

# بررسی اثر شرایط نگهداری بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی کرم گردو

سید حمید رضا ضیاء الحق<sup>۱\*</sup>، مصطفی مظاہری تهرانی<sup>۲</sup>، سید محمد علی رضوی<sup>۳</sup>

حسن رشیدی<sup>۴</sup>

- ۱- دانشآموخته دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد و استادیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان سمنان (شهرود)، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرود، ایران
- ۲- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۳- استاد گروه صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
- ۴- استادیار گروه صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۶/۰۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۰۶)

## چکیده

گردو یکی از میوه‌های سرشار از انرژی، پروتئین، مواد معدنی و سایر ترکیبات می‌باشد. همچنین مقدار زیادی روغن دارد و به همین علت می‌توان آن را به محصولی مالش‌پذیر تبدیل کرد. در این تحقیق ما شرایط نگهداری کرم گردو را بررسی نمودیم. بدین منظور با توجه به کارهای اولیه، یک نمونه کرم گردو با فرمولاسیون مشخص را تولید کرده و به نمونه‌ها مقدار ۰ تا ۰/۰۲ درصد آنتی اکسیدان BHT افزودیم. سپس آن‌ها را داخل ظروف پلی-اتیلنی در دماهای ۴، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۱۵، ۵۵ و ۹۰ روز نگهداری کردیم. در زمان‌های مختلف نگهداری میزان جدا شدن روغن از کرم، خواص اکسیداتیو و آلودگی نمونه‌ها را بررسی نمودیم. نتایج نشان داد که جدا شدن روغن از نمونه‌ها از ۰/۵ درصد در دمای ۴۰ درجه تا ۱/۰۸ درصد در دمای ۴۰ درجه افزایش یافت. همچنین پس از ۱۵ روز نگهداری، میزان جدا شدن روغن تنها ۰/۴۷ درصد بود، درحالی‌که جدا شدن روغن از کرم بعد از ۹۰ روز نگهداری به ۱/۰۹ درصد رسید. عدد پراکسید نمونه‌ها نیز با افزایش دما و زمان نگهداری بالا رفت و از ۲/۱۳ در نمونه‌های نگهداری شده در یخچال تا ۲/۵۵ در نمونه‌های نگهداری شده در ۴۰ درجه افزایش یافت. افزودن آنتی اکسیدان سبب کاهش عدد پراکسید شد ولی عدد پراکسید نمونه‌ها در غلظت صفر درصد BHT نیز در محدوده قابل قبول قرار داشت. نتایج نشان داد که بهترین دما برای نگهداری کرم گردو دمای یخچال می‌باشد که در این شرایط تا بیش از ۳ ماه بدون هیچ‌گونه نگهدارنده‌ای قابل نگهداری است.

**کلید واژگان:** اکسیداسیون، جدا شدن روغن، زمان ماندگاری، کرم گردو

نگهداری تا ۱۲ هفته به تدریج اکسیداسیون این کرم افزایش می‌یابد [۱۰].

در کشور ایران گردو یکی از مغزهایی است که به طور سنتی در وعده صبحانه استفاده می‌شود، گردو سرشار از پروتئین‌ها، چربی‌ها، مواد معدنی و انرژی فراوان است. مقدار این مواد در مقایسه با سایر مغزها بسیار زیاد است. گردو حاوی ویتامین‌های گروه B بوده و از نظر ویتامین B6 نسبت به بادام، گردوبی بزریلی، بلوط، فندق و پکان غنی‌تر است. میزان گردوبی ویتامین A و C در گردو بسیار کمتر است. مغز گردو حاوی حدود ۷۵ تا ۶۰ درصد روغن است و ترکیبات عده‌آن شامل اسید لینولنیک، اسید اولنیک و اسید لینولنیک می‌باشد. مغز گردو و روغن آن میزان سرم خون، کلسترول، تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها را کاهش می‌دهد [۱۱]. ما در پژوهش‌های قبلی خود شرایط تولید و فرمولاسیون کرم گردو را بهینه سازی نموده بودیم (داده‌های منتشر نشده) و هدفمان در این پژوهش بررسی اثر زمان و دمای نگهداری بر ویژگی‌های اکسیداتیو، میکروبی و حسی کرم گردوبی تولید شده بود.

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۱-۱- تهیه کرم گردو

برای تهیه کرم گردو پس از برداشت گردو و جدا کردن پوست سبز، آن‌ها را تا محتوای رطوبت حدود ۶ درصد در مقابل جریان هوای طبیعی خشک نمودیم. سپس آن‌ها را مغز کرده و در دمای ۱۱۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۲ دقیقه (بر اساس داده‌های منتشر نشده نویسنده‌گان) برداشت نموده و پس از سرد شدن با کمک یک آسیاب دستی به پودر با میانگین اندازه ذرات یک میلی‌متر تبدیل شدند. در فرآیند تولید کرم گردو برداشت کردن یک مرحله ضروری می‌باشد. این فرآیند باعث می‌شود که روغن موجود در بافت و سلول‌های گردو راحت‌تر جاری شده و به محصول حالت کرمی و مالش پذیری مناسبی بدهد. البته اگر این فرآیند به دقت انتخاب نشود، در مرحله نگهداری سبب جدا شدن روغن از بافت می‌گردد که مطلوب نیست. دما و زمان برداشت کردن در پژوهش قبلی نویسنده‌گان بهینه سازی شده بود (داده‌های منتشر نشده). سپس بر اساس فرمول بهینه به دست آمده از آزمایشات اولیه (داده‌های منتشر نشده)، مقدار مناسب از پودر گردو همراه با بقیه مواد شامل

### ۱- مقدمه

کرم و کرم مغزها محصولات مالش پذیری هستند که از مغزهای خرد شده و تبدیل شده به خمیره حاصل می‌شوند. این محصولات معمولاً حاوی خمیره مغز (یعنی مغز برشته و خرد شده)، پایدارکننده، امولسیفار، شیرین کننده، نمک و ترکیبات دیگر می‌باشند. خمیره‌های متعدد و متفاوتی از انواع مغزها تاکنون برای تهیه کرم مورد استفاده قرار گرفته‌اند که هر یک دارای مزایا و معایبی می‌باشند. کرم مغزها کاربردهای متعددی دارند که متدائل‌ترین کاربرد آن‌ها استفاده در تهیه ساندویچ و یا مالیدن آن روی نان و مصرف در وعده صبحانه می‌باشد. سایر کاربردهای آن‌ها شامل استفاده در انواع محصولات پخت و نانوایی و همچنین تزئین کراکرهای و یا به عنوان روکش برای قطعات سبزیجات می‌باشد [۱ و ۲].

