



بهینه سازی شرایط واکنش برای تولید نشاسته فسفریله گندم برای استفاده در فرمولاسیون مواد غذایی کنسرو شده

محمدکاظم حیدریان<sup>۱</sup>، مجید هاشمی<sup>۲\*</sup>، الناز میلانی<sup>۳</sup>، قولعلی گلی موحد<sup>۴</sup>، شهرام بیرقی طوسی<sup>۲</sup>

۱- دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران.

۲- استادیار، گروه پژوهشی فراوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

۳- دانشیار، گروه پژوهشی فراوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

۴- مربی، گروه پژوهشی فراوری مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

#### اطلاعات مقاله

#### چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۱

کلمات کلیدی:

ژلاتیناسیون،

فراورده های کنسروی،

فسفریلاسیون،

نشاسته گندم

گندم یکی از محصولات زراعی اصلی ایران است که بخش اعظم این غله از نشاسته و پروتئین تشکیل شده است. استفاده گسترده از نشاسته به دلیل قیمت مناسب، ایمنی بالا و قابلیت زیست تخریب پذیری، در صنایع مختلف امکانات بسیاری را فراهم می کند. با این حال، نشاسته طبیعی به دلیل محدودیت هایی مانند نامحلول بودن در آب سرد و عدم تحمل گرما برای کاربردهای صنعتی مختلف نیاز به اصلاح دارد. از این رو، اصلاح نشاسته گندم به منظور بهبود ویژگی ها و کاهش وابستگی به واردات نشاسته های اصلاح شده ضروری است. اصلاح شیمیایی یکی از تکنیک های اصلاح نشاسته است که بیشترین کارایی را از خود نشان داده است، اما با دغدغه هایی نظیر آلودگی محیط زیست و هزینه های بالای مواد شیمیایی همراه است. در این مطالعه شرایط واکنش تولید نشاسته فسفریله با اکسی کلراید (POCl<sub>3</sub>) با استفاده از سه متغیر مستقل pH (۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵)، دما (۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی گراد) و غلظت واکنشگر (۰/۰۳، ۰/۰۷۵ و ۰/۱۲ درصد)، بهینه سازی شد. با توجه به نتایج آزمون های فیزیکوشیمیایی، ملاک بهینه سازی نشاسته مورد استفاده در محصولات کنسروی وجود شاخص تورم و حلالیت، شفافیت خمیر و پایداری انجماد-ذوب بالاتر و سینرسیس کمتر ژل انتخاب گردید. سپس آزمون های تکمیلی به منظور بررسی خصوصیات ساختاری، حرارتی و خمیری شدن بر نمونه نشاسته انتخاب شده و طبیعی انجام شد؛ نتایج نشان داد که فسفریلاسیون از طریق بهبود ویژگی های بافتی، ایجاد ویسکوزیته بالاتر و افزایش تحمل گرما، نشاسته اصلاح شده حاصل را برای استفاده در فرمولاسیون محصولات کنسروی مناسب ساخت.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.65.

\* مسئول مکاتبات:

majid\_hashemi1@yahoo.com

## ۱- مقدمه

عاملی مختلف بر مولکول نشاسته باعث بهبود خواص عملکردی و تغییراتی در دمای ژلاتینه شدن نشاسته، pH و خواص رئولوژیکی و خواص خمیری شدن نشاسته می‌شود [۹]. همچنین تکنیک های اصلاح شیمیایی بیشترین استفاده و بیشترین کارایی را دارند؛ ولی نگرانی زیادی در مورد مسائل آلودگی محیط زیست، تصفیه فاضلاب، ایمنی مواد غذایی و هزینه‌های بالای مربوط به روش‌های اصلاح شیمیایی موجود است [۱۰]. به همین منظور بهینه‌سازی شرایط آزمون جهت راندمان واکنش بالاتر و مصرف کمتر ماده شیمیایی به منظور اصلاح نشاسته در این پژوهش صورت گرفت.

