Archive of SID
DOI: 10.22059/ijbse.2018.265474.665095 مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸ (ص ۳۵۵-۳۶۵)

Optimization of Formulation and Evaluation of Iranian Yoghurt Drink (Doogh) Properties Fortified with *Ziziphora L. clinopodiodes* Essential Oil Microcapsules

MAHMOUD HOSSEINNIA[1], HADI ALMASI[*2], MOHAMMAD ALIZADEH KHALEDABAD[3]

1. PhD student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia.
2. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia.
3. Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia.
(Received: Sep. 12, 2018- Revised: Nov. 13, 2018- Accepted: Dec. 8, 2018)

ABSTRACT

The aim of this study was to compare the effect of *Ziziphora L. clinopodiodes* essential oil (ZEO) using whey protein isolate (WPI) and pectin microencapsulated on the physicochemical properties of Doogh. At the first step, the microcapsule concentration effect (0-0.03%) and storage time (1-21 days) on the properties of Doogh was evaluated, using the response surface methodology. pH increased and acidity decreased by increasing storage time but the effect of microcapsule concentration was not significant. The rate of serum phase separation in samples fortified with pectin microcapsules was lower than WPI. Antioxidant activity of Doogh samples containing pectin microcapsules was lower than WPI. At the second step, the optimized concentration of microcapsules (0.004 and 0.007% for WPI and pectin microcapsules, respectively) were added to Doogh samples and their sensorial and physical characteristics were compared. Sensorial scores of control sample were higher than WPI-ZEO and pectin-ZEO added sample. Particle size distribution and mean diameter of Doogh particles increased after addition of microcapsules but they had no significant effect on Zeta potential values.

Keywords: Doogh, *Ziziphora* essential oil, Microcapsule, Optimization, Particle size

* Corresponding author's Email: h.almasi@urmia.ac.ir
www.SID.ir

Archive of SID

بهینه سازی فرمولاسیون و ارزیابی خواص دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های حاوی اسانس کاکوتی (*Ziziphora clinopodiodes*)

محمود حسین نیا[۱]، هادی الماسی[۲*]، محمد علیزاده خالدآباد[۳]

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲. دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۳. استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

(تاریخ دریافت: ۲۱/ ۶/ ۱۳۹۷- تاریخ بازنگری: ۲۲/ ۸/ ۱۳۹۷- تاریخ تصویب: ۱۷/ ۹/ ۱۳۹۷)

چکیده

هدف از این پژوهش، مقایسه تأثیر اسانس کاکوتی ریزپوشانی شده به وسیله ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین بر روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی دوغ می‌باشد. در مرحله اول، با استفاده از روش سطح پاسخ، تاثیر غلظت ریزپوشینه (۰ - ۰/۰۳ ٪) و زمان ذخیره سازی (۱-۲۱ روز) بر روی خواص دوغ مورد ارزیابی قرار گرفت. با افزایش زمان ذخیره سازی، pH افزایش و اسیدیته کاهش یافت اما غلظت ریزپوشینه تاثیر معنی داری نداشت. نرخ دو فازه شدن در نمونه‌های غنی شده با ریزپوشینه‌های پکتین پایین تر از ایزوله پروتئین آب پنیر بود. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های حاوی ریزپوشینه‌های پکتین پایین تر از ایزوله پروتئین آب پنیر به دست آمد. در مرحله دوم، غلظت بهینه سازی شده ریزپوشینه‌ها (۰/۰۰۴ ٪ و ۰/۰۰۷ ٪ به ترتیب برای ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین) به نمونه های دوغ اضافه شدند و خصوصیات حسی و فیزیکی آنها مقایسه شد. امتیاز حسی نمونه شاهد از نمونه‌های اسانس- ایزوله پروتئین آب پنیر و اسانس- پکتین بیشتر شد. ریزپوشینه‌ها، توزیع اندازه و میانگین اندازه ذرات دوغ را افزایش دادند اما تاثیر معنی داری بر روی پتانسیل زتا نداشتند.

واژه‌های کلیدی: دوغ، اسانس کاکوتی، ریزپوشینه، بهینه سازی، اندازه ذرات

مقدمه

دوغ رایجترین محصول لبنی بومی در میان نوشیدنی‌های تخمیری در ایران و سایر کشورهای آسیا است. دوغ از مخلوط آب، نمک، ماست هم زده و بعضی عصاره‌های گیاهی تهیه می‌شود (Kiani *et al*., 2008). با توجه به تاثیر pH پایین و حضور نمک، دو فازه شدن عمده‌ترین مشکل فیزیکی دوغ است که منجر به توده شدن کازئین‌ها می شود (Azarikia, & Abbasi, 2010). مشکل دیگر محصولات لبنی، آلودگی میکروبی است. تحقیقات متعددی بر روی پاتوژن‌های انتقال یافته با دوغ انجام شده است که نشان می دهند *E. coli* O157:H7، *Salmonella typhimurium* و *Staphylococcus aureuse* رایجترین پاتوژن‌های باکتریایی هستند که در دوغ رشد می‌کنند (Teymori *et al*., 2014). هیدرو کلوئیدها مواد افزودنی رایجی هستند که به منظور جلوگیری از دو فازه شدن مورد استفاده قرار می‌گیرند (Tromp *et al*., 2004). طیف گسترده‌ای از مواد نگهدارنده طبیعی یا سنتزی به منظور جلوگیری از آلودگی میکروبی استفاده شده‌اند. بیشتر ترکیبات فنلی استخراج شده از قسمت‌های مختلف گیاهان به عنوان مواد ایمن طبقه بندی می‌شوند (Bakkali *et al*., 2008). استفاده از اسانس‌ها در فرمولاسیون دوغ مورد توجه محققان بوده است و گیاهانی مانند نعناع، پونه کوهی و آویشن به منظور طعم دهی مطلوب اضافه شده‌اند. گزارش‌هایی درباره استفاده از اسانس‌های مختلف همچون اسانس آویشن، پونه کوهی و اکالیپتوس در دوغ وجود دارد (Ziaolhagh, & Jalili, 2017; Shahdadi *et al*., 2015).

