تاثیر جایگزین های چربی بر ثبات امولسیونی و ویژگی های حسی مخلوط ارده کم چرب– شیره خرما (حلوا ارده کم چرب)

سید محمد علی رضوی[1]، محمد باقر حبیبی نجفی[1]، زهرا علایی روزبهانی [2]

تاریخ دریافت: ۸۴/۲/۳۱

چکیده

حلوا ارده یک فراورده سنتی در ایران و کشورهای خاورمیانه است که از مخلوط کردن ارده (دانه های کنجد بو داده، پوستگیری شده و آسیاب شده) با یک شیرین کننده مناسب نظیر شیره انگور، خرما و عسل بدست می آید. این فرآورده بطور متوسط حاوی ۶۵-۵۷ درصد وزنی روغن است. هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر جایگزین های چربی شامل نشاسته اصلاح شده (در سه سطح ۰/۷۵، ۱/۲۵ و ۱/۷۵ درصد)، صمغ گوار (در سه سطح ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد) و صمغ گزانتان (در سه سطح ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و ۰/۰۲ درصد) بر پایداری امولسیونی و خواص حسی (روغنی بودن، سفتی، پخش شوندگی، چسبندگی، رنگ، احساس دهانی، مزه و پذیرش کلی) مخلوط ارده کم چرب و شیره خرما بوده است. نتایج نشان داد که ثبات امولسیونی تمامی نمونه های حاوی جایگزین های چربی در همه سطوح جایگزینی (بجز صمغ گزانتان در سطح ۰/۰۲ درصد جایگزینی) در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت. همچنین نتایج ارزیابی های حسی توسط داوران نشان داد که نوع و سطح جایگزین های چربی بر بسیاری از ویژگی های حسی نمونه ها تأثیر معنی داری نداشته است (α=٪۵). اما به طور کلی تمامی جایگزین ها در کل سطوح مورد آزمایش باعث بهبود خواص پخش شوندگی و سفتی نمونه ها نسبت به نمونه شاهد شده اند.

واژه های کلیدی: ارده، شیره خرما، گزانتان، نشاسته اصلاح شده، گوار، ثبات امولسیون، ویژگی حسی

مقدمه

با افزایش اهمیت رژیم غذایی در جلوگیری از بیماری های خاص، مصرف کنندگان به دنبال راهی برای کاهش چربی در رژیم غذایی می باشند. بر طبق آمار انجمن کنترل کالری در سال ۱۹۹۳، ۱۳۶ میلیون جوان آمریکایی از فراورده های کم چرب (محصولاتی که چربی آن کاهش یافته) و فراورده های بدون چربی استفاده می کنند و بیش از ۶۰ درصد این مصرف کنندگان خواهان غذا هایی که چربی آن کاهش یافته می باشند. صنعت غذا این نیاز را با کاهش نموده است. نتیجه این تلاش طبق گزارش انجمن اطلاعات غذایی بین المللی، تولید سالیانه بیش از هزار تن فراورده های جدید کم چرب و بدون چربی از سال ۱۹۹۰ بوده است (۴ و ۵).

جایگزین های چربی با ساختمان کربوهیدراتی گروهی از جانشین ها هستند که به صورت کلی یا جزئی به جای چربی استفاده می شوند. این جایگزین ها از غلات، حبوبات و گیاهانی با کربوهیدرات های قابل هضم و غیر قابل هضم بدست می آیند (۲). از جمله جانشین های چربی با ساختمان کربوهیدراتی می توان پلی دکستروز، پکتین، سلولز، صمغ ها و مشتقات نشاسته ای (نشاسته اصلاح شده و دکسترین) را نام برد.

۱ - اعضاء هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد. پست الکترونیکی S.Razavi@um.ac.ir

۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد.

خواص کاری[1] چربی ها مثل ایجاد بافت و احساس دهانی را فراهم می کنند (۲ و ۴).

از آنجا که چربی ها و روغن ها نقش مهمی در خواص کاری، تغذیه ای و حسی محصولات غذایی دارند، لذا طبیعی است که کاهش چربی اثراتی بر خواص فیزیکی ، شیمیایی و حسی به همراه داشته باشد (۲ و ۷). حلوا ارده یک فرآورده سنتی در ایران و کشورهای خاورمیانه است که از مخلوط کردن ارده[2] (دانه های کنجد بو داده، پوست گیری شده و آسیاب شده) با یک شیرین کننده مناسب نظیر شیره انگور، خرما و عسل بدست می آید. این فرآورده بطور متوسط حاوی ۶۵-۵۷ درصد وزنی روغن است. حلوا ارده یک امولسیون روغن در آب با قابلیت پخش شوندگی و مالش پذیری است و کم شدن میزان چربی بر ثبات امولسیون، مالش پذیری و خواص حسی این محصول از قبیل مزه، احساس دهانی و قوام تأثیر گذار است. بنابراین برای ارزیابی محصولات مالش پذیر با چربی کاهش یافته، اندازه گیری ویژگی های حسی مانند روغنی بودن، چسبندگی، سفتی، پخش شوندگی، احساس دهانی و مزه ضروری است، در حقیقت هدف اصلی این پژوهش بررسی تاثیر جانشین های مختلف چربی (صمغ گزانتان، صمغ گوار و نشاسته اصلاح شده هر یک در سه سطح جایگزینی) بر ثبات امولسیون و ویژگی های حسی حلوا ارده کم چرب به عنوان یک محصول جدید کم چرب بوده است.

مواد و روشها

اردۀ کم چرب

ارده لازم برای تهیه نمونه ها از شرکت سیمرغ در استان خراسان تهیه شد. ارده فراورده ای است که از چرخ کردن دانه های خشک پوست گیری شده و بو داده کنجد بدست می آید و حاوی حدود ۶۵ درصد روغن است. در این مطالعه به منظور جداسازی و کاهش میزان چربی ارده، نمونه ها به مدت ۸ ساعت در حالت سکون قرار گرفتند تا بخشی از روغن از ارده خارج شود و در سطح نمونه ها قرار گیرد. به منظور اندازه گیری درصد روغن جدا شده[3] و روغن باقیمانده در ارده از روش سوکسله استفاده شد. مشاهدات نشان داد که با جدا کردن روغن جمع شده روی ارده، میزان چربی ارده در حدود ۲۰درصد کاهش می یابد. برای محاسبه درصد کاهش چربی ارده از روابط زیر استفاده شد (۸):

(۱)

وزن ارده اولیه ×درصد روغن ارده = وزن روغن موجود در ارده

(۲)

۱۰۰ ×(وزن روغن موجود در ارده / وزن روغن جدا شده) = درصد کاهش چربی

شیره خرما

شیره خرما به اندازه مورد نیاز جهت انجام پژوهش توسط تبخیر کننده نیمه صنعتی در مجتمع صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی تهیه

1- Functional Properties
2- Sesame Paste
3- Oiling Off

شد. شیره تهیه شده دارای بریکس ۶۷ و pH=۴/۶۷ بود. برای تهیه نمونه های حلوا ارده از شیره خرمای رقیق شده توسط آب بدون یون تا بریکس ۶۰ استفاده شد. اندازه گیری بریکس نمونه های مختلف نیز با استفاده از رفرکتومتر دستی انجام گرفت (۱).

جایگزین های چربی

جایگزین های چربی مورد استفاده در این تحقیق شامل صمغ گوار نوع خوراکی[1]، صمغ گزانتان[2] و نشاسته اصلاح شده با اسید[3] بودند که دو جایگزین اول از شرکت رودیا[4] و جایگزین سوم از شرکت مرک[5] خریدار ی گردیدند.

نمونه های مخلوط ارده کم چرب – شیره خرما (حلوا ارده کم چرب)

در ابتدا یک نمونه ۵۰ درصدوزنی از شیره خرما (با بریکس ۶۰) و ۵۰ درصد وزنی ا ز ارده (بدون جدا کردن چربی) مشابه نمونه تجاری تهیه و به عنوان نمونه شاهد (حلوا ارده) انتخاب شد (۱). برای تهیه نمونه های حلوا ارده کم چرب با استفاده از جایگزین های چربی نیز از نسبت شیره خرما و ارده به کار رفته برای تهیه نمونه شاهد استفاده شد، با این تفاوت که چربی ارده مورد استفاده برای این نمونه ها به میزان ۲۰ درصد کاهش یافته بود. بر اساس آزمایش های اولیه، صمغ گزانتان در سه سطح ۰/۰۱، ۰/۰۱۵ و۰/۰۲ درصد، صمغ گوار در سه سطح ۰/۱ ، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد و نشاسته اصلاح شده در سه سطح ۰/۷۵، ۱/۲۵ و۱/۷۵درصد قبل از انجام آزمون های حسی، به مخلوط نمونه های حلواارده اضافه شدند. نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق گذاشته شدند، تا بافت اصلی مخلوط ها به خوبی تشکیل گردد (۱).

ثبات امولسیون

برای این منظور نمونه ها به کمک میله شیشه ای در میکروتیوب های ۲ میلی لیتری با وزن w_1 ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۸۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس میکروتیوب های حاوی نمونه ها خنک شده و پس از همدما شدن با محیط، توزین گردیده (w_2) و به سانتریفوژ مجهز به کنترل دما منتقل شدند. همه نمونه ها در داخل دستگاه سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه در دور معادل ۴۰۰۰×g و دمای محیط سانتریفوژ گردیدند. روغن تشکیل شده روی سطح نمونه ها در داخل هر میکروتیوب با نمونه بردار[6] مناسب کشیده شده و میکروتیوب ها مجدداً توزین شدند(w_3). درصد کاهش وزن نمونه ها به وزن نمونه اولیه که مبین میزان روغن پس داد شده[7] و به عبارتی ثبات امولسیون (ES)[8] بود، از رابطه زیر محاسبه شد (۳):

(۳)

$$\text{Oiling off}\% = \frac{(w_2 - w_1) - (w_3 - w_1)}{(w_2 - w_1)} \times 100$$

آزمون های حسی

محققان به منظور بررسی خواص حسی ترکیبات نیمه جامدی مثل کره بادام زمینی مقیاس درجه بندی را پیشنهاد کردند (۱ و ۱۰ و۱۱). در این بررسی با انجام

1- Food Grade Guar Gum, Higum, 4500F
2- Xanthan Gum, Rhodigel Ultar
3- Modified Starch (art:1252)
4- Rhodia Company
5- Merck Company Ltd.
6- Sampler
7- Oiling Off
8- Emulsion Stability

برخی تغییرات جزئی روی آن از این روش برای بررسی ویژگی های حسی نمونه ها استفاده شد .در ابتدا با اجرای یکسری آزمون های اولیه ، ۱۲ داور در محدوده سنی ۳۰-۲۰ سال انتخاب شدند .

نمونه ها یکروز قبل از انجام آزمون تهیه شده و یک ساعت قبل از انجام آزمون در بیرون از یخچال قرار می گرفتند. به منظور انجام آزمون های حسی، نمونه ها که با یک کد سه شماره ای نامگذاری شده بودند، به همراه یک برگه که ویژگی های حسی مورد بررسی نمونه ها درآن از صفر تا ۱۲ درجه بندی شده بود، یک تکه نان ، چاقو برای هر نمونه و یک لیوان آب در اختیار هر داور گذاشته شد.

در این تحقیق کلیه نمونه ها از نظر شاخص های حسی روغنی بودن[1]، مالش پذیری (پخش شوندگی)[2] ، سفتی[3]، چسبندگی[4]، رنگ[5] ، احساس دهانی[6] ، مزه[7] و پذیرش کلی[8] با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند.

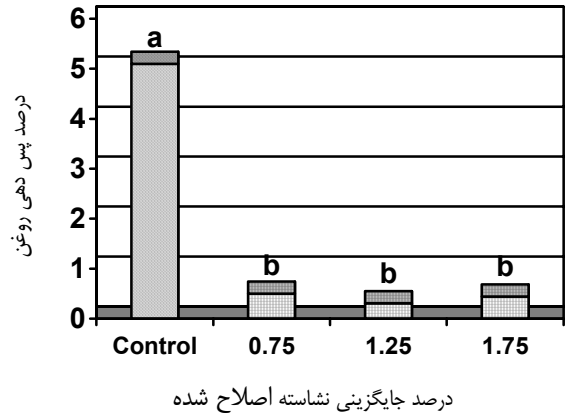
تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش جایگزینی چربی با صمغ گزانتان ، گوار و نشاسته اصلاح شده هر کدام به تنهایی در سه سطح مختلف انجام شد تا اثر هر کدام از این جایگزین ها به تنهایی بر خواص نمونه ها مطالعه شود. به منظور تجزیه واریانس این نتایج از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. کلیه آزمون ها در سه تکرار انجام پذیرفت و میانگین تکرار ها در قالب آزمون دانکن و LSD در سطح آماری ۵٪ مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج

ثبات امولسیونی

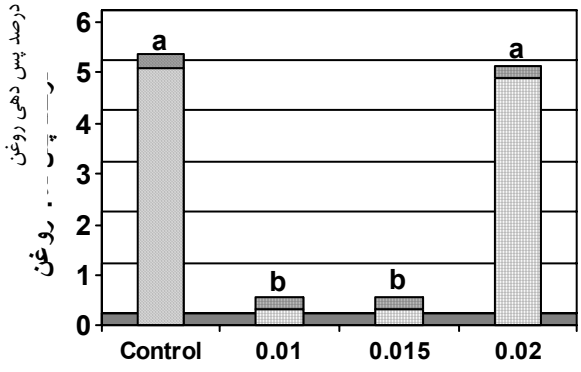
نتایج نشان داد که استفاده از نشاسته اصلاح شده به عنوان جایگزین چربی به طور قابل ملاحظه ای درصد پس دهی روغن نمونه ها را در مقایسه با نمونه شاهد کاهش می دهد، اگرچه بین سه سطح جایگزینی نشاسته اصلاح شده از نظر پایداری امولسیون اختلاف معنی داری وجود نداشت، اما افزایش میزان پایداری امولسیون این سه سطح جایگزینی در مقایسه با نمونه شاهد معنی دار بود (شکل ۱). به نظر می رسد دلیل این موضوع خاصیت پایدارکنندگی ترکیبات پلی ساکاریدی از جمله نشاسته اصلاح شده باشد (۹).



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف جایگزینی با نشاسته اصلاح شده بر درصد پس دهی روغن مخلوط ارده کم چرب – شیره خرما (α=٪۵) .

