



## بررسی اثر تیمار حرارتی فرادما (UHT) بر تغییرات رنگی، لیزین، فوروزین و ویتامین ث شیر مایع نوزاد

مسعود قربانی<sup>۱</sup>، یحیی مقصدلو<sup>۲\*</sup>، مرتضی خمیری<sup>۳</sup>، علی مویدی<sup>۴</sup>، فرهاد گراوند<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۲- \*پروفسور، هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۳- استاد، هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۴- دانشیار، هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، ایران

۵- استادیار، هیئت علمی گروه تکنولوژی و شیمی مواد غذایی، مرکز تحقیقاتی صنایع غذایی تی گسک مورپارک، ایرلند

اطلاعات مقاله	چکیده
<p><b>تاریخ های مقاله :</b></p> <p>تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۱</p> <p>تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۳۰</p>	<p>شیر مایع آماده برای تغذیه نوزادان (Ready-To-Feed Liquid Infant Formula) زمانی که شیر مادر در دسترس نباشد برای نوزادان نارس استفاده می‌شود. با این حال، استرلیزاسیون شیر مایع نوزاد با استفاده از تیمار فرادما (UHT) موجب تشکیل محصولات واکنش میلارد (MRPs) می‌شود که ممکن است بر عملکرد سیستم ایمنی و رشد کلیه‌ها اثر منفی بگذارد. در این تحقیق، شیر مایع نوزاد پس از آماده سازی در پایلوت شرکت پگاه تهران تحت تیمار حرارتی فرادما (۱۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ ثانیه-UHT) قرار گرفت و شاخص‌های رنگی، تغذیه‌ای و ترکیبات اولیه واکنش میلارد قبل و پس از اعمال فرآیند UHT مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های این پژوهش نشان داد، مقدار عددی شاخص <math>a^*</math>، <math>b^*</math> و <math>L^*</math> قبل و پس از فرایند حرارتی اختلاف معنی دار دارند (<math>p &lt; 0.05</math>)، همچنین مقدار لیزین در دسترس، قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب <math>2/30 \pm 0/23</math> و <math>1/99 \pm 0/05</math> درصد در ماده خشک بود (۱۳/۴۸٪ کاهش یافت). مقدار فوروزین (شاخص ترکیبات اولیه واکنش میلارد) قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب <math>60/64 \pm 0/91</math> و <math>178/57 \pm 1/51</math> میلی گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین گزارش شد. میزان ویتامین ث به عنوان دیگر شاخص تغذیه‌ای، طی اعمال فرآیند UHT کاهش یافت (قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب <math>147/15 \pm 0/49</math> و <math>128/29 \pm 1/65</math> میلی گرم در کیلوگرم). بصورت کلی تیمار فرادما علی‌رغم وجود مزایایی از جنبه ایمنی موادغذایی، بصورت قابل ملاحظه ای ارزش تغذیه‌ای شیر مایع نوزاد را از طریق واکنش میلارد کاهش داد.</p>
<p><b>کلمات کلیدی:</b></p> <p>استرلیزاسیون، شیر خشک نوزاد، شیر مایع نوزاد، میلارد، UHT</p> <p>DOI:10.22034/FSCT.22.158.80.</p> <p>* مسئول مکاتبات: y.maghsoudlou@gau.ac.ir</p>	

## ۱-مقدمه

خطا در حین آماده سازی و عدم رعایت تناسب تغذیه‌ای تعریف شده اشاره کرد، که ممکن است به سلامت نوزاد آسیب برساند. روش آماده‌سازی شیر نوزاد را به صورت چاپ شده روی قوطی محصول آموزش دهند ولی باز هم امکان رخ دادن این خطا وجود دارد. همچنین عدم دسترسی به منابع آب سالم جهت آماده‌سازی شیرخشک نوزاد نیز خطری بالقوه است، و در صورت عدم دسترسی به آب سالم یا ایجاد آلودگی ثانویه در آب در حین آماده‌سازی، ممکن است به سلامت نوزاد دچار آسیب‌های جدی و جبران ناپذیری شود.

روش‌های حرارتی رایج‌ترین روش‌های سالم‌سازی شیر است، که از این جمله می‌توان فرآیندهای حرارتی پاستوریزاسیون و استریلیزاسیون فرادما یا UHT<sup>4</sup> را نام برد [۴]. در فرایند حرارتی UHT، شیر تحت تیمار حرارتی با دمای ۱۵۰-۱۳۰ درجه سلسیوس به مدت ۱-۱۰ ثانیه قرار می‌گیرد و محصول استریل تجاری تولید می‌شود [۵]. فرآوری و عرضه شیر نوزاد به روش UHT (ترکیبات شیمیایی در جدول ۱ قابل مشاهده است)، گزینه‌ای مناسب و ایمن است، زیرا قبل از مصرف نیازی به آماده سازی ندارد و علاوه بر این، شیر مایع نوزاد آماده مصرف گزینه اصلی برای تغذیه نوزادان نارس، کم وزن یا دارای نقص ایمنی است [۶]. یکی

شیر خشک نوزاد<sup>۱</sup> به منظور تأمین نیازهای غذایی نوزادان به ویژه در شش ماه اول زندگی استفاده می‌شود. این محصول عمدتاً بر پایه شیر گاو یا شیر سویا (به منظور تغذیه نوزادانی که به پروتئین‌های شیر گاو و یا گلوتن حساسیت دارند) است. در شیرخشک نوزاد سعی می‌شود از مواد مغذی موجود در شیر مادر تقلید و الگو برداری شود و در صورت عدم دسترسی به شیرمادر سالم و کافی، تنها غذایی است که از نظر تغذیه‌ای برای کودکان زیر ۱ سال مورد تایید جامعه پزشکی است [۱، ۲].