تاکنون کرم‌هایی با ویژگی‌ها و فرمولاسیون‌های مختلف از انواع مغزهای آجیلی تولید شده‌اند. هر کدام از این کرم‌ها نیز از لحاظ مواد تشکیل دهنده، اندازه ذرات، کم چرب یا پر چرب بودن و غیره با یکدیگر متفاوت می‌باشند. بیشترین کارهای تحقیقاتی انجام شده در این ارتباط مربوط به کرم بادام زمینی می‌باشد، به طوری که سالانه یک سوم بادام زمینی تولیدی جهان صرف تهیه کرم بادام زمینی می‌شود. دانه‌ها و مغزهایی که تاکنون بدین منظور مورد استفاده قرار گرفته‌اند شامل دانه‌ی کنجد [۳]، مغز بادام زمینی [۴]، پسته [۵]، بادام [۶]، فندق [۷] و گردو [۸] می‌باشند. آکبولوت و همکاران (۲۰۰۸) ویژگی‌های فیزیکوشیمیابی و رئولوژیکی کرم کنجد را بررسی کرده و نشان دادند که با افزایش دما از ۱۵ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد بر ویسکوزیته کرم کنجد افزوده می‌شود [۳]. کرم-هایی که تهیه می‌شوند باید حداقل حاوی ۴۰ درصد از مواد جامد این مغزا باشند. موئگوناناسخاران و ریساریکسیون (۱۹۹۲) خواص حسی و فیزیکوشیمیابی کرم بادام زمینی نگهداری شده در دماهای مختلف را بررسی نمودند. آن‌ها در مطالعه خود از دماهای ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درجه سانتی‌گراد استفاده کرده و نشان دادند که کمترین تغییرات ویژگی‌های حسی و فیزیکوشیمیابی در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد رخ می‌دهد [۹]. سومینا و همکاران (۲۰۰۰) پایداری اکسیداتیو و طعم مخلوط کرم بادام زمینی و کنجد نگهداری شده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد را بررسی کرده و نشان دادند که با افزایش زمان

داخل حلال استخراج شود. سپس حلال در دمای حدود ۴۰ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت تبخیر شد. آنچه پس از تبخیر حلال در ته ظرف باقی می‌ماند روغن گردو است [۱۴].

عدد پراکسید طبق استاندارد شماره ۴۱۷۹۴ اندازه گیری شد. به این صورت که ابتدا حدود ۵ گرم روغن گردوی استخراج شده به روش پیش گفته را داخل یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و سپس ۳۰ میلی لیتر محلول ۳ به ۱ اسید استیک-کلروفرم به آن اضاف می‌کنیم. مخلوط را به مدت حدود نیم دقیقه هم می‌زنیم تا روغن در حلال حل شود. سپس ۰/۵ میلی لیتر محلول اشاعر یدید پتانسیم به آن اضافه کرده و ارلن را حدود یک دقیقه در محیط تاریک قرار می‌دهیم تا واکنش صورت گیرد. پس از آن حدود ۳۰ میلی لیتر آب مقطر به نمونه اضافه کرده و با محلول هیپوسولفیت سدیم N ۰/۰۱ نرمان تیتراسیون را تا کم رنگ شدن رنگ زرد ادامه می‌دهیم. سپس ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ۱٪ به نمونه اضافه کرده و تیتراسیون را تا از بین رفتن کامل رنگ ایجاد شده ادامه می‌دهیم. عدد پراکسید را از رابطه

۲ محاسبه می‌کنیم [۱۵]:

(رابطه ۲)

$$\frac{100 \times \text{رنگ} - \text{رنگ تیتراسیون}}{\text{رنگ تیتراسیون}} = \frac{\text{عدد پراکسید}}{\text{روغن}} \quad (۱)$$

اسیدیته طبق استاندارد شماره ۵۶۹۱ انجام شد. برای این کار حدود ۱۰ گرم روغن داخل یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری وزن شده و ۴۰ میلی لیتر مخلوط مساوی از الكل ۹۵ درجه و کلروفرم خشی شده به روغن داخل ارلن اضافه شده و نیم دقیقه به هم زده شد تا روغن در حلال حل شود. سپس عمل تیتراسیون با سود N ۰/۱ و در حضور معرف فتل فتالین تاثیت شدن رنگ صورتی صورت گرفت. اسیدیته روغن طبق رابطه ۳ به دست آمد [۱۶]:

(رابطه ۳)

$$\frac{100 \times \text{رنگ تیتراسیون با سود N ۰/۱}}{\text{رنگ تیتراسیون}} = \frac{\text{درصد اسیدیتی روغن}}{\text{آزاد}} \quad (۲)$$

تیوباریتوريک اسید مطابق استاندارد شماره ۱۰۴۹۴ اندازه گیری شد. بدین منظور ۲۰۰ میلی گرم از نمونه روغن به داخل بالن ۲۵ میلی لیتری انتقال داده شده و با ۱ بوتانل به حجم رسانده شد. پس از هم زدن و حل شدن روغن، ۵ میلی لیتر از این محلول داخل یک لوله آزمایش درب دار خشک ریخته شده و ۵ میلی لیتر معرف تیوباریتوريک اسید به آن اضافه شد.

آرد سویا و شکر داخل مخزن آسیاب گلوله‌ای با اندازه گلوله‌های سنگی بین ۲/۵ تا ۳/۵ سانتی‌متر اضافه افزوده شده و عمل آسیاب و کنج کردن برای مدت حدود ۱۰ ساعت ادامه یافت. در این آسیاب عمل کنج کردن نیز انجام می‌شود. کنج کردن یک مرحله ضروری در تولید کرم‌هاست که طی آن محصول به ویسکوزیته مناسب رسیده و بافت و طعم مناسب در کرم ایجاد می‌شود. زمان این مرحله بسته به ترکیب کرم متفاوت بوده و معمولاً بین ۸ تا ۱۰ ساعت می‌باشد [۱۲]. سپس نمونه آسیاب شده داخل ظروف پلی اتیلنی ۲۰۰ گرمی بسته بندی شده و برای مدت ۳ ماه در سه شرایط دمایی ۴، ۲۵ و ۴۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. دما و زمان نگهداری (سه ماه) بر اساس بررسی منابع [۹ و ۱۳] و این نکته که محصول ممکن است در یخچال، مناطق معتدل و یا مناطق گرمسیری در قفسه-ی فروشگاه‌ها نگهداری شود انتخاب شدند. برای بررسی اثر آنی اکسیدانی نمونه‌ها، مقدار صفر، ۰/۰۱ و ۰/۰۲ درصد آنتی-اکسیدان BHT به آن‌ها اضافه گردید.

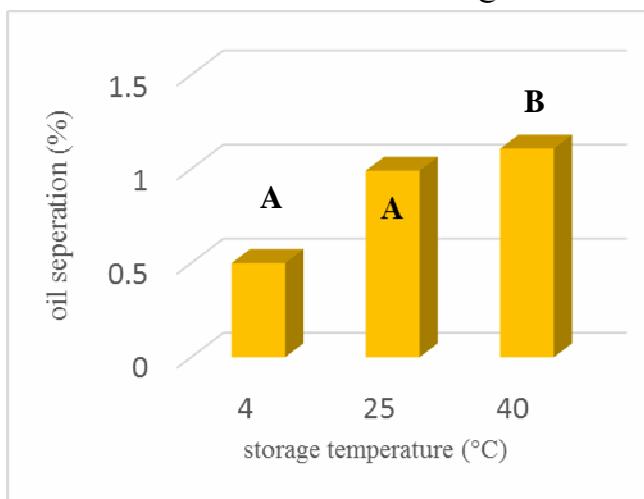
## ۲-۲- آزمایشات و طرح آماری

میزان جدا شدن روغن، عدد پراکسید، عدد اسیدی، عدد تیوباریتوريک اسید، شمارش کلی میکروبی و شمارش کپکی و همچنین ویژگی‌های حسی شامل طعم، بو، رنگ، مالش-پذیری و پذیرش کلی در فواصل زمانی ۰/۵۰ و ۹۰ روز اندازه گیری شدند. در نهایت با توجه به آنالیز نتایج با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و نرم افزار SPSS ویرایش ۱۹، بهترین شرایط نگهداری به دست آمد. آزمون حسی به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای و با استفاده از ۱۵ نفر داور حسی انجام شد. برای تعیین میزان جدا شدن روغن از روش وزنی استفاده شد به این ترتیب که ابتدا نمونه‌ها وزن شدند. بعد از گذشت زمان نگهداری، روغن جدا شده و قرار گرفته روی سطح ظرف حاوی نمونه خارج شده و توزین شد. سپس از رابطه ۱ برای تعیین درصد جدا شدن روغن استفاده گردید:

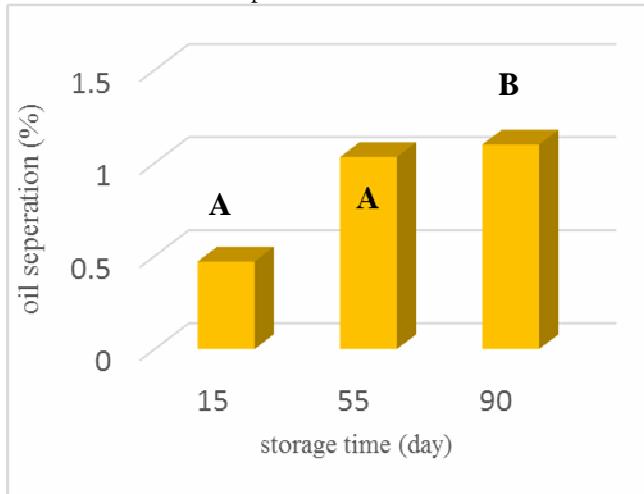
$$(رابطه ۱) \frac{100 \times \frac{\text{وزن روغن جدا شده}}{\text{وزن روغن}}} = \frac{\text{درصد جدا شدن روغن}}{\text{روغن}}$$

جهت اندازه گیری پایداری اکسیداتیو نمونه‌ها لازم است که ابتدا روغن آن‌ها استخراج شده و آزمایشات مربوطه بر روی روغن حاصله انجام شود. برای این منظور کرم گردو به نسبت ۵ به ۱ با حلال هگزان مخلوط شده و پس از هم زدن حدود ۲۴ ساعت در محل تاریک نگهداری شد تا روغن نمونه به

و کرم راحت‌تر جاری می‌شود [۳]. رادوکاج و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که کرم‌های تهیه شده از دانه‌ی روغنی سیاه‌دانه که حاوی درصدهای مختلفی از روغن افزوده شده و پایدارکننده بودند از لحاظ ظاهری بسیار شبیه کرم بادام زمینی تجاری بوده و در هیچ یک از این کرم‌ها بعد از ۷ روز نگهداری در دمای محیط روغن جدا شده قابل مشاهده‌ای وجود نداشت [۱۹]. موئگوگاتاناسخاران و ریساریکسیون (۱۹۹۲) نشان دادند که با افزایش دمای نگهداری از  $3^{\circ}\text{C}$  درجه تا  $50^{\circ}\text{C}$  درجه میزان جدا شدن روغن از کرم بادام زمینی افزایش می‌یابد، به طوری که در دمای  $30^{\circ}\text{C}$  درجه تا  $130^{\circ}\text{C}$  روز هیچ روغنی جدا نشد، در دمای  $40^{\circ}\text{C}$  درجه بعد از ۸۴ روز جدا شدن روغن قابل مشاهده بوده و در  $50^{\circ}\text{C}$  درجه بعد از ۱۴ روز روغن شروع به جدا شدن کرد [۹].