یکی از رایجترین گیاهان دارویی مورد استفاده در دوغ، کاکوتی است. کاکوتی با نام علمی *Ziziphora clinopodiodes* متعلق به خانواده *Lamiaceae* می‌باشد که رایج‌ترین گونه‌های گزارش شده در ایران از جنس *Ziziphora L.* هستند. ترکیبات فنولی اصلی اسانس *Z. clinopodiodes* عبارتند از: پولگون، ۱و۸- سینئول ، تیمول، کارواکرول، p- سیمن و لیمونن (Sonboli *et al*., 2010). خواص کاربردی اسانس *Z. clinopodiodes* شامل فعالیت های آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی، ضد قارچی و ضد ویروسی می‌باشد که در تحقیقات پیشین شناخته شده‌اند

* نویسنده مسئول: h.almasi@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

(Shahbazi, 2015a; Shahbazi, & Shavisi, 2016). اسانس کاکوتی در بعضی مواد غذایی مانند محصولات لبنی به خصوص ماست و محصولات گوشتی مورد استفاده قرار گرفته است (Khodaparast *et al*, 2007; Sarabi-Jamab, & Niazmand, 2009; Shahbazi, 2015b; Sharifan & Beikmohammadi, 2014; Kakaei & Shahbazi, 2016)

در کنار مزایای اسانس‌ها، محدودیت‌های آنها، کاربردشان را در محدوده وسیعی از محصولات غذایی و در غلظت‌های بالاتر محدود ساخته است. اختلاط ضعیف و دو فازه شدن در طی نگهداری غذاهای مایع و نوشیدنی‌هایی مانند دوغ و تجزیه حرارتی یا شیمیایی ترکیبات زیست فعال و از بین رفتن آنها از جمله نقایص اصلی افزودن اسانس‌ها به مواد غذایی می‌باشد (Donsi *et al*., 2011). امروزه رایج‌ترین روش که به منظور حفاظت از ترکیبات زیست فعال در برابر نور، رطوبت، حرارت، اکسیژن و غیره استفاده می شود، درون پوشانی[1] نام دارد. میکرو یا نانو انکپسولاسیون روشی است که مواد زیست فعال را در مقیاس میکرو یا نانو با هدف افزایش ثبات در برابر شرایط سخت پایدار می‌کند (Ghorbnzadeh *et al*., 2017). تحقیقات متعددی درباره درون پوشانی اسانس‌ها به وسیله روش‌های مختلف موجود است (Nedovic *et al*., 2011). با این حال، به جز تحقیق انجام شده توسط Hosseinnia *et al*.,(2017)، هیچ گزارشی در مورد درون پوشانی اسانس کاکوتی وجود ندارد. در تحقیق اشاره شده، ریزپوشینه‌های[2] اسانس کاکوتی به وسیله روش اولتراسونیکاسیون و با استفاده از پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر به عنوان مواد پوششی تهیه شد. تاثیر توان اولتراسوند و نسبت هسته به ماده دیواره بر روی راندمان درون پوشانی و بعضی خواص فیزیکی ریزپوشینه‌ها با استفاده از روش سطح پاسخ مورد ارزیابی قرار گرفت و حالت بهینه این متغیرها برای تهیه ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی به وسیله دو ماده دیواره با کمینه کردن اندازه ذرات و بیشینه کردن راندمان درون پوشانی تعیین شد. میانگین اندازه ذرات ریزپوشینه‌ها به ترتیب برای ریزپوشینه‌های پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین ۱۷۲/۹۴ nm و ۸۵۶/۱۶nm به دست آمد. بررسی های مورفولوژیکی به وسیله SEM بر روی ریزپوشینه‌های بهینه سازی شده نشانگر ایجاد شکل کروی منظم بود. آنالیزهای FT-IR، تاثیر برهمکنش‌های الکترواستاتیک را در شکل گیری ریزپوشینه‌ها تایید کرد. همانطور که قبلا اشاره شد، هیدرو کلوئیدها به منظور بهبود خواص رئولوژیکی دوغ مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنابراین ریزپوشینه‌های پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین نه تنها بر روی خواص شیمیایی و کاربردی دوغ تاثیر می‌گذارند بلکه فرض بر این است که ممکن است خواص رئولوژیکی و دو فازه شدن آن را هم تحت تاثیر قرار دهند (Hosseinnia *et al*., 2017).

هدف از این پژوهش، استفاده از ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی برپایه پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر به عنوان افزودنی‌های طبیعی در دوغ و بررسی خواص رئولوژیکی، شیمیایی و حسی آن می‌باشد. ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی پایدار شده با پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر در غلظت‌های مختلف به دوغ اضافه شدند و خواص فیزیکوشیمیایی محصول، به وسیله روش سطح پاسخ در طی ۲۱ روز ذخیره سازی در یخچال مورد بررسی قرار گرفت. سپس، ویژگی‌های حسی و توزیع اندازه ذرات نمونه‌های دوغ غنی سازی شده با غلظت‌های بهینه از ریزپوشینه‌ها نیز ارزیابی شد.

مواد و روش ها

مواد

برگ‌های *Z. clinopodiodes* در اواخر خرداد ماه ۱۳۹۶ از دشت‌های استان آذربایجان غربی برداشت شد و در زیر سایه و محیط گرم خشک شد. ایزوله پروتئین آب پنیر (۸۵٪ پروتئین) از شرکت غذایی آرلا (دانمارک) خریداری شد. پکتین با گروه متوکسیل زیاد (با درجه استریفیکاسیون ۶۰٪) و سایر مواد از شرکت سیگما (آلمان) خریداری شد.

استخراج اسانس

برگ‌های خشک شده *Z. clinopodiodes* با آب نسبت ۱ به ۵ مخلوط شدند و به مدت ۴ ساعت در کلونجر حرارت داده شد تا اسانس خارج شود. راندمان استخراج ۲/۲ % به دست آمد. اسانس استخراج شده در ظروف شیشه‌ای کدر استریل در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد (Noori *et al*., 2018).

تهیه پودرهای اسانس کاکوتی درون پوشانی شده

فرآیند درون پوشانی اسانس کاکوتی با استفاده از روش اولتراسونیکاسیون انجام شد. سوسپانسیون‌های حاوی مواد دیواره (پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر) یک روز قبل از درون پوشانی تهیه شدند و به منظور اطمینان از اشباعیت کامل مولکول‌های بیوپلیمرها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند. سپس اسانس کاکوتی به آرامی درون سوسپانسیون بیوپلیمر به وسیله همزدن مکانیکی با سرعت ۵۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه در استوانه مدرج (IKA T25 digital Ultra-Turrax, Selangor,Malaysia) با سرعت بالا به منظور دستیابی به نسبت

1 . Encapsulation
2 . Microcapsules

www.SID.ir

Archive of SID

های هسته به ماده دیواره ۷۳/۴ ٪ و ۹۵ ٪ به ترتیب برای پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر اضافه شد. سپس هموژنایزر اولتراسونیک (UP200Ht, Hielscher, Germany) مجهز به پروب تیتانیوم با ضخامت ۱۴ میلی متر برای ریزپوشانی مورد استفاده قرار گرفت. هموژنیزاسیون اولتراسونیک به ترتیب برای پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر در توان‌های ۵۰W و ۱۵۰W انجام شد. فرآیند اولتراسونیکاسیون در دمای اتاق به مدت ۲ دقیقه انجام شد. بعد از درون پوشانی، نمونه‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد منجمد شده و سپس با استفاده از خشک کن انجمادی در دمای ۵۰- درجه سانتی گراد و فشار ۰/۰۰۷ اتمسفر به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و پودر ریزپوشینه‌ها تهیه شد (Hosseinnia *et al*., 2017). اندازه ذرات ریزپوشینه‌های تهیه شده با این روش برای ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین به ترتیب ۱۷۲/۹۴ nm و ۸۵۶/۱۶nm ثبت شد. کارآیی درون پوشانی برای ریزپوشینه‌های پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین به ترتیب ۷۴/۵۱ ٪ و ۸۱/۶۵٪ به دست آمد.