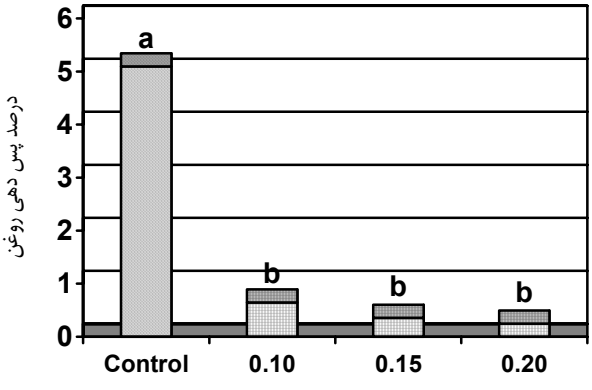
1- Oiliness
2- Spreadibility
3- Firmness
4- Adhesiveness
5- Color
6- Mouth Feeling
7- Taste
8- Overall Acceptance

جایگزینی چربی با صمغ گزانتان در سطوح ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد میزان پس دهی روغن نمونه ها را به شدت کاهش داده است، ولی در سطح ۰/۰۲ درصد جایگزینی، کاهش معنی داری نسبت به نمونه شاهد نشان نمی دهد (شکل ۲). علت این نتایج می تواند قدرت بالای جذب آب توسط صمغ گزانتان در مقایسه با سایر صمغ ها باشد. همچنین با ملاحظه شکل (۲) می توان دریافت که افزودن ۰/۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد از صمغ گزانتان به مخلوط ارده- شیره خرما بطور معنی داری ثبات امولسیون نمونه ها را در مقایسه با نمونه شاهد افزایش داده است.



شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف جایگزینی با صمغ گزانتان بر درصد پس دهی روغن مخلوط ارده کم چرب- شیره خرما (α=٪۵).

جایگزینی چربی با صمغ گوار در هر سطح جایگزینی ۰/۱، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد موجب کاهش معنی دار درصد پس دهی روغن نسبت به نمونه شاهد گردید، اگرچه اختلاف معنی داری بین سطوح جایگزینی با یکدیگر مشاهده نشد (شکل ۳). به نظر می رسد دلیل افزایش پایداری امولسیونی نمونه های حاوی صمغ گوار نسبت به نمونه شاهد، خاصیت امولسیون کنندگی و پایدار کنندگی این صمغ باشد.



شکل ۳- تاثیر سطوح مختلف جایگزینی با صمغ گوار بر درصد پس دهی روغن مخلوط ارده کم چرب- شیره خرما (α=٪۵).

ویژگی های حسی

یافته های مربوط به تأثیرجانشین های مختلف بر ویژگی های حسی مخلوط ارده کم چرب- شیره خرما در جدول (۱) آورده شده است.در ذیل با توجه به نتایج بدست آمده، هر صفت به طور جداگانه مورد بررسی قرار می گیرد.

روغنی بودن

نتایج حاکی از این است که این صفت توسط داوران در دامنه حداکثر میانگین ۹/۲۵ وحداقل میانگین۷/۱۸ ارزیابی شده است. حداکثر امتیاز برای نمونه شاهد و حداقل امتیاز به نمونه ۱/۲۵ درصدنشاسته اصلاح شده اختصاص یافت (جدول ۱). نتایج نشان می دهد که فقط بین نمونه شاهد با نمونه های ۰/۰۲ درصد گزانتان و نمونه ۱/۲۵ درصد جایگزینی نشاسته

اصلاح شده اختلاف معنی دار شده است، اما سایر نمونه ها با نمونه شاهد از نظر میزان روغنی بودن اختلاف معنی داری نداشتند. همچنین به نظر می رسد که افزایش سطوح هر یک از جایگزین ها، میزان روغنی بودن نمونه ها را کاهش داده است.

سفتی

داوران حداکثر سفتی با امتیاز ۹/۲۲ را برای نمونه ۰/۰۱ درصد جایگزین چربی با صمغ گزانتان و کمترین نمره سفتی با امتیاز۶/۷ را برای نمونه شاهد در نظر گرفتند و نمونه های۰/۱ و۰/۲ درصد جایگزینی چربی با صمغ گوار ،کل سطوح نشاسته و نمونه های ۰/ ۰۱ و ۰/۰۱۵ درصد جایگزینی چربی با صمغ گزانتان از نظر سفتی با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند (جدول ۱). افزایش سطح جایگزینی صمغ گزانتان، میزان سفتی نمونه ها را بطور قابل ملاحظه ای کاهش داده است، در حالی که برای نشاسته اصلاح شده این تاثیر چندان مشهود نیست.

مالش پذیری (پخش شوندگی)

بین تمامی نمونه ها با جایگزین های مختلف چربی و درصد های مختلف از این جایگزین ها از نظر صفت مالش پذیری اختلاف معنی داری دیده می شود، بجز اینکه در مورد نمونه های تهیه شده با نشاسته اصلاح شده درسطح۰/۷۵ درصد و صمغ گوار در سطح ۰/۱ درصد با نمونه شاهد (با کمترین امتیاز مالش پذیری) اختلاف معنی داری از لحاظ این صفت مشاهده نشد (جدول ۱). افزایش سطوح جایگزینی هر یک از جایگزین ها، *پخش شوندگی* نمونه ها را نسبت به نمونه شاهد افزایش داده است. صمغ گزانتان بیشترین تاثیر را بر صفت مالش پذیری و نشاسته اصلاح شده کمترین تاثیر را بر این صفت گذاشت.

چسبندگی

نتایج نشان داد از نظر صفت چسبندگی، نمونه شاهد با نمونه های تهیه شده در سطوح مختلف صمغ گوار، نمونه حاوی ۰/۰۲ درصد جایگزینی چربی با صمغ گزانتان و نمونه تهیه شده با ۰/۷۵ درصد نشاسته به جای چربی، اختلاف معنی داری ندارد(جدول ۱). کمترین مقدار چسبندگی مربوط به نمونه شاهد و بیشترین آن مربوط به نمونه تهیه شده با ۰/۰۲ درصد جایگزینی از صمغ گزانتان می باشد. در حقیقت تمامی جایگزین ها با توجه به خاصیت پایدار کنندگی خود موجب انسجام بیشتر بافت و چسبندگی نمونه ها نسبت به نمونه شاهد شده اند.

رنگ

در مورد صفت رنگ، امتیازات در دامنه ۹-۷/۵۸۳ متغیر بوده است. داوران بیشترین امتیاز را به نمونه های حاوی ۰/۱ و ۰/۱۵ درصد جایگزینی چربی با صمغ گوار و کمترین امتیاز را به نمونه تهیه شده با ۱/۷۵ درصد جایگزینی چربی با نشاسته اصلاح شده داده اند (جدول ۱). از آنجا که نمونه های تهیه شده با جایگزین چربی با درصد های مختلف چربی نسبت به دیگر نمونه ها کمرنگ تر بودند، احتمالاً به همین دلیل امتیاز پائین تری کسب کردند نتایج به خوبی نشان می دهد که در مورد همه جایگزین های چربی با افزایش سطح جایگزینی، کمیت رنگ نمونه ها کاهش یافته است.

احساس دهانی

بیشترین امتیاز احساس دهانی به نمونه شاهد (۹/۴۸۳) وکمترین امتیاز به نمونه حاوی ۱/۲۵ درصد جایگزینی چربی با نشاسته اصلاح شده (۷/۰۸۳)داده شده است (جدول ۱)، اما نمونه های دارای سطوح مختلف جایگزینی صمغ گزانتان از نظر احساس دهانی

با نمونه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند. همچنین می توان دریافت که در مورد صمغ گزانتان، افزایش درصد جایگزینی، احساس دهانی نمونه ها را بهبود داده است.

مزه

بهترین نمونه توسط داوران از نظر صفت مزه، نمونه شاهد تشخیص داده شده است و نمونه حاوی ۰/۲ درصد جایگزینی چربی با صمغ گوار از نظر مزه کمترین امتیاز را داشت (جدول ۱). در ضمن نمونه های تهیه شده با سطوح مختلف جایگزینی صمغ گزانتان از نظر مزه با نمونه شاهد اختلاف معنی داری نداشتند. نمونه های تهیه شده با سطوح مختلف جایگزینی صمغ گوار نیز از نظر مزه کمترین امتیازات را به خود اختصاص دادند. افزایش سطوح جایگزینی با صمغ های گزانتان و گوآر موجب کاهش امتیازات مزه نسبت به نمونه شاهد گردید، در حالی که افزایش درصد جایگزینی نشاسته در مخلوط ارده-شیره خرما، مزه نمونه ها را بهبود داد.

پذیرش کلی

از نظر پذیرش کلی بیشترین امتیاز به نمونه شاهد (۸/۵۶۳) و کمترین امتیاز به نمونه حاوی۰/۲ درصد صمغ گوار (۰/۶) داده شد. اما نتایج مقایسه های میانگین نشان می دهد که بین نمونه شاهد با کل نمونه های تهیه شده با صمغ گزانتان و همچنین نمونه های تهیه شده با ۰/۷۵ و ۱/۲۵ درصد نشاسته اصلاح شده اختلاف معنی داری وجود ندارد (جدول ۱). از طرفی نمونه های حاوی جایگزین چربی صمغ گوار کمترین امتیاز را به خود اختصاص داده اند که با توجه به نتایج بدست آمده برای مزه این امر منطقی خواهد بود، زیرا محققان معتقدند که عامل مزه بیش از ۸۰ درصد در انتخاب فراورده توسط مصرف کننده اهمیت دارد (۴). از طرفی افزایش سطح جایگزینی صمغ گزانتان باعث افزایش مقبولیت مصرف کننده شده است، در حالی که برای نشاسته اصلاح شده و صمغ گوار، افزایش درصد جایگزینی، میزان پذیرش کلی را کاهش داده است.

جدول ۱- تاثیر جایگزین های مختلف چربی بر ویژگی های حسی مخلوط ارده کم چرب- شیره خرما در مقایسه با نمونه شاهد (α=٪۵)

صفت	شاهد	گزانتان			گوار			نشاسته		
		٪۰/۰۱	٪۰/۰۱۵	٪۰/۰۲	٪۰/۱	٪۰/۱۵	٪۰/۲	٪۰/۷۵	٪۱/۲۵	٪۱/۷۵
روغنی بودن	۹/۲۵^{a}	۸/۱۷^{abc}	۸^{abc}	۷/۶۲^{bc}	۸/۳^{abc}	۸/۷۸^{ab}	۸/۲^{abc}	۸/۲۷^{abc}	۷/۱۸^{c}	۷/۸^{abc}
سفتی	۶/۷^{c}	۹/۲۲^{a}	۷/۹^{abc}	۷/۳۹^{bc}	۸/۴۵^{ab}	۶/۸^{c}	۸/۵^{ab}	۸/۱۷^{abc}	۷/۹۵^{abc}	۸/۱۸^{abc}
پخش شوندگی	۶/۴۱۶^{b}	۸/۳۲۵^{a}	۸/۱^{a}	۹/۱۵^{a}	۷/۹۶^{ab}	۸/۲۸۵^{a}	۸/۶۵^{a}	۷/۸۹۶^{ab}	۸/۰۸۱^{a}	۸/۱^{a}
چسبندگی	۷/۰۵^{abcd}	۷/۶۸۲^{abcd}	۶/۴۳۳^{d}	۸/۸۷۸^{a}	۸/۶۶۵^{ab}	۸/۷^{ab}	۸/۲۸۵^{abc}	۷/۵۸۲^{abcd}	۶/۹۷۵^{bcd}	۶/۸۰۷^{cd}
رنگ	۸/۸۹۲^{ab}	۸/۷۵^{abc}	۸/۶۶۷^{abc}	۷/۵۸۳^{abc}	۹^{a}	۹^{a}	۸/۶۳۵^{abc}	۸/۰۸۵^{abc}	۷/۷۹۲^{bc}	۸/۰۸۵^{abc}
احساس دهانی	۹/۴۸۳^{a}	۸/۲۹۲^{abc}	۸/۳۴۳^{abc}	۸/۴۷۵^{ab}	۷/۴^{bc}	۸/۰۶۷^{bc}	۷/۷^{bc}	۷/۴^{bc}	۷/۰۸۳^{c}	۷/۵۹۲^{ab}
مزه	۹/۷۲۵^{a}	۹/۱۸۳^{ab}	۸/۳۷۵^{abc}	۹/۱۲۵^{ab}	۷/۷۵^{bc}	۷/۶^{bc}	۷/۰۸^{c}	۷/۸۵^{bc}	۸/۲۵^{bc}	۸/۲۲۵^{bc}
پذیرش کلی	۸/۵۶۳^{a}	۸/۲۶۷^{ab}	۸/۳۹۲^{a}	۸/۵^{a}	۶/۸^{c}	۶/۷^{c}	۶/۶^{c}	۷/۸۳۳^{abc}	۷/۲۳۳^{abc}	۶/۸۳۳^{bc}

نتیجه گیری

در ایـن پـژوهش پایـداری امولسـیون و خـواص حسی حلوا ارده کم چـرب (مخلـوط ارده بـا ۲۰درصـد کاهش چربـی - شـیره خرمـا) بـا اسـتفاده از جـایگزینی چربی با صمغ گوار، گزانتان و نشاسته اصلاح شده مورد بررسی قرار گرفت. بطور کلی نتایج نشان داد که تمامی جایگزین های چربی در همـه سـطوح جـایگزینی (بجـز برای صمغ گزانتان در سطح ۰/۰۲ درصـد جـایگزینی)، موجب بهبود ثبـات امولسـیونی نمونـه هـا در مقایسـه بـا نمونه شاهد می شوند. بر اساس نتایج حسی بدست آمده در این تحقیق می توان دریافت که نمونـه شـاهد از نظـر تمامی ویژگی های حسی (بجز صـفت مـالش پـذیری و سفتی) بیشترین امتیاز را در مقایسه با نمونه هـای حـاوی سـطوح مختلـف جـایگزین هـای چربـی داشـته اسـت. همچنین نتایج ارزیابی های حسـی توسـط داوران نشـان داد که نوع و سطح جایگزینی جانشـین هـای چربـی بـر بسیاری از خصوصیات حسی نمونه ها تـأثیر معنـی داری ندارد (α=٪۵). اما به طور کلی تمـامی جـایگزین هـا در کل سطوح مورد آزمایش باعـث بهبـود خـواص *پخـش شوندگی* و سفتی نمونه ها نسبت به نمونه شـاهد شـدند. به عبارتی با افزودن جایگزین های چربی نه تنها خواص حسی نمونه کم کالری بطور معنی داری کـاهش نیافتـه، بلکه صفت مـالش پـذیری و سـفتی آن نیـز بهبـود یافتـه است. در نهایت باید توجه داشت که در جهـان صـنعتی امروز، یکـی از موضـوعات مهـم مـورد بررسـی، تولیـد محصولات فاقد چربی و کم چـرب اسـت. از آنجـا کـه مصرف کنندگان خواهان مصرف چنین فـراورده هـایی مـی باشـند، لـذا اهمیـت و ضـرورت انجـام تحقیقـات کاربردی به منظـور تولیـد محصـولی اقتصـادی و مـورد قبـول مصـرف کننـده شـدت یافتـه اسـت. در صـورت اسـتفاده از جـایگزین هـای چربـی، سـهولت دسترسـی، اقتصادی بودن و چگونگی تاثیر آن بر خواص محصول، مهمتـرین عوامـل تعیـین کننـده در توسـعهٔ و ارائـه محصولات کم کالری و کم چرب خواهد بود.

منابع مورد استفاده:

۱- علائی روزبهانی، ز، حبیبی نجفی، م.ب.، رضوی، س.م.ع. و نصیری محلاتی، م.، ۱۳۸۳، تاثیر جانشین هـای چربـی بـر خصوصیات رئولوژیکی و حسی شبه کره کنجد، پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه علـوم وصـنایع غـذایی دانشـگاه فردوسی مشهد.

2. Akoh, C.C. 1998. Fat replacers. Food Technology, 52 (3): 47-53.

3. Alpaslan, M.H. 2002. Rheological and sensory properties of Pekmaz (grape molasses)/tahin (sesame paste) blends. Journal of Food Engineerin, 54: 89-93.

4. Bruhn, C.M., A, Cotter. and M. Yaffee. 1992, Consumer attitudes and market potential for food using fat substitutes. Food Technology, 46(4): 81-84.

5. Gershoff, S.N. 1995. Nutrition evaluation of dietary fat substitutes. Nutrition Reviews. 53 (11): 305-313.

6. Inyang, U.E. and A. O, Iduh. 1996. Influence of pH and salt concentration on protein solubility, emulsifying and foaming properties of sesame protein concentrations. JAOCS. 73 (12): 1663-1667.

7. Namiki, M. 1995. The chemistry and physiological functions of sesame, Food Reviews International, 11 (2): 281-329.

8. Oezcan, M. and A, Akguel. 1994. Physical and chemical properties and fatty acid composition of tahin (sesame paste), Gida, 19 (6): 441-416.

9. Sanderson, G.R. 1981. Polysaccharides in foods. Food Technology. 35(7): 50-56, 83.

10. Sawaya, W.N., M, Ayaz. and A. F, Al-shalhat. 1985. Chemical composition and nutritional quality of tehineh (sesame butter). Food Chemistry, 18:35-45.

11. Sumainah, G.M., C. A, Sims. and S. F, Keef. 2002. Flavor and oxidative stability of peanut-sesame-soy blends. Journal of Food Science, 65: 901-905.

The effect of fat substitutes on the emulsion stability and sensory characteristics of reduced fat sesame paste/date syrup blends (reduced fat Halwa-Ardeh)

S. M. A. Razavi[1*], M. B. Habibi Najafi[1], A. Alaei Roozbahani[2]

Abstract

Halwa-Ardeh is a traditional food in Iran and Middle East countries, which is produced by crushing the dehulled sesame seeds and then mixing with a proper sweetener such as grape concentrate, date syrup, and honey. The oil content of this product is on the average of 57-65% (w/w). In this research, the effect of different levels of fat substitutes including guar gum (of 0.1, 0.15 and 0.2%), Xanthan (0.01, 0.015 and 0.02%), and modified starch (0.75, 1.25 and 1.75%) on the emulsion stability and sensory characteristics (oiliness, firmness, spreadability, adhesiveness, color, mouth coating, taste, and total acceptance) of reduced fat sesame paste/date syrup blends have been investigated. The results showed that all fat replacers at each substitution level (except for 0.02% substitution of xanthan gum) increased the emulsion stability of samples in comparison with the control. In addition, the sensory evaluation by panelists showed that the effect of fat substitutes at each level of substitution on sensory properties of many samples was not significant (α=5%), but all fat replacers improved the spreadability and firmness of samples compared to the control.

Keywords: Sesame Paste; Date Syrup; Xanthan; Modified Starch; Guar; Emulsion Stability; Sensory Properties

* Corresponding author: E-mail: s.razavi@um.ac.ir
1- Dept. Food Sci. Tehcnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.
2- Former MSc. Student , Dept. Food Sci. Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

بررسی اثر تشدیدکنندگی برخی از مواد نگهدارنده بیولوژیکی و شیمیایی در کنترل باسیلوس سرئوس مقاوم در مواد غذایی

آمنه نصر[1]، روحاکسری کرمانشاهی[2] و ایرج نحوی[2]

تاریخ دریافت: ۸۴/۴/۱۰

چکیده

یکی از راههای نگهداری غذا افزودن مواد نگهدارنده[3] به آن است. اما اغلب یک ماده نمی‌تواند یک فراورده را به اندازه کافی محافظت نماید. بنابراین لازم است که سیستم محافظی ایجاد شود که بر محدودیت‌هایی که هر یک از مواد نگهدارنده دارند غلبه کند. با استفاده از مخلوط مواد نگهدارنده در صورت انتخاب صحیح هر یک از اجزاء می‌توان به فواید عملی قابل ملاحظه‌ای رسید. در این تحقیق باکتری باسیلوس سرئوس مقاومی که از پنیر پیتزای حاوی سیترات سدیم به عنوان ماده نگهدارنده، جدا شده بود از نظر میزان حساسیت به مواد نگهدارنده مختلف شیمیایی و طبیعی بررسی شد. سپس میزان MIC[4] و MBC[5] مواد نگهدارنده نسبت به آن تعیین گردید. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که این باکتری به غلظت‌های مجاز بنزوات سدیم، اسید سوربیک، سیترات سدیم، سوربات پتاسیم و اسید استیک در غذا مقاوم است. حساسیت سویه باسیلوس سرئوس جدا شده نسبت به سویه استاندارد باسیلوس سرئوس PTCC1015 اختلاف معنی‌دار ندارد. اما به علت مقاومت این باکتری به غلظت‌های مجاز مواد نگهدارنده غذایی و برای کنترل آن در غذا اثر ترکیب مواد نگهدارنده بر آن بررسی شد. این باکتری به علت وجود اثر تشدیدکنندگی بین مواد نگهدارنده با غلظت های چندین بار کمتر از زمانی که به تنهایی استفاده شوند مهار شد. در این مطالعه اسید سیتریک(۰/۱۸۷ درصد) و اسید بنزوئیک(۰/۰۰۶ درصد)، اسید سوربیک(۰/۰۰۱۸ درصد) و اسید پروپیونیک(۰/۱۵۶ درصد)، اسید پروپیونیک(۰/۰۱۹ درصد) و سوربات پتاسیم(۰/۰۱۹ درصد)، بنزوات سدیم(۰/۰۲۶ درصد) و اسید پروپیونیک(۰/۰۱۹ درصد)، اسید سیتریک(۰/۳۷۵ درصد) و سوربات پتاسیم(۰/۶۲۵ درصد)، نیسین(۱۲۵ IU/ml) و اسید پروپیونیک(۰/۱۵۶ درصد) بر روی باکتری باسیلوس سرئوس اثر تشدیدکنندگی[6] نشان دادند.

واژه های کلیدی: باسیلوس سرئوس، مقاومت، مواد نگهدارنده، تشدیدکنندگی، غذا

مقدمه

کنترل میکروارگانیسم‌ها یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نگهداری غذا است(۸). حذف ارگانیسم‌های مولد فساد و پاتوژن‌ها از مواد غذایی هدف بسیاری از تحقیقات است. پاتوژن‌های میکروبی در غذاها به طور تخمینی سالانه در ایالات متحده ۶/۵ تا ۳۳ میلیون نفر را بیمار می‌کنند و ۲/۹ تا ۶/۷ بیلیون دلار خسارت وارد می‌نمایند. در این میان ۲۵ تا ۵۵ درصد هزینه‌ها مربوط به بیماری‌های حاصل از باکتری‌های گرم مثبت است(۱۴). از آن جهت که کنترل این باکتری‌ها در غذاها مهم است و نیز به علت اینکه با ایجاد مقاومت در خطر انداختن سلامت جامعه می‌گردد، لذا شناسایی سویه‌های مقاوم و پیشنهاد راه‌هایی جهت کنترل آنها در مواد غذایی ضروری است(۱۲).

مواد نگهدارنده برای محدود کردن رشد و فعالیت میکروارگانیسم‌ها درمحصولات دارویی، آرایشی وغذایی استفاده می‌شوند و با دخالت درغشای سلولی، آنزیم‌ها یا ساختارهای ژنتیکی بر میکروارگانیسم‌ها اثر بازدارندگی دارند. مواد ضد میکروبی که از رشد این باکتری‌ها در برابر مواد نگهدارنده از تأثیر آنها در

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی، دانشگاه اصفهان. پست الکترونیکی am.nasr60@yahoo.com

۲ – اعضاء هیات علمی بخش میکروبیولوژی دانشگاه اصفهان

3- Preservative 4- Minimum Inhibitory Concentration

5- Minimum Bactericidal Concentration 6- Synergism

باکتری‌ها و مخمرها و قارچ‌ها جلوگیری می‌کنند، نگهدارنده‌های شیمیایی و طبیعی می‌باشند. از جمله مواد نگهدارنده شیمیایی می‌توان اسیدهای آلی ضعیف را نام برد(۱۰و۱۱و۱۷). اسیدهای آلی به منظور اسیدی کردن و یا جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌ها یا به طور مستقیم به برخی ازغذاها اضافه می‌شوند و یا با عمل بعضی از ارگانیسم ها مثل لاکتوباسیل‌ها یا باکتری‌های اسید پروپیونیک تولید می‌شوند.

مواد نگهدارنده طبیعی از میکروب، گیاه و حیوان منشأ می‌گیرند. دسته‌ای از پپتیدهای ضدمیکروبی که توسط باکتری‌ها تولید می‌شوند باکتریوسین‌ها هستند مثل نیسین[۱]، پدیوسین[۲] و کلی‌سین[۳] که دارای فعالیت باکتری‌کشی می باشند و به عنوان نگهدارنده در غذاها استفاده می‌شوند. در سال ۱۹۶۹ سازمان غذا و دارو (FDA) و سازمان سلامت جهانی (WHO) هر دو، استفاده از نیسین را به عنوان ماده نگهدارنده غذایی به جای مواد شیمیایی مجاز دانستند و بر آن تأکید کردند. امروزه نیسین به عنوان یک ماده نگهدارنده در بیش از ۵۰ کشور در سراسر دنیا در فراورده‌های متنوعی مثل شیر، پنیر، دسرهای لبنی، غذاهای کنسروشده، گوشت نمک زده، نوشیدنی‌های الکلی و ... استفاده می‌شود(۹).

باکتریوسین‌های باکتری‌های اسید لاکتیک رشد باکتری‌های پاتوژن و مولد فساد را مهار می‌کنند اما طیف کم فعالیت آنها و عدم مهار باکتری‌های گرم منفی و مخمرها و نیز ایجاد جمعیت‌های مقاوم در بین ارگانیسم‌های حساس استفاده از آنها را محدود می‌کند. در نتیجه جهت بهبود فعالیت آنها استراتژی‌های مختلفی پیشنهاد شده است. از جمله می‌توان به استفاده از مواد مهارکننده[۴]، تولید پروتئین مهندسی شده برای افزایش حلالیت و پایداری و استفاده از ترکیب مواد نگهدارنده مختلف اشاره کرد(۱۵). علاوه بر این گاهی محافظت مؤثر به خصوص در یک فرمولاسیون پیچیده امکان‌پذیر نیست. لذا اغلب یک ماده نمی‌تواند یک فراورده را به اندازه کافی محافظت نماید. بنابراین لازم است که سیستم محافظی ایجاد شود که مناسب باشد و بر محدودیت‌هایی که هر یک از مواد نگهدارنده دارند غلبه کند. با استفاده از مخلوط مواد نگهدارنده در صورت انتخاب صحیح هر یک از اجزاء بر اساس آگاهی از عمل و رفتار مواد نگهدارنده، می توان به فواید عملی قابل ملاحظه‌ای رسید از جمله:

۱. طیف وسیعی از فعالیت؛

۲. استفاده ازغلظت‌های کمتر هر یک از اجزای مواد نگهدارنده و در نتیجه کاهش احتمال توکسیسیته؛

۳. جلوگیری از بروز مقاومت میکروبی نسبت به هر ماده نگهدارنده؛

۴. افزایش احتمالی فعالیت ضد میکروبی درمجموع ، بیش از آن میزانی که از جمع کردن ساده آنها حاصل می‌شود(۱).

وقتی مخلوط چند ماده نگهدارنده همزمان بر روی جمعیت میکروبی یکنواختی عمل می‌کنند، ممکن است در مقایسه با مجموع اثرات آنها، منجر به پاسخ ضد میکروبی افزایش یافته یا بدون تغییر شوند. مواد شیمیایی که از یک گروه می‌باشند و دارای مکانیسم عمل یکسان هستند. احتمالا فقط اثر جمع شوندگی دارند، در حالی که آنها که مکانیسم عمل متفاوت دارند یا محل اثر آنها متفاوت است ممکن است هر یک اثر دیگری را تقویت کند (اثرتشدیدکنندگی) یا کاهش دهد (اثر ممانعت‌کنندگی).

1. Nisin
2. Pediocin
3. Colicin
4. Chelating agents

می‌کند و غلظت مواد افزودنی و تیمار های حرارتی را کاهش داده و کیفیت محصول و سلامتی آن را حفظ می نماید(۱۸).

باسیلوس سرئوس باکتری میله‌ای گرم مثبت کوتاه، اسپورزا و هوازی است اما به صورت بی‌هوازی هم می‌تواند رشد کند. باسیلوس سرئوس با سنتز دو نوع سم، یکی عامل تهوع و دیگری عامل اسهال موجب بیماری و مسمومیت غذایی می‌شود. بیماری‌های دیگری که توسط باسیلوس سرئوس ایجاد می گردد ماستسیت گاوی، مننژیت، آندوکاردیت، عفونت خونی وعفونت‌های چشمی هستند(۳و۴). بنابراین این باکتری جهت بررسی انتخاب گردید.

مواد و روش‌ها

الف- مواد مورد استفاده: پنیر پیتزای شیرآوران، محلول رینگر، سرم فیزیولوژی، نیسین از شرکت زیگما آلدریچ انگلیس، اسید سیتریک، اسید سوربیک، اسید استیک، اسید پروپیونیک، اسید بنزوئیک، سوربات پتاسیم، سیترات سدیم و بنزوات سدیم از شرکت مرک آلمان، محیط کشت تریپتون سوی برات(TSB) از شرکت بیومریوکس فرانسه، محیط کشت‌های نوترینت آگار و مولرهینتون‌آگار[1] از شرکت مرک آلمان و باکتری باسیلوس سرئوس PTCC1015 از کلکسیون میکروبی ایران تهیه شدند.

ب- وسایل مورد استفاده: پلیت میکروتیتر ۹۶ خانه‌ای، دستگاه خواننده الایزا مدل Statfax 2100 ، دستگاه فیلتراسیون، فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری، انکوباتور

ج- روش کار: برای جداسازی باکتری‌های مقاوم به مواد نگهدارنده، مواد لبنی که در ترکیب آنها مواد نگهدارنده به کار رفته بود به صورت بسته‌بندی به آزمایشگاه منتقل شدند و ۱۰ گرم از هر یک از نمونه‌ها با ۹۰ میلی‌لیتر محلول رینگر به طور کامل مخلوط گردید و از آنها سری رقت (تا رقت 10^{-4}) تهیه شد. از رقت‌های مختلف از هر یک از نمونه‌ها یک میلی‌لیتر بر روی پلیت‌های نوترینت آگار ریخته و به آرامی با میله شیشه‌ای سرکج در سطح پلیت پخش شد. این کار برای هر نمونه ۲ بار تکرار گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور $37^{o}C$ قرار گرفتند. پس از خالص‌سازی آزمایش های بیوشیمیایی زیر جهت شناسایی باکتری‌های جداسازی شده انجام پذیرفت: رنگ آمیزی گرم، بررسی وجود اسپور، کاتالاز، اکسیداز، حرکت، لسیتیناز، اندول، سیترات، احیای نیترات، رشد بی‌هوازی، رشد در ۱۰ درصد نمک، رشد در ۷ درصد نمک، تست وژپرسکوئر، رشد در pH=۵/۷، رشد در $30^{o}C$ و تخمیر هیدرات های کربن (گلوکز، آرابینوز، گزیلوز، مانیتول، ترهالوز، ساکاروز، سلوبیوز، رافینوز، گالاکتوز) سپس باکتری باسیلوس سرئوس شناسایی شده به علت داشتن قدرت بیماری زایی آن انتخاب و جهت بررسی حساسیت آن نسبت به مواد نگهدارنده مختلف مورد بررسی قرار گرفت(۲و۷).

جهت تهیه محلول ذخیره مواد نگهدارنده مختلف به این صورت عمل شد: مقدار ۱۰۰ میلی گرم از نیسین (نیزاپلین ۲/۵ درصد) در ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۰/۰۲ نرمال حل شد تا غلظت آن به 10^{4} IU/ml برسد ، سپس با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری استریل شد و در دمای $-20^{o}C$ فریز شد(۶). جهت تهیه محلول ۱۰ درصد اسیدهای آلی ۱۰ گرم از پودر آنها در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. سپس با استفاده از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری استریل شده و در دمای $4^{o}C$ نگهداری شد. جهت تهیه رقت‌های مختلف از آب مقطر استریل استفاده شد.

1. Mueller-Hinton Agar

بررسی اثر ضد میکروبی مواد نگهدارنده مختلف به روش چاهک پلیت

به منظور بررسی اثر ضد میکروبی مواد نگهدارنده بر باسیلوس سرئوس جدا شده و مقایسه آن با باکتری باسیلوس سرئوس PTCC1015 از روش چاهک پلیت استفاده شد. به این ترتیب که محیط کشت مولرهینتون‌آگار آماده شده در پلیت به وسیله باکتری که کدورت آن به میزان کدورت نیم مک فارلند ($1/5\times10^8$CFU/ml) است به وسیله سواپ استریل به صورت چمنی کشت داده شد. آنگاه در آن چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد شد. سپس یک قطره از محیط کشت مولرهینتون‌آگار مذاب که در دمای ۵۰°C است به درون چاهک ریخته تا ته آن ببندد. آنگاه از ماده نگهدارنده استریل به میزان ۱۰۰ میکرولیتر در چاهک ریخته شد و از آب مقطر استریل به عنوان شاهد منفی استفاده شد. پلیت‌ها یک ساعت در دمای ۴°C قرار داده شد تا مواد موجود در چاهک جذب آگار شود. سپس در دمای ۳۷°C به مدت ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری شد و قطر هاله‌های عدم رشد جهت تعیین حساسیت یا مقاومت باکتری به ماده مورد نظر تعیین شد(۵).

تعیین MIC و MBC به روش رقت لوله‌ای

میزان MIC و MBC مواد نگهدارنده مختلف بر روی باکتری باسیلوس سرئوس جدا شده تعیین و با باسیلوس سرئوس PTCC1015 مقایسه شد. برای این کار از روش رقت لوله‌ای به تعداد ۱۰ لوله آزمایش استفاده گردید. یک میلی‌لیتر از ماده نگهدارنده استریل در لوله شماره یک و یک میلی‌لیتر در لوله شماره دو ریخته شد. سپس از محیط کشت TSB استریل به میزان یک میلی‌لیتر در لوله‌های شماره ۲ تا ۱۰ اضافه شد. جهت تهیه سری رقت محتویات لوله ۲ خوب مخلوط شده و یک میلی‌لیتر از آن به لوله شماره ۳ اضافه شد. سپس از لوله ۳ به لوله ۴ و به همین ترتیب تا لوله شماره ۹ ادامه داده شد. به این صورت که از لوله ۹ یک میلی‌لیتر برداشته و دور ریخته شد. از مایه میکروبی که حاوی $1/5\times10^6$CFU/ml است به هر لوله یک میلی لیتر اضافه شد. حجم نهایی هر لوله ۲ میلی‌لیتر است. لوله ۱۰ به عنوان کنترل مثبت است و حاوی ۱ میلی‌لیتر محیط کشت و ۱ میلی‌لیتر باکتری است. لوله ۱ به عنوان کنترل منفی است و حاوی ۱ میلی‌لیتر ماده ضد میکروبی و ۱ میلی‌لیتر باکتری می‌باشد. لوله‌ها به مدت ۱۶ تا ۲۰ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شد. سپس لوله ها از نظر وجود کدورت بررسی گردید. حداقل غلظتی که در آن غلظت ماده نگهدارنده رشد باکتری را مهار کرده است و لوله شفاف دیده می‌شود مشخص کننده میزان MIC آن ماده است(۴).

تعیین FIC[1] با استفاده از میکروپلیت

برای تعیین نوع برهم‌کنش دو ماده نگهدارنده بر هم میزان غلظت خاص مهاری (FIC) که نشان دهنده کسری از غلظت ماده مهارکننده در حالت ترکیب نسبت به وقتی که به تنهایی استفاده شود، می‌باشد(۱۵)، بر روی باکتری باسیلوس سرئوس جدا شده از مواد غذایی به این ترتیب عمل شد که با استفاده از پلیت میکروتیتر ۹۶ چاهکی غلظت‌های مختلف دو ماده نگهدارنده در مجاورت باکتری قرار داده شدند و رشد باکتری در آن بررسی گردید. به این ترتیب که در یک ردیف ۱۲تایی در چاهک شماره ۱ تا ۱۰ از سری رقت ماده A به میزان ۵۰ میکرولیتر ریخته شد. از ماده B به میزان ۵۰ میکرولیتر با غلظت نصف MIC باکتری مورد نظر به همه چاهک‌ها اضافه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از باکتری مورد نظر (10^3CFU/ml) که در محیط

1. FIC: Fractional Inhibitory Concentration

کشت استریل TSB رشد کرده و با سرم فیزیولوژی استریل رقیق شده‌اند به همه چاهک‌ها اضافه شد. چاهک شماره ۱۱ کنترل مثبت است که در آن ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت استریل TSB و ۱۰۰ میکرولیتر باکتری ریخته شد. چاهک شماره ۱۲ کنترل منفی می‌باشد که در آن ۱۰۰ میکرولیتر محیط کشت، ۵۰ میکرولیتر ماده A و ۵۰ میکرولیتر ماده B ریخته شد(۱۵). میکروپلیت‌ها ۱۶-۲۴ ساعت در دمای ۳۷°C گرمخانه‌گذاری شدند. آنگاه جذب نوری چاهک‌ها در طول موج ۶۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه خواننده الایزا مطابق شکل شماره ۱، خوانده و رشد یا عدم رشد در آنها بررسی گردید. پس از خواندن نتایج در دستگاه خواننده الایزا و تعیین میانگین اعداد حاصل در تکرار چاهک‌ها و مقایسه جذب نوری خوانده شده، چاهک‌هایی که در مقایسه با کنترل منفی و مثبت رشدی نشان نمی‌دادند مشخص شد. با توجه به این که ازچاهک شماره ۱ به طرف چاهک شماره ۱۰، غلظت مواد نگهدارنده در هر چاهک نصف چاهک قبلی بود حداقل غلظت مهارکنندگی مواد نگهدارنده نسبت به یکدیگر تعیین گردید. برای تعیین FIC ابتدا میزان $MIC_{(A+B)}$ با اضافه کردن باکتری به سری رقت ماده A به اضافه ماده B با غلظت ثابت (MIC $\frac{}{2}$) در همه چاهک‌ها تعیین شد و سپس میزان $MIC_{(B+A)}$ با اضافه کردن باکتری به سری رقت ماده B به اضافه ماده A با غلظت ثابت (MIC $\frac{}{2}$)تعیین شد و در نهایت با استفاده از فرمول زیر میزان FIC تعیین شد(۱۵).

$$FIC = FIC_A + FIC_B = \frac{MIC_{(A+B)}}{MIC_A} + \frac{MIC_{(B+A)}}{MIC_B}$$

در این فرمول $MIC_{(A+B)}$ حداقل غلظت مهارکنندگی A درحضور B است و $MIC_{(B+A)}$ حداقل غلظت مهارکنندگی B در حضور A است و MIC_A و MIC_B حداقل غلظت مهارکنندگی A و B به تنهایی است. در حقیقت FIC نشان دهنده کسری از غلظت مهارکننده ماده در حالت ترکیب نسبت به وقتی که به تنهایی استفاده شود، می‌باشد. اگر میزان FIC مساوی یا کمتر از ۰/۷۵ باشد دو ماده نگهدارنده بر هم اثر تشدیدکننده دارند. اگر FIC برابر با یک باشد آن دو اثر هم را افزایش می‌دهند. ولی اگر FIC بین ۱ و ۲ باشد، این دو ماده هیچ اثری بر هم ندارند و اگر FIC مساوی یا بزرگ‌تر از ۲ باشد دو ماده بر هم اثر ممانعتی دارند(۱۵).

شکل ۱- دستگاه خواننده الایزا و میکروپلیت در آن جهت تعیین FIC

آنالیز آماری

جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین باکتری ها از نظر حساسیت یا مقاومت از نرم‌افزار

SPSS 13، آزمون Paired-Samples T Test با احتمال خطای ۰/۰۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

از آنجا که در ترکیب پنیر استفاده شده جهت جداسازی، سیترات سدیم به کار رفته بود، این سؤال پیش می‌آید که آیا باکتری جدا شده نسبت به سیترات سدیم مقاومت پیدا کرده است که توانسته در حضور آن زنده بماند و یا سیترات سدیم در غلظت استفاده شده در پنیر کارآیی لازم را نداشته است. برای پاسخ به این پرسش اثر مواد نگهدارنده مختلف که در نگهداری مواد لبنی حائز اهمیت هستند در غلظت‌های مجاز بر روی باکتری باسیلوس سرئوس جدا شده بررسی و با باکتری استاندارد مقایسه شد. طبق نتایج حاصل که در شکل شماره ۲، آمده است باکتری باسیلوس سرئوس جدا شده نسبت به غلظت مجاز بنزوات سدیم (۰/۲ درصد)، اسید سوربیک (۰/۳ درصد)، سیترات سدیم (۱ درصد)، سوربات پتاسیم (۰/۳ درصد) و اسید استیک (۰/۱ درصد) مقاوم بود. این نتایج با نتایج Warth در سال ۱۹۸۸ مشابه است که Davidson در مقاله خود به آن اشاره نموده است(۱۱). او علت مقاومت ذاتی بعضی میکروارگانیسم‌ها از جمله باسیلوس را به بنزوات، متابولیزه کردن آن ذکر کرده است. اسید بنزوئیک از طریق مسیر بتاکتوآدیپات تجزیه شده و به اسید سوکسینیک و استیل کوآنزیم A تبدیل می‌شود. مقاومت ذاتی برخی از باکتری‌ها به سوربات نیز ذکر شده است(۱۱). با مقایسه باسیلوس سرئوس جدا شده با باسیلوس سرئوس PTCC1015 در جدول شماره ۱ و ۲ با احتمال خطای ۰/۰۵ درصد، تفاوتی که از نظر مقاومت بین دو سویه وجود دارد، معنی‌دار نیست. MIC اسید های آلی برای باسیلوس سرئوس در مورد همه مواد نگهدارنده مورد بررسی به جز اسید بنزوئیک و سوربات پتاسیم در دامنه مجاز این ماده در غذا بود. یعنی با استفاده از غلظت‌های مجاز این مواد می‌توان باکتری باسیلوس سرئوس را مهار نمود. مقایسه MIC اسید سیتریک، اسید بنزوئیک و اسیداستیک با نتایج Hsiao و Siebert در سال ۱۹۹۹ بر روی باسیلوس سرئوس با احتمال خطای ۰/۰۵ درصد نشان داد که سویه باسیلوس سرئوس جدا شده نسبت به اسید سیتریک، اسید بنزوئیک و اسید استیک مشابه سویه مورد بررسی توسط Hsiao و Siebert می‌باشد(۱۳). همچنین مقاومت سویه جدا شده در این پژوهش نسبت به اسید بنزوئیک و اسید سوربیک نیز با احتمال خطای ۰/۰۵ درصد مشابه سویه مورد بررسی توسط Banerjee و Sarkar در سال ۲۰۰۴ می‌باشد(۶). طبق نتایج حاصل می‌توان مواد نگهدارنده به کار رفته برای مهار باکتری باسیلوس سرئوس مورد بررسی را به ترتیب کاهش قدرت عمل محافظت در شرایط آزمایش مرتب کرد: نیسین با غلظت µg/ml ۱۲/۵، اسیدبنزوئیک با غلظت ۰/۰۵ درصد، اسید پروپیونیک با غلظت ۰/۳ درصد، اسید سیتریک با غلظت ۰/۷۵ درصد، اسید سوربیک با غلظت ۱ درصد، سوربات پتاسیم با غلظت ۲/۵ درصد، بنزوات سدیم با غلظت ۳/۵ درصد، اسید استیک با غلظت ۰/۰۶۲۵ درصد و سیترات سدیم با غلظت ۷ درصد. به علت وجود مقاومت باکتری‌ها نسبت به مواد نگهدارنده مختلف و محدودیت غلظت مجاز این مواد در غذاها ترکیب تیمارها ابزار مناسبی برای کنترل پاتوژن‌های غذایی در محصولات لبنی است(۲۱). همراه کردن نیسین با سایر روش‌های معمول نگهداری غذا فرکانس مقاومت را کاهش می‌دهد. مزیت عمده ترکیب فرایندها غیر فعال کردن میکروارگانیسم‌ها در غذا بدون نیاز به حرارت و بدون تخریب بافت و مزه غذا است. استفاده از ترکیب روش‌های محافظتی توسط Schillinger و همکاران (۱۹۹۸) و Vanschaik و همکاران (۱۹۹۹) پیشنهاد شد (۱۹ و ۲۰). در این تحقیق اکثر مواد نگهدارنده به

کار رفته برای مهار باسیلوس سرئوس نسبت به هم اثر تشدیدکنندگی نشان دادند. به این معنی که اثر ترکیب این مواد از آنچه از جمع ساده آنها به دست می‌آید بیشتر می‌باشد. نتایج مربوط به بررسی بر همکنش مواد نگهدارنده بر باکتری‌ها در جدول شماره **۳**، نشـــــــــــــــــــــــــــــــــــــــان داده شده است. از آنجا که کاهش pH محیط اثر ضد میکروبی اسیدهای آلی ضعیف را افزایش می دهد وجود اثر تشدیدی بین اسیدهای آلی دور از انتظار نیست(۱۶).