بر اساس تقسیم بندی حالت فیزیکی، سه نوع شیر به منظور تغذیه نوزادان در بازار موجود است که رایج‌ترین نوع آن به صورت پودر است و کم هزینه ترین فرم شیر خشک است که باید قبل از تغذیه با آب مخلوط شود. نوع دوم به صورت کنسانتره مایع<sup>۲</sup> است که با غلظت بالا تولید می‌شود و قبل از مصرف باید با آب سالم مخلوط شود تا غلظت مورد نیاز براساس استاندارد تعریف شده حاصل شود. نوع سوم در مقایسه با بقیه گران‌ترین است و نیازی به اختلاط یا آماده سازی ندارد و اصطلاحاً آماده تغذیه<sup>۳</sup> نامیده می‌شود، این محصول پس از فرآوری در شرایط اسپتیک بسته بندی شده و نیازی به آماده‌سازی جهت مصرف ندارد [۳].

از جمله محدودیت‌های مصرف شیرخشک نوزاد می‌توان به

3 -Ready-to-feed  
4 -Ultra Heat Treatment

1-Infant Formula  
2- Liquid concentrate

از محدودیت‌های فرآوری شیر و به خصوص شیر نوزاد، واکنش قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی (میلارد) است که دلیل آن بالا بودن سطح لاکتوز و پروتئین این محصول است. قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی واکنشی پیچیده و نتیجه برهمکنش بین قندهای احیا کننده و گروه آمینی است. فوروزین یکی از شاخص‌های تشکیل ترکیبات اولیه میلارد است و ملاکی در تشخیص آسیب حرارتی به شیر است [۷].

Table 1-Liquid Infant Formula Ingredients

Composition	gr per 100gr
Carbohydrate	7.18
Fat	3.21
Protein	1.14
Ash	0.21

لیزین از جمله آمینواسیدهای ضروری است که طی واکنش میلارد با قندهای احیا کننده واکنش می‌دهد و از دسترس بدن خارج می‌شود. لیزین مسدود شده در شیر به صورت ترکیب آمادوری یافت می‌شود، که قابل جذب در بدن نیست و به دلیل اینکه نوزادان به مقدار بیشتری از لیزین نسبت به بزرگسالان نیاز دارند (۱۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز برای نوزادان؛ ۱۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز برای بزرگسالان) در اثر عدم دسترسی به آن متحمل آسیب‌های بیشتری می‌شوند. علاوه بر این، کمبود لیزین منجر به تهوع، از دست دادن اشتها، خستگی، رشد کند، سنگ کلیه، کم‌خونی و اختلالات فیزیولوژیک دیگر نیز می‌شود [۸].

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که واکنش میلارد یک مسیر مهم در توسعه عطر و طعم نامطلوب در حین فرآیند حرارتی است و نقطه کنترلی برای بهبود و توسعه استراتژی‌های مرتبط با عطر و طعم شیر UHT و نوشیدنی‌های بر پایه شیر است. اثر واکنش میلارد بر عطر و طعم، رنگ، سمیت و ارزش تغذیه‌ای محصولات طی پژوهش‌های اخیر، شناسایی شده است و علاوه بر این، اثرات منفی آن بر سیستم بیولوژیک، دیابت‌ها و بیماری‌های قلبی و مرتبط با افزایش سن ثابت شده است [۴، ۹].

ژانگ و همکاران در سال ۲۰۲۱ [۱۰] اثر فرآیندهای حرارتی مختلف بر تشکیل محصولات واکنش میلارد را بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد کمترین مقدار فوروزین (۳.۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) در شیر خام بود و با افزایش دمای تیمار حرارتی به ۱۰۵ درجه سلسیوس مقدار فوروزین به ۲۰-۴۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین رسید. علاوه بر این

افزایش شدت واکنش میلارد در شیر بز می شود. ساندز و همکاران در سال ۲۰۱۸ [۵]، پیشرفت واکنش میلارد شیر UHT در حین نگهداری در سطوح دمایی مختلف را بررسی کردند. نتایج نشان داد غلظت فوروزین (از شاخص‌های محصولات اولیه واکنش میلارد) به صورت کاملاً مشخص در طی نگهداری شیر UHT در دمای ثابت ۲۰ درجه سلسیوس و بالاتر افزایش می‌یابد. قهوه‌ای شدن در شیر UHT نگهداری شده در دماهای ۱۰ و ۲۰ درجه سلسیوس به صورت مشخص افزایشی نداشت (در مدت ۲۴ هفته تغییر رنگ ۱/۲ واحد بود)، درحالی‌که شیر UHT نگهداری شده در دماهای ۳۰ و ۴۰ درجه سلسیوس به ترتیب پس از ۲۴ هفته و ۶ هفته شاخص تغییر رنگ ۲/۳ و تغییر مشخصی را نشان دادند.

با توجه به صنعتی شدن جوامع، و محدود شدن دسترسی به منابع آب سالم، تکنولوژی فرآوری مواد غذایی به سمت تولید غذاهای آماده مصرف سوق پیدا می‌کند، و محصولات غذایی مورد نیاز نوزادان نیز از این قاعده مستثنی نیست. طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی ملل متحد (FAO<sup>۵</sup>)، میزان تولید شیر مایع نوزاد در سال ۲۰۲۰ در کشور آمریکا ۳۵۰ تن بوده است [۱۳] و شرکت‌های تولید کننده شیرخشک نوزاد، با توجه به بازار رو به رشد این محصول، در حال اضافه کردن آن به سبد محصولات خود هستند. شیرمایع

میزان فوروزین با افزایش دما رابطه مستقیم نشان داد و در دمای ۱۳۵ درجه سلسیوس بیشترین میزان فوروزین ( $255/19 \pm 30/70$ ) میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین) تشکیل شد.

استفانی و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۱۱]، در بخشی از تحقیقات خود اثر حرارت‌دهی پیوسته با استفاده از تزریق مستقیم بخار، بر ویژگی‌های تغذیه‌ای شیر مایع نوزاد را بررسی کردند. یافته‌ها نشان داد، تیمار حرارتی UHT بصورت قابل ملاحظه‌ای موجب افزایش آسیب حرارتی به شیرمایع نوزاد شد. با افزایش دما میزان تغییرات شاخص‌های رنگی تشدید و نمونه تیره‌تر شد، همچنین میزان فوروزین به  $1/0 \pm 14/2$  میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین افزایش یافت.