**Fig 1** The effect of storage temperature on the oil separation of walnut cream



**Fig 2** The effect of storage time on the oil separation of walnut cream

## ۲-۳- پایداری اکسیداتیو

لوله‌های آزمایش داخل بن ماری با دمای  $95^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت قرار داده شدند تا واکنش صورت گیرد. سپس تا دمای محیط سرد شده و جذب نمونه‌ها در طول موج  $532\text{ nm}$  اندازه‌گیری شد. جذب شاهد نیز که فقط حاوی حلال و معروف بود اندازه گیری شد و عدد تیوب‌اریتوريک اسید از رابطه ۴ به دست آمد [۱۷]:

$$(رابطه ۴)$$

$$\frac{\text{جذب شاهد - جذب نمونه}}{\text{وزن نمونه} \times 10^{-3}} = \frac{\text{عدد تیوب‌اریتوريک اسید}}{\text{وزن سایر بروجین}} \quad \text{---}$$

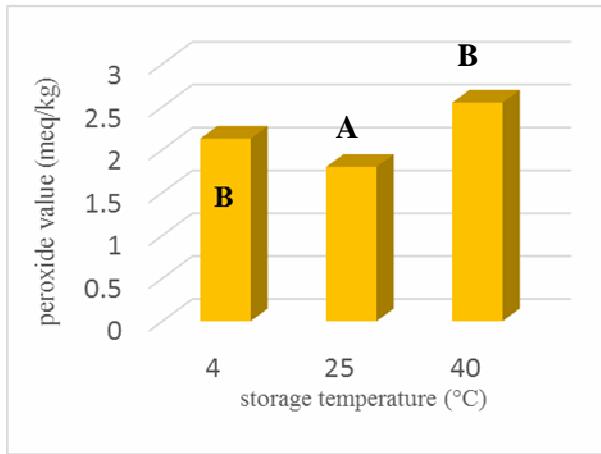
برای شمارش میکروبی کل از محیط کشت نوتربینت آگار و برای کشت کپک از محیط کشت PDA استفاده شد. تمام نمونه‌ها در چهار رقت  $0/0/1$ ,  $0/0/1$ ,  $0/0/0/1$  و  $0/0/0/0/1$  و هر یک در دو تکرار کشت شدند.

## ۳- نتایج و بحث

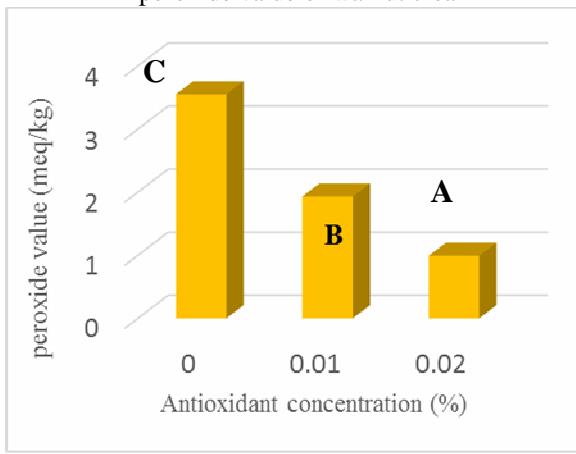
### ۳-۱- میزان جدا شدن روغن

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثرات دمای نگهداری و زمان نگهداری هر دو بر میزان جدا شدن روغن از کرم گرد و معنی‌دار می‌باشند ( $p<0.01$ ). دمای  $40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد بیشترین اثر را در میزان جدا شدن روغن از کرم گرد داشت و کمترین میزان جدا شدن روغن در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد رخ داد. بین دمای  $25^{\circ}\text{C}$  و  $40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد اختلاف معنی داری در جدا شدن روغن از نمونه‌ها مشاهده نشد (شکل‌های ۱ و ۲). ویسکوزیته روغن‌ها وابسته به دما بوده و با افزایش دما راحت‌تر جاری می‌شوند. همچنین ویسکوزیته روغن‌های حاوی اسیدهای چرب اشباع کمتر و با زنجیره کربنی کوتاه‌تر کمتر می‌باشد [۱۸]. در این مطالعه با توجه به این‌که در نمونه‌های نگهداری شده در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد روغن جدا شده‌ای مشاهده نشده یا مقدار آن بسیار کم بود می‌توان نتیجه گرفت که ویسکوزیته روغن موجود در کرم گرد و در دمای  $4^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای  $25^{\circ}\text{C}$  یا  $40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد بالاتر بوده و ترکیبات موجود در فرمولاسیون به خوبی توانسته‌اند روغن را درون بافت کرم حفظ کنند؛ ولی با افزایش دما به  $25^{\circ}\text{C}$  و  $40^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد ویسکوزیته کاهش یافته و روغن به تدریج از میان سلول‌ها و بافت کرم خارج شده و به دلیل کمتر بودن وزن مخصوصش روی سطح کرم جمع گردید. آکبیوت و همکاران (۲۰۰۸) نیز نشان دادند که با افزایش دما از  $15^{\circ}\text{C}$  تا  $25^{\circ}\text{C}$  درجه‌ی سانتی‌گراد بر ویسکوزیته کرم کنجد افزوده شده

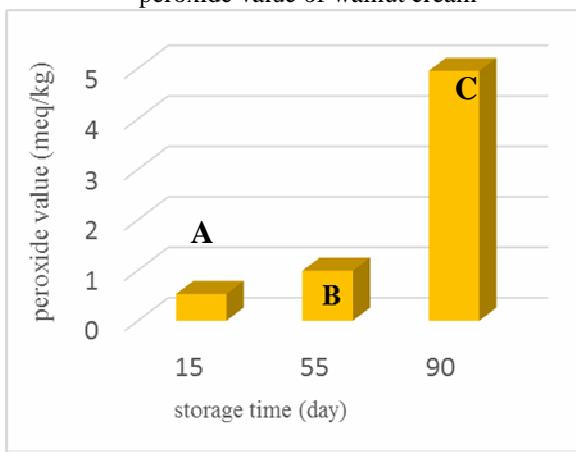
بوراناسومپوب و همکاران (۲۰۰۱) در مورد مغز بادام نشان دادند که بعد از ۳۰ روز نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی-گراد یا ۲۰ روز نگهداری در دمای ۳۵ درجه سانتی-گراد تغییر معنی داری در عدد پراکسید روغن استخراج شده از بادام وجود ندارد [۲۳].