روش تهیه دوغ

آماده سازی نوشیدنی ماست ایرانی (دوغ) به وسیله روش Kiani *et al* (2008) با کمی اصلاحات انجام شد. ماست پرچرب معمولی و همزده (۳/۵ ٪ چربی کل، ۳/۵۲ ٪ پروتئین، ۰/۸ ٪ خاکستر و ۱۴/۳٪ ماده جامد کل) از مغازه محلی در ارومیه خریداری شد. سپس نمونه دوغ به وسیله مخلوط ماست و آب با نسبت ۱ به ۱ به مدت ۱۵ دقیقه تهیه شدند. در گام بعدی، نمک (۱ گرم/ ۱۰۰ میلی لیتر) به دوغ اضافه و به آرامی به مدت ۲ دقیقه مخلوط شد. سپس پودرهای ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی با ایزوله پروتئین آب پنیر یا پکتین به وسیله همزن مغناطیسی در غلظت‌های ۰- ۰/۰۳٪ در دوغ حل شدند. نمونه‌های تهیه شده تا زمان آزمون‌ها(در طی ۲۱ روز ذخیره سازی) در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

طراحی آزمایشات

روش سطح پاسخ به منظور ارزیابی تاثیر غلظت ریزپوشینه (X_1) و زمان (X_2) بر روی پاسخ های مختلف نمونه های دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی از جمله pH (Y_1)، اسیدیته (Y_2)، میزان دو فازه شدن (Y_3) و فعالیت آنتی اکسیدانی (Y_4) استفاده شد. طرح آزمایش برای یافتن رابطه خطی، برهمکنش و درجه دوم متغیر های مستقل بر روی پاسخ های مورد مطالعه استفاده شد. سطوح دو فاکتور (متغیرهای فرآیند) و طرح آزمایش در جدول ۱ آمده اند.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{n} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{n} \beta_{ii} x_{ii} + \sum_{i=1}^{n} \sum_{i>j}^{n} \beta_{ij} x_i x_j$$

جدول ۱. متغیر های مستقل و مقادیری که در روش سطح پاسخ برای طراحی آزمون استفاده شده اند.

نمونه	غلظت میکرو کپسول (٪) (X1)	زمان (روز) (X2)
۱	۰/۰۱۵	۱۱
۲	۰/۰۰۴	۱۸
۳	۰/۰۱۵	۱۱
۴	۰/۰۰۴	۴
۵	۰/۰۲۶	۱۸
۶	۰/۰۱۵	۱۱
۷	۰/۰۱۵	۲۱
۸	۰/۰۰۰	۱۱
۹	۰/۰۳۰	۱۱
۱۰	۰/۰۱۵	۱
۱۱	۰/۰۱۵	۱۱
۱۲	۰/۰۲۶	۴

آزمون خواص دوغ

pH و اسیدیته

مقادیر pH نمونه های دوغ به وسیله pH متر دیجیتال اندازه گیری شد. مقادیر اسیدیته نمونه ها نیز با روش تیتراسیون تعیین شد. برای این منظور، ۰/۵ میلی لیتر معرف فنل فتالئین به عنوان اندیکاتور به دوغ اضافه شد و سپس نمونه ها با استفاده از محلول ۰/۱ M سدیم هیدروکسید تیتر شدند (Ziaolhagh, & Jalali, 2017).

دو فازه شدن

نمونه های دوغ در استوانه مدرج ۵۰ میلی لیتری قرار داده شدند و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگه داری شدند. مقدار فاز ته نشین شده در فواصل زمانی تعیین شده قرائت شد (Kiani *et al*., 2008).

فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های دوغ به وسیله روش El-Said *et al* (2014) اندازه گیری شد. نمونه ها با سرعت ۴۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند و ۱۰۰µl محلول رویی با ۲/۹ml محلول DPPH (۲و۲- دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل) ۶۰µM در متانول مخلوط شد. مخلوط حاصل در محیط تاریک به مدت ۳۰ دقیقه نگه داری شد. در نهایت، جذب نمونه ها در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد ممانعت کنندگی رادیکال آزاد DPPH از این رابطه محاسبه شد:

درصد مهار کنندگی = ($1 - A_s / A_c$) * 100

www.SID.ir

Archive of SID

که A_c جذب نمونه کنترل و A_s جذب نمونه حاوی ریزپوشینه‌ها می باشد.

ارزیابی حسی

به منظور آزمایش حسی، ۲۰ پانلیست آموزش ندیده انتخاب شدند. ارزیابی حسی نمونه های دوغ به وسیله مقیاس هدونیک ۵ امتیازی انجام شد. تست هایی که انجام شدند عبارتند از: ارزیابی رنگ، مزه، بافت و پذیرش کلی.

آنالیز اندازه ذرات

میانگین اندازه ذرات (D_{43}) و شاخص چند پخشی (PDI)[1] نمونه‌های دوغ تهیه شده، با استفاده از روش Zhang *et al* (2012) تعیین شدند. دستگاه تفرق نور دینامیکی (DLS) مجهز به زتا سایزر استفاده شد. قبل از اندازه گیری ذرات، نمونه ها با آب مقطر با نسبت ۱ به ۱۰۰ رقیق شدند. آنالیز در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شد.

اندازه گیری پتانسیل زتا

هدف از این آزمایش، تعیین بار سطحی ذرات پراکنده در نمونه های دوغ می باشد. دستگاه زتا سایزر به منظور اندازه گیری پتانسیل زتای نمونه های دوغ استفاده شد. ابتدا هر نمونه با آب مقطر به مدت ۵۰ دقیقه رقیق شد و سپس نمونه ها درون سل دستگاه قرار داده شدند. پتانسیل زتا در ۲۵ درجه سانتی گراد به دست آمد.

آنالیز آماری نمونه های بهینه سازی شده

به منظور مقایسه میانگین نمونه های بهینه سازی شده با هم و با نمونه شاهد، طرح کاملا تصادفی با روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) در نرم افزار SPSS (Version 21, SPSS Inc, Chicago, IL) طراحی شد. آزمون چند دامنه ای دانکن ($P < ۰/۰۵$) برای تعیین اختلاف بین مقادیر میانگین استفاده شد. مقادیر نمونه‌های بهینه سازی شده به صورت میانگین ± انحراف استاندارد گزارش شدند.

نتایج و بحث

pH و اسیدیته

مقادیر pH تمامی نمونه‌ها در محدوده ۳/۷۵ و ۴ قرار داشت. نتایج نشان داد که pH با گذشت مدت زمان ذخیره سازی افزایش یافت اما غلظت ریزپوشینه‌ها در نمونه‌های غنی شده، تاثیر معنی داری بر روی pH نداشت. شکل ۱، مقادیر اسیدیته دوغ را به عنوان تابعی از زمان و غلظت ریزپوشینه‌ها نشان می‌دهد. زمانی که مقدار ریزپوشینه‌ها افزایش یافت یک افزایش جزئی در اسیدیته مشاهده شد اما این افزایش برای هر دو نوع ریزپوشینه معنی دار نبود. با این حال، با افزایش زمان ذخیره سازی، اسیدیته نمونه‌های دوغ کاهش یافت و این مسئله بیشتر زمانی مشاهده شد که از ریزپوشینه‌های پکتین در فرمولاسیون استفاده شد. کاهش pH و افزایش اسیدیته یعنی بر عکس مشاهدات ما، برای نمونه‌های ماست غنی شده با اسانس و عصاره‌های گیاهی گزارش شده است (Jung *et al*., 2016; El-said *et al*., 2014). با این حال، روند معکوس که در مقادیر این تحقیق به دست آمد را می‌توان به تاثیر ضدمیکروبی قوی اسانس کاکوتی بر روی فعالیت استارترهای ماست نسبت داد. Khodaparast *et al* (2007) گزارش کردند که اسانس کاکوتی در غلظت µgr/l ۴۰۰۰ قادر به کاهش قابل توجه در پایداری *Lactobacillus acidophilus* در طی ۱۹ روز زمان ذخیره سازی می‌باشد. بنابراین کاهش در فعالیت متابولیکی استارترهای ماست در حضور ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی منجر به کاهش در میزان تولید اسید لاکتیک شد. علاوه بر این، نتایج Ziaolhagh, & Jalili (2017) که دوغ گیاهی حاوی اسانس آویشن و صمغ زانتان تهیه کردند در راستای نتایج ما می باشد. آنها اظهار داشتند که اثر بافری صمغ زانتان از تغییرات قابل توجه در pH و اسیدیته جلوگیری می‌کند. این مسئله می‌تواند برای ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین که به عنوان مواد دیواره ریزپوشینه‌ها اضافه شده‌اند، فرض شود. ایزوله پروتئین آب پنیر به عنوان یک درشت مولکول پروتئینی اثر بافری بالایی دارد. با افزودن ریزپوشینه‌ها غلظت آن در دوغ بیشتر شده و به این علت، تاثیر کنترلی آن بر روی تغییرات pH و اسیدیته در طی مدت زمان ذخیره سازی بیشتر از پکتین است.

۲-۳- دو فازه شدن

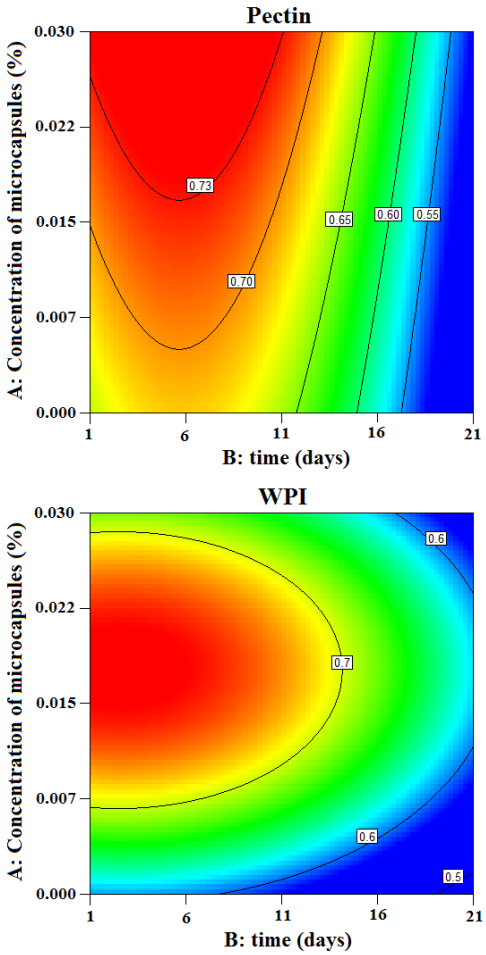
ته نشین نشدن یکی از خواص کیفی مطلوب محصولات نوشیدنی لبنی است و در حقیقت معضل اصلی دوغ در طی نگهداری همین ته نشینی می‌باشد. شکل ۲ تاثیر ریزپوشینه‌ها را بر روی دو فازه شدن نمونه‌های دوغ نشان می‌دهد. در مورد ریزپوشینه‌های پکتین، تاثیر غلظت ریزپوشینه‌ها معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین، برای نمونه‌های حاوی ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر اثر مدت زمان ذخیره سازی از غلظت ریزپوشینه‌ها بیشتر بوده است. به طور کلی، دو فازه شدن با گذشت زمان به میزان قابل توجهی افزایش می‌یابد. ماست دارای شبکه سه بعدی کازئین تولید شده در pH ایزوالکتریک در اثر فعالیت باکتری‌های اسید لاکتیک است. ساختار این ژل بعد از مخلوط شدن، رقیق سازی و هموژنیزاسیون از بین می رود (Janhoj *et al*., 2008). برهم‌کنش های جدید بین

1 . Polydispersity index

www.SID.ir

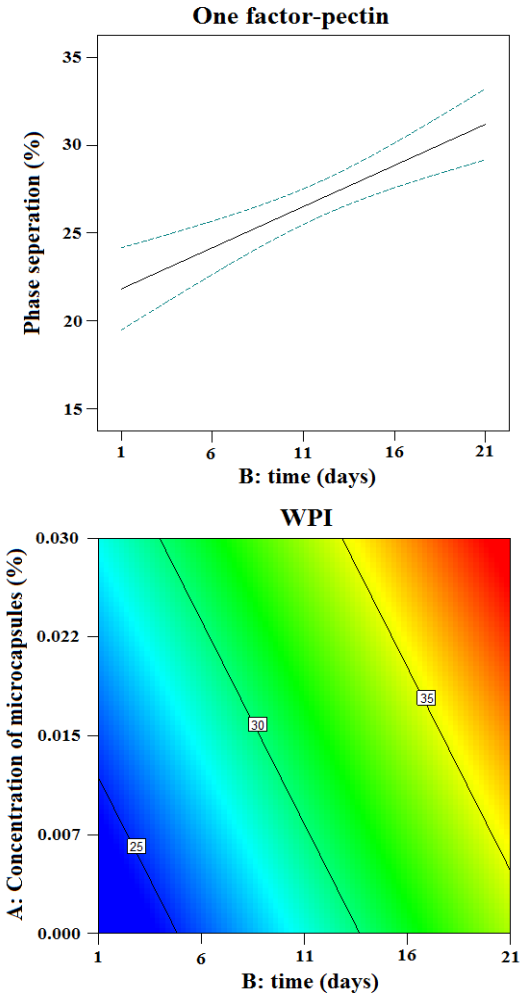
Archive of SID

پروتئین های شیر، مواد معدنی و گلبول‌های چربی منجر به تشکیل ذرات کلوئیدی می شود که موجبات تشکیل رسوب در دوغ را فراهم می‌سازند. این یک فرآیند وابسته به زمان است که با گذشت زمان ذخیره سازی، افزایش می‌یابد تا زمانی که همه ترکیبات رسوب کنند (Kiani *et al.*, 2008).



شکل ۱. کانتور پلات های تاثیر غلظت ریزپوشینه و زمان ذخیره سازی بر روی اسیدیته دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی

افزایش در نرخ دو فازه شدن در نمونه‌های غنی شده با ریزپوشینه‌های پکتین کمتر از ایزوله پروتئین آب پنیر بود. برای مثال، بعد از ۱۱ روز ذخیره سازی میزان دو فازه شدن در دوغ حاوی غلظت ۰/۰۳ ٪ ریزپوشینه‌های پکتین ۲۷/۱۱ ٪ به دست آمد در حالی که برای دوغ حاوی ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر در همان غلظت، ۳۳/۴ ٪ ثبت شد. این بدان معنی است که تاثیر پکتین در کنترل ته نشین سازی بیشتر از ایزوله پروتئین آب پنیر می باشد. در طی تولید محصولات اسیدی شیر، پروتئین های آب پنیر با توجه به شرایط پاستوریزاسیون به طور کامل دناتوره می‌شوند. آنها تجمع می‌کنند و ترکیبات پیچیده‌ای با کازئین به وجود می‌آورند و تاثیر قابل توجهی بر شکل گیری توده‌های رسوبی می‌گذارند (Kiani *et al.*, 2008). این مسئله احتمالا ریزپوشینه‌های پوشیده شده با ایزوله پروتئین آب پنیر رخ می دهد. در حقیقت، ساختار کنفورماسیونی و وزن خالص ریزپوشینه‌های پایدار شده با ایزوله پروتئین آب پنیر بعد از افزودن به نمونه‌های دوغ اسیدی تغییر یافته است. اما تاثیر تغییرات pH بر روی کنفورماسیون درشت مولکول‌های پکتین جزئی می‌باشد. همان طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، میزان دوفازه شدن با افزایش مقدار ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر افزایش یافت. با این حال، تاثیر ریزپوشینه‌های پکتین بر روی دوفازه شدن معنی‌دار نبود.



شکل ۲. تاثیر فاکتور زمان و کانتور پلات تاثیر غلظت ریزپوشینه و زمان ذخیره سازی بر روی دو فازه شدن دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی

Khosrokhavar, & Mortazavian (2010) ، دوغ تخمیر شده حاوی باکتری پروبیوتیک درون پوشانی شده به وسیله آلژینات کلسیم را تهیه کردند. طبق یافته های آنها، دو فازه شدن در نمونه حاوی باکتری درون پوشانی شده به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه حاوی پروبیوتیک های آزاد بوده است. آنها، افزایش چگالی نسبی ذرات فاز پراکنده شده را علت افزایش ته نشینی مطرح کردند. تحقیقات بیشتری لازم است تا معلوم شود که ایا

www.SID.ir

Archive of SID

برهم‌کنش‌های شیمیایی دیگر یا لخته سازی فیزیکی مکانیسم‌هایی هستند که دو فازه شدن را بعد از افزودن ریزپوشینه‌ها افزایش می‌دهند یا خیر.

فعالیت آنتی اکسیدانی

گزارش هایی از خاصیت ضد میکروبی اسانس کاکوتی به تنهایی (Sarabi-Jamab, & Niazmand, 2009) یا در فرمولاسیون مواد غذایی مختلف (Sharifan, & Beikmohammadi, 2014; Shahbazi, & Shavisi, 2016) موجود است. با این حال، با وجود این که اسانس کاکوتی، فعالیت آنتی اکسیدانی قوی دارد (Sonboli *et al*., 2010) ، هنوز تاثیر آن بر روی پایداری اکسیداتیو مواد غذایی به منظور تهیه غذای عملگرا مورد مطالعه قرار نگرفته است. ترکیبات فنولیک مانند تیمول، کارواکرول، p-سیمن، آلفا- پینن، لیمونن و ایزو- ئومنتال مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی قوی اسانس کاکوتی هستند (Shahbazi, 2015a). شکل ۳، تاثیر غلظت ریزپوشینه‌های پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر و زمان ذخیره سازی را بر روی فعالیت مهار کنندگی رادیکال آزاد DPPH در دوغ نشان می‌دهد. نتایج نشان داد که فعالیت مهار کنندگی DPPH نمونه‌های دوغ با افزایش زمان ذخیره سازی، افزایش یافت. تاثیر افزایشی زمان بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های غنی شده با ریزپوشینه‌های پکتین بیشتر از ایزوله پروتئین آب پنیر بود. به عبارت دیگر، فعالیت آنتی اکسیدانی با افزایش غلظت ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر افزایش یافت در حالی که غلظت ریزپوشینه‌های پکتین تأثیر معنی داری بر روی فعالیت مهار کنندگی DPPH نداشت. آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی که بر روی مایع رویی نمونه‌های دوغ سانتریفیوژ شده انجام شد، با توجه به تنش برشی اعمال شده در طی سانتریفیوژ، در واقع مقادیر فعالیت مهار کنندگی DPPH اسانس کاکوتی رهایش یافته از ریزپوشینه‌ها را نشان می دهد. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های حاوی ریزپوشینه‌های پکتین به طور معنی داری کمتر از نمونه‌های حاوی ایزوله پروتئین آب پنیر می‌باشد. برای مثال، در غلظت ۰/۰۳٪ ، مهار کنندگی DPPH نمونه‌های حاوی پکتین در ۲۱ روز، ۱۷/۷۶ ٪ به دست آمد در حالی که این مقدار زمانی که ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر استفاده شد، در زمان مشابه ۵۲/۵ ٪ به دست آمد. وزن مولکولی و کارآیی درون پوشانی بالای پکتین در مقایسه با ایزوله پروتئین آب پنیر منجر به تشکیل ریزپوشینه‌های پایدارتر بدون هیچ آسیب دیدگی در طی سانتریفیوژ شد. بنابراین درصد ریزپوشینه‌های تخریب شده و اسانس کاکوتی رهایش یافته، در مورد پکتین کاهش یافت. علاوه بر این، همانطور که در مورد نتایج دو فازه شدن بحث شد، ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر در pH پایین دوغ، تغییرات کنفورماسیونی را متحمل شد که احتمالاً منجر به کاهش کارآیی درون پوشانی و افزایش رهایش اسانس کاکوتی شده است. با توجه به این دلایل، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های دوغ حاوی ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر بیشتر از نمونه های حاوی ریزپوشینه‌های پکتین می‌باشد. در یک گزارش مشابه، Silva *et al* (2016) ایزوله پروتئین آب پنیر و نشاسته اصلاح شده را در درون پوشانی روغن دانه annatto به وسیله روش اولتراسونیکاسیون مقایسه کردند. آن ها بیان کردند که دناتوراسیون ایزوله پروتئین آب پنیر با توجه به پدیده کاویتاسیون صوتی در توان اولتراسوند بالاتر، منجر به کاهش کارآیی درون پوشانی و افزایش PDI ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر می‌شود. با توجه به مقاومت برشی ریزپوشینه‌های پکتین، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عنی سازی شده به وسیله پکتین وابسته به غلظت ریزپوشینه‌ها نبود. همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده است، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های حاوی پکتین به طور معنی داری با افزایش زمان ذخیره سازی افزایش یافت. این بدین معنی است که تجزیه ریزپوشینه‌های پکتین یک فرآیند وابسته به زمان است و تورم آنها در طی زمان ذخیره سازی منجر به انتشار اسانس کاکوتی درون پوشانی شده می‌شود و سپس، فعالیت مهار کنندگی DPPH با افزایش زمان ذخیره سازی افزایش خواهد یافت که تقریباً کل اسانس کاکوتی محصور شده در ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر در زمان ذخیره سازی اولیه رهایش یافته است.

بهینه سازی و مطلوبیت

روش تابع مطلوبیت به منظور بهینه سازی فرمولاسیون و زمان نگهداری استفاده شد. تابع مطلوبیت برای پاسخ های تکی به وسیله روش‌های عددی تخمین زده شد و تابع مطلوبیت کلی محاسبه گردید. نتایج به دست آمده از آنالیز آماری، غلظت ریزپوشینه‌ها و زمان ذخیره سازی را بهینه نمود. جدول ۲، مقادیر بهینه متغیرهای مستقل و مقادیر پیش بینی شده برای متغیرهای وابسته را در شرایط بهینه نشان می‌دهد. مقادیر بهینه برای غلظت ریزپوشینه‌ها و زمان ذخیره سازی به منظور ثبت بهترین مقادیر پیش بینی شده برای دو فازه شدن و فعالیت آنتی اکسیدانی به ترتیب برای ایزوله پروتئین آب پنیر ۰/۰۰۴٪، ۱۶ روز و برای پکتین ۰/۰۰۷٪، ۱۶ روز به دست آمد. مقادیر تابع مطلوبیت ناحیه پیش بینی شده برای ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین به ترتیب برابر با ۰/۷۳۵ و ۰/۵۹۷ شد. در گام دوم این تحقیق، خواص

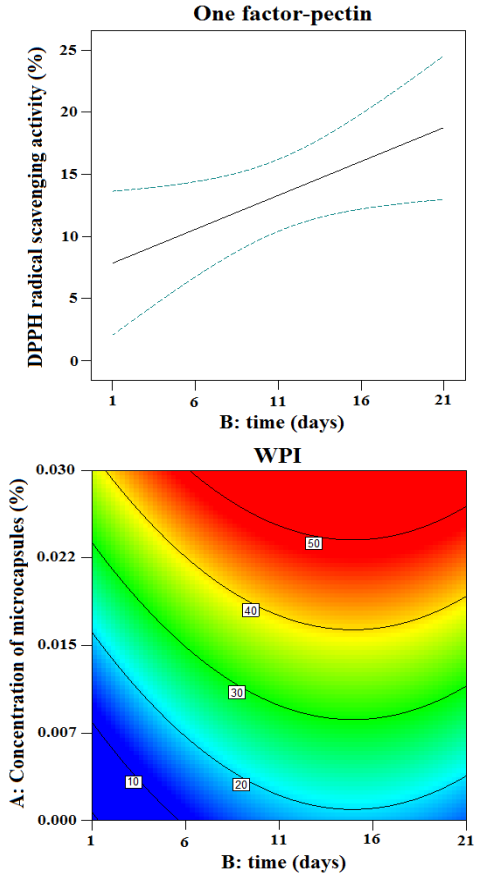
www.SID.ir

Archive of SID

حسی و توزیع اندازه ذرات سه نمونه دوغ شامل نمونه شاهد بدون هیچ اسانس کاکوتی افزوده شده و دو نمونه غنی شده با ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین طبق شرایط بهینه تهیه شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

ارزیابی حسی

خواص حسی نمونه‌های دوغ در جدول ۳ آمده است. در تمامی جنبه‌های حسی مورد مطالعه، نمونه شاهد بیشترین امتیاز را داشت. نتایج نشان می‌دهد که امتیازات حسی بعد از افزودن ریزپوشینه‌ها کاهش یافت و هیچ اختلاف معنی داری بین ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین وجود ندارد. طعم مشخص و رنگ زرد ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی، رنگ و رایحه قابل پذیرش دوغ را تغییر داد و بدین ترتیب، پذیرش کلی بعد از غنی سازی کاهش یافت. با این حال، با توجه به این که امتیاز ۳ به عنوان امتیاز قابل قبول در نظر گرفته شد، هر دو نمونه‌ی غنی شده امتیاز قابل قبولی داشتند. مطابق با نتایج ما، Khosrokhavar, & Mortazavian (2010) گزارش کردند که باکتری پروبیوتیک درون پوشانی شده با آلژینات کلسیم تاثیر معنی داری بر روی بافت و رنگ دوغ نداشته است اما امتیاز عطر و طعم بعد از ۲۱ روز ذخیره سازی کاهش یافت. با این حال، Ziaolhagh, & Jalili (2017) اظهار کردند که افزودن اسانس آویشن و صمغ گزانتان منجر به ایجاد یک عطر و طعم دلپذیر و بهبود بافت دوغ می شود.



شکل ۳. تاثیر فاکتور زمان و کانتور پلات تاثیر غلظت ریزپوشینه و زمان ذخیره سازی بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی

جدول ۲. بهینه سازی شرایط تهیه دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی با ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین

نام فاکتور	هدف	مقدار بهینه سازی شده		مطلوبیت (٪)	
		ایزوله پروتئین آب پنیر	پکتین	ایزوله پروتئین آب پنیر	پکتین
A: غلظت میکرو کپسول (٪)	در محدوده	۰/۰۰۴	۰/۰۰۷	۱۰۰	۱۰۰
B: زمان ذخیره سازی (روز)	بیشینه	۱۶	۱۶	۸۴/۷	۸۵/۹۱
pH	-	۳/۸۹	۳/۹۱	۱۰۰	۱۰۰
اسیدیته (٪)	-	۰/۶	۰/۵۹	۱۰۰	۱۰۰
دو فازه شدن (٪)	کمینه	۳۲/۰۴	۲۸/۸۹	۴۶/۸۷	۳۵/۶۴
فعالیت آنتی اکسیدانی (٪)	بیشینه	۵۱/۹۳	۱۶/۰۹	۱۰۰	۶۹/۷۶

جدول ۳. خواص حسی نمونه های دوغ غنی شده با غلظت های بهینه ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی بعد از ۱۶ روز ذخیره سازی در دمای ۴ درجه سانتی گراد

نمونه ها	ویژگی های حسی			
	عطر و طعم	رنگ	بافت	پذیرش کلی
شاهد	^{a}۴/۰۸ ± ۰/۱۲	^{a}۴/۷۳ ± ۰/۱۳	^{a}۴/۳۶ ± ۰/۲۵	^{a}۴/۷۵ ± ۰/۱۲
ریزپوشینه ایزوله پروتئین آب پنیر	^{b}۳/۱۹ ± ۰/۰۷	^{b}۳/۶۸ ± ۰/۱۶	^{a}۳/۸۲ ± ۰/۱۳	^{b}۳/۱۲ ± ۰/۵۴
ریزپوشینه پکتین	^{ab}۳/۵۶ ± ۰/۳۶	^{ab}۴/۱۴ ± ۰/۱۷	^{a}۴/۱۱ ± ۰/۱۹	^{ab}۳/۶۹ ± ۰/۱۹

حروف غیرمشابه در هر ستون، نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ($p < ۰/۰۵$).