اصلاح شیمیایی عمدتاً مبتنی بر اتصال گروه‌های عاملی به گرانول‌های نشاسته بدون هیچ گونه تغییر فیزیکی در شکل می‌باشد. هر یک از واحدهای گلوکز موجود در آمیلوز و آمیلوپکتین دارای سه گروه هیدروکسیل فعال هستند که مکان‌های اصلی اصلاح شیمیایی در نشاسته می‌باشند [۱۱]. خواص نشاسته‌های اصلاح شده شیمیایی بستگی به شرایط تیمار مانند pH، دما، غلظت واکنش دهنده، زمان واکنش و حضور کاتالیزور دارد. علاوه بر این، منبع نشاسته، نوع جایگزین و درجه جانشینی ( $DS^4$ ) بر خواص فیزیکوشیمیایی نشاسته‌های اصلاح شده تأثیر گذار است [۱۲].

فرایند تولید نشاسته‌های دارای اتصالات عرضی، با استفاده از مواد شیمیایی، شاخه‌های آمیلوز و آمیلوپکتین را از طریق پیوندهای استری به یکدیگر اتصال می‌دهند، بنابراین باعث افزایش تقویت و یکپارچگی ساختار گرانول می‌شوند [۱۳]. هدف از اتصال عرضی، تولید نشاسته اصلاح شده‌ای است که در مقایسه با نشاسته طبیعی، ژل سفت‌تر، حلالیت بالاتر، قدرت تورم بیشتر و قابلیت تحمل شرایط فراوری (اسید، دما

گندم یکی از مهمترین محصولات زراعی ایران است که به تبع آن کارخانجات متعدد فراوری آن از جمله کارخانجات تولید نشاسته در کشور در سال‌های اخیر راه اندازی شده است. با این وجود، به دلیل عدم امکان بکارگیری نشاسته طبیعی<sup>۱</sup> در صنایع مختلف، اصلاح نشاسته گندم به منظور بهبود خصوصیات آن و جلوگیری از واردات گسترده نشاسته‌های اصلاح شده به کشور ضروری به نظر می‌رسد. کاربرد نشاسته طبیعی در صنعت به دلیل ماهیت ناپایدار در برابر تغییرات دما، pH و نیروهای برشی (شکست ویسکوزیته<sup>۲</sup> بالا)، محدود شده است [۱]. علاوه بر موارد مذکور نشاسته طبیعی به دلیل پیوندهای هیدروژنی بین مولکولی و درون مولکولی و ساختار نیمه کریستالی، در دمای محیط نسبت به آب نفوذناپذیر و در آب سرد نامحلول است [۲]. از طرف دیگر نشاسته به راحتی بیات (رتروگرید) می‌شود؛ بنابراین، نشاسته‌ها به منظور افزایش حلالیت، بهبود ویژگی‌های بافتی و افزایش تحمل گرما جهت کاربردهای صنعتی متنوع باید اصلاح شوند [۳]. همچنین برای پایدار ساختن نشاسته و مناسب ساختن خواص عملکردی آن جهت استفاده در صنعت، روش‌های اصلاح مختلفی در دهه‌های گذشته اعمال شده اند [۴]. هر گونه تغییر در ساختار مولکول نشاسته ناشی از عوامل مختلف محیطی، عملیاتی و فراوری به عنوان اصلاح<sup>۳</sup> نامیده می‌شود [۵]. در صنعت، برای تغییر خواص نشاسته طبیعی از تیمار فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی استفاده می‌شود. تفاوت در خواص فیزیکوشیمیایی نشاسته، کاربرد آن را در صنعت تعیین می‌کند [۶، ۷].

اصلاح شیمیایی شامل اکسیداسیون، سوکسینیل‌اسیون، استریفیکاسیون، اتریفیکاسیون و فسفریل‌اسیون است [۸]. در این روش اصلاح نشاسته، جایگزین کردن ترکیب گروه‌های

1. Native
2. Break-Down
3. Modification

## 4. Degree of substitution

گذاری، بر طبق روش‌های استاندارد (AOAC, 2000) انجام شد [۱۵].

۲-۳- تولید نشاسته‌های فسفریله به روش فسفر اکسی کلراید ابی ( $\text{POCl}_3$ )

نشاسته خام (۶۰ گرم) در ۹۰ میلی‌لیتر آب مقطر همراه با هم‌زدن در دماهای ۲۵، ۳۵ و ۴۵ درجه سانتی‌گراد حل شد و ۱۰ درصد سولفات سدیم بر اساس وزن نشاسته به آن اضافه گردید. pH سوسپانسیون تهیه شده بوسیله سود یک مولار در مقادیر ۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵ تنظیم گردید. سپس فسفر اکسی کلراید در سه غلظت ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ درصد (بر اساس وزن نشاسته) به سوسپانسیون اضافه گردید. محیط واکنش در pHهای ذکر شده به مدت یک ساعت همراه با هم‌زدن نگهداری شد و سپس با افزودن اسید کلریدریک یک مولار pH محیط به ۶/۵ رسید. نشاسته اصلاح شده حاصل بوسیله سانتریفوژ (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) بازیابی و چهار مرتبه با آب مقطر شستشو داده شد و دو مرتبه توسط اتانول-فیلتراسیون شسته شده و درون هود خشک گردید [۱۶].

۲-۴- اندازه‌گیری مقدار آمیلوز

۰/۱ گرم نشاسته در ۸ میلی‌لیتر محلول دی‌متیل سولفوکساید<sup>۸</sup> ۹۰ درصد در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه حل شد و پس از به حجم رساندن در بالن ۲۵ میلی‌لیتری، یک میلی‌لیتر از این محلول به بالن پنجاه میلی‌لیتری منتقل گردید و ۴۰ میلی‌لیتر آب دی‌یونیزه و پنج میلی‌لیتر محلول ید ( $0.025 \text{ mol/L}$ ) در  $0.065 \text{ mol/L}$  یدید پتاسیم) اضافه و به حجم رسانده شد. جذب محلول پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد. از محلول حاوی تمام واکنش‌گرها بدون نمونه نشاسته به عنوان شاهد جذب

و برش) را بدون تجزیه (شکست ویسکوزیته پایین) داشته باشد. از جمله عوامل ایجادکننده اتصال عرضی که معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند می‌توان به تری‌متا فسفات سدیم ( $\text{STMP}^5$ )، تری پلی فسفات سدیم ( $\text{STPP}^6$ )، اپی کلروهیدرین ( $\text{ECH}^7$ ) و فسفوریل کلراید ( $\text{POCl}_3$ ) اشاره کرد [۱۴]. نشاسته مورد استفاده در فرمولاسیون غذاهای کنسرو شده باید بتواند دمای فرایند استریلیزاسیون را تحمل کند و پایداری و بافت مورد نظر را در فراورده نهایی حاصل کند.

بنابراین هدف از این مطالعه بهینه‌سازی روش تولید نشاسته گندم فسفریله با اکسی کلراید ( $\text{POCl}_3$ ) به منظور استفاده در فرمولاسیون انواع غذاهای کنسروی می‌باشد. در این مطالعه علاوه بر بهینه‌سازی شرایط تولید نشاسته گندم فسفریله، به منظور درک تغییرات ایجاد شده در خصوصیات ساختاری، حرارتی، ژل‌دهندگی، خمیری شدن و مورفولوژیکی، نشاسته گندم بهینه اصلاح شده با نشاسته طبیعی گندم مورد مقایسه قرار گرفت.

## ۲-مواد و روش

### ۲-۱- مواد

نشاسته گندم با خلوص بالا از شرکت نشاسته خوشه زرین تهیه شد. ترکیبات شیمیایی مورد استفاده از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. آمیلوپکتین خالص استخراج شده از نشاسته ذرت مومی (110120) و آمیلوز خالص حاصل از نشاسته سیب زمینی آمیلوزی (A0512) از شرکت شرکت سیگما تهیه گردید.

۲-۲- اندازه‌گیری رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر

اندازه‌گیری رطوبت به روش آون گذاری، پروتئین به روش کج‌لدال، چربی به روش سوکسله و خاکستر به روش کوره

7. Epichlorohydrin

8. Dimethyl sulfoxide (DMSO)

5. Sodium trimetaphosphate

6. Sodium tripolyphosphate

گردیدند. مایع رویی (سوپرناتانت) با دقت به درون پلیت توزین شده از قبل، تخلیه و در آن با دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. وزن لایه ته‌نشین شده محاسبه، و سپس حلالیت و قدرت تورم بر اساس روابط زیر تعیین گردید [۱۹، ۲۰].

$$\text{معادله شماره ۲} = