مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی_پژوهشی

مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی اسیدهیالورونیک استحصالی از تاج خروس به روش‌های مختلف

نسترن طبری شاهاندشت[۱]، مرضیه بلندی[۲*]، مجید رحمتی[۳]، مسلم جعفری ثانی[٤]

۱- دانشجوی دکترای علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

۲- دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

۳- استادیار گروه زیست فناوری پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

٤- استادیار بیوشیمی بالینی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱٤۰۰ /۰۹/۰۵

تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۰٤/۰٦

کلمات کلیدی:

اسیدهیالورونیک،

استئوآرتریت،

تاج خروس،

غنی سازی مواد غذائی،

هیدروکلوئید.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4

* مسئول مکاتبات:

M.Bolandi@Damghaniau.ac.ir

چکیده

امروزه صنایع تبدیلی با هدف کاهش هزینه‌های تولید در کشور از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند. با توجه به این که حجم ضایعات پس از کشتار طیور در ایران بالا بوده و از طرفی دیگر شواهد فراوانی در ارتباط با اثرات مطلوب اسیدهیالورونیک حاصل از آن بر سلامتی انسان به ویژه در درمان بیماری‌های مفصلی از جمله استئوآرتریت بدست آمده، تلاش‌های فراوانی جهت استفاده بهینه از این ضایعات صورت گرفته است. بنابراین، هدف این پژوهش بر دستیابی به اسیدهیالورونیک حاصل از بافت تاج خروس با خصوصیات فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی مناسب جهت غنی‌سازی مواد غذایی مختلف از جمله فرآورده‌های لبنی استوار گردید. در این پژوهش پس از آماده‌سازی اولیه بافت حیوانی تاج خروس، استخراج اسیدهیالورونیک از آن به سه روش مختلف و با استفاده از امواج فراصوت-اتانول، سرم فیزیولوژی-اسیداستیک و سرم فیزیولوژی-اتانول انجام شد و سپس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی اسیدهیالورونیک استخراج شده مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس یافته‌های این پژوهش، بیشترین محتوای اسیدهیالورونیک استحصالی (٤/۲ میلی‌گرم بر گرم) در حضور حلال‌های سرم فیزیولوژی-اتانول بود (P<۰/۰۵). همچنین، هیدروکلوئید استخراج شده با این روش، بالاترین میزان روشنایی (۲۳/۷٤) و پایین‌ترین میزان pH (٦/۷٦) و چگالی (۸۱۰ کیلوگرم بر متر مکعب) را دارا بود (P<۰/۰۵). اما ویسکوزیته نمونه‌های مورد بررسی، تحت تأثیر نوع روش استحصال قرار نگرفت (P>۰/۰۵). از این رو، نتایج پژوهش حاضر نشان داد که سرم فیزیولوژی-اتانول به عنوان مناسب‌ترین حلال برای استخراج و خالص‌سازی اسیدهیالورونیک از تاج خروس بوده و می‌توان از آن به عنوان افزودنی مناسب جهت غنی‌سازی و تولید یک ماده غذایی فراسودمند با هدف ارتقاء سطح سلامت جامعه استفاده کرد.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

۱- مقدمه

امروزه نیاز به استفاده از اسیدهیالورونیک و یا به طور کلی پلی‌ساکاریدها غیرقابل انکار است. حال پیدا کردن روشی که بتواند با صرفه جویی در هزینه و همچنین بکارگیری ضایعات غیرقابل استفاده، این نیاز را برطرف کند، می‌تواند قدمی بزرگ در جهت خودکفایی و همچنین بهینه‌سازی در استفاده از ضایعات باشد؛ ضمن این که استفاده از ترکیبات طبیعی به جای فرآورده‌های شیمیایی، دارای هزینه پایین‌تر، عوارض جانبی کمتر و اثر طولانی مدت است [۱].

صمغ‌ها پلی‌ساکاریدهایی با جرم مولکولی بالا هستند که پس از حل شدن در حلالی که معمولا" آب سرد یا داغ است، ژل‌ها یا محلول‌هایی با گرانروی بالا تولید می‌کنند. به طور معمول، این دسته از ترکیبات از تراوشات گیاهی، بافت‌های حیوانی، جلبک‌های دریایی و به صورت اگزوپلی‌ساکاریدها از باکتری‌ها بدست می‌آیند. صمغ‌ها نقش‌های عملکردی متفاوتی از قبیل غلیظ‌کنندگی، پایدارکنندگی، ژل‌دهندگی و اصلاح‌کنندگی بافت را در غذاها به عهده دارند [۱]. از آنجا که ویژگی مهم هیدروکلوئید[1]هایی نظیر صمغ‌ها اصلاح بافت، ایجاد احساس دهانی مطلوب و جایگزینی با چربی ماده غذایی است، غنی‌سازی فرآورده‌های لبنی از جمله ماست با صمغ‌ها می‌تواند گام مهمی در رسیدن به محصولی با خصوصیات مطلوب و با ارزش غذایی بالاتر، برای جلب نظر مصرف کنندگان باشد. صمغ‌ها از طریق اتصال با آب در مواد غذایی و ایجاد یک ساختار ژل مانند، برخی از خصوصیات و نقش‌های چربی از قبیل خواص جریانی[2] و روانی[3] را فراهم کرده [۲] و می‌توانند باعث افزایش قوام و استحکام ساختار ژل ماست شوند. اسیدهیالورونیک[4] یا هیالورونان[5] دی‌ساکاریدی تکرارشونده متشکل از واحدهای تکراری اسیدگلوکورونیک و گلوکزآمین بوده و مونومرهای آن توسط پیوندهای گلیکوزیدی β(۱-۳) و β(۱-٤) به یکدیگر متصل می‌شوند [۳و٤]. اسیدهیالورونیک به خانواده گلیکوزآمینوگلیکان[6] (GAG) تعلق دارد. در واقع ترکیب مذکور یک هتروپلی‌ساکارید خطی، غیرسولفاته، آنیونی با جرم مولکولی بالا است که وزن مولکولی آن بین 10^{7}-10^{4} دالتون متغیر است [۵]. اسیدهیالورونیک ماده مؤثر شناخته شده‌ای در درمان بیماری‌های مفصلی از جمله استئوآرتریت بوده که از منابع مختلفی از جمله تاج خروس[7] استخراج می‌شود. همچنین این ترکیب طی تخمیر باکتری‌های اسیدلاکتیک به ویژه *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *استرپتوکوکوس زئواپیدرمیکوس* نیز تولید می‌شود که روشی ایمن و مقرون به صرفه می‌باشد [۳و۵]. مطالعات نشان داده که اسیدهیالورونیک استخراج شده از تاج خروس، دارای وزن مولکولی در حدود $1/2\times10^{6}$ دالتون می‌باشد [٦]. در همین راستا، مورینا و همکاران (۲۰۱۸)، اثرات ماست کم چرب غنی شده با عصاره تاج خروس را بر روی قدرت عضلات افرادی با درد خفیف زانو بررسی کردند. نتایج حاکی از بهبود قدرت عضلات در طول دوره درمان بود. این تأثیر تاحدی با تقویت و بازسازی عضلات، کاهش آب آوردن زانو و کاهش درد توضیح داده شد [۷].

در پژوهش‌های مختلف به روش‌های متعددی جهت استخراج هیدروکلوئیدها از جمله صمغ و موسیلاژ اشاره شده است. دلیلی و همکاران (۱۳۹٤) گزارش کردند که موسیلاژها به دو روش الکلی و آبی استخراج می‌شوند. در روش الکلی به کمک حلال‌هایی نظیر استون، اتانول و بوتانول می‌توان موسیلاژها را رسوب داد که بیشترین راندمان تولید موسیلاژ از گیاه بامیه بوسیله حلال استون بود [۸]. کشانی دخت و همکاران (۱۳۹٤) با هدف دستیابی به هیدروکلوئید جدیدی از میوه گیاه کوردیامیکس[8] با بالاترین میزان بازده توسط امواج فراصوت، پژوهشی را انجام دادند. براساس نتایج اعلام شده نوع حلال مصرفی یکی از تأثیرگذارترین عوامل بر راندمان استخراج موسیلاژ بود [۹]. قبادی و همکاران (۱۳۹۷) نیز اعلام کردند که راندمان استخراج صمغ دانه شنبلیله به طور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر سه متغیر مستقل دمای استخراج، زمان و نسبت آب به دانه قرار گرفت، به طوری که این رابطه خطی ارزیابی شد [۱۰]. حسن‌پور امینه و همکاران (۱۳۹۵) نیز در مطالعه خود به وابستگی ویسکوزیته صمغ حاصل از برگ گیاه پنیرک با دمای به کار گرفته شده اشاره کردند [۱۱]. در واقع اسیداورونیک موجود در صمغ گیاه پنیرک موجب باردارشدن آن شده و میزان این بارها به دلیل آزاد شدن یون هیدرونیوم از

1. Hydrocolloid
2. Flow properties
3. Lubricant
4. Hyaluronic acid
5. Hyaluronan
6. Glycosaminoglycans
7. Rooster comb or cocks comb
8. Cordia myxa

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

گروه‌های کربوکسیل، سبب افزایش دافعه میان آن‌ها می‌گردد در نتیجه ساختار صمغ گسترده شده و درنهایت گرانروی صمغ افزایش می‌یابد [۱۲و۱۱]. سکونی رواسان و آصفی (۱۳۹۵) نیز به تأثیر نوع حلال بر راندمان استخراج اشاره کرده و در ادامه گزارش کردند که صمغ بامیه استخراج شده با هیدروکسید سدیم در مقایسه با صمغ بامیه استخراج شده با آب به علت پیوندهای بین مولکولی برقرار شده، دارای ویسکوزیته بالاتری بوده و تنش بیشتری برای رفتار جریانی خود نشان داد. آن‌ها راندمان استخراج صمغ بامیه به روش آبی و روش قلیایی را به ترتیب ۲/۳۹ و ۵/۶۲ درصد تعیین کردند [۱۳]. هفسا و همکاران (۲۰۱۷) پس از بررسی عصاره تاج خروس که تحت امواج فراصوت قرار گرفته بود اعلام کردند که علی‌رغم تخریب ساختار مولکولی اسیدهیالورونیک، در ساختار شیمیایی آن تغییری ایجاد نشد و حتی فعالیت ضداکسایشی عصاره بدلیل ایجاد زنجیرهای کوتاه و سبک وزن اسیدهیالورونیک و نقش آن‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل و سوپراکسید افزایش یافت [۱٤]. در ادامه آن‌ها به افزایش میزان استخراج اسیدهیالورونیک در نمونه‌های تیماره شده با امواج فراصوت (۶۱/۵ درصد) در مقایسه با نمونه شاهد (۰/۱ درصد) اشاره کردند. با توجه به بررسی‌های انجام شده و میزان بالای اسیدهیالورونیک در تاج خروس از یک طرف و تأکید بر استفاده از تکنولوژی‌های سبز با هدف کاهش ضایعات از طرف دیگر و همچنین وجود شواهد فراوان در ارتباط با تأثیرات مطلوب اسیدهیالورونیک بر سلامتی انسان، در این پژوهش بر آن شدیم تا روشی برای بهبود استخراج اسیدهیالورونیک از تاج خروس بر اساس ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی مناسب با هدف افزودن به مواد غذایی معرفی شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

در این پژوهش تاج خروس از کشتارگاه طیور شهرستان آمل تهیه شد. بدین صورت که بلافاصله پس از ذبح، تاج‌ها از سر جدا و تمیز شدند. در ادامه، تاج‌ها در دمای ۱۸- درجه سانتی‌گراد تا زمان مصرف نگه‌داری شدند. سایر مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این پژوهش نیز با خلوص آزمایشگاهی از شرکت‌های مرک و سیگما آلدوریچ تهیه شدند.

۲-۲- استخراج اسیدهیالورونیک

در این پژوهش استخراج اسیدهیالورونیک به سه روش، بر اساس روش پیشنهادی سلیانین و همکاران (۲۰۱۵) با اندکی تغییرات و با استفاده از امواج فراصوت-اتانول (HAU)، سرم فیزیولوژی-اسیداستیک (HAA) و سرم فیزیولوژی-اتانول (HAE) در مراحل مختلف استخراج جهت ترسیب و خالص‌سازی ترکیب مورد نظر انجام شد [۱۵]. در روش اول (HAU)، ۵۰ گرم بافت حیوانی تاج خروس به مدت ۱۰ دقیقه تحت تأثیر امواج فراصوت ۲۰ کیلوهرتز توسط دستگاه اولتراسونیک (شرکت Hielscher، مدل UP100H، ساخت آلمان) قرار گرفت. سپس ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر به آن اضافه و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۶۰-۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در ادامه طی دو مرحله، عصاره بدست آمده با پارچه نخی و سپس با سانتریفیوژ (مدل SW14R-Friolabo، ساخت فرانسه)، ۵۰۰۰ دور در دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه صاف شد. سپس به منظور جداسازی اسیدهیالورونیک استخراج شده از روش رسوب‌گذاری استفاده شد و به میزان دو برابر حجم عصاره بدست آمده، اتانول خالص اضافه شد و به مدت ۲٤ ساعت در یخچال نگه‌داری شد تا رسوب تشکیل شود. در انتها نیز لخته ته نشین شده در ظروف استریل تیره رنگ تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال نگه‌داری شد. در روش دوم (HAA)، به ۵۰ گرم بافت موردنظر، ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. در ادامه جهت افزایش بازده استخراج، ۲۵۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژیک به مخلوط قبلی افزوده گردید و یک ساعت در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. سپس طی دو مرحله که پیشتر توضیح داده شد، عصاره بدست آمده صاف شد. در این روش برای رسوب‌گذاری به میزان دو برابر حجم عصاره بدست آمده، محلول اسیداستیک ۲ درصد اضافه و به مدت ۲٤ ساعت در یخچال نگه‌داری شد. در انتها نیز رسوب ته نشین شده در ظروف استریل تیره رنگ تا زمان استفاده در یخچال نگه‌داری شد [۱۵]. در روش سوم (HAE) مرحله عصاره‌گیری مشابه روش دوم بوده با این تفاوت که در این روش در مرحله رسوب‌گذاری از اتانول استفاده گردید و به میزان دو برابر حجم عصاره حاصله، اتانول به آن اضافه و به مدت ۲٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. در پایان نیز رسوب

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

ته نشین شده در کف ظرف جمع‌آوری و در ظروف استریل تیره رنگ در یخچال نگه‌داری شد [۱۵].

۲-۳- آزمون‌ها

۲-۳-۱- اندازه‌گیری میزان اسیدهیالورونیک استخراج شده

به منظور سنجش میزان اسیدهیالورونیک استخراج شده از روش کربازول استفاده شد [۱۶]. ۳ میلی‌لیتر از محلول ۰/۰۲۵ مولار تترابورات سدیم ۱۰ آبه در اسیدسولفوریک خالص در لوله آزمایش ریخته شد و تا دمای ٤ درجه سانتی‌گراد خنک شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد اسیدهیالورونیک در آب مقطر یا نمونه حاوی عصاره، به دقت در لایه بالایی اسید قرار داده شد. پس از بستن درب، در ابتدا به آرامی و سپس به شدت لوله آزمایش تکان داده شد. در ادامه لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده شدند و تا دمای اتاق خنک شدند. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱۲۵ درصد کاربازول در اتانول (وزنی- حجمی) به لوله‌ها اضافه گردید و لوله‌ها مجدد تکان داده شدند. لوله‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش حرارت داده شدند و سپس تا دمای اتاق خنک شدند. در انتها جذب نمونه‌ها با کمک دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS (Shimadzu، مدل UV-۲۵۵۰، ساخت ژاپن) در طول موج ۵۳۰ نانومتر خوانده شد و مقدار اسیدهیالورونیک نیز برحسب میلی‌گرم بر گرم تعیین گردید. رسم منحنی استاندارد نیز مطابق شکل ۱ انجام شد.

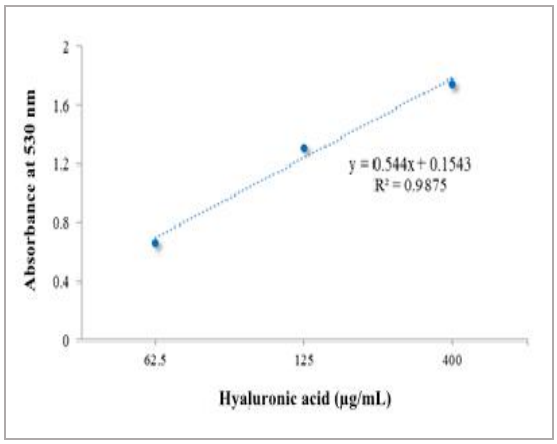

Fig 1 Calibration curve for quantification of hyaluronic acid

۲-۳-۲- اندازه‌گیری pH

pH اسیدهیالورونیک توسط دستگاه pH متر (Metrohm, 744، ساخت سوئیس) مطابق با روش AOAC (۲۰۰۷) اندازه‌گیری شد [۱۷].

۲-۳-۳-چگالی

جهت اندازه‌گیری چگالی اسیدهیالورونیک حاصله، ابتدا پیکنومتر خالی و خشک (M_{air})، سپس پیکنومتر پر از آب مقطر (M_{water}) و سپس پیکنومتر پر از عصاره مورد نظر (M_{sample}) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به دقت وزن شدند و توسط فرمول‌های (۱) و (۲) چگالی عصاره برحسب کیلوگرم بر متر مکعب گزارش شد [۱۸].

$$\text{حجم پیکنومتر} = (M_{water} - M_{air}) / (D_{water} - D_{air}) \quad (۱)$$

$$\text{چگالی} = [(M_{sample} - M_{air}) / \text{حجم پیکنومتر}] + D_{air} \quad (۲)$$

۲-۳-٤-اندازه‌گیری ویسکوزیته

عصاره‌های مورد بررسی در داخل ظرف مخصوص ویسکومتر که به حمام آب با درجه ۲۵ درجه سانتی‌گراد متصل بود ریخته شدند. سپس ویسکوزیته آن‌ها به وسیله دستگاه ویسکومتر چرخشی بروکفیلد (Brookfield Engineering Laboratories، ساخت آمریکا) که با اسپیندل شماره ٦ در سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه، گشتاوری بالاتر از ۱۰ درصد را نشان می‌دهد اندازه گرفته شد [۱۹].

۲-۳-۵-رنگ سنجی

بررسی رنگ اسیدهیالورونیک حاصله با استفاده از دستگاه هانترلب (منتولیا، ژاپن) انجام شد [۲۰]. قبل از انجام آزمون، دستگاه با استفاده از صفحه کالیبراسیون سیاه و سپس سفید استاندارد شد. اساس رنگ‌سنجی در این سیستم CIELAB[1] و سنجش شاخص‌های L*،a* و b* بود که به ترتیب نشان‌دهنده روشنایی، رنگ سبز تا قرمز و رنگ آبی تا زرد هستند. نمونه‌های همگن شده داخل سل شیشه‌ای ریخته شدند و سپس عکس برداری طبق دستورالعمل دستگاه انجام شد.

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری نتایج

در این تحقیق ابتدا از نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویلک[2] اطمینان حاصل شد و سپس همگنی واریانس داده‌ها با آزمون لون[3] بررسی گردید. در ادامه تحلیل نتایج

1. Commission International d'Eclairage LAB
2. Shapiro-Wilk
3. Leven test

توسط آنالیز واریانس (ANOVA)[1] در سطح اطمینان ۹۵ درصد و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن در ۳ تکرار توسط نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. رسم نمودارها نیز توسط نرم افزار Excel صورت گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی تأثیر روش‌های مختلف استخراج بر میزان اسیدهیالورونیک استحصالی

نتایج تأثیر روش‌های مختلف استخراج بر میزان اسیدهیالورونیک استحصالی در شکل ۲ نشان داده شده است. آنالیز واریانس نمونه‌های مورد بررسی حاکی از معنی‌دار بودن اثر نوع روش استخراج بر محتوای اسیدهیالورونیک در سطح اطمینان مورد بررسی بود ($P<۰/۰۵$). به طوری که بالاترین و پایین‌ترین میزان اسیدهیالورونیک به ترتیب در تیمار HAE و HAA مشاهده شد که به ترتیب ۴/۲ و ۰/۹ میلی‌گرم بر گرم نمونه بودند ($P<۰/۰۵$). پژوهش‌ها نشان دادند افزایش نسبت حلال به نمونه، نوع حلال مورد استفاده و همچنین کاهش pH محیط به دلیل بالابردن نیروی محرکه برای انتقال جرم و خروج صمغ از بافت و یا دانه می‌تواند باعث افزایش راندمان استخراج شود. در واقع تحت تأثیر پدیده اسمز، انتشار صمغ به بیرون تسهیل می‌شود [۲۰]. همان طور که در این پژوهش نیز مشخص است کاهش pH، به دلیل هیدرولیز پلی‌ساکاریدها، منجر به افزایش راندمان استخراج اسیدهیالورونیک در تیمار HAE شد که با نتایج گزارش شده توسط پورزرتشت و رسایی (۲۰۱۷) مطابقت داشت [۳]. آن‌ها اسیدهیالورونیک با وزن مولکولی بالا را به روش میکروبی با سوش *استرپتوکوکوس زئواپیدرمیکوس* تولید کردند که محتوای اسیدهیالورونیک در غلظت‌های متفاوت گلوگز در حدود ۱۲۰-۴۰ گرم بر لیتر بود. عبدالله و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی پژوهش‌های متعدد انجام شده در این زمینه بیان کردند که بهترین روش استخراج شامل هیدرولیز بافت، حذف پروتئین و خالص‌سازی بیوپلیمر می‌باشد [۲۱]. رابطهٔ بین راندمان استخراج با نوع روش استخراج نشان‌دهنده اهمیت نوع حلال در تخریب غشای سلول‌ها و افزایش نفوذپذیری آن جهت خروج اسیدهیالورونیک است. تحت شرایط اسیدی توانایی حلال برای انحلال ترکیبات افزایش می‌یابد در نتیجه، نفوذ حلال به درون سلول‌ها آسان گردیده و به تبع آن راندمان استخراج ترکیبات پلی‌ساکاریدی افزایش می‌یابد [۲۲]. هرچند الگوی این تأثیر به عوامل مختلفی از جمله نوع ترکیب پلی‌ساکاریدی، مدت زمان مجاورت آن با حلال، درجه حرارت، حجم حلال مصرفی و ویژگی‌های ذاتی حلال نیز بستگی دارد. هفسا و همکاران (۲۰۱۷) محتوای اسیدهیالورونیک در عصاره تاج خروس که تحت تیمار اولتراسونیک قرار گرفت را ۴۷/۳ درصد گزارش کردند[۱۴]. در این پژوهش، وزن مولکولی و ویسکوزیته نمونه‌های تیمارشده با امواج اولتراسونیک کاهش یافت. علت این پدیده، شکافت[2] باندهای گلیکوزیدی ذکر شد. در واقع تحت تأثیر این امواج، تخریب و دپلیمریزاسیون زنجیرهای سنگین وزن اسیدهیالورونیک به انواع سبک وزن رخ داد[۲۳و۱۴].

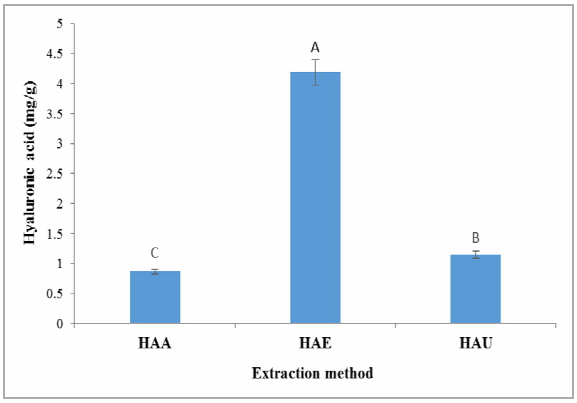

Fig 2 Effect of different methods of hyaluronic acid extraction on its content
(Values by different letters show significant differences at 5% statistical level)

۳-۲- بررسی تأثیر روش‌های مختلف استحصال اسیدهیالورونیک بر pH

میانگین تغییرات pH اسیدهیالورونیک تهیه شده به روش‌های مختلف، در شکل ۳ به تصویر کشیده شده است. با توجه به شکل ۳ مشخص شد که کاربرد هر سه روش مورد بررسی منجر به ایجاد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح مورد آزمون در pH نمونه‌ها شد ($P<۰/۰۵$). به طوری که بالاترین میزان pH در نمونه HAU و پایین‌ترین میزان pH در نمونه HAE مشاهده شد ($P<۰/۰۵$). در واقع در اثر هیدرولیز جزئی پروتئین‌ها و تغییر در پیکربندی فضایی[3] آن‌ها تحت تأثیر امواج

1. One-way analysis of variance

2. Cleavage
3. Conformation

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

فراصوت کاهش اسیدیته و به دنبال آن افزایش pH نمونه‌ها قابل انتظار بود. در این پژوهش pH قلیایی در نمونه‌هایی که تحت تأثیر امواج فراصوت قرار گرفتند مؤید آزادشدن ترکیبات نیتروژنه می‌باشد. همچنین با توجه به ماهیت شیمیایی ترکیبات مورد استفاده جهت ترسیب (اسیداستیک و اتانول) pH پایین‌تر در دو نمونه HAE وHAA قابل پیش بینی بود. از طرف دیگر تحت شرایط اسیدی و هیدرولیز پلی‌ساکاریدهای موجود در عصاره از جمله اسیدهیالورونیک به واحدهای سازنده خود شامل اسیدهای ضعیف مثل اسیدگلوکورونیک که یون‌های H^+ در محیط تولید می‌شوند که می‌تواند موجب کاهش قابل توجه pH و به دنبال آن افزایش اسیدیته شود [۱۹]. کاوالکانتی و همکاران (۲۰۱۸) بیان کردند که ترسیب اسیدهیالورونیک در اثر ایجاد پیوندهای درون مولکولی و به دنبال آن تجمع پروتئین‌ها و پپتیدها رخ می‌دهد [۲٤]. همچنین آن‌ها به نقش pH محیط در حذف پروتئین نمونه پرداختند که این تغییرات که منجر به خالص‌سازی حداکثری اسیدهیالورونیک استحصالی شد. در پژوهش انجام شده توسط عربی و همکاران (۱۳۹۸)، تأثیر pH بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رئولوژیکی صمغ حاصل از دانه شنبلیله، قابل توجه بود به طوری که با کاهش pHمیزان صمغ بدست آمده افزایش یافت [۲۵]. این نتایج با نتایج بدست آمده در پژوهش حاضر نیز همسو بود به طوری که بیشترین محتوای اسیدهیالورونیک بدست آمده در نمونه HAE (٤/۲ میلی‌گرم بر گرم) که پیشتر به آن اشاره شد به خوبی با نتایج pH این نمونه هم‌خوانی داشت.