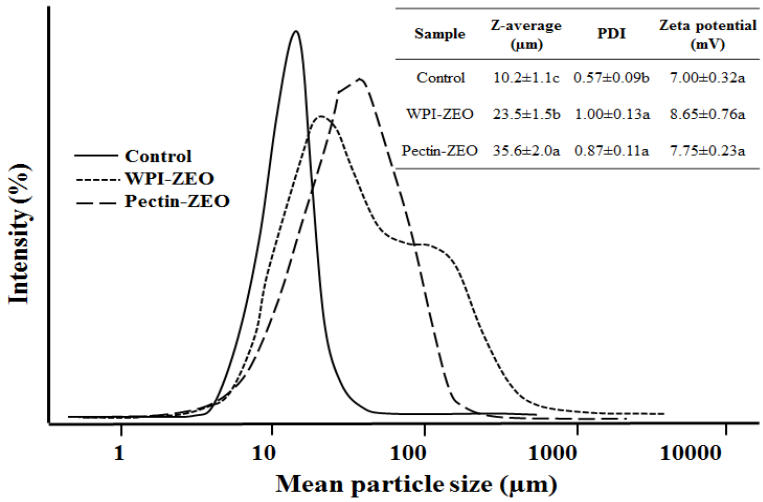
تعیین اندازه ذرات و پتانسیل زتا

توزیع اندازه ذرات نقش اصلی در سرعت ته نشینی سرم در دوغ دارد. شکل ۴، توزیع اندازه ذرات نمونه های دوغ را نشان می دهد. میانگین حجمی قطر ذرات (D_{43})، شاخص PDI و مقادیر پتانسیل زتای نمونه‌ها در جدول موجود در داخل شکل ۴ ارائه شده است. نمونه شاهد یک توزیع اندازه کم پهنا با کمترین شاخص PDI (۰/۵۷) داشت. ذرات در محدوده ۱۵- ۶ µm بخش اصلی توزیع اندازه ذرات را در نمونه شاهد شامل می‌شدند. میانگین اندازه ذرات

www.SID.ir

Archive of SID

برای نمونه شاهد برابر با ۱۰/۲ µm محاسبه شد. این با نتایج به دست آمده توسط Kiani *et al* (2008) مطابقت دارد که توزیع اندازه ذرات دوغ تهیه شده به وسیله روش شبیه روش ما را بررسی کردند. همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، زمانی که ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین اضافه شدند، میانگین اندازه ذرات به طور معنی داری ($P < ۰/۰۵$) به ترتیب به ۲۳/۵ µm و ۳۵/۶ µm افزایش یافت. همانطور که قبلا اشاره شد، در گام نخست این تحقیق، میانگین اندازه ذرات برای پودرهای ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین به ترتیب ۱۷۲/۹۴ nm و ۸۵۶/۱۶ nm به دست آمد (Hossennia *et al*., 2017). این واضح است که ذرات با اندازه کوچکتر از ۱ µm قادر به افزایش میانگین اندازه ذرات به بیشتر از ۲۰ µm نمی‌باشند. بنابراین، می توان نتیجه گرفت که افزودن ریزپوشینه‌ها منجر به دلمه بستن ذرات سرم و افزایش میانگین اندازه ذرات می‌شود. افزایش توزیع اندازه ذرات، این فرضیه را تایید می‌کند. همانطور که در جدول داخل شکل ۴ آمده است، مقادیر شاخص PDI بعد از افزودن ریزپوشینه‌ها به طور معنی داری افزایش یافت. اختلاف بین مقادیر شاخص PDI معنی دار نمی‌باشد اما ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر بالاترین شاخص PDI را با یک الگوی توزیع دو حالتی نشان دادند. پکتین شاخص PDI را افزایش داد اما توزیع ذرات آن حالت تک پخشی داشت. این مشاهدات نشان می‌دهد که تاثیر pH و خواص شیمیایی دیگر دوغ بر روی ریزپوشینه‌های پایدار شده به وسیله ایزوله پروتئین آب پنیر بیشتر از پکتین می باشد. در حقیقت، دناتوراسیون ایزوله پروتئین آب پنیر در pH اسیدی دوغ منجر به تغییر آرایش کنفورماسیونی پروتئین‌ها می‌شود. زنجیره‌های باز شده پروتئین‌ها ممکن است به عنوان پلی بین ذرات سرم عمل کرده و منجر به افزایش شدت توده شدن شود (Janhoj *et al*., 2008). اما این رفتار نمی‌تواند برای درشت مولکول‌های پکتین در شرایط مشابه رخ دهد. مقادیر ارائه شده در جدول نشان می‌دهد که پتانسیل زتای نمونه‌های دوغ بعد از افزودن ریزپوشینه‌ها افزایش یافته است اما این افزایش معنی دار نمی‌باشد. پتانسیل زتای ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و پکتین پخش شده در آب مقطر به ترتیب ۲۲/۴۱ mV- و ۲۳/۱۹ mV- به دست آمد (Hosseinnia *et al*., 2017). با این حال، حضور در یک محیط اسیدی مثل دوغ، بار سطحی شان را تغییر می‌دهد. در مقادیر pH پایین تر از pH ایزوالکتریک پروتئین‌های شیر، همه ذرات و همچنین ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر بار مثبت خواهند داشت. به عبارت دیگر، در مقادیر pH پایین‌تر با تبدیل گروه های COO^-– پکتین به گروه‌های COOH– بار منفی پکتین کاهش خواهد یافت (Tholstrup Sejersen *et al*., 2007). بنابراین، داشتن پتانسیل زتای مثبت یک نتیجه منطقی برای همه نمونه‌های دوغ است. Azarikia, & Abbasi (2010) پتانسیل زتای مثبت (۱۲+ mV) برای نمونه‌های دوغ در pH حدود ۴ گزارش کردند.



شکل ۴. دیاگرام توزیع اندازه ذرات و مقادیر متوسط اندازه ذرات، شاخص PDI و پتانسیل زتا (جدول داخل شکل) برای نمونه های دوغ. حروف متفاوت در هر ستون از جدول، نشان دهنده‌ی اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه گیری

آماده سازی دوغ غنی شده با ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی انجام شد. مقادیر بهینه برای غلظت ریزپوشینه و زمان ذخیره سازی نمونه‌های دوغ غنی شده، به وسیله روش سطح پاسخ تخمین زده شد. زمانی که ریزپوشینه‌های اسانس کاکوتی در فرمولاسیون دوغ استفاده شدند، دوفازه شدن کاهش و فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافت. مقایسه تاثیر مقادیر بهینه ریزپوشینه‌های پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر بر روی اندازه ذرات و خواص حسی دوغ

www.SID.ir

Archive of SID

نشان داد که تاثیر ریزپوشینه‌های پکتین بیشتر از ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر می‌باشد. تاثیر pH اسیدی دوغ بر روی تغییرات کنفورماسیونی ریزپوشینه‌های ایزوله پروتئین آب پنیر و مقاومت پکتین در مقابل این تغییرات به عنوان دلیلی برای اختلاف رفتاری این دو ریزپوشینه بیان شد. به منظور ارزیابی و مقایسه تاثیر شرایط محیطی بر روی ثبات و رفتار ترکیبات زیست فعال درون پوشانی شده با پکتین و ایزوله پروتئین آب پنیر مطالعات بیشتری مورد نیاز است.