**Fig 3** The effect of storage temperature on the peroxide value of walnut cream



**Fig 4** The effect of antioxidant concentration on the peroxide value of walnut cream



**Fig 5** The effect of storage time on the peroxide value of walnut cream

لیپازها، استرازها، لیپوکسیژنаз و پراکسیداز باعث ایجاد واکنش‌های اکسیداسیونی آنزیمی می‌شوند. لیپاز و استراز اسیدهای چرب را از چربی جدا کرده و تولید اسیدهای چرب آزاد می‌کنند. بنابراین اسیدهای چرب آزاد تشکیل شده می‌توانند سویسترای واکنش‌های اکسیداسیونی شوند. این آنزیم‌های لیپوئیلیک که درست در زیر پوسته نازک مغزها قرار گرفته‌اند در سلول‌های صدمه دیده قادر خواهد بود به چربی‌ها حمله کنند [۲۰]. در مورد پایداری اکسیداتیو نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر هر سه تیمار یعنی دمای نگهداری، غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان نگهداری بر عدد پراکسید نمونه‌ها معنی‌دار است ( $p < 0.01$ ). ولی در مورد اسیدیته تنها اثر غلظت آنتی‌اکسیدان ( $p < 0.05$ ) و در مورد عدد تیوباریتوریک اسید اثر غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان نگهداری  $40$  درجه سانتی-گراد بیشترین اثر را در باشند. دمای نگهداری  $40$  درجه سانتی-گراد بیشترین اثر را در افزایش عدد پراکسید نمونه‌ها داشت، ولی از این لحاظ اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های نگهداری شده در  $4$  درجه یا  $25$  درجه سانتی-گراد مشاهده نشد (شکل ۳). دما به عنوان یک پراکسیدان در مورد اکسیداسیون روغن‌ها عمل کرده و افزایش آن تا یک حد مشخص اکسیداسیون روغن را تشدید می‌کند [۲۱]. بیشترین میزان اکسیداسیون لیپیدهای مغزها در صورت نگهداری در شرایط محیط رخ می‌دهد و با افزایش دمای نگهداری از  $10$  درجه تا  $30$  درجه سانتی-گراد عدد پراکسید که نشانه پیشرفت اکسیداسیون است افزایش می‌یابد [۲۲]. این پژوهش نشان داد که دمای  $40$  درجه سانتی-گراد سبب تشدید اکسیداسیون و در نتیجه افزایش عدد پراکسید شده است ولی دمای  $25$  درجه نقش پراکسیدانی چندانی نداشته است. در مورد غلظت آنتی‌اکسیدان، بیشترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌های فاقد آنتی‌اکسیدان و کمترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی حاوی  $0.02$  درصد آنتی‌اکسیدان بود (شکل ۴). بنابراین می‌توان گفت که افزودن آنتی‌اکسیدان در کاهش اکسیداسیون مؤثربوده است. آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل BHT از طریق واکنش با رادیکال پراکسی سبب کاهش سرعت اکسیداسیون می‌شوند [۲۱]. البته در تمام نمونه‌ها میزان عدد پراکسید در محدوده قابل قبول از لحاظ میزان اکسیداسیون بود. در مورد زمان نگهداری نیز همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود، با افزایش زمان نگهداری از  $15$  روز تا  $90$  روز بر میزان عدد پراکسید به طور معنی‌داری افزوده می‌شود.

[۱۰]. مارتینز و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که با نگهداری روغن گردو به مدت ۴ ماه در دمای اتاق عدد اسیدی آن به مقدار ناچیزی تغییر می‌کند که نشان دهنده پایداری روغن گردو در مقابل تجزیه هیدرولیتیکی می‌باشد. با افزایش زمان نگهداری، عدد پراکسید افزایش یافت. آن‌ها نیز برای افزایش عدد پراکسید در طی زمان نگهداری یک مدل خطی با ضریب تبیین  $0.97 \times 10^{-4}$  را پیشنهاد دادند. آن‌ها اظهار داشتند که عدد پراکسید روغن گردو بعد از ۶۰ روز نگهداری به حد غیر قابل قبول می‌رسد [۱۳]. حد قابل قبول عدد پراکسید برای روغن‌ها گیاهی حاوی اسیدهای چرب چند غیر اشباعی به ویژه اسید لیپولنیک  $10 \text{ میلی} \text{M}\text{M}\text{L}$  اکسیژن به ازای هر کیلوگرم روغن می‌باشد [۲۴].

### ۳-۳- شمارش کلی و کپکی

تجزیه و تحلیل نتایج نشان داد که اثر تمام عوامل مورد بررسی بر شمارش کلی نمونه‌ها معنی‌دار می‌باشد ( $p < 0.01$ ) ولی هیچ یک از عوامل اثر معنی‌داری بر شمارش کلی کپک‌ها نداشتند. از آنجا که کپک‌ها برای رشد خود به اکسیژن نیاز دارند [۲۵] و از طرفی اکسیژن موجود در ظروف حاوی نمونه‌ها نیز محدود است، لذا رشد محلودی داشته و عوامل مختلف تأثیر معنی‌داری بر تعداد آن‌ها نداشتند. بیشترین تعداد میکروارگانیسم‌های شمارش شده در نمونه‌های مشاهده شد که در دمای  $25^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند. دمای مناسب برای رشد اکثر میکروارگانیسم‌ها دمای محیط می‌باشد [۲۵] و این نتیجه نشان می‌دهد که بیشتر میکروارگانیسم‌های موجود در کرم گردو از نوع مزوفیل بوده و رشد آن‌ها در دماهای  $4^\circ\text{C}$  درجه یا  $40^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد کمتر بوده است. در مورد غلظت آنتی‌اکسیدان تعداد میکروارگانیسم‌ها در غلظت‌های  $0.01$  و  $0.02$  درصد آنتی‌اکسیدان بیشتر از تعداد آن‌ها در نمونه‌های فاقد آنتی‌اکسیدان بود. علت این مسئله احتمالاً این می‌باشد که آنتی‌اکسیدان شرایط رشد میکروارگانیسم‌ها را مهیا نموده است. ایاز و همکاران (۱۹۸۰) در بررسی خود بر روی اثر ضدمیکروبی BHT و BHA نشان دادند که با افزایش غلظت این آنتی‌اکسیدان‌ها، رشد تراشهای مختلف استافیلکوکوس اورئوس کاهش می‌باید [۲۶]. ولی تحقیق ما نشان داد که شمارش کلی میکروبی در نمونه‌های فاقد آنتی‌اکسیدان کمتر بوده است. این پدیده ممکن است به این علت باشد که در غیاب آنتی‌اکسیدان، ترکیبات روغنی موجود در

در مورد اثرات متقابل نیز مشاهده شد اثر متقابل دما و روز ( $p < 0.05$ ) و اثر متقابل غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان نگهداری ( $p < 0.01$ ) بر عدد پراکسید نمونه‌ها معنی‌دار می‌باشدند. مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن نشان داد که بیشترین عدد پراکسید مربوط به نمونه‌هایی بود که در دمای  $40^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ روز نگهداری شده بودند (جدول ۱). در مورد اثر متقابل غلظت آنتی‌اکسیدان و زمان نگهداری نیز نمونه‌های نگهداری شده به مدت ۹۰ روز و فاقد آنتی‌اکسیدان بیشترین عدد پراکسید را داشتند (جدول ۲).

