پژوهش سعی بر آن بود که کارآیی استخراج عصاره آبی میوه‌ی شاه بلوط بعنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مورد بررسی قرار گیرد. برای این منظور، نمونه‌های سس مایونز با غلظت‌های مختلف غلظت عصاره، تحت تیمارهای B1 (سس مایونز+ ۷۵۰ppm بنزوات سدیم + ۷۵۰ppm سوربات سدیم)، B2 (سس مایونز + ۴۰۰ppm عصاره‌ی شاه بلوط + ۵۰۰ppm بنزوات سدیم + ۵۰۰ppm سوربات سدیم)، B3 (سس مایونز + ۸۰۰ppm عصاره‌ی شاه بلوط + ۵۰۰ppm بنزوات سدیم + ۵۰۰ppm سوربات سدیم) و B4 (سس مایونز + ۱۲۰۰ ppm عصاره‌ی شاه بلوط) تهیه شد و از نظر فاکتورهای شیمیایی (اسیدیته و عدد پراکسید)، میکروبی و حسی (پذیرش کلی) طی مدت ۶ ماه (روز اول، ماه دوم، ماه چهارم و ماه ششم) مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان بازده استخراج عصاره به روش آبی برابر ۲۲/۵ ٪ بود. بر طبق نتایج حاصله، عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط همراه با بنزوات و سوربات سدیم باعث کاهش معنی‌دار پراکسید و اندیس اسیدی در نمونه‌ها شد ($p<0.05$). برطبق نتایج آزمون میکروبی اثر ضدمیکروبی عصاره میوه شاه بلوط بر کاهش معنی‌دار جمعیت میکروبی و انبارمانی سس مایونز تأیید می‌شود ($p<0.05$). بنابراین، با در نظر گرفتن فاکتورهای حسی (پذیرش کلی) نمونه B3 بعنوان تیمار برتر این تحقیق معرفی شد.

واژه های کلیدی: خواص ضد میکروبی، خواص آنتی اکسیدانی، سس مایونز، عصاره شاه بلوط

مقدمه

سس مایونز به دلیل طعم و بافت منحصر به فرد یکی از محبوب‌ترین و پُرکاربردترین سس‌ها در جهان است. مایونز از جمله مواد غذایی حساس به آلودگی است و به دلیل محتوی بالای چربی، مواد اولیه خام مورد استفاده و عدم فرآیند حرارتی در تهیه آن اغلب سبب فساد در ماده غذایی مانند ساندویچ‌ها و سالادها می‌شود (۱۹). برخلاف بسیاری از غذاها، فساد در سس مایونز تنها به فساد حاصل از فعالیت

های میکروبی محدود نمی‌شود، بلکه با توجه به ساختار و ترکیبات آن، می‌توان سه نوع فساد فیزیکی، شیمیایی و میکروبی را برای آن تعریف کرد. شکسته شدن ساختار امولسیونی و تجمع ذرات روغن در مایونز بعنوان فساد فیزیکی آن شناخته شده است و فساد شمیایی این سس شامل اکسیداسیون، هیدرولیز چربی‌ها و روغن موجود در ترکیب سس مایونز است (۱،۲۰) که از جمله دلایل زوال کیفیت سس مایونز است که با افزایش ترکیباتی مانند پراکسیدها در سس همراه است؛ این فرآیند مسئول توسعه طعم تندشدگی و بی‌رنگ شدن سس مایونز در دوره نگهداری نیز است، بنابراین کاهش اکسیداسیون لیپیدها و جلوگیری از آلودگی میکروبی عمر ماندگاری مایونز را افزایش می‌دهد (۱۹). میوه‌ها و سبزیجات، بعنوان منابع فعال زیستی، حاوی ترکیبات فیتوشیمایی با فعالیت آنتی باکتریالی، آنتی‌اکسیدانی و ضد سرطانی هستند که استفاده از ترکیبات فیتوشیمایی همراه با دو خاصیت آنتی باکتریال و آنتی‌اکسیدان در مواد غذایی بعنوان نگهدارنده افزایش مدت ماندگاری ماده غذایی را به دنبال دارد؛ اسانس‌های روغنی و عصاره استخراجی از گیاهان نیز حاوی ترکیبات زیست فعال است که بعنوان عوامل نگهدارنده طبیعی در غذاها شامل عامل ضدمیکروبی، ضدقارچی و آنتی‌اکسیدانی شناخته شده‌اند (۲۱).

گیاه شاه بلوط از جنس *Castanea* از گونه درختان و درختچه‌های برگ ریز و از خانواده *Fagaceae Beech* است. سابقه طولانی از اثرات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی میوه شاه بلوط گزارش شده است که به حضور ترکیبات فنلی ساده و تانني پیچیده‌تر نسبت داده شده است که که قدرت رقابت آنتی‌اکسیدانی آن با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی چون BHA[1] و BHT[2] بسیار بالاتر است. محتوای این ترکیبات به علت عوامل متعددی مانند شرایط آب و هوایی، نوع خاک، بارش و ارتفاع تغییر می‌کند (۲۲،۲۳). تحقیقات گسترده‌ای در خصوص فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره شاه بلوط انجام شده است. در این راستا قادری و همکاران (۲) طی مقایسه عصاره‌های اتانولی میوه‌ی دو واریته کاستانیفولیا و پرسیکا بلوط نشان دادند هر دو عصاره اثر مهارکنندگی و کشندگی قابل قبولی بر روی باکتری‌های مورد آزمایش داشتند و هر دو عصاره فعالیت ضدرادیکالی بالایی داشتند که با BHA و BHT قابل رقابت بودند. ابراهیمی و همکاران (۳) نیز طی تحقیقات خود اثر ضدباکتری عصاره متانولی، پوست تنه، پوست میوه، میوه و برگ بلوط ایرانی را به دلیل حضور تانن‌ها گزارش کردند. Güneş و همکاران (۲۴) کافئیک، پروتوکاچونیک و هیدروکسی بنزوئیک ترکیبات اصلی فنلی شناسایی شده در عصاره گیاه شاه بلوط و عامل خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن بیان کردند. Kimura و همکاران (۲۵) نیز فلاونوئیدهایی از قبیل کوئرسیتین[3] و کامفرول موجود در پوسته دانه شاه بلوط را عامل بروز خاصیت آنتی اکسیدانی آن معرفی‌کردند.

با توجه به اهمیت ویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به دلیل اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان‌های مصنوعی، غلظت‌های مختلف عصاره فنولی گیاه شاه بلوط در سس مایونز بعنوان آنتی‌اکسیدان طبیعی و زمان ماندگاری آن طی مدت زمان مشخص، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره شاه بلوط

پس از تهیه میوه شاه بلوط از موسسه بذر و نهال کرج، قسمت‌های هوایی آن جدا و تحت شرایط طبیعی محیطی با استفاده از جریان هوای خشک در سایه خشک شدند. میوه خشک شده به کمک دستگاه آسیاب مش ۴۰ (البرز ماشین کرج - ایران) پودر شدند. g ۵ از پودر میوه گیاه شاه-بلوط با ml ۵۰ آب جوش به مدت ۳۰ دقیقه مخلوط شد. سپس، عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره ۴۰، صاف و توسط تبخیر کننده چرخشی (Manometer - انگلیس) و خشک کن انجمادی (تجهیزات سازان پیشتاز - ایران) خشک شدند. عصاره خشک شده تا زمان مصرف در شیشه-های رنگی و در یخچال نگهداری شدند (۴).

تهیه سس مایونز

[1] Butylated hydroxyanisole
[2] Butylated hydroxytoluene
[3] Qquercetin

ابتدا آب، تخم مرغ (تلاونگ - ایران)، یک سوم سرکه (وردا - ایران)، نمک و شکر (گلها - ایران)، نشاسته، سوربات سدیم و بنزوات سدیم (Merck - آلمان) به مدت ۱ دقیقه با استفاده از همزن آزمایشگاهی (finetech - کره) مخلوط شدند. روغن (اویلا - ایران) به تدریج طی سه مرحله درون مخلوط‌کن اضافه شد تا امولسیون کامل شود؛ سپس باقیمانده سرکه به مخلوط اضافه شد. در نهایت عصاره شاه‌بلوط خشک در غلظت‌های ppm ۴۰۰، ۸۰۰، ۱۲۰۰ تهیه و به سس مایونز اضافه شدند. مخلوط به مدت ۵ دقیقه با همگن ساز (اولتراتوراکس T810 - آلمان)، با سرعت ۱۸۰۰۰ دور در دقیقه یکنواخت شدند و درون ظروف ریخته و تا زمان انجام آزمایش‌ها در یخچال در دمای ۴ °C نگهداری شدند (۲۶).

آزمون‌ها

اندازه‌گیری بازده استخراج عصاره

۱۰ g عصاره‌ی شاه بلوط با ۹۰ cc محلول آب- اتانول ۸۰٪ به حجم رسانده شد. پس از صاف کردن محلول، درون دستگاه روتاری آب و اتانول از هم جدا شده و عصاره میوه باقی ماند. بازده استخراج از تفاضل وزن بالن تبخیرکننده (خالی و پس از تبخیر کامل)، با تقسیم آن بر وزن نمونه محاسبه و گزارش شد (۵).

اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV[1])

به نمونه با درصد چربی استخراجی ۱۳٪ حلال هگزان (Merck - آلمان) افزوده شد؛ تا شفاف شدن طبقه حلال، مخلوط جای ثابت نگهداشته شد. سپس حلال شفاف شده توسط کاغذ صافی، صاف و به کمک دستگاه روتاری با دمای ۷۰ °C جدا شد. ۵ g چربی استخراج شده با ۳۰ ml مخلوط اسید استیک و کلروفرم (۲:۳) (Merck - آلمان) مخلوط و ۰/۵ ml محلول تازه تهیه یدور پتاسیم (Merck - آلمان) اشباع به آن افزوده شد و به مدت ۱ دقیقه در شرایط بدون نور نگهداری شد. ۳۰ ml آب مقطر و چند قطره محلول نشاسته (Merck - آلمان) اضافه و محلول را با هیپوسولفیت سدیم ۰/۰۱ نرمال (Merck - آلمان) تا از بین رفتن رنگ آبی تیتر شد؛ عدد پراکسید بر حسب میلی‌اکی‌والان اکسیژن در کیلوگرم روغن استخراجی بر اساس فرمول زیر محاسبه و گزارش شد (۶).

رابطه (۱): $PV= (1000 \times N \times V)/W$

V: مقدار هیپوسولفیت مصرفی بر حسب ml

N: نرمالیته هیپوسولفیت مصرفی

W: وزن چربی بر حسب g

اندازه‌گیری اسیدیته کل

ابتدا ۱۵ g از نمونه در ۲۰۰ ml آب مقطر، که در مقابل فنل فتالئین (Merck - آلمان) خنثی شده، تا یکنواخت شدن کامل مخلوط شدند. سپس مخلوط با سود ۰/۱ M (Merck - آلمان) در حضور معرف فنل فتالئین تیتر شد؛ اسیدیته کل بر حسب درصد گرم استیک اسید محاسبه و گزارش شد (۷).

رابطه (۲): $\text{اسیدیته} = (0.006 \times a \times 100)/S$

a: حجم سود مصرفی

S: وزن نمونه بر حسب g

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده اولیه (10^{-1}) به پلیت سترون حاوی ۱۲ ml تا ۱۵ از محیط کشت PC[2] (QLab- کانادا) منتقل شد؛ پلیت‌ها بصورت چرخشی مخلوط شدند و بصورت برعکس در دمای ۳۰ ± ۱ °C به مدت ۷۲ ± ۳ h گرمخانه‌گذاری (شیماز - ایران) شدند. بعد از دوره گرمخانه‌گذاری پلیت‌های حاوی کلنی‌های بیشتر ۱۵ و کمتر از ۳۰۰ کلنی انتخاب شمارش و گزارش شد (۸).

جستجو و شمارش کپک و مخمر

ابتدا ۱ ml از سوسپانسیون اولیه (10^{-1}) تهیه شده به پلیت سترون حاوی ۱۲ ml تا ۱۵ از محیط کشت DG18[3] (QLab- کانادا) منتقل شد سپس با یک پخش کننده

[1] Peroxide value

[2] Plate Count Agar

[3] Dichloran-glycerol agar

سترون روی محیط کشت پخش شد. پلیت‌ها با در پوش بالا در دمای ۱ ± ۲۵ °C به مدت ۵ روز گرمخانه-گذاری (شیماز - ایران) شدند؛ پس از پایان زمان گرمخانه-گذاری، تعداد کلنی رشد کرده درون پلیت بر اساس cfu/g گزارش شد (۹).

شمارش اشرشیاکلی

سه لوله آزمایش بزرگ حاوی ۱۰ ml محیط کشت غنی کننده با غلظت دو برابر لوریل سولفات ترپتوز براث[1] (QLab- کانادا) انتخاب نموده و به هریک ۱۰ ml از سوسپانسیون اولیه (10^{-1}) اضافه شد. به سه لوله کوچک دیگر حاوی ۱۰ ml محیط کشت غنی کننده با غلظت معمولی لوریل سولفات ترپتوز براث، ۱ ml از سوسپانسیون اولیه تهیه شده به هر یک از آن‌ها اضافه شد. لوله‌های آزمایش به مدت ۲ ± ۲۴ در c° ۳۷ گرمخانه‌گذاری شدند. از لوله‌های گرمخانه‌گذاری شده حاوی گاز، به درون محیط EC Broth (Merck - آلمان) کشت داده و به مدت ۲ h ± ۲۴ در c° ۴۴ گرمخانه‌گذاری شدند، مجدداً نمونه‌های حاوی گاز انتخاب و در آب تریپتونه (Merck - آلمان) کشت داده شد؛ لوله‌های آزمایش به مدت ۲ h ± ۴۸ در c° ۴۴ گرمخانه‌گذاری شدند و نهایتاً ۰/۵ ml معرف اندول (Merck - آلمان) به لوله‌های حاوی آب تریپتونه افزوده و بخوبی مخلوط شدند. بعد از ۱ دقیقه بررسی، آشکار شدن رنگ قرمزی، نشانگر مثبت بودن آزمایش بود یعنی نمونه‌ها از نظر وجود اشرشیاکلی احتمالی مثبت هستند (۱۰).

شمارش استافیلوکوکوس کوآگلاز مثبت

ابتدا ۰/۱ ml از سوسپانسیون اولیه (10^{-1}) تهیه شده به پلیت سترون حاوی ۱۲ تا ۱۵ ml از محیط کشت کامل (QLab- کانادا) منتقل و به کمک میله شیشه‌ای روی محیط کشت پخش شد. پلیت‌ها بصورت وارونه در دمای ۳۷ °C به مدت ۲ h ± ۲۴ گرمخانه‌گذاری شدند؛ پس از پایان زمان گرمخانه‌گذاری، با استفاده از لوپ از کلنی‌های رشد کرده و به درون لوله آزمایش حاوی محیط کشت آبگوشت عصاره مغز و قلب (QLab- کانادا) منتقل و در دمای ۳۷ °C به مدت ۲ h ± ۲۴ گرمخانه‌گذاری شدند؛ سپس ۰/۱ ml از سوسپانسیون فوق به درون لوله آزمایش منتقل و ۰/۳ ml پلاسمای خرگوش (Merck - آلمان) افزوده و مجدداً در دمای ۳۷ °C به مدت ۶ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. لوله-های حاوی لخته بعنوان نمونه‌های حاوی کوآگلاز مثبت گزاش شد (۱۱).

شناسایی و شمارش سالمونلا

ابتدا سوسپانسیون اولیه از ۲۵ g نمونه در ۲۲۵ ml محیط کشت آب پپتونه (محیط کشت پیش غنی کننده) تهیه شد و به مدت ۲ h ± ۱۸ در دمای ۳۴ °C گرمخانه-گذاری شدند؛ ۰/۱ ml از سوسپانسیون در محیط کشت غنی‌کننده RSV[2] (QLab- کانادا) تلقیح و در دمای ۴۱/۵ °C و به مدت ۳ h ± ۲۴ گرمخانه‌گذاری شدند؛ از پلیت-های حاوی کلنی با هاله کدر و خاکستری روی محیط کشت انتخابی XLD[3] (Merck - آلمان) با لوپ ۱۰ µl کشت داده شد. سپس پلیت‌ها بصورت وارونه در دمای ۳۷ °C به مدت ۲ h ± ۲۴ گرمخانه‌گذاری شدند؛ کلنی‌های با مرکز سیاه و هاله کمی شفاف مایل به قرمز بعنوان شاخصی سالمونلا شمارش و گزارش شدند (۱۲).

شمارش باکتری‌های لاکتیک اسید هتروفرمانتاتیو

۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده اولیه (10^{-1}) به دو لوله آزمایش حاوی محیط کشت MRS (QLab- کانادا) ریخته سپس در دمای ۱ ± ۳۰ °C و به مدت ۷۲ h گرمخانه‌گذاری شدند؛مشاهده گاز درون لوله درهام و تغییر رنگ محیط کشت از سبز به زرد نشان دهنده تولید اسید و مثبت بودن آزمایش بود (۱۰).

آزمون حسی

ارزیابی حسی با یک معیار ۵ نمره‌ای با استفاده از هارمونیک تست در روزهای صفر، ماه ۲، ماه ۴ و ماه ۶ انجام

[1] Lauryl Sulfate Tryptose Broth

[2] Rappaport-Vassiliadis Soya Peptone Broth

[3] Xylose Lysine Deoxycholate agar

شد که در این میان گزینه خیلی خوب دارای امتیاز ۵ و گزینه خیلی ضعیف دارای امتیاز ۱ بود (۱۳).

آنالیز آماری

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها از واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد و مقایسات میانگین با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت، جهت رسم نمودارها نیز از نرم افزار اکسل استفاده شد.

جدول ۱- تیمارهای تحقیق.

تیمار	عصاره‌ی شاه بلوط (ppm)	بنزوات سدیم (ppm)	سوربات سدیم (ppm)
۱(شاهد)	-	۷۵۰	۷۵۰
۲	۴۰۰	۵۰۰	۵۰۰
۳	۸۰۰	۲۵۰	۲۵۰
۴	۱۲۰۰	۰	۰

نتایج

جدول ۲ بازده استخراج عصاره شاه بلوط بر حسب درصد را نشان داده است که ۲۲/۵ درصد می باشد. بر حسب نتایج نشان داده شده در شکل ۱ و ۲، به ترتیب روند افزایش اسیدیته و عدد پراکسید سس‌های مایونز طی مدت زمان ماندگاری را مشاهده شد. شکل ۳ و ۴، کاهش آلودگی میکروبی (به ترتیب شمارش کلی،کپک و مخمر) تیمارهای حاوی عصاره شاه بلوط را نشان داده است. در هیچکدام از تیمارها آلودگی اشرشیاکلی، استافیلوکوکوس و سالمونلایی مشاهده نشد (جدول ۳ تا ۵). روند افزایشی باکتری‌های لاکتیک اسید طی ۴ ماه و سپس کاهش آن تا ماه ۶ نگهداری در شکل ۵ نشان داده شده است. همانطور که در شکل ۶ مشخص است تا دو ماه اول بعد از تولید نمونه‌های B1 و B2 به یک اندازه در طول مدت نگهداری از طرف مصرف کننده پذیرش داشتند و پذیرش کامل و یکسان از طر ف مصرف کننده داشتند با افزودن ppm۸۰۰ و ۱۲۰۰ عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط به نمونه سس مایونز از همان روز اول از مطلوبیت پذیرش نمونه‌ها کاسته شد و با افزایش غلظت عصاره شاه بلوط آفت پذیرش سریعتر (از ماه دوم) نشان داده شد.

بحث، تفسیر و نتیجه‌گیری

سس مایونز به عنوان چاشنی در جهت بهبود و تکمیل طعم غذا مورد استفاده قرار می‌گیرد به دلیل حضور تخم مرغ و روغن، می‌تواند نقش موثری در تامین مواد مغذی و همچنین انرژی‌زای لازم برای انسان داشته باشد. ازطرفی، به دلیل داشتن میزان روغن بالا، این فرآورده در طول دوره نگهداری در برابر فساد اکسیداتیو حساس بوده بطوریکه خصوصیات کیفی آن در اثر فساد باکتریایی و اکسیداتیو کاهش می‌یابد. با توجه به خطرات نگهدارنده‌های شیمیایی برای مصرف کنندگان، جایگزین کردن آن‌ها با مواد نگهدارنده طبیعی به صورت جزئی در فرمولاسیون سس مایونز ضروری به نظر می‌رسد (۲۷).

در این تحقیق با استفاده از حلال آبی - اتانولی عصاره میوه شاه بلوط با بازده ۲۲/۵٪ استخراج و در فرمولاسیون سس مایونز در غلظت‌های ppm ۴۰۰، ۸۰۰ و ۱۲۰۰ استفاده شد. عمده‌ترین ترکیبات عصاره ترکیبات فنلی مثل گالیک اسید، فلاونئیدها و تانن‌ها بودند. تفاوت معنادار در روند تغییرات اسیدیته تیمارها در شکل ۱ نشان داده شده است ($p<0.05$). عوامل اسیدی کننده در سس مایونز مطابق استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۴۶ آب لیمو، سرکه و سایر اسیدی کننده‌ها (همچون مالیک اسید، سیتریک اسید، لاکتیک و اسکوربیک اسید) می‌توانند باشند. بر اساس این

استاندارد، میزان اسیدیته کل بر حسب استیک اسید (گرم در صد گرم) حداقل ۰/۶ باید باشد (۱۰). در تمامی روزهای مورد آزمایش و تمامی تیمارها میزان اسیدیته کمتر از حداقل استاندارد معرفی شده بود. در روز اول آزمایش اسیدیته نمونه شاهد و تمام تیمارها در پایین‌ترین سطح قرار داشت. در ماه دوم تا ماه ششم اسیدیته نمونه شاهد و سایر تیمارها بطور معناداری ($P<0.05$) نسبت به روز اول افزایش نشان دادند. روند افزایشی عدد اسیدی وابسته به غلظت عصاره بود. در این میان تیمار B1 نسبت به تیمار B2 افزایش کمتر و افزایشی برابر B3 نشان داد. افزایش میزان اسیدیته در طول زمان نگهداری، احتمالاً به شکسته شدن برخی از گروه‌های استری و تبدیل آن‌ها به گروه‌های اسیدی مربوط باشد. از سوی دیگر رشد باکتری‌های غیر بیماری‌زای مقاوم به اسید نظیر لاکتوباسیلوس‌ها نیز ممکن است در این امر موثر باشد (۱۴). در غلظت‌های بالاتر عصاره اسیدیته سس مایونز نسبت به افزایش مقاومت نشان داد بطوریکه کمترین میزان روند اسیدیته مربوط به نمونه B4 بود، علت این امر به دلیل افزایش ترکیبات فنلی در غلظت بالاتر عصاره است (۱۵). در این راستا، نورزی و همکاران (۱۵) کاهش روند افزایشی اسیدیته سس مایونز را با افزایش غلظت عصاره ترخون نشان دادند.

اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ی شاه بلوط با اندازه‌گیری عدد پراکسید بررسی شد. پراکسیدها محصولات مقدماتی اکسایش چربی هستند که به محصولات ثانویه مانند مواد فرار آلدئیدی، کتونی و اسیدهای چرب تجزیه می‌شوند، از این رو بین پراکسید و فساد شیمیایی روغن رابطه مستقیم وجود دارد (۲۸). با بررسی تغییرات عدد پراکسید در شکل ۲ مشاهده شد در روز اول اندیس پراکسید نمونه شاهد و سایر تیمارها یکسان بود که با گذر زمان از ماه دوم تا چهارم در نمونه B1، B2، B3 و B4 افزایش معنادار اما با شدت خیلی کم ($P<0.05$) را شاهد بودیم ولی از ماه چهارم به بعد افزایش روند با شدت بسیار زیادی همراه بود که به دلیل حضور مقادیر بالایی از اکسیژن در فاز آبی امولسیون مایونز نسبت داده شده است (۱۵)، سرعت اکسیداسیون در نمونه شاهد بالاترین مقدار را داشت و تمامی نمونه‌های حاوی آنتی اکسیدان از نمونه شاهد در برابر اکسیداسیون پایدارتر از نمونه شاهد بودند. افزایش غلظت اسانس باعث کندتر شدن روند افزایشی عدد پراکسید شد که علت آن واکنش ترکیبات فنلی موجود در عصاره شاه بلوط با رادیکال‌های آزاد تشکیل شده در مراحل اولیه اکسیداسیون و مهار آن-هاست (۲). نتایج میلانی و همکاران (۱۶) طی ارزیابی عدد پراکسید سس مایونز حاوی پودر خردل با نتایج این تحقیق هم راستا بود. Abou-Zaid و همکاران نیز (۲۹) با بررسی پایداری اکسیداتیو سس مایونز حاوی عصاره برگ ریحان نشان دادند با افزایش غلظت عصاره، روند افزایشی پراکسید کاهش داشت.

سلامت و حفظ غذا با تعداد میکروارگانیسم‌های موجود در آن ارتباط نزدیکی دارد. شمارش کلی میکروب‌ها درجه فساد مواد غذایی را مشخص می‌کند. البته پایین بودن تعداد میکروب‌ها همیشه دلیل سلامت غذا نیست؛ چون ممکن است در اثر فرآیندهای حرارتی و آماده‌سازی نمونه غذا، تعدادی از میکروب‌ها نابود شوند اما فرآورده‌های سمی تولید شده توسط آن‌ها باقی مانده باشد. بعلاوه، تعداد زیادی میکروارگانیسم‌های بی‌خطر و یا حتی مفید نیز در محصولات غذایی یافت می‌شوند (۳۰). بر اساس استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۶۵، در هر گرم از فرآورده سس مایونز حضور 10^3 cfu/g میکروارگانیسم شمارش شده به روش شمارش کلی، مجاز است (۱۷). مطابق شکل ۳ روند تغییرات شمارش کلی نمونه‌ها در روزهای مختلف بین تیمارهای مختلف تفاوت معنادار ($P<0.05$) وجود داشت. روند نزولی در شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها از اول تا ماه ششم مشاهده شد بطوریکه با افزودن عصاره شاه بلوط به نمونه سس مایونز شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها نسبت به تیمار B1 کاهش بیشتری نشان دادند بطوریکه با افزایش غلظت عصاره شاه بلوط این مقدار کاهش بیشتر مشهود بود که می‌توان به نوعی تعامل سینرژیستی بین نگهدارنده‌های شیمیایی و عصاره شاه بلوط پی برد؛ این اثر سینرژیستی ضد میکروبی پودر خردل با نگهدارنده‌های شیمیایی سوربات پتاسیم و بنزوات سدیم در نتایج حاصل از پژوهش عادلی میلانی و همکاران (۱۶) نیز به چشم می‌خورد؛ سس مایونز نیز همانند سایر فرآورده‌های غذایی در معرض رشد انواع کپک‌ها و مخمرها قرار دارد. استاندارد ملی ایران (۱۷)، برای

میزان هر یک از مخمرها و کپک‌های موجود در سس مایونز، حد مجاز ۱۰۲ مخمر در گرم را تعیین کرده است؛ بنابراین شمارش این دسته از میکروارگانیسم‌ها نیز برای بررسی واقع بودن در محدوده استاندارد ملی ضروری است. شکل ۴ روند تغییرات معنادار ($P<0.05$) میزان کپک و مخمر را در نمونه‌ها نشان داده است. در نمونه B1 روند صعودی معناداری ($P<0.05$) تا ماه چهارم نشان دادند و سپس تا ماه ششم تعداد آن‌ها کاهش یافت. نمونه B2 تا ماه چهارم از لحاظ شمارش کلی کپک و مخمر تغییری نشان نداد سپس تا ماه ششم از میان آن‌ها کاسته شد. سوربات پتاسیم به عنوان نگهدارنده نقش ضد قارچ و کُند کننده رشد کپک در سس مایونز را به عهده دارد اما، نکته قابل توجه نتایج شمارش کپک و مخمر در تیمارهای حاوی عصاره بود که نشان داد در غلظت‌های ppm ۸۰۰ و ۱۲۰۰ عصاره شاه بلوط همانند نگهدارنده شیمیایی عمل کرده و توانایی ضد کپکی و ضد قارچی آن در زمان بلافاصله پس از تولید بطور معنی‌داری افزایش یافته است. در هیچکدام از تیمارها، صرف نظر از ترکیبات تیمار و زمان بررسی، هیچ کلنی اشرشیاکلی، سالمونلا و استافیلوکوکوس کوآگلاز مثبت مشاهده نشد. روند تغییرات باکتری‌های لاکتیک اسید (شکل ۵) نشان داد رشد باکتری‌های لاکتیک اسید در نمونه‌های B1 و B2 تا ماه چهارم روند صعودی معناداری ($P<0.05$) داشت با این تفاوت که در تیمار B2 از ماه چهار تا ماه ششم از تعداد آنها کاسته شد؛ از آنجاکه در فرآیند تولید لاکتیک اسید، اسید تولیدی اثر مهارکنندگی روی سویه تولید کننده لاکتیک اسید داشته و سبب کاهش رشد و تولید باکتری‌های لاکتیک اسید می‌شود (۱۸). در نمونه B3 و B4 هیچ رشد باکتری لاکتیک اسید از روز اول تا ماه ششم مشاهده نشد. خاصیت ضد باکتری عصاره به مقدار ماده موثر (از جمله ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی) موجود در آن است که با مکانیسم‌های جذب سطحی و شکستن غشای سلول، واکنش با آنزیم یون‌ها و کاهش یون-های فلزی مورد نیاز باکتری برای آن‌ها سمیت ایجاد می-کنند؛ همچنین فلاونوئیدها در نتیجه توانائی تشکیل کمپلکس با دیواره سلولی باکتری‌ها از رشد آن‌ها جلوگیری می‌کنند. احتمالاً به دلیل وجود تانن‌های موجود در عصاره می‌باشد که از یک سو با رسوب پروتئین‌های میکروبی مانع از رشد آن‌ها می‌شوند (۳۱)؛ از سوی دیگر تانن‌های موجود در عصاره با دور کردن پروتئین‌های غذایی از دسترس میکروب‌ها و یا از طریق مکانیسم به دام انداختن آهن، باند شدن هیدروژن با پروتئین‌های حیاتی مانند آنزیم‌ها نقش ضد میکروبی ایفا کنند (۳۲). در این راستا Khosravi و همکاران (۳۳) تاثیر باکتری‌کشی عصاره متانولی پوسته خارجی میوه بلوط بر روی تعدادی از باکتری‌های گرم منفی را وابسته به غلظت آن است و به حضور تانن‌ها در آن نسبت دادند. همچنین قادری قهفرخی و همکاران (۲) اثر مهارکنندگی و کشندگی قابل قبول عصاره اتانولی بلوط را نشان دادند که نتایج با این تحقیق هم راستا بود.

افزودن یک ترکیب جدید می‌تواند موجب تغییر ویژگی‌های حسی غذا (از قبیل عطر و طعم، رنگ و بافت) غذا شود. باید دقت شود که میزان ترکیب جدید به حدی باشد که مصرف کننده پس مزه‌ای در دهان خود احساس نکند و بطورکلی پذیرش فرمولاسیون جدید اگر از فرمولاسیون قبلی بهتر نیست، حداقل با آن متفاوت نباشد. روند تغییرات معنادار ($P<0.05$) پذیرش کلی سس مایونز حاوی شاه بلوط در شکل ۶ نشان داده شده است. همانگونه که مشخص است در نمونه B1 و B2 به یک اندازه در طول مدت نگهداری از طرف مصرف کننده پذیرش داشتند و تا دو ماه اول بعد از تولید پذیرش کامل و یکسان از طر ف مصرف کننده داشتند با افزودن ppm ۸۰۰ و ۱۲۰۰ عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط به نمونه سس مایونز از همان روز اول از مطلوبیت پذیرش نمونه‌ها کاسته شد و با افزایش غلظت عصاره شاه بلوط اُفت پذیرش سریعتر (از ماه دوم) نشان داده شد. عادلی میلانی و همکاران (۱۶) نشان دادند که افزودن پودر خردل منجر به تغییرات نامطلوب حسی در سس مایونز شد که هم راستا با نتایج این تحقیق بود.

بطورکلی، مطابق با نتایج این پژوهش، افزودن عصاره شاه بلوط در سس مایونز بر اسیدیته، پایداری اکسیداتیو سس مایونز، شاخص حسی و بر کاهش بار آلودگی سس مایونز اثر گذار است. با در نظر گرفتن داده های حاصل از آزمون‌های مختلف شیمیایی، میکروبی و حسی نمونه‌های سس مایونز در این پژوهش، نمونه B3 (سس مایونز + ppm

۸۰۰ عصاره‌ی شاه بلوط+ ppm ۲۵۰ سوربات سدیم+ ppm ۲۵۰ بنزوات سدیم) به عنوان نمونه برتر شناخته شد که می‌تواند به عنوان محصول سالم با ماندگاری و مطلوبیت حسی بیشتر معرفی گردد.

تقدیر و تشکر

از معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر قدس قدردانی می گردد.

جدول ۲- درصد بازده استخراج عصاره میوه‌ی شاه بلوط

ماده اولیه	بازده استخراج (درصد)
میوه شاه بلوط	۲۲/۵

جدول ۳- روند تغییرات شمارش باکتری اشرشیاکلی در سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط

ویژگی / تیمار	روز اول	ماه دوم	ماه چهارم	ماه ششم
B1 (شاهد)	منفی	منفی	منفی	منفی
B2	منفی	منفی	منفی	منفی
B3	منفی	منفی	منفی	منفی
B4	منفی	منفی	منفی	منفی

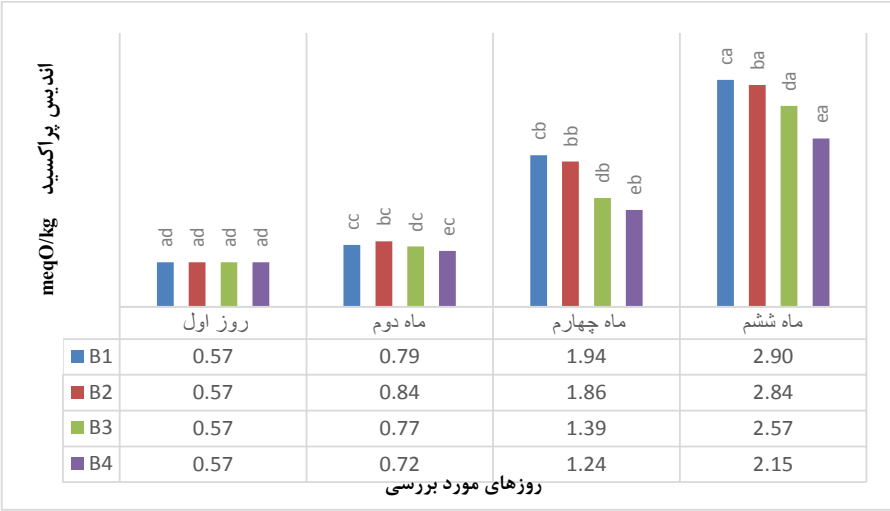
جدول ۴- روند تغییرات شمارش باکتری استافیلوکوکوس کواگلاز مثبت در سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط

ویژگی / تیمار	روز اول	ماه دوم	ماه چهارم	ماه ششم
B1 (شاهد)	منفی	منفی	منفی	منفی
B2	منفی	منفی	منفی	منفی
B3	منفی	منفی	منفی	منفی
B4	منفی	منفی	منفی	منفی

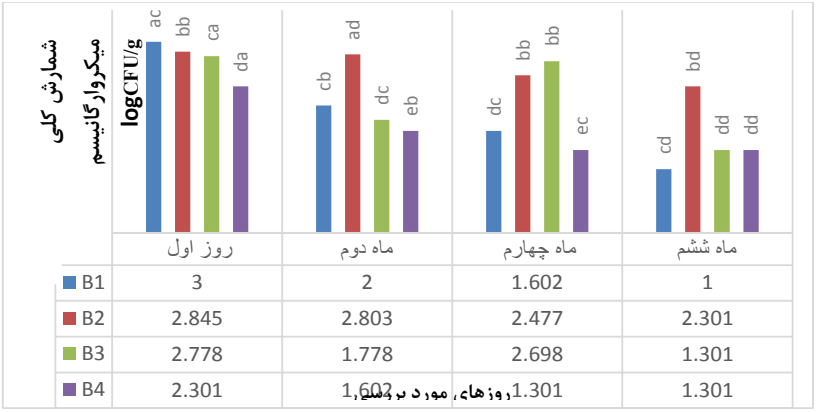
جدول ۵- روند تغییرات شمارش باکتری سالمونلا در سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط

ویژگی / تیمار	روز اول	ماه دوم	ماه چهارم	ماه ششم
B1 (شاهد)	منفی	منفی	منفی	منفی
B2	منفی	منفی	منفی	منفی
B3	منفی	منفی	منفی	منفی
B4	منفی	منفی	منفی	منفی

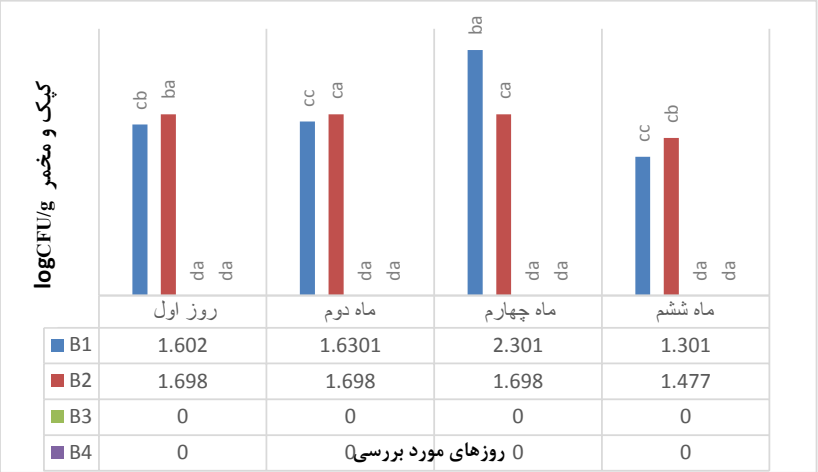
شکل ۱-روند تغییرات اسیدیته سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط.



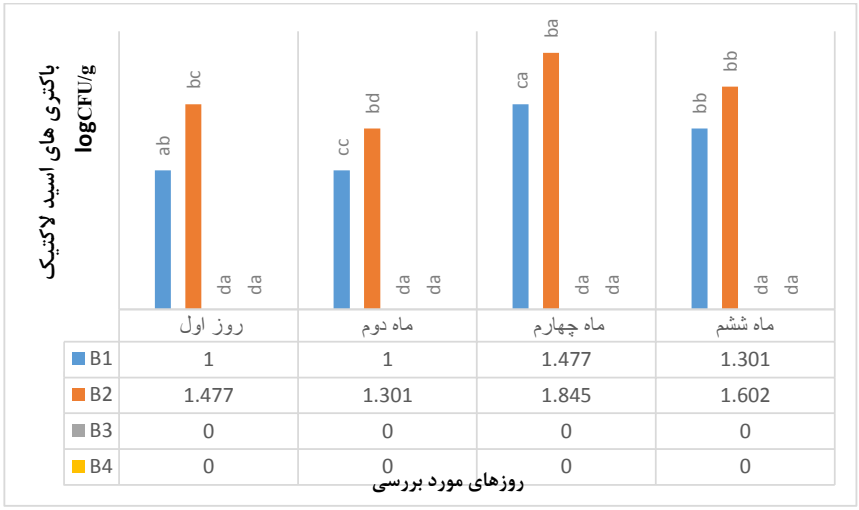
شکل ۲ -روند تغییرات اندیس پراکسید سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط



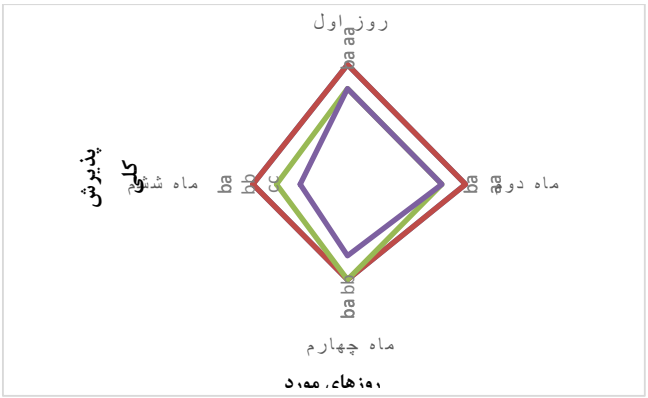
شکل ۳- روند تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم در سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط



شکل ۴- روند تغییرات شمارش کپک و مخمر در سس مایونز حاوی عصاره ی میوه ی شاه بلوط



شکل ۵- روند تغییرات باکتری‌های اسید لاکتیک در سس مایونز حاوی شاه بلوط



شکل ۶- روند تغییرات پذیرش کلی در سس مایونز حاوی عصاره‌ی میوه‌ی شاه بلوط

منابع مورد استفاده

۱. مصباحی، غ.ر. و جمالیان، ج. ۱۳۸۶. بررسی امکان فساد سس مایونز در در شرایط نگه‌داری در دمای بالا و در بسته‌های بزرگ پلاستیکی. مجله علوم آب و خاک. دوره ۱۱. شماره ۴۰ (ب). ۲۲۹-۳۱۴.

۲. قادری قهفرخی، م.، صادقی ماهونک، ع.ر.، اعلمی، م.، خمیری، م. و ممشلو، س. ۱۳۹۰. بررسی اثر ضدباکتریایی عصاره‌های اتانولی میوه دو واریته بلوط بر باکتری‌های بیماری زای مواد غذائی با روش میکرودایلوشن. نشریه علوم غذایی و تغذیه. شماره ۱. ۸۵ -۹۱.

۳. ابراهیمی، ا.، خیامی، م. و نجاتی، و. ۱۳۹۰. اثر ضد باکتری اجزای مختلف بلوط ایرانی علیه باکتری اشرشیاکلی. نشریه افق دانش. دوره ۱۷. شماره۴ (۵۴). ۱۱-۱۷.

۴. عسگری‌راد، ح.، آزد بخت، م.، شریف‌پور، ع. و مظلوم، س.ف. ۱۳۸۶. تهیه و ارزیابی ژل گیاهی از عصاره دانه شاه بلوط هندی (*Aesculus hippocastanum L.*) و تأثیر آن بر درمان واریس پا. فصلنامه گیاهان داروئی. سال ۶. دوره ۲ (۲۲). ۳۳-۲۵.

۵. صمصام شریعت، س.ه. ۱۳۷۱. عصاره‌گیری و استخراج مواد موثره گیاهان دارویی. انتشارات مانی. چاپ دوم. ۲۶۶ صفحه.

۶. سازمان ملی استاندارد. ۱۳۹۳. روغن‌ها و چربی‌های گیاهی و حیوانی- اندازه‌گیری عدد پراکسید- تعیین نقطه پایانی به روش پتانسیومتری. استاندارد ملی ۱۹۱۹۷. چاپ اول.

۷. سازمان ملی استاندارد. ۱۳۹۳. مایونز و سس‌های سالاد – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون. استاندارد ملی ۲۴۵۴. تجدید نظر دوم.

۸. سازمان ملی استاندارد. ۱۳۹۳. میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش جامع برای شمارش میکروارگانیسم‌ها- قسمت ۱: شمارش کلنی در ۳۰ °C با . استاندارد ملی ۵۲۷۲. چاپ اول.

۹. سازمان ملی اداره استاندارد. ۱۳۸۷. روش جامع برای شمارش کپک ها و مخمرها -قسمت دوم -روش شمارش کلنی در فراورده های با فعالیت آبی (aw) مساوی یا کمتر از ۰/۹۵ .استاندارد ملی ایران شماره ۲-۱۰۸۹۹. چاپ اول.

۱۰. سازمان ملی اداره استاندارد. ۱۳۸۴. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام- روش جستجو و شمارش اشریشیاکلی با استفاده از روش بیشترین تعداد احتمالی.استاندارد ملی ایران شماره ۲۹۴۶. تجدید نظر دوم.

۱۱. سازمان ملی اداره استاندارد. ۱۳۸۷. میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - شمارش استافیلوکوکوس‌های کواگولاز مثبت (استافیلوکوکوس ارئوس و سایر گونه-ها)- روش آزمون-قسمت اول: روش استفاده از محیط کشت برد-پارکراگار. استاندارد ملی ایران شماره ۱-۶۸۰۶. چاپ اول.

۱۲. سازمان ملی استاندارد. ۱۳۹۸. میکروبیولوژی زنجیره غذایی- روش جامع جستجو، شناسایی، شمارش و سروتایپینگ سالمونلا- قسمت ۱: جستجو و شناسایی گونه‌های سالمونلا. استاندارد ملی ۱-۱۸۱۰. چاپ اول.

۱۳. لطفی‌زاده دهکردی، س.، شاکریان، ا. و محمدی نافجی، ع. ۱۳۹۲.تأثیر عصاره شنگ بر خواص حسی، ماندگاری و ویسکوزیته ماست . فصل نامه داروهای گیاهی. سال ۴. شماره ۱. صفحات: ۴۹-۵۷.

۱۴. امیری عقدایی، س.س.، اعلمی، م، صادقی ماهونک، ع.ر. و جعفری، س.م. ۱۳۹۱. تاثیر بتاگوکان جو بدون پوشینه به عنوان مقلد چربی بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، بافتی و حسی سس مایونز کم چرب، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی.جلد ۲۲ (۲). ۱۴۱-۱۵۴.

۱۵. نوروزی، ف.، حجتی م.، جوینده ح. و برزگر، ح. ۱۳۹۶. استفاده از اسانس ترخون در سس مایونز به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی. نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی. جلد ۲۸ (۳). ۹۹-۸۵.

۱۶. عادلی میلانـی، م.، میزانـی، م. و قـوامی، م. ۱۳۸۹. اثـر پـودر خـردل زرد بـر pH، جمعیـت میکروبـی زنـده و خواص حسی سس مایونز. علوم تغذیه و صـنایع غـذایی ایران. دوره ۵. شماره ۲. ۳۵-۴۴.

۱۷. سازمان ملی استاندارد. ۱۳۹۶. میکروبیولـوژی مـایونز و سس سالاد- ویژگی‌هـا و روش‌هـای آزمـون. اسـتاندارد ملی ۲۹۶۵. تجدیدنظر سوم.

۱۸. میردامـادی، س.س.، رجبـی، ا.، عزیـز محسـنی، ف. و مومنی، ب. ۱۳۸۶. تولید اسید لاکتیک توسـط سـویه‌های مختلف لاکتوباسیل. مجله علـوم تغذیـه و صـنایع غـذایی ایـران. شـماره ۳ (۲). ۵۷-۶۴

19. Ahmadi-Dastgerdi, A., 2019. Antibacterial and antifungal effect of *Achillea millefolium* essential oil during shelf life of mayonaise. Food Science and Technology 13 (4): 12-20.
20. Smittle, R. B., 1977. Microbiology of mayonnaise and salad dressing: a review. Journal of Food Protection, 40(6), 415-422.
21. Sahari, M.A., Asgari, S., 2013. Effects of plants bioactive compounds on foods microbial spoilage and lipid oxidation. Food Sci. Technol, 1, pp.52-61.
22. Dall'Asta, C., Cirlini, M., Morini, E., Rinaldi, M., Ganino, T., Chiavaro, E., 2013. Effect of chestnut flour supplementation on physico-chemical properties and volatiles in bread making. LWT-Food Science and Technology, 53(1), pp.233-239.
23. Rakić, S., Petrović, S., Kukić, J., Jadranin, M., Tešević, V., Povrenović, D., & Šiler-Marinković, S., 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry, 104(2), 830-834.
24. Güneş, M.E., Şahin, S., Demir, C., Borum, E. and Tosunoğlu, A., 2017. Determination of phenolic compounds profile in chestnut and floral honeys and their antioxidant and antimicrobial activities. Journal of Food Biochemistry, 41(3), p. e12345.
25. Kimura, H., Ogawa, S., Ishihara, T., Maruoka, M., Tokuyama-Nakai, S., Jisaka, M., Yokota, K., 2017. Antioxidant activities and structural characterization of flavonol O-glycosides from seeds of Japanese horse chestnut (Aesculus turbinata BLUME). Food chemistry, 228, pp.348-355.
26. Liu, H., Xu, X. M., Guo, S. D., 2007. Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. LWT-Food Science and Technology, 40(6), 946-954.
27. Yin, M.C., Cheng, W.S., 2003. Antioxidant and antimicrobial effects of four garlic-derived organosulfur compounds in ground beef. Meat Science, 63(1), pp.23-28.
28. Shahidi, F., 2005. Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Edible Oil and Fat Products: Processing Technologies (Vol. 5). John Wiley & Sons.
29. Abou-Zaid, A.A., Abdelahafez, A., Amer, M.M., 2015. Effect of basil leaves extracted juice addition on mayonnaise and cake oxidative stability and their sensory characteristics. International Journal of Science and Research (IJSR), 4(2), pp.1010-1017.
30. Lorenzo, J.M., Munekata, P.E., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J.A., Franco, D., 2018. Main groups of microorganisms of relevance for food safety and stability: general aspects and overall description. In Innovative Technologies for Food Preservation (pp. 53-107). Academic Press.
31. Majhenič, L., Škerget, M., Knez, Ž., 2007. Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. Food chemistry, 104(3), pp.1258-1268.
32. Nair, R., Chanda, S., 2007. Antibacterial activities of some medicinal plants of the western region of India. Turkish Journal of Biology, 31(4), 231-236.
33. Khosravi, A., Behzadi, A., 2006. Evaluation of the antibacterial activity of the seed hull of Quercusbrantii on some gram negative bacteria. Pak J Med Sci, 22(4), 429-32.