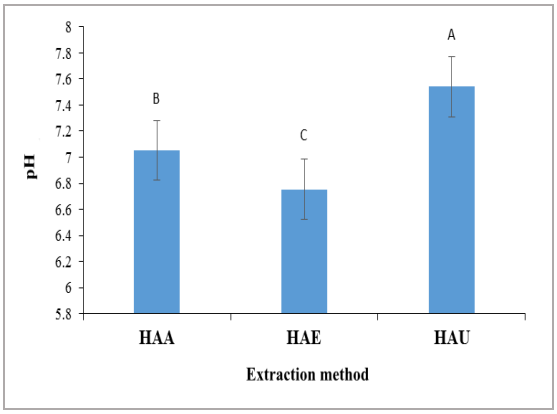

Fig 3 Effect of different methods of hyaluronic acid extraction on pH
(Values by different letters show significant differences at 5% statistical level)

۳-۳-بررسی تأثیر روش‌های مختلف استحصال اسیدهیالورونیک بر چگالی

با توجه به شکل ٤ تحلیل نتایج مربوط به اثر روش‌های مختلف مورد استفاده در این پژوهش بر چگالی نمونه‌ها نشان داد که دو تیمار HAE و HAA به لحاظ آماری اختلاف قابل توجهی در میزان چگالی نمونه‌ها ایجاد نکردند (P>۰/۰۵). در حالی که تیمار HAU نسبت به دو تیمار HAE و HAA اثر متفاوت معنی‌داری بر چگالی نمونه‌ها داشت (P<۰/۰۵). به طوری که بالاترین میزان چگالی در تیمار HAU (۹۱۰ کیلوگرم بر متر مکعب) و پایین‌ترین میزان چگالی در دو تیمار HAEو HAA (۸۱۰ کیلوگرم بر متر مکعب) مشاهده شد (P<۰/۰۵). بر اساس یافته‌های این پژوهش، در تیمار HAU، جرم حجمی نمونه افزایش یافت که این امر به علت افزایش درصد ماده جامد و تمرکز بیشتر آن در واحد حجم نمونه بود که با نتایج حیدری دلفارد و همکاران (۱۳۹۵) مطابقت داشت [۲٦]. آن‌ها به بررسی تأثیر میزان ماده جامد محلول بر خصوصیات فیزیکی-حرارتی عصاره مالت پرداختند و اعلام کردند که با افزایش درصد ماده جامد، دانسیته نمونه‌های مورد بررسی افزایش یافت، به طوری که درصد ماده جامد عصاره مالت نسبت به دمای آن تأثیر معنی‌دارتری بر تغییرات دانسیته داشت.

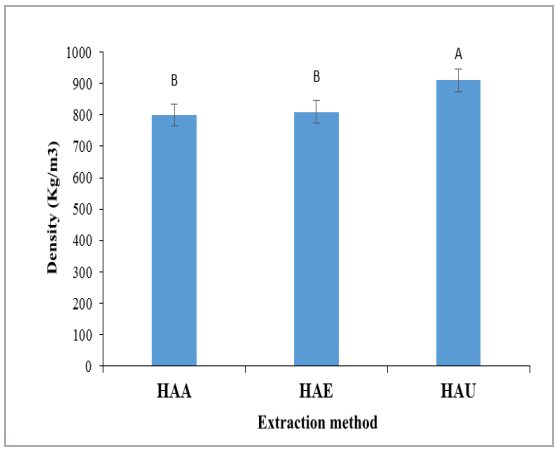

Fig 4 Effect of different methods of hyaluronic acid extraction on density
(Values by different letters show significant differences at 5% statistical level)

از طرف دیگر با توجه به استخراج مولکول‌های سبک وزن اسیدهیالورونیک توسط روش اولتراسونیک در تیمار HAU این احتمال وجود دارد که تعداد بیشتری مولکول‌های سبک

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

وزن و کوتاه زنجیر از این ترکیب در واحد حجم نمونه تجمع کرده باشند که منجر به افزایش جرم حجمی نمونه‌های استخراج شده با این روش می‌شوند [۲۷]. استخراج به کمک امواج فراصوت (فرکانس بالاتر از ۲۰ کیلوهرتز) می‌تواند انتقال جرم و حرارت را سرعت بخشد [۲۷]. امواج فراصوت پس از تعامل با مواد گیاهی و یا بافت حیوانی، خواص شیمیایی و فیزیکی آن را تغییر می‌دهند و اثر کاویتاسیونی[1] آن، رهاسازی ترکیبات قابل استخراج را تسهیل کرده و انتقال جرم را از طریق تخریب دیواره سلولی افزایش می‌دهد [۲۷].