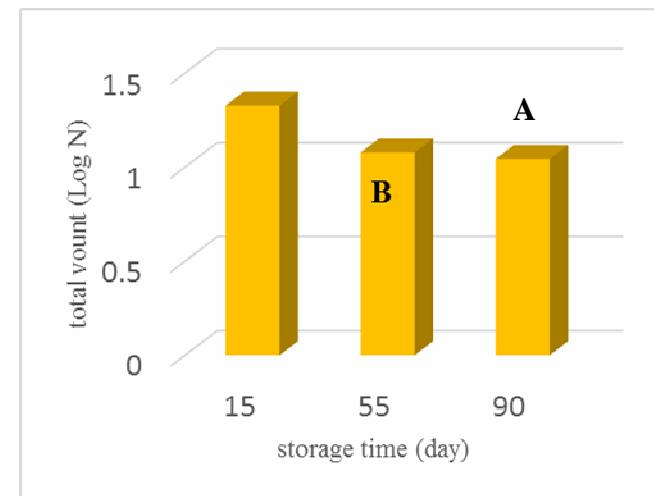
**Table 1** Comparison of means of the mutual effect of storage temperature and time on the peroxide value of walnut cream at 95% level

Temperature ( $^\circ\text{C}$ )	Time (day)	mean	Significance letters
4	15	0.53	DE
4	55	0.92	DE
4	90	4.93	B
25	15	0.38	E
25	55	0.90	DE
25	90	4.11	C
40	15	0.66	DE
40	55	1.17	DE
40	90	5.82	A

**Table 2** Comparison of means of the mutual effect of antioxidant concentration and storage time on the peroxide value of walnut cream at 99% level

Antioxidant concentration (%)	Time (day)	mean	Significance letters
0	15	0	F
0	15	1.18	DE
0	15	9.46	A
0.01	55	0	F
0.01	55	0.65	E
0.01	55	2.34	C
0.02	90	1.58	D
0.02	90	1.15	DE
0.02	90	3.06	B

موئگوگاناسخاران و ریساریکسیون (۱۹۹۲) نشان دادند که با افزایش دما و زمان نگهداری طعم اکسیداسیون در کرم بادام زمینی افزایش می‌یابد، به طوری که در دمای  $40^\circ\text{C}$  درجه سانتی‌گراد بعد از ۸۴ روز کرم بادام زمینی از لحاظ اکسیداسیون قابل استفاده نبود، اما در دمای  $30^\circ\text{C}$  درجه بعد از ۱۶۰ روز طعم اکسیداسیونی کرم بادام زمینی در حد غیر قابل قبول بود [۹]. سومینا و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که عدد پراکسید کرم بادام زمینی در طی ۱۲ هفته نگهداری به شدت افزایش می‌یابد



**Fig 8** The effect of storage time on the total count of walnut cream

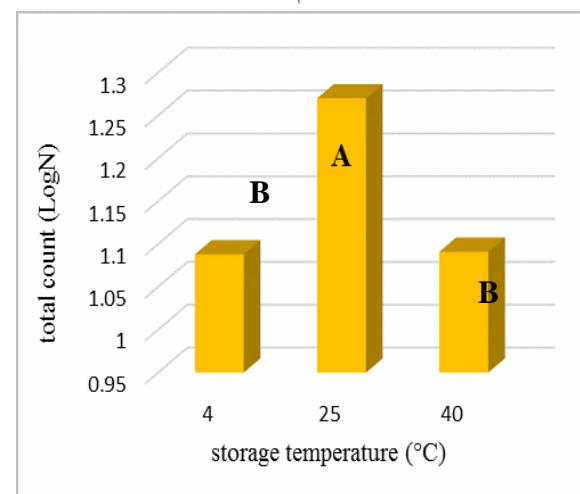
#### ۴-۳- ارزیابی حسی

نتایج آنالیز واریانس ارزیابی حسی (جدول ۳) نیز نشان داد که تیمارهای مورد استفاده در این مطالعه تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های حسی مورد بررسی نداشته‌اند ( $p > 0.01$ ). به عبارت دیگر می‌توان گفت با وجودی که با افزایش دما و زمان نگهداری شاخص‌های مربوط به اکسیداسیون نمونه‌ها افزایش یافته بود، ولی این افزایش در حدی نبوده است که ویژگی‌های حسی به ویژه طعم یا بوی کرم گردو را تحت تأثیر قرار دهد. اوزدمیر و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که عدد پراکسید کمتر از ۸ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم اثری بر کیفیت طعمی نمونه‌های فندق نداشته است [۲۸]. در پژوهش ما عدد پراکسید در تمام نمونه‌های مورد بررسی کمتر از ۵ میلی‌اکی‌والان بر کیلوگرم بود و نتایج ارزیابی حسی نشان داد که این میزان عدد پراکسید تأثیری بر کیفیت طعمی و بوی نمونه‌ها نداشته است.

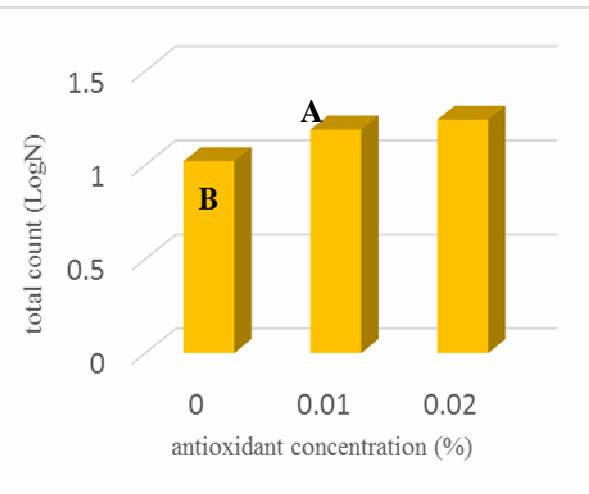
#### ۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق ما سعی نمودیم تا شرایط مناسب برای نگهداری کرم گردو را تعیین کنیم. نتیجه کار ما نشان داد که دما و زمان نگهداری هر دو در ماندگاری محصول تأثیر معنی داری دارند به طوری که با افزایش دما و زمان نگهداری ویژگی‌های مربوط به پایداری اکسیداتیو

کرم بیشتر اکسید شده‌اند و جون ترکیبات حاصل از اکسیداسیون از جمله پراکسیدها دارای اثر ضد میکروبی می‌باشند [۲۷]، رشد میکروبی نسبت به نمونه‌های حاوی آنتی-اکسیدان که کمتر اکسید شده بودند بیشتر شده است. از لحاظ زمان نگهداری هم بیشترین تعداد شمارش شده میکرووارگانیسم‌ها در نمونه‌هایی بود که به مدت ۱۵ روز نگهداری شده بودند و تعداد آن‌ها با افزایش زمان نگهداری کاهش یافت. این یافته نشان داد که میکرووارگانیسم‌ها در ابتدا به دلیل آلودگی‌های اولیه زیاد بوده ولی با توجه به مسدود بودن درپوش ظروف و همچنین بالا آمدن روغن در نمونه‌ها در طی زمان نگهداری به تدریج اکسیژن در دسترس میکرووارگانیسم‌ها کاهش یافته و در نتیجه رشد آن‌ها نیز با کاهش مواجه شده است. شکل‌های ۶ تا ۸ اثر عوامل مختلف بر شمارش کلی میکرووارگانیسم‌ها را نشان می‌دهد.



**Fig 6** The effect of storage temperature on the total count of walnut cream



**Fig 7** The effect of antioxidant concentration on the total count of walnut cream

میکروارگانیسم‌ها نیز در نمونه‌های مشاهده شد که در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده بودند. بنابراین بر اساس نتایج به دست آمده، شرایط مناسب برای نگهداری کرم گردو این است که آن‌ها را در داخل ظروف درب دار پلی‌اتیلنی در دمای یخچال نگهداری کرد. در این صورت می‌توان آن را تا بیش از ۳ ماه نگهداری کرد.

محصول مثل عدد پراکسید، عدد اسیدی و عدد تیوباربیتوریک اسید افزایش یافته و میزان جدا شدن روغن از کرم هم در طی زمان نگهداری افزایش می‌یابد. البته افزایش این شاخص‌ها ویژگی‌های حسی به ویژه طعم و بوی محصول را تحت تأثیر قرار نداند. همچنین نتایج نشان داد که تعداد میکروارگانیسم‌ها با افزایش زمان نگهداری تا ۹۰ روز کاهش می‌یابند و بیشترین تعداد

**Table 3** ANOVA of the effects of treatments on sensory attributes of walnut cream at 99% level

Source	DF	Flavor			odor			color			spreadability			Total acceptance		
		Mean squares	F	Sig.	Mean squares	F	Sig.	Mean squares	F	Sig.	Mean squares	F	Sig.	Mean square s	F	Sig.
A	2	0.004	0.179	0.837	0.024	0.540	0.589	0.012	0.114	0.893	0.032	0.489	0.619	0.062	0.673	0.519
B	2	0.037	1.877	0.172	0.087	1.971	0.159	0.029	0.283	0.756	0.147	2.261	0.124	0.004	0.042	0.959
C	2	0.046	2.330	0.117	0.109	2.460	0.104	0.202	1.978	0.158	0.086	1.315	0.285	0.094	1.024	0.373
AB	4	0.017	0.858	0.501	0.028	0.628	0.647	0.022	0.217	0.926	0.005	0.071	0.990	0.081	0.879	0.490
AC	4	0.023	1.184	0.340	0.010	0.232	0.918	0.014	0.136	0.968	0.045	0.685	0.609	0.054	0.588	0.674
BC	4	0.012	0.632	0.644	0.040	0.910	0.472	0.002	0.019	0.999	0.116	1.780	0.162	0.024	0.267	0.897
ABC	8	0.006	0.314	0.954	0.013	0.301	0.959	0.003	0.027	1.000	0.037	0.574	0.790	0.017	0.189	0.990
Error	27	0.020			0.044			0.102			0.065					
Total	54															

A=temperature, B= antioxidant, C= Storage time

Values of sig. less than 0.01 are significant. Values more than 0.01 are not significant

- [5] ShakerArdakani, A., Kabir, G.H., and Shahedi, M. (2006). Optimization of pistachio butter production processing. Pistachio Reseach Institute. Retrieved from <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=IR2007001041>
- [6] Kahyaoglu, T. (2008). Optimization of the pistachio nut roasting process using response surface methodology and gene expression programming. LWT - Food Science and Technology, 41(1): 26–33  
Doi:10.1016/j.lwt.2007.03.026
- [7] Monaco, R.D, and Giancone, T. (2008). Predicting texture attributes from microstructural, rheological and thermal properties of hazelnut spreads. Journal of Texture Studies, 39: 460–479.  
Doi:10.1111/j.1745-4603.2008.00154.x
- [8] Wong, V.Y., Villagran, F.V. and Sackenheim, R.J. (1996). Reduced fat nut spreads and continuous process for making. U.S. Patent 5,518,755.
- [9] Muego-Gnanasekharan, K.F. and Resurreccion, A.V.A. (1992).

## ۵- منابع

- [1] Sackenheim, R., Theurer, M., and Wong, V. (1996). Process of making monomodal nut butters and spreads. Retrieved from <http://www.google.com/patents/US5508057>
- [2] Shakerardekani, A., Karim, R., Ghazali, H.M., and Chin, N. L. (2013). Textural, rheological and sensory properties and oxidative stability of nut spreads - a review. International Journal of Molecular Sciences, 14(2):4223–41. Doi:10.3390/ijms14024223
- [3] Akbulut, M., and Oklar, H. (2008). Physicochemical and Rheological Properties of Sesame Pastes (Tahin) Processed From Hulled and Unhulled Roasted Sesame Seeds and Their Blends At Various Levels. Journal of Food Process Engineering, 31(4): 488–502. Doi:10.1111/j.1745-4530.2007.00162.x
- [4] Lasdon, L., Krohn, H. and Lasdon, S., Elescon, Inc. (1991). Low calorie peanut butter-like and fruit preserve product and process. U.S. Patent 5,034,242

- [19] Radocaj, O., Dimic, E., Diosady, L.L. and Vujasinovic, V. (2011). Optimizing the Texture Attributes of a Fat-Based Spread Using Instrumental Measurements. *Journal of Texture Studies*, 42(5): 394–403. Doi:10.1111/j.1745-4603.2011.00300.x
- [20] Nikzadeh, V. 2007. Study on the effects of roasting temperature, formulation and storage time on the physicochemical and organoleptic properties of pistachio. PhD thesis. Mashhad. Agriculture faculty. Ferdowsi University
- [21] Fatemi, H. (1999). Food chemistry. Tehran. Enteshar publications. P.179.
- [22] Maskan, M., and Karatas, S. 1999. Storage stability of whole-split pistachio nuts (*Pistacia vera L.*) at various conditions. *Food Chemistry*, 66(2): 227–233. Doi:10.1016/S0308-8146(99)00055-2
- [23] Buranasompob, A. 2001. Rancidity and Lipoxygenase Activity of Walnuts and Almonds. Washington State University. Retrieved from [http://books.google.com/books/about/Rancidity\\_and\\_Lipoxygenase\\_Activity\\_of\\_W.html?id=JO2kNwAACAAJ&pgis=1](http://books.google.com/books/about/Rancidity_and_Lipoxygenase_Activity_of_W.html?id=JO2kNwAACAAJ&pgis=1)
- [24] Frankel, E.N. (1991). Recent Advances in Lipid Oxidation. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 54: 495–511. Doi:10.1002/jsfa.2740540402
- [25] Mortazavi, A., Ziaolhagh, S.H. (2016). Modern food microbiology. Jay, J.M., Loessner, M.J., Golden, D.A. Mashhad. Ferdowsi University Press.
- [26] Ayaz, M., Luedcke, L. O., & Branen, A. L. (1980). Antimicrobial effect of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Food Protection®*, 43(1), 4-6.
- [27] Mortazavi, A., Kashaninejad M., Ziaolhagh, S.H. (2012). Food microbiology (WC Frazier). Mashhad. Ferdowsi University Press. P.30
- [28] Ozdemir, M., Ackurt, F., Yildiz, M. and Biringen, G. 2001. Effect of roasting on some nutrients of hazelnuts (*Corylus Avellena L.*). *Food Chemistry*, 73: 185–190.
- Physicochemical and sensory characteristics of peanut paste stored at different temperatures. *Journal of Food Science*, 57(6): 1385–1389. Retrieved from <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2621.1992.tb06865.x/abstract>
- [10] Sumainah, G. M., Sims, C.A., Bates, R.P., and O'Keefe, S.F. (2000). Flavor and Oxidative Stability of Peanut–Sesame–Soy Blends. *Journal of Food Science*, 65(5): 901–905.
- [11] Jalili Marandi, R. and Hakimi Rezaei, J. (1998). Training of hazelnuts, almonds and walnuts. Tabriz. Jihad Daneshgahi press.
- [12] Stathopoulos, C. E., Chockchaisawasdee, S., Doyle, J., O'Kennedy, B.T., and Mounsey, J.S.(2009). Effect of Mineral Fortification on Textural and Oxidative Stability of Reduced-Fat Spreads. *International Journal of Food Properties*, 12(2): 368–378. Doi:10.1080/10942910701799231
- [13] Martinez, M., Barrionuevo, G., Nepote, V., Grosso, N. and Maestri, D. (2011). Sensory characterisation and oxidative stability of walnut oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 46(6): 1276–1281. Doi:10.1111/j.1365-2621.2011.02618.x
- [14] Ziaolhagh, H. (2013). Effect of packaging on shelf life of almond kernels. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 5(1): 5–20.
- [15] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2008). Animal and vegetable fats and oils- Determination of peroxide value- Iodometric (visual) endpoint determination (No. 4179).
- [16] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2013). Pistachio butter- Specification and test methods (No. 5691).
- [17] Institute of Standards and Industrial Research of Iran (ISIRI). (2008). Animal and vegetable fats and oils- Determination of 2-Thiobarbituric acid value direct-method (No. 10494).
- [18] Shahidi, F. (2005). Bailey's Industrial Oil and Fat Products, 6 Volume Set (Vol. 3). John Wiley & Sons, Inc. P.183.

## **The effect of storage conditions on the physico-chemical and microbial properties of walnut cream**

**Ziaolhagh, S. H. R. <sup>1</sup>, Mazaheri-Tehrani, M. <sup>2\*</sup>, Razavi, M. A. <sup>3</sup>, Rashidi, H. <sup>4</sup>**

1. PhD candidate, Department of food science and technology, faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad (FUM), Iran

2. Phd, Professor, Department of food science and technology, faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad (FUM), Iran

3. Phd, Professor, Department of food science and technology, faculty of agriculture, Ferdowsi university of Mashhad (FUM), Iran

4. Phd, Assistant professor, Food industries department, Khorasan Razavi Agricultural and natural resources research and education center, ARREO, Mashhad, Iran

**(Received: 2016/08/27 Accepted: 2016/11/26)**

Walnut is one of the nuts, full of energy, protein, minerals and other nutrients. It also has plenty of oil, and that is why it can be turned into spreadable products. In this study, we evaluated the storage conditions of walnut spread (cream). For this, we prepared the walnut cream according to the formulation obtained by authors at preliminary experiments. We added 0-0.02% BHT as antioxidant to the formulation and packaged them in polyethylene jars. Then we stored the jars at 4, 25, or 40°C for 15, 55, and 90 days. After each storage time, the amount of oil separation, peroxide value, acidity and thiobarbituric acid value of the samples were determined. The analysis of the results showed that the oil separation was increased from 0.5% at 4°C to about 1.08% at 40°C. In addition, it was shown that after 15 days of storage the oil separation was only 0.47% and it was increased to 1.09% after 90 days. The peroxide value of samples was also increased from 2.13 at 4°C to 5.55 at 40°C. The addition of antioxidant decreased the peroxide value, however, this value was in acceptable range in the samples containing no antioxidant. The results of this study showed that the best temperature for storage of walnut cream was 4°C. At this temperature, we could store the walnut cream for more than 3 months without any artificial antioxidant.

**Key words:** Oil separation, Oxidation, Storability, Walnut cream

---

\*Corresponding Author E-Mail Address: mmtehrani57@gmail.com