گوا و همکاران در سال ۲۰۲۳ [۱۲]، میزان تغییرات در محصولات واکنش میلارد، مواد فرار و پروتئین‌های فعال شیر بز تحت تأثیر فرآیندهای حرارتی مختلف را بررسی کردند.

نتایج نشان دادند، محتوای فوروزین و ۵- هیدروکسی‌متیل‌فورفورال با افزایش دما و زمان تیمار حرارتی، افزایش یافت. مقدار فوروزین و ۵- هیدروکسی‌متیل‌فورفورال در شیر بز استریل شده با تیمار حرارتی فرادما (UHT) به ترتیب  $130/22 \pm 0/15$  میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین و  $1/31 \pm 0/03$  میلی‌گرم در لیتر و بود.

نتایج این مطالعه نشان داد بکارگیری تیمار UHT موجب

5- Food and Agriculture Organization of the United Nations

نوزاد به دلیل وجود قندهای احیا کننده و اسید آمینه لیزین، به شدت مستعد واکنش میلارد است، و خواص تغذیه‌ای آن تحت تاثیر فرایند حرارتی UHT دچار تغییر می شود و ممکن است سلامت نوزاد را تحت تاثیر قرار دهد.

در این مطالعه اثر اعمال تیمار فرادما (۱۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ ثانیه) بر میزان فوروزین، تغییرات شاخص های رنگی ( $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$ )، میزان لیزین در دسترس و ویتامین ث با هدف بررسی میزان تغییرات رنگی و پیشرفت واکنش میلارد، و کاهش خواص تغذیه‌ای بر محصول شیر مایع نوزاد، در مورد بررسی قرار گرفت.

## ۲- مواد و روش‌ها

### مواد شیمیایی و دستگاه‌های استفاده شده

مواد اولیه و ترکیبات شیمیایی مورد نیاز در این پژوهش از جمله میکس اولیه شیرخشک نوزاد (شرکت نستله ایران)، مواد شیمیایی استات سدیم (سیگما آلدریج)، انیدرید پروپیونیک (مرک)، اسید اورنج-۱۲ (مرک)، هیدروکلریک اسید ۳۷٪ (مرک)، استونیتریل (مرک) و فرمیک اسید (مرک) از شرکت‌ها و تامین کننده‌های معتبر خریداری شد.

### آماده سازی نمونه

به منظور آماده سازی نمونه‌ها از روش ژو و همکاران در سال ۲۰۲۰ [۱۴] با برخی تغییرات استفاده شد. شیرخشک و

لاکتوز گرید یک (MR1) ، ترکیبات معدنی، گالاکتوالیگوساکارید و فروکتوالیگوساکارید، پروتئین ایزوله آب پنیر (WPI)، ویتامین ث و ترکیبات ریز مغذی حاوی اسیدهای آمینه ضروری، مطابق با دستورالعمل آماده سازی میکس اولیه با هم ترکیب شده و با آب RO، در دمای ۵۵ درجه سلسیوس مخلوط شدند (ماده خشک نهایی ۱۰.۵۲ بود). محلول حاصل به مدت ۵ دقیقه با همزن برقی همزده شد و به منظور هیدراته شدن، ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس به منظور تیمار UHT (۱۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۳ ثانیه) به محفظه ورودی دستگاه استرلایزر اضافه شد و تحت تیمار استرلیزاسیون و هموژنیزاسیون (با فشار ۵۰-۱۵۰ بار) قرار گرفت، و پس از اتمام فرآیند طی شرایط بهداشتی با ظروف تتراپک یک لیتری استریل پر شد (شکل ۱) و تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال (۳ درجه سلسیوس) نگهداری شد.

## آزمون رنگ سنجی جهت اندازه‌گیری محصولات نهایی

## واکنش میلارد

تشکیل ملانوئیدین با استفاده از تغییر رنگ اندازه‌گیری و طبق روش السعدی و دیت در سال ۲۰۰۸ [۱۵] اندازه‌گیری شد. آزمون رنگ سنجی مستقیماً بر روی نمونه تازه با استفاده از سیستم هانتر لب انجام شد و شاخص های رنگی  $L^*$ ،  $a^*$  و  $b^*$  اندازه‌گیری شد. اختلاف رنگی  $\Delta E$  برای هر نمونه نسبت به نمونه شاهد از رابطه زیر محاسبه شد.

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta a^2 + \Delta b^2 + \Delta L^2)}$$

## اندازه‌گیری میزان لیزین در دسترس

میزان لیزین در دسترس با استفاده از روش اعلائی و همکاران در سال ۲۰۱۶ [۱۶] اندازه‌گیری شد. غلظت لیزین موجود با استفاده از یک منحنی استاندارد رنگ در بافر محاسبه شد و نتایج به عنوان درصد لیزین در دسترس موجود بر اساس ماده خشک بیان شد.

## اندازه‌گیری فوروزین (متابولیت‌های اولیه واکنش میلارد)

به منظور اندازه‌گیری فوروزین، از روش کاریسو و همکاران [۱۷] استفاده شد. ۱ میلی‌لیتر از نمونه با ۷ میلی‌لیتر HCL 08/0 مولار در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۲۳ ساعت هیدرولیز شد. نیتروژن با خلوص بالا به مدت ۲ دقیقه در محلول حباب ایجاد کرده و سپس نمونه هیدرولیز شده توسط کاغذ صافی فیلتر شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از بخش فیلتر شده به کارتریج Sep-Pak C18 با ۵ میلی‌لیتر متانول

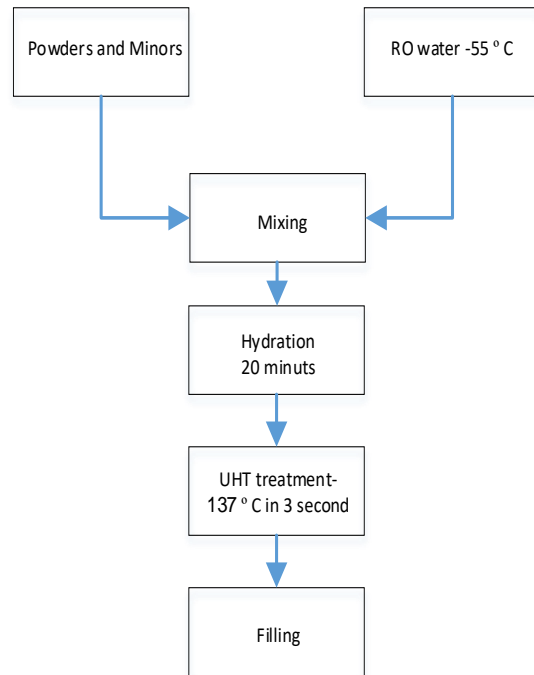


Figure 2-Flow diagram of sample preparations

## آزمون‌های فیزیکوشیمیایی شیر:

اندازه‌گیری محتوای رطوبتی، ماده خشک بدون چربی، پروتئین، چربی، دانسیته، اسیدیته و pH: به منظور اندازه‌گیری محتوای رطوبتی، ماده خشک بدون چربی، پروتئین، چربی، دانسیته، اسیدیته و pH، به ترتیب از روش‌های AACC (44-15A)، استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۷، AOAC (991/20)، استاندارد ملی ایران شماره ۳۶۶، استاندارد ملی ایران شماره ۳۶۶، استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۸ و استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ استفاده شد.

مقایسه میانگین‌ها به روش Tukey در سطح اطمینان ۹۵٪، به منظور آنالیز داده‌ها انجام شد و برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد.

### ۳- نتایج و بحث

#### تأثیر تیمار UHT بر تغییرات شاخص‌های رنگ

ارزیابی رنگ نمونه‌ها با استفاده دستگاه رنگ سنج هانتر لب انجام شد. اندیس  $L^*$  بیانگر روشنی (صفر = سیاه و ۱۰۰ = سفید)، اندیس  $a^*$  بیانگر قرمزی (مثبت) و سبزی (منفی)، و اندیس  $b^*$  نشان دهنده زردی (مثبت) و آبی (منفی) بود. رنگ یکی از مهم ترین پارامترهایی است که بر درک مشتری‌ها از مواد غذایی تأثیر می‌گذارد. به دلیل اینکه درک چشمی رنگ، ترکیبی از ابعاد مختلف فضای رنگ است، با بررسی پارامترهایی که ابعاد مختلف رنگ را نشان می‌دهد، تغییرات رنگی بهتر نشان داده می‌شود، که با تغییرات در مقادیر  $L^*$  (روشنی)،  $a^*$  (قرمزی) و  $b^*$  (سبزی) منعکس می‌شود. شاخص‌های رنگی نمونه‌های شیر مایع نوزاد، قبل و پس از تیمار حرارتی اندازه گیری شدند (جدول ۱)

و ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد و سپس با ۳ میلی لیتر HCL 3 مولار شسته شده و تحت خلا تبخیر شد. نمونه خشک شده در ۳ میلی لیتر مخلوط آب، استونیتریل و فرمیک اسید (به ترتیب به نسبت ۹۵، ۵ و ۰/۲) حل شده و ۵۰ میکرولیتر از محلول حاصل شده توسط HPLC آنالیز شد.

#### اندازه گیری ویتامین ث:

به منظور بررسی اثر تیمار حرارتی و همچنین به عنوان شاخصی جهت بررسی کیفیت تغذیه ای محصول اندازه گیری شد. بدین منظور از روش تیتراسیون دو مرحله ای و با استفاده از روش شرح داده شده در استاندارد ملی به شماره ۲۶۸۵ اندازه گیری شد.

#### تجزیه تحلیل آماری

در این پژوهش اثر فرآیند حرارتی فرادما (UHT) بر شیر مایع نوزاد بررسی شد. به منظور طراحی آزمایشات از طرح General Full Factorial با در نظر گرفتن ۲ تکرار استفاده شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab v.16 تجزیه و تحلیل شده و آنالیز واریانس به روش GLM<sup>۶</sup> و

Table ۱ - The effect of the UHT heat treatment process on changes in color indices

Sampling time	$L^*$	$a^*$	$b^*$	$\Delta E$
Before UHT treatment	97.86±0.0123 <sup>a</sup>	-1.82±0.0003 <sup>a</sup>	7.95±0.0011 <sup>a</sup>	-

6-General linear model

After UHT treatment	80.23±0.0113 <sup>b</sup>	-1.2±0.0058 <sup>b</sup>	6.87±0.0014 <sup>b</sup>	<b>6.99±0.0005</b>
---------------------	---------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------

The data presented in the table are in the form of mean ± standard deviation of two replications. Different letters indicate a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the mean values.

پس از فرآیند حرارتی استرلیزاسیون حاکی از کاهش شاخص  $L^*$ ، افزایش مقدار شاخص  $a^*$  و شاخص  $b^*$  بود.

یافته‌های مطالعات صورت گرفته [۱۹-۲۱] نشان داد، عوامل مختلفی، از جمله، واکنش قهوه ای شدن غیر آنزیمی، دناتوره شدن پروتئین‌ها (دناتوره شدن کازئین و پروتئین‌های آب پنیر موجب تغییر در شاخص  $L^*$  می‌شوند. مهمترین دلایل آن تغییر ساختار پروتئین‌ها و تغییر انعکاس و پراکنش پروتئین‌ها است)، کاراملیزه شدن لاکتوز (به صورت موثری موجب تغییر شاخص  $b^*$  می‌شود)، اکسیداسیون چربی‌ها (منجر به افزایش شاخص  $b^*$ ، و تشدید رنگ زرد می‌شود) و تخریب رنگدانه‌های موجود در شیر (تخریب رنگدانه‌هایی که به صورت طبیعی در شیر وجود دارند، از جمله کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها موجب این تغییر رنگ می‌گردد) است.

#### اثر تیمار حرارتی UHT بر میزان لیزین در دسترس

فرآیند حرارتی از نقطه نظر افزایش ایمنی غذا، بهبود کیفیت حسی و از بین بردن میکروارگانیسم‌ها و افزایش انبارمانی<sup>۷</sup> مواد غذایی اهمیت بسیاری دارد، ولی ممکن است اثرات نامطلوبی بر کیفیت تغذیه‌ای مواد غذایی پروتئینی به دلیل ایجاد تغییرات شیمیایی و تولید برخی ترکیبات نامطلوب

نتایج حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌های رنگی نشان داد، فرآیند حرارتی موجب تغییرات شاخص‌های رنگی در شیر مایع نوزاد می‌گردد. همانطور که در جدول ۲ نمایش داده شده است، شاخص  $L^*$  پس از فرآیند حرارتی کاهش یافت و تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی ( $p < 0.05$ ) نشان داد، نمونه‌ها قبل (۸۶/۹۷±۰/۰۱۲۳) و پس از فرآیند حرارتی UHT (۸۰/۲۳±۰/۰۱۱۳) اختلاف معنی دار دارند.

مقدار عددی شاخص  $a^*$  پس از فرآیند حرارتی افزایش یافت، و تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی ( $p < 0.05$ ) نشان داد، نمونه‌ها قبل (۱/۸۲±۰/۰۰۰۳-) و پس از فرآیند حرارتی UHT (۱/۲۰±۰/۰۰۵۸-) اختلاف معنی دار دارند. مقدار عددی شاخص  $b^*$  پس از فرآیند حرارتی افزایش یافت، و تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی ( $p < 0.05$ ) نشان داد، نمونه‌ها قبل (۷/۹۵±۰/۰۰۱۱) و پس از فرآیند حرارتی UHT (۶/۸۷±۰/۰۰۱۴) اختلاف معنی دار دارند.

همچنین میزان تغییرات رنگی کل ۶/۹۹±۰/۰۰۰۵ بود که با شاخص  $\Delta E$  در جدول ۲ نمایش داده شده است.

نتایج بدست آمده با مطالعه شامبرگر و همکاران در سال ۲۰۰۷ [۱۸] مطابقت داشت. بررسی نمونه شیر خام، قبل و



اختلال در سنتز DNA و تقسیم میتوز شود. LAL به علت قدرت شلاته کردن می‌تواند آنزیم‌های حاوی یون‌های فلزی عمدتاً یون‌های مس دوظرفیتی و روی را که به متالوآنزیم‌ها (متالوپروتئین) معروفند، غیرفعال کند. از طرف دیگر، تشکیل ترکیب LAL موجب کاهش دسترسی به اسید آمینه ضروری لیزین و در نتیجه، کاهش کیفیت تغذیه ای منبع پروتئینی می‌شود. در واقع با اندازه‌گیری میزان لیزین در دسترس می‌توان اثر فرآیند حرارتی بر کیفیت تغذیه‌ای لیزین را مورد بررسی قرار داد و بصورت غیر مستقیم نقش آن در کاهش کیفیت تغذیه ای شیر مایع نوزاد را تفسیر و بررسی کرد. برای ارزیابی زمان شروع واکنش میلارد، لیزین در دسترس، ممکن است اطلاعات قابل اعتمادی را ارائه دهد. به صورت کلی، واکنش میلارد به ۳ مرحله تقسیم می‌شود، و تعامل لاکتوز با لیزین و تشکیل محصولات آمادوری به عنوان مرحله اولیه واکنش در نظر گرفته می‌شود [۲۲].

داشته باشد. لیزینوآلانین (۲- آمینو ۲- کربوکسی لیزین) یک ترکیب غیرطبیعی است که از تیمار حرارتی یا قلیایی مواد غذایی حاوی پروتئین تشکیل می‌شود. واکنش تشکیل، لیزینوآلانین (LAL) با حذف بتای گروه هیدروکسیل سرین، O- فسفوریل سرین، O- گلیکوزیل سرین یا گروه دی سولفید، سیستئین آغاز می‌شود. محصول نهایی حذف بتا، دهیدروآلانین (۲- آمینوآکرلیک اسید یا DHA) است. این ترکیب بسیار واکنش پذیر، محصول واسطه در تشکیل لیزینوآلانین و سایر اسیدهای آمینه زنبیوتیک است و می‌تواند با ترکیبات گوناگون آمین دار، مانند اسیدهای آمینه و آمین‌های بیوژن واکنش دهد. از واکنش DHA با اسید آمینه لیزین LAL تشکیل می‌شود. مطالعات نشان داده است که LAL اثرات نفروتوکسیک در برخی حیوانات داشته و می‌تواند موجب نفروسیتومگالی، جراحی میکروسکپی سلول‌های کلیه، افزایش میزان نوکلئوپروتئین و در نتیجه

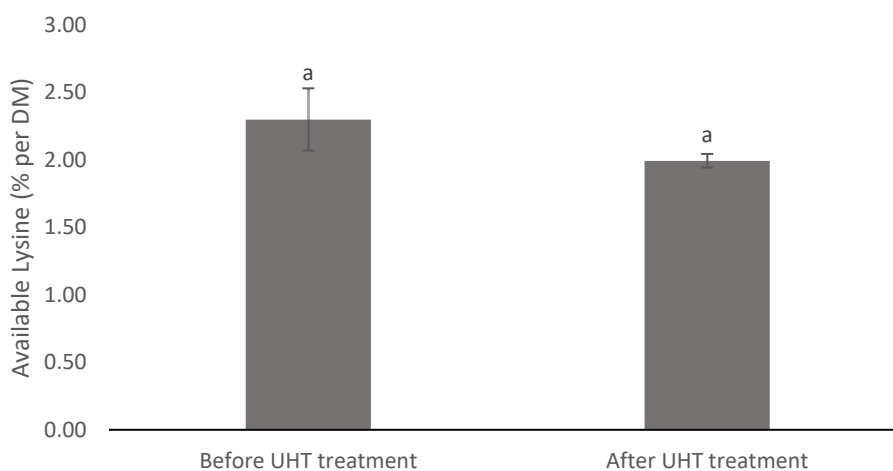


Figure 1- Impact of the UHT thermal process on Available Lysine (% per DM); Means with different superscript indicate significant differences in column ( $P < 0.05$ )

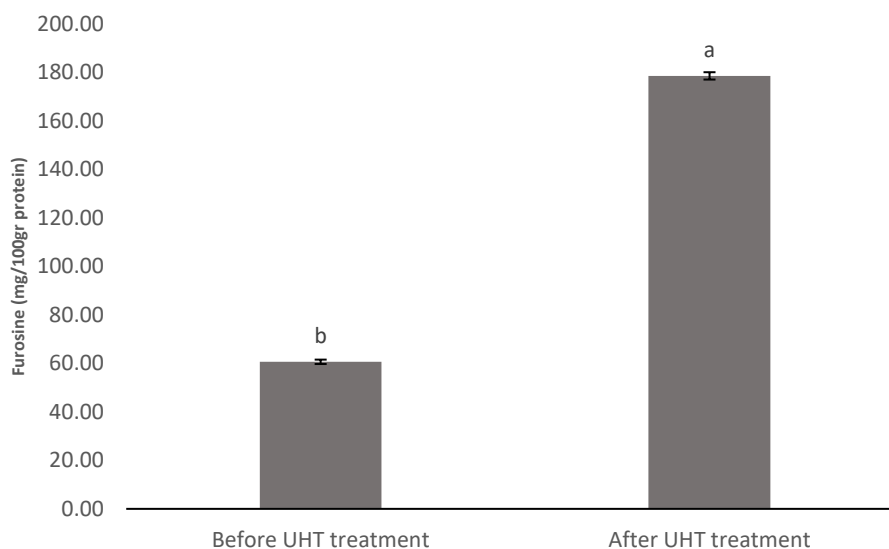
منجر به کاهش قابل توجهی در لیزین قابل دسترس از طریق تشکیل فوروزین می‌شود. نیاز تغذیه‌ای به اسید آمینه لیزین حدود ۱۰۷۰ میلی‌گرم در روز برای نوزادان ۱۰ کیلوگرمی اعلام شده است [۲۴]. مطالعه آکتاش و همکاران در سال ۲۰۱۹ نشان داد، که ۱۵۱۶.۸ میلی‌گرم/هر وعده<sup>۸</sup> (سروینگ) در روز از لیزین قابل دسترس در شیرهای نوزاد مورد تجزیه قرار گرفته است و همچنین همبستگی مثبت بین تشکیل فوروزین و از دست رفتن لیزین ممکن است منجر به بیماری‌های جدی از طریق تجمع محصولات آمادوری و از دست رفتن ریز مغذی‌ها در محصولات شیری شود [۸].

#### فوروزین (میلی گرم در صد گرم پروتئین)

فوروزین یکی از شاخص‌های تشکیل ترکیبات اولیه واکنش میلارد است و ملاکی در تشخیص آسیب حرارتی به شیر است، اندازه گیری فوروزین در نمونه شیر، بصورت مستقیم مقدار ترکیبات اولیه واکنش میلارد، ترکیبات آمادوری و لاکتولیزین را نشان می‌دهد.

بررسی نمونه‌های شیر مایع نوزاد، قبل و پس از فرآیند حرارتی UHT نشان داد، اعمال تیمار حرارتی UHT موجب کاهش میزان لیزین در دسترس در شیر مایع نوزاد می‌شود. همانطور که در شکل ۲ نمایش داده شده است مقدار لیزین در دسترس قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب  $23/00 \pm 2/30$  و  $05/00 \pm 1/99$  درصد در ماده خشک است (۱۳/۴۸٪ کاهش)، و تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی ( $p < 0/05$ ) نشان داد، میزان لیزین در دسترس قبل و پس از فرآیند حرارتی UHT تفاوت معنی دار ندارند.

نتایج به دست آمده با مطالعه پرستل و همکاران در سال [۲۳] ۲۰۲۰ مطابقت داشت. آن‌ها گزارش کردند مقدار لیزین در شیر تیمار شده به روش UHT نسبت به نمونه تیمار شده کمتر است، زیرا به خوبی ثابت شده است، فرآیند حرارتی می‌تواند منجر به از بین رفتن لیزین، به دلیل مسدود شدن جایگاه‌های فعال اسید آمینه و همچنین حضور گلوکز قبل از فرآیند حرارتی که می‌تواند واکنش میلارد را تسهیل کند. همانطور که قبلاً اشاره شد، واکنش میلارد بین لاکتوز یا محصولات حاصل از هیدرولیز آن و لیزین رخ می‌دهد که

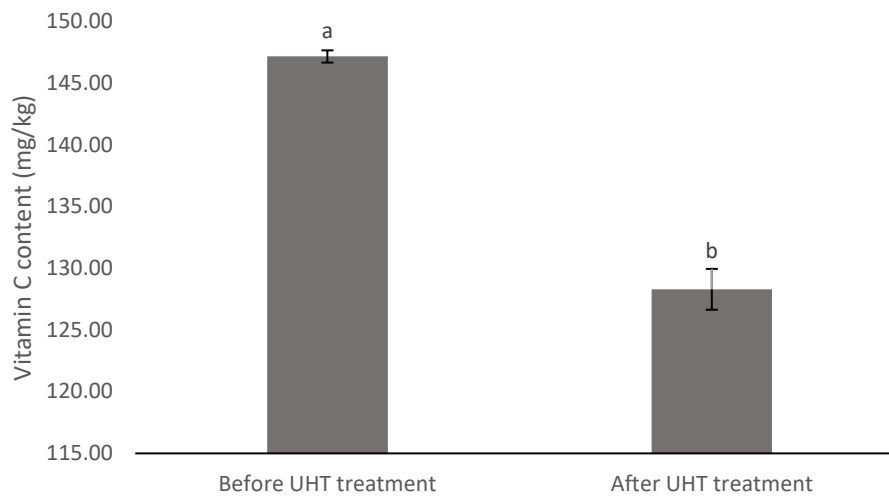


**Figure ۲ - Content of Furosine (milligrams of Furosine per 100 grams of protein) ; Means with different superscript indicate significant differences in column (P<0.05)**

مطالعات اخیر نشان دادند محتوای فوروزین در شیرهای تیمار شده با فرآیندهای حرارتی مختلف، بصورت محسوسی متفاوت است و با تشدید فرآیند حرارتی میزان محتوای فوروزین به عنوان نشانگر ترکیبات اولیه واکنش میلارد افزایش می‌یابد [۸، ۲۲].