۳-٤-بررسی تأثیر روش‌های مختلف استحصال اسیدهیالورونیک بر ویسکوزیته

میانگین تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های تهیه شده به روش‌های مختلف، در جدول ۱ به تصویر کشیده شده است. با توجه به جدول ۱ مشخص شد که سه تیمار مورد بررسی نتوانستند از نظر آماری تفاوت قابل ملاحظه‌ای در میانگین ویسکوزیته نمونه‌ها ایجاد کنند (P>۰/۰۵) به طوری که میانگین ویسکوزیته در تیمار HAA (۰/۰۹ پاسکال در ثانیه)، در تیمار HAE (۰/۰۸ پاسکال در ثانیه) و در تیمار HAU (۰/۱۱ پاسکال در ثانیه) گزارش شد. پژوهش‌ها نشان دادند که درجه حرارت و pH فاکتورهای مؤثر بر بازده، میزان خلوص و ویسکوزیته صمغ استخراج شده هستند[۲۲]. از این رو، پژوهشگران pH پایین که در محدوده کمی اسیدی تا خنثی است را بر ویسکوزیته ظاهری مؤثر دانستند. آن‌ها اعلام کردند با افزایش اسیدیته، کاهش pH و افزایش دما، ویسکوزیته ظاهری صمغ استخراج شده کاهش می‌یابد[۲۲]. سکونی رواسان و آصفی (۱۳۹٦) گزارش کردند که علی‌رغم غلظت پایین صمغ استخراج شده از گیاه بامیه که تحت شرایط قلیایی انجام شد، ویسکوزیته ظاهری نمونه افزایش یافت [۱۳]. علت این موضوع به غالب بودن پیوندهای اکسیژن-هیدروژن در این صمغ نسبت داده شد که نشان‌دهنده وجود مقدار زیاد واحدهای تشکیل دهنده اسیدگالاکتورونیک در ساختار این ترکیب بود. در پژوهش حاضر با توجه به اثر تأیید شده pH بر ویسکوزیته، افزایش ویسکوزیته در تیمار HAU در مقایسه با دو تیمار دیگر می‌تواند به دلیل پیوندهای درون مولکولی ایجاد شده تحت تأثیر امواج فراصوت باشد. همچنین تحت تأثیر این امواج، هیدرولیز جزئی پروتئین‌ها و تغییر در ساختار فضایی آن‌ها رخ داده که می‌تواند باعث تجمع مولکول‌ها و افزایش گرانروی تیمار مذکور شود هرچند که این افزایش ویسکوزیته در مقایسه با دو تیمار دیگر معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). در واقع تحت تأثیر امواج اولتراسونیک، پیوندهای غیرکووالان که باعث پایداری ساختار فضایی پروتئین‌ها می‌شوند تخریب شده و دناتوراسیون رخ می‌دهد و سپس دوباره بهم پیوستن زنجیرها (بازآرایی[2]) و تجمع مولکول‌های پروتئین بعلت ایجاد اتصلات درون مولکولی، موجب تشکیل شبکه‌ای می‌شود که آب را در خود گیر انداخته و منجر به تشکیل ژل و افزایش ویسکوزیته می‌شود [۱]. لازم به ذکر است که تفاوت در ویسکوزیته نمونه‌ها می‌تواند مربوط به ساختار شیمیایی و وزن مولکولی هیدروکلوئید موجود در آن‌ها نیز باشد. اصولا" هر چه اندازه و وزن مولکولی هیدروکلوئید بیشتر باشد، اصطکاک بین مولکول‌ها و در نتیجه ویسکوزیته بیشتر خواهد بود. نوع ساختارهای شیمیایی نیز اعم از سخت یا منعطف، شاخه‌دار یا بدون انشعاب، وجود گروه‌های باردار و یا بدون بار تأثیر مستقیم بر ویسکوزیته و رفتار رئولوژیکی هیدروکلوئید مورد نظر دارند [۱]. همان طور که پیشتر نیز اشاره شد با توجه به تخریب زنجیره‌های بلند و سنگین وزن اسیدهیالورونیک تحت تأثیر مجاورت با امواج فراصوت در تیمار HAU و احتمال ایجاد پیوندهای درون مولکولی و افزایش اصطکاک بین مولکولی، شاهد افزایش ویسکوزیته این نمونه هرچند غیرمعنی‌دار (P>۰/۰۵) در مقایسه با سایر تیمارها هستیم.

۳-۵-بررسی تأثیر روش‌های مختلف استحصال اسیدهیالورونیک بر پارامترهای رنگ سنجی

جدول ۱ نتایج مربوط به تأثیر روش‌های مختلف استحصال اسیدهیالورونیک را بر پارامترهای رنگ سنجی نشان می‌دهد. آنالیز واریانس نمونه‌های مورد بررسی حاکی از معنی‌دار بودن اثر نوع روش استخراج بر پارامترهای L* و b* در سطح اطمینان مورد بررسی بود (P<۰/۰۵). این در حالی است که هر سه روش مورد بررسی HAU، HAE و HAA نتوانستند منجر به ایجاد اختلاف آماری معنی‌داری در سطح مورد آزمون بر روی پارامتر a* شوند (P>۰/۰۵). نتایج حاصل از این پژوهش با نتایج گزارش شده توسط محمدزاده میلانی و

1. Cavitation

2. Rearrangement

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

همکاران (۱۳۸٦) هم‌خوانی داشت [۲۸]. آن‌ها اعلام کردند که شرایط استخراج نظیر حلال، دما و pH عصاره حاصل از گیاه باریجه (*Ferula galbaniflua*) که حاوی صمغ است، تأثیری بر رنگ نمونه‌ها نداشت و نمونه‌ها تفاوت قابل توجهی با یکدیگر نشان ندادند. با توجه به نتایج جدول ۱ به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین میزان روشنایی در تیمارهای HAE و HAA مشاهده شد (P<۰/۰۵) در حالی که در دو تیمار HAU و HAE به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین میزان زردی رؤیت گردید (P<۰/۰۵).

Table 1 Effect of different methods of extraction on viscosity and color parameters

Method	Attribute			
	Viscosity ($pa.s^{-1}$)	L*	a*	b*
HAA	0.09 ± 0.00A	16.6 ±2.11 B	-0.15 ± 0.03A	-0.27 ± 0.01B
HAE	0.08 ± 1.05A	23.74 ±8.47 A	-0.56 ± 0.24A	-1.71 ± 0.37C
HAU	0.11 ± 0.85A	23.21 ±8.53 A	-0.12 ±0.05 A	0.9 ± 0.02A

Values by different letters are significantly different (P<0.05).

با توجه به بالاتر بودن میزان اسیدهیالورونیک استحصالی در تیمارهای HAE و HAU این انتظار وجود دارد که ترکیبات هیدروکلوئیدی آن‌ها با جذب آب آزاد موجود در محیط و تغییر در انعکاس نور موجب کدورت بیشتر در این دو نمونه شوند اما برخلاف انتظار، پارامتر رنگی*L در این دو نمونه نه تنها کاهش نیافت بلکه روشنایی این نمونه‌ها افزایش نیز یافت. بنظر می‌رسد تغییراتی که در طیف رنگی عصاره‌های تهیه شده به روش‌های مختلف اتفاق می‌افتد با پارامترهای متداول ارزیابی شده توسط روش‌های کالری‌متری نظیر رنگ‌سنجی با هانترلب قابل مشاهده نباشد. از طرف دیگر این احتمال نیز وجود دارد که گروه‌های هیدروکسیل موجود در ساختار پلی‌ساکاریدهای استخراج شده در عصاره که قابلیت ایجاد کمپلکس با یون‌های فلزی (آهن، مس و آلومینیم) را دارند، ترکیبات رنگ‌زای ناپایداری را ایجاد کنند که تحت شرایط اسیدی موجود در عصاره سریعا" اکسید شده و منجر به افزایش روشنایی نمونه شوند[۲۹] که با توجه به فعالیت ضداکسایشی [۲۳] و شلاته کردن رادیکال‌های آزاد[1] [۳۰] توسط اسیدهیالورونیک موجود در عصاره تاج خروس، این احتمال دور از انتظار نیست. مثبت بودن پارامتر رنگی*b نیز نشان‌دهنده طیف رنگی زرد در تیمار HAU بوده در حالی که منفی بودن شاخص*b در تیمار HAE نمایانگر متمایل بودن طیف رنگی آن به سمت طیف آبی می‌باشد. همچنین منفی بودن شاخص *aنشان می‌دهد که این اعداد در فضای رنگ سبز بوده‌اند [۳۱ و۳۲]. معمولا" رنگ سبز به دلیل حضور ویتامین‌های گروه B مانند ریبوفلاوین و مواد معدنی می‌باشد که می‌توانند روی شاخص‌های رنگی اثر بگذارند. کمترین مقدار پارامتر*a در تیمار HAE تعیین شد که نمایانگر تمایل آن به سمت طیف سبز می‌باشد اما بالاتر بودن مقادیر این پارامتر در دو تیمار دیگر HAU وHAA تمایل این دو تیمار را به سمت طیف قرمز نشان می‌دهد. با توجه به حضور قندهای احیاءکننده و ترکیبات پروتئینی در عصاره بدست آمده، دلیل احتمالی آن می‌تواند بروز واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی[2] طی استخراج باشد و با توجه به این که رنگ قهوه‌ای به لحاظ طیف رنگی تا حدی به قرمز نزدیک است این امر بعید به نظر نمی‌رسد [۳۲].

٤- نتیجه‌گیری

با توجه به این که یافتن هیدروکلوئیدهای جدید از منابع گیاهی و حیوانی با ویژگی‌های مناسب جهت استفاده در صنعت اهمیت ویژه‌ای دارد یافته‌های این پژوهش حاکی از وجود بیشترین میزان اسیدهیالورونیک در ترسیب و خالص‌سازی توسط سرم فیزیولوژی و اتانول بود. همچنین، بالاترین میزان روشنایی و پایین‌ترین میزان pH و چگالی نیز در روش مذکور مشاهده شد. اما نوع روش استحصال بر ویسکوزیته نمونه‌های مورد بررسی مؤثر نبود. بر اساس شواهد ارائه شده در این پژوهش به ویژه نتایج آزمون ویسکوزیته، اسیدهیالورونیک حاصل از ضایعات پس از کشتار طیور، قابلیت استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی به خصوص ترکیبات لبنی جهت بهبود ویژگی‌های بافتی را دارا بوده اما معرفی غلظت مطلوب، نیاز به تحقیقات گسترده‌تر دارد.

1. Free radical scavenging activities

2. Non-enzymatic browning

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]
[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]
[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

۵- منابع

[1] Fatemi, H. 2000. Food Chemistry. Enteshar Corporation Eds. 480pp. [In Persian].

[2] Sakhvatizadeh, S., Sadeghzadehfar, SH. 2012. The effect of guar gum as a fat substitution on some chemical and sensory properties of low fat yogurt. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 2:29-38[In Persian].

[3] Pourzardosht, N., Rasaee, M.J. 2017. Improved yield of high molecular weight hyaluronic acid production in a stable strain of *Streptococcus zooepidemicus* via the elimination of the hyaluronidase-encoding gene. *Molecular Biotechnology*.doi:10.1007/s12033-017-0005-z

[4] Zakeria, A., Rasaeeb, M.J, Pourzardosht, N. 2017. Enhanced hyaluronic acid production in *Streptococcus zooepidemicus* by over expressing HasA and molecular weight control with Niacin and glucose. *Biotechnology Reports*, 16:65-70.

[5] Hamad, G.M., Taha, T.H., Elsayed, E., Hafez, E.H., Sohaimy, S.E. 2017. Physicochemical, molecular and functional characteristics of hyaluronic acid as a functional food. *American Journal of Food Technology*, 12(2): 72-85.

[6] Martinez-puig, D., Moller, I., Fernandez, C., Chetrit, C. 2013. Efficacy of oral administration of yoghurt supplemented with a preparation containing hyaluronic acid (Mobilee™) in adults with mild joint discomfort: a randomized, double-blind, placebo-controlled intervention study. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 6:63-68

[7] Moriña, D., Fernández-Castillejo, S., Valls, R.M., Anna Pedret, A., Taltavull, N., Romeu, M., Giralt, M., Montero, M., Bernal, G., Faba, J., Pérez-Merino, L., Gonzalez, R., Casajuana, M.C., Rodríguez, A., Arola, L., Puiggrós, F., Möller, I., Chetrit, C., Martinez-Puigf D. Solà R. 2018. Effectiveness of a low-fat yoghurt supplemented with rooster comb extract on muscle strength in adults with mild knee pain and mechanisms of action on muscle regeneration. *Food and Function*.doi:10.1039/C8FO00286J

[8] Dalili, R., Pirsa, S., Jahan goshayesh, T. 2015. Different methods of Okra extraction. *The first national congress for the development and promotion of agricultural engineering and soil sciences in Iran* [In Persian].

[9] Keshani dokht, SH., Yarmand, M.S., Emam jomeh, Z. 2015. Optimization of gum extraction conditions from *Cordia myxa* fruit by ultrasonic method and investigation of physicochemical properties. *Thesis for fulfillment of M.Sc. degree in food science and technology* [In Persian].

[10] Ghobadi, E., Varidi, M., Varidi, M.J., Koochaki A. 2018. Fenugreek Seed Gum: Optimization of extraction and evaluation of antioxidant properties. *Journal of Innovative Food Technologies*, 5(3):447-468 [In Persian].

[11] Hassanpoor Amineh, A., Jooyandeh H., Hojati M., Nasehi B. 2016. Evaluation of physicochemical and rheological gum extracted from *Malva Neglecta. Food Technology and Nutrition*, 15(2) [In Persian].

[12] Raiesi, F., Razavi, S. H., Hojjatoleslamy, M., Mohammadian, M. 2014. Investigation of extraction methods of rice bran in order to using in the formulation of beverages. *Journal of Food Science and Technology*, 42(11):9-18[In Persian].

[13] Sokouni Ravasan, M., and Asefi, N. 2017. Extraction of okra plant gum and evaluation of its physicochemical properties. *Journal of Food Industry Research*, 28(4):31-43 [In Persian].

[14] Hafsa, J., Chaouch, M.A., Charfeddine, B., Rihouey, C., Limem, K., Le Cerf D., Sonia Rouatbi, S., Majdo, H. 2017. Effect of ultrasonic degradation of hyaluronic acid extracted from rooster comb on antioxidant and antiglycation activities. *Pharmaceutical Biology*, 55(1):156-163.

[15] Selyanin, M.A., Boykov, P.Y., Khabarov, V.N., Polyak, F. 2015. Hyaluronic Acid: Preparation, properties, application in biology and medicine. 1 Ed. ISBN:9781118633793.doi:10.1002/9781118695920

[16] Fotouhi Chahki, F., Jafarian, V., Aminzadeh, S., Tabandeh, F., Khodabandeh, M. 2017. Investigation of the possibility of production and increase of hyaluronic acid by some GRAS bacteria. Thesis for a master's degree in biology majoring in biochemistry. Department of Biology, Faculty of Science, Zanjan University.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

sodium and potassium chloride salts and pH on the properties of fenugreek seed gum. *Journal of Food Processing and Preservation*, 1:49-64[In Persian].

[26] Heidari Delfard, F., Taghizadeh, M., Razavi, M.A. 2016. The effect of temperature and soluble solids on the physical-thermal properties of malt extract. *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, 12(5): 706-715[In Persian].

[27] Mahrani, B., Barzegar, M., Sahari, M., Dehghani, H. 2004. Optimization of Iranian flaxseed gum extraction by answer page method. *Agricultural Science and Technology and Natural Resources*, 4:145-155[In Persian].

[28] Sahoni R., Asefi N. 2017. Extraction of gum from okra plant and study of its physico-chemical properties. *Journal of Food Industry Research*, 28(4):31-43[In Persian].

[29] Mohammadzadeh Milani, J., Imam Juma, Z., Safari, M., Hamedi, M. 2007. Optimization of gum extraction conditions from *Ferula galbaniflua*. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 38(1):105-111[In Persian].

[30] Maskan, M. Gogus, F. 2000. Effect of sugar on their rheological properties of sunflower oil-water emulsions. *Journal of Food Engineering*, 43:173-177.

[31] Heidarizadeh, M., Mohammadi, CH. 2015. Investigation of the effect of metal ions and pH on the stability of the dye solution extracted from the skin of walnut fruit (*Juglans rigia*). *Iranian Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 1(1):77-86 [In Persian].

[32] Garcia-Perez, F.J., Lario, Y., Fernandez-Lopez, J., Sayas, E., Perez-Alvarez, A., Ozcan, T. Kurtuldu, O. 2014. Influence of dietary fiber addition on the properties of probiotic yogurt. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(5):78-84.

[17] AOAC. 2007. Official methods of analysis. Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists.

[18] Institute of Standards and Industrial . Research of Iran. 1995. Determination of density. ISIRI no. 638. 1st Revision, Karaj: ISIRI [In Persian].

[19] Amiri Aghdaei, S., Aalami, M., Rezaei. R. 2010. The influence of fleawort seed hydrocolloid on physicochemical and sensory characteristic of low fat yogurt. *Iranian Journal of Food Science and Technology Research*, 6(3): 209-201.

[20] Zamani, Z., Razavi, M.A., Amiri, M. 2020. Investigation of physic-mechanical properties of *Urtica pilulifera* and optimization of its gum extraction conditions by response surface methodology. *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 1(2):143-160[In Persian].

[21] Abdallah, M.M., Fernándeza, N., Matiasa, A., Bronzea, M.R. 2020. Hyaluronic acid and chondroitin sulfate from marine and terrestrial sources: Extraction and purification methods. *Carbohydrate Polymers*, 243:116441. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116441

[22] Ghasempour, Z., Alizadeh, M. Rezazad, M. 2011. Optimization of probiotic yogurt production containing Zedo gum. *Electronic journal of food processing and preservation*, 2(3):57-70.

[23] Zhou, C., Wang, Y., Ma, H., He, R. 2008. Effect of ultrasonic degradation on in vitro antioxidant activity of polysaccharides from *Porphyra yezoensis*. *Food Science and Technology International*, 14:479-486

[24] Cavalcanti, A.D.D., Melo, B.A.G., Oliveira, R.C., Santana, M.H.A. 2018. Recovery and purity of high molar mass bio-hyaluronic acid via precipitation strategies modulated by pH and sodium chloride. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. doi:10.1007/s12010-018-02935-6

[25] Arabi, T., Farhoosh R., Mohebbi, M., Golmohammadzadeh, SH. 2019. Effect of

Iranian Journal of Food Science and Technology

Homepage:www.fsct.modares.ir

Scientific Research

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2024-05-05]

[DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4]

[DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79]

Comparison of physicochemical and rheological characteristics of hyaluronic acid extracted from rooster comb using different methods

Tabari Shahandasht, N.[1], Bolandi, M. [2*], Rahmati, M. [3], Jafarisani, M. [4]

1. PhD Student of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
2. Associate Professor of Food Science and technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.
3. Department of Medical Biotechnology, School of Medicine, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.
4. School of Allied Medical Sciences, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2021/ 11/ 26
Accepted 2022/ 06/ 27

Keywords:

Food enrichment,
Hyaluronic acid,
Hydrocolloid,
Osteoarthritis,
Rooster comb.

DOI: 10.22034/FSCT.19.127.79
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.127.11.4

*Corresponding Author E-Mail:
M.Bolandi@Damghaniau.ac.ir

ABSTRACT

Nowadays, conversion industries with the objective of reducing production costs in the country are of great importance. On one hand, considering the high amount of waste after poultry slaughter in Iran, on the other hand, there are a lot of evidences related to the beneficial effects of hyaluronic acid on human health, especially in the treatment of joint diseases such as osteoarthritis. Many efforts have been carried out to make the best usage of these wastes. Therefore, the purpose of this study was to obtain the hyaluronic acid from rooster comb tissue with suitable physicochemical and rheological properties to enrich various foods, including dairy products. In this research, after the initial preparation of rooster comb tissue, hyaluronic acid was extracted through three methods using ultrasound waves-ethanol, physiological serum- acetic acid and physiological serum-ethanol solvents. Then, the physicochemical and rheological attributes of the acquired hyaluronic acid were evaluated. Based on findings, the highest content of extracted hyaluronic acid (4.2 mg/g) was determined in the presence of physiological serum-ethanol solvents ($P<0.05$). Also, the hydrocolloid was extracted through the mentioned method, had the highest brightness (23.74) and the lowest pH (6.76) and density (810 kg/m^3) ($P<0.05$). However, the influence of different extraction methods on viscosity was insignificant ($P>0.05$). Hence, the results of the present study showed that the physiological serum-ethanol are an appropriate solvents for extracting and purifying hyaluronic acid, which could be used as a functional food additive.