REFERENCES

Azarikia, F., & Abbasi, S. (2010). On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids*, 24,358-363.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils: a review. *Food Chemical Toxicology*, 46,446-75.

Donsì, F., Annunziata, M., Sessa, M., & Ferrari, G. (2011). Nanoencapsulation of essential oils to enhance their antimicrobial activity in foods. *LWT - Food Science and Technology*, 44,1908-1914.

El-Said, M.M., Haggag, H.F., El-Din, H.M.F., Gad, A.S., & Farahat, A.M. (2014). Antioxidant activities and physical properties of stirred yoghurt fortified with pomegranate peel extracts. *Annals of Agricultural Science*, 59,207-212.

Ghorbanzadeh, T., Jafari, S.M., Akhavan, S., & Hadavi, R. (2017). Nano-encapsulation of fish oil in nano-liposomes and its application in fortification of yoghurt. *Food Chemistrty*, 216,146-152.

Hosseinnia, M., Alizadeh Khaledabad, M., & Almasi, H. (2017). Optimization of *Ziziphora clinopodiodes* essential oil microencapsulation by whey protein isolate and pectin: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101,958-966.

Janhoj, T., Frost, M.B., & Ipsen, R. (2008). Sensory and rheological characterization of acidified milk drink. *Food Hydrocolloids*, 22,798-806.

Jung, J. Paik, H.D., Yoon, H.J., Jang, H.J., Jeewanthi, R.J.K., Jee, H.S., Li, X., Lee, N,K., & Si- Lee, K. (2016). Physicochemical characteristics and antioxidant capacity in yogurt fortified with red ginseng extract. *Korean Journal of Food Science*, 36,412-420.

Kakaei, S., & Shahbazi, Y. (2016). Effect of chitosan-gelatin film incorporated with ethanolic red grape seed extract and *Ziziphora clinopodioides* essential oil on survival of *Listeria monocytogenes* and chemical, microbial and sensory properties of minced trout fillet. *LWT - Food Science and Technology*, 72,432-438.

Khodaparast, H., Hosein, M., Sangatash, M., Karazian, M., Habibi Najafi, R., Beiraghi, M.B., & Toosi, S. (2007). Effect of essential oil and extract of *Ziziphora clinopodioides* on yoghurt starts culture activity. *World Applied Science Journal*, 2,194-197.

Khosrokhavar, R., & Mortazavian, A.M. (2010). Effects probiotic-containing microcapsules on viscosity, phase separation and sensory attributes of drink based on fermented milk. *Milchwissenschaft*, 65,177-182.

Kiani, H., Mousavi, S.M.A., & Emam-Djomeh, Z. (2008). Rheological properties of Iranian yoghurt drink, Doogh. *International Journal of Dairy Science*, 3,71-78.

Mohammadi, A., Jafari, S.M., Assadpour, E., & Esfanjani, A.F. (2016). Nano-encapsulation of olive leaf phenolic compounds through WPC–pectin complexes and evaluating their release rate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82,816-822.

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manohlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food application. *Procedia Food Science*, 1,1806-1815.

Noori, S., Zeynali, F., & Almasi, H. (2018). Antimicrobial and antioxidant efficiency of nanoemulsion-based edible coating containing ginger (*Zingiber officinale*) essential oil and its effect on safety and quality attributes of chicken breast fillets. *Food Control*, 84, 312-320.

Sarabi-Jamab, M., & Niazmand, R. (2009). Effect of essential oil of *Mentha piperita* and *Ziziphora clinopodioides* on *Lactobacillus acidophilus* activity as bioyoghurt starter culture. *American and European Journal of Agricultural and Environmental Science*, 6,129-31.

Shahbazi, Y. (2015a). Chemical composition and in vitro antibacterial effect of *ziziphora clinopodioides* essential oil. *Pharmaceutical Sciences*., 21,51-56.

Shahbazi, Y. (2015b). *Ziziphora clinopodioides* Essential oil and nisin as potential antimicrobial agents against *Escherichia coli* O157: H7 in Doogh (Iranian Yoghurt Drink). *Journal of Pathogens*, 176,1-7.

Shahbazi, Y., & Shavisi, N. (2016). Interactions of *Ziziphora clinopodioides* and *Mentha spicata* essential oils with chitosan and ciprofloxacin against common food-related pathogens. *LWT - Food Science and Technology*, 71,364-369.

Shahdadi, F., Mirzaie, H., Kashaninejad, M., Khomeiri, M., Ziaiifar, A.M., & Akbarian, A. (2015). Effects of various essential oils on chemical and sensory characteristics and activity of probiotic bacteria in drinking yoghurt. *Agricultural Communication*, 3,16-21.

Sharifan, A., & Beikmohammadi, L. (2014). Antimicrobial efficiency of Iranian *Ziziphora clinopodiodes* essential oil on preservation of hamburger. *International Journal of Medical Microbiology and Infectious Deseases*., 2,138-142.

Silva, E.K., Azevedo, V.M., Cunha, R.L., Hubinger,

www.SID.ir

Archive of SID

M.D., & Meireles, M.A.A. (2016). Ultrasound-assisted encapsulation of annatto seed oil: Whey protein isolate versus modified starch. *Food Hydrocolloids*., 56,71-83.

Sonboli, A., Atri, M., & Shafiei, S. (2010). Intraspecific variability of the essential oil of *Ziziphora clinopodioides* ssp. *rigida* from Iran. *Chemical and Biodiversity*., 7,1784-1789.

Teymori, R., Ghazanfarirad, N., Dehghan, K., Kheyri, A., Hajigholizadeh, G., Kazemi-Ghoshchi, B., & Bahman, M. (2014). Monitoring microbial quality of commercial dairy products in West Azerbaijan province, northwest of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*., 4,824-S829.

Tromp, R.H., de Kruif, C.G., Van Eijk, M., & Rolin, C. (2004). On the mechanism of stabilization of acidified milk drinks by pectin. *Food Hydrocolloids*, 18,565–572.

Zhang, H.Y., Arab Tehrany, E., Kahn, C.J.F., Poncot, M., Linder, M., & Cleymand, F. (2012). Effects of nanoliposomes based on soya, rapeseed and fish lecithins on chitosan thin films designed for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 88,618–627.

Ziaolhagh, S.H., & Jalali, H. (2017). Physicochemical properties and survivability of probiotics in bio-doogh containing wild thyme essence and xanthan gum. *International Food Research Journal*, 24,1805-1810.

www.SID.ir