اندازه گیری ویتامین ث (میلی گرم بر کیلوگرم) شیر مادر سطح بالاتری از ویتامین ث (L-آسکوربیک اسید) نسبت به شیرهای تجاری جایگزین شیر مادر دارد، اما همانطور که در ابتدای این مقاله عنوان شد، در مواقعی استفاده از شیرهای تجاری جایگزین شیر مادر انتخابی ناگزیر است. ویتامین ث در برابر گرما، اکسیژن، نور، pH و محتوای رطوبت بسیار ناپایدار است.

اندازه گیری میزان فوروزین نشان داد، اعمال تیمار حرارتی UHT موجب افزایش فوروزین در شیر مایع نوزاد می‌شود. همانطور که در شکل ۳ نمایش داده شده است مقدار فوروزین قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب  $60.0 \pm 6.4/91$  و  $178.1 \pm 5.7/51$  میلی گرم در ۱۰۰ گرم پروتئین است. تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی (p<0/05) نشان داد، نمونه‌ها قبل و پس از فرآیند حرارتی UHT تفاوت معنی دار دارند. نتایج بدست آمده با مطالعه ژائو و همکاران در سال ۲۰۲۳ [۲۵] مطابقت داشت و گزارش کردند که تشکیل فوروزین در شیر شتر به میزان دمای تیمار حرارتی و مدت زمان آن رابطه مستقیم دارد و افزایش دما و زمان فرآیند، شدت واکنش میلارد را تشدید می‌کند.



**Figure ۳- Vitamin C content (mg/kg); Means with different superscript indicate significant differences in column (P<0.05)**

#### ۴- نتیجه گیری

یافته‌های مطالعه حاضر، اثرات نامطلوب فرآیند حرارتی فرادما (UHT) بر خواص تغذیه‌ای شیر مایع نوزاد را تایید می‌کند. استفاده از تیمار حرارتی UHT علی‌رغم وجود مزایایی از جنبه ایمنی مواد غذایی و صنعتی، به صورت موثری شاخص‌های تغذیه‌ای (آمینو اسید لیزین و ویتامین ث) این محصول را تحت تاثیر قرار داد. همچنین توسعه واکنش میلارد، با توجه به افزایش میزان فوروزین و تغییرات شاخص‌های رنگی (کاهش شفافیت و افزایش تیرگی که حاکی از تشکیل ملانوئیدین می‌تواند باشد)، مشهود است. افزایش میزان فوروزین، حاکی از پتانسیل بالای آسیب پذیری شیر مایع نوزاد برای توسعه واکنش میلارد در طی انبارمانی است و با توجه به اثبات اثرات نامطلوب ترکیبات حاصل از

تیمار حرارتی UHT موجب کاهش میزان ویتامین ث در شیر مایع نوزاد شد. همانطور که در شکل ۴ نمایش داده شده است، مقدار ویتامین ث قبل و پس از اعمال تیمار حرارتی UHT به ترتیب  $147/15 \pm 0/49$  و  $128/29 \pm 1/65$  میلی‌گرم در کیلوگرم بود (۱۲/۸۲ درصد کاهش یافت). تجزیه و تحلیل داده‌ها با روش توکی ( $p < 0/05$ ) نشان داد، نمونه‌ها قبل و پس از فرآیند حرارتی UHT تفاوت معنی‌دار دارند. نتایج مطالعه حاضر با گزارشات سایر پژوهش‌ها مطابقت دارد و با توجه به اهمیت تغذیه‌ای ویتامین ث در رشد و تکامل نوزاد، کاهش سطح آن در طی فرآوری محصول، اهمیت غنی‌سازی با ویتامین ث را در محصولات غذایی نوزادان را تقویت می‌کند [۵، ۲۶، ۲۷].

روش‌های کنترل و محدود کردن واکنش میلارد طی فرآوری و شیر مایع نوزاد فرادما مورد نیاز است.

واکنش میلارد بر سلامت مصرف‌کننده، و حساسیت گروه هدف تغذیه‌کننده از این محصول (نوزادان و بخصوص نوزادان نارس)، مطالعات بیشتری به ویژه در جهت بررسی

## ه-منابع

- [1] Cama-Moncunill, X., et al., *Direct analysis of calcium in liquid infant formula via laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS)*. Food Chemistry, 2020. **309**(125754).
- [2] Bakker-Zierikzee, A.M., et al., *Effects of infant formula containing a mixture of galacto- and fructo-oligosaccharides or viable Bifidobacterium animalis on the intestinal microflora during the first 4 months of life*. The British Journal of Nutrition, 2005. **5**(94): p. 783–90.
- [3] Guo, M. and S. Ahmad, *Formulation guidelines for infant formula*, in *Human Milk Biochemistry and Infant Formula Manufacturing Technology*. 2014, Woodhead Publishing: Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. p. 141-171.
- [4] Kokkinidou, S. and D.G. Peterson, *Control of Maillard-Type Off-Flavor Development in Ultrahigh-Temperature-Processed Bovine Milk by Phenolic Chemistry*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014. **62**(32): p. 8023–8033.
- [5] Sunds, A.V., et al., *Maillard reaction progress in UHT milk during storage at different temperature levels and cycles*. International Dairy Journal, 2017. **34**.
- [6] Happe, R.P. and L. Gambelli, *Infant formula. Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition*, in *Specialty Oils and Fats in Food and Nutrition*. 2015, Woodhead Publishing. p. 285–315.
- [7] Tamanna, N. and N. Mahmood, *Food Processing and Maillard Reaction Products: Effect on Human Health and Nutrition*. International Journal of Food Science, 2015. **6**.
- [8] Aktağ, I.G., A. Hamzaloğlu, and V. Gökmen, *Lactose hydrolysis and protein fortification pose an increased risk for the formation of Maillard reaction products in UHT treated milk products*. Journal of Food Composition and Analysis, 2019. **84**.
- [9] Roux, S., et al., *Kinetics of Maillard reactions in model infant formula during UHT treatment using a static batch ohmic heater*. Dairy Science & Technology, 2009. **89**: p. 349-362.
- [10] Zhang, Y., et al., *Effect of different heat treatments on the Maillard reaction products, volatile compounds and glycation level of milk*. International Dairy Journal, 2021. **Volume 123**(105182).
- [11] Roux, S., et al., *Comparative thermal impact of two UHT*

- technologies, continuous ohmic heating and direct steam injection, on the nutritional properties of liquid infant formula.* Journal of Food Engineering, 2016. **179**: p. 36-43.
- [12] Guo, Y., et al., *Changes in Maillard reaction products, volatile substances and active proteins of goat milk under different heat treatments.* International Dairy Journal, 2024. **146**.
- [13] <https://www.statista.com/statistics/976542/sales-of-baby-milk-formula-by-type-us/>.
- [14] Zhu, H., et al., *Trapping of Carbonyl Compounds by Epicatechin: Reaction Kinetics and Identification of Epicatechin-adducts in Stored UHT Milk.* Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020. **68**(29): p. 7718–7726.
- [15] Al-Saadi, J.M.S.a.H.C.D., *Cross-linking of proteins and other changes in UHT milk during storage at different temperatures.* Australian Journal of Dairy Technology, 2008. **6**(63): p. 79-85.
- [16] Aalaei, K., et al., *Application of a dye-binding method for the determination of available lysine in skim milk powders.* Food Chemistry, 2016(196): p. 815-820.
- [17] Charissou, A., L. Ait-Ameur, and I. Birlouez-Aragon, *Evaluation of a gas chromatography/mass spectrometry method for the quantification of carboxymethyllysine in food samples.* Journal of Chromatography A, 2007. **1140**(1-2): p. 189-194.
- [18] Schamberger, G.P. and T.P. Labuza, *Effect of green tea flavonoids on Maillard browning in UHT milk.* LWT - Food Science and Technology, 2007. **40**(8): p. 1410-1417.
- [19] Lalwani, S., et al., *Changes in nutritional and technological properties of heat-treated milk and cream at dairy production scale during storage.* International Dairy Journal, 2024(154 ): p. 105927.
- [20] Milovanovic, B., et al., *Colour assessment of milk and milk products using computer vision system and colorimeter.* International Dairy Journal, 2021(120 ): p. 105084.
- [21] Karlsson, M.A., et al., *Changes in stability and shelf-life of ultra-high temperature treated milk during long term storage at different temperatures.* Heliyon, 2019(5 ): p. e02431.
- [22] Aalaei, K., et al., *Early and advanced stages of Maillard reaction in infant formulas: Analysis of available lysine and carboxymethyl-lysine.* PLoS ONE, 2019. **7**(14).
- [23] Prestela, S., et al., *Evaluation of the effect of berry extracts on carboxymethyllysine and lysine in ultra-high temperature treated milk.* Food Research International, 2020. **130**(108923).
- [24] Contreras-Calderón, J., et al., *Effect of Ingredients on Non-enzymatic Browning, Nutritional Value and Furanic Compounds in Spanish Infant*

- Formulas*. Journal of Food and Nutrition Research, 2017. **5**(4): p. 243-252.
- [25] Zhao, X., et al., *Effects of different heat treatments on Maillard reaction products and volatile substances of camel milk*. Front in Nutrition, 2023. **10**(1072261).
- [26] Laguerre, J.C., et al., *The impact of microwave heating of infant formula model on neo-formed contaminant formation, nutrient degradation and spore destruction*. Journal of Food Engineering,, 2011. **107**(2): p. 208-213.
- [27] Yang, H., et al., *Degradation kinetics of vitamins in different enteral feeding formulas during storage at different temperatures*. Heliyon, 2024(10): p. e29653.



## Scientific Research

## Evaluation of the Effect of Ultra-High Temperature (UHT) Treatment on Color, Lysine, Furosine, and Vitamin C in Liquid Infant Formula

Masoud Ghorbani<sup>1</sup>, Yahya Maghsoudlou<sup>2\*</sup>, Morteza Khomeiri<sup>3</sup>, Ali Moayed<sup>4</sup>, Farhad Garavand<sup>5</sup>

1 -PhD student of Food Technology, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

\*2-Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

3-Professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

4 -Associated professor, Department of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran.

5-Assistant professor, Department of Food Chemistry and Technology, Teagasc Moorepark Food Research Centre, Fermoy, Co. Cork, Ireland.

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

**Article History:**

Received:2024/4/30

Accepted:2024/7/20

**Keywords:**

UHT,

Sterilization,

Infant formula,

Liquid Infant Formula,

Millard

**DOI: 10.22034/FSCT.22.158.80.**

\*Corresponding Author E-  
y.maghsoudlou@gau.ac.ir

Ready-to-feed liquid infant formula (LIF) is used for preterm infants when human milk is unavailable. However, sterilization of liquid infant milk using ultra-high temperature (UHT) treatment leads to the formation of Maillard reaction products (MRPs), which may negatively impact the immune system and kidney development. In this study, infant liquid milk, after being prepared at the Pegah Tehran pilot plant, was subjected to UHT treatment (137°C for 3 seconds). The color indices, nutritional content, and initial Maillard reaction products were examined before and after the UHT process. The findings revealed that there were significant differences in the numerical values of L\*, a\*, and b\* indices before and after thermal processing (p<0.05). The available lysine content before and after UHT treatment was 2.30±0.23 and 1.99±0.05 % in dry matter, respectively (13.48% reduction). The amount of Furosine (early-stage indicator) before and after UHT treatment was reported as 60.64±0.91 and 178.57±1.51 mg per 100 grams of protein, respectively. Vitamin C levels, another nutritional index, decreased during the UHT process (before and after UHT treatment were 147.15±0.49 and 128.29±1.65 mg per kilogram, respectively). Overall, while UHT treatment has benefits for food safety, it significantly reduces the nutritional value of infant liquid milk through Maillard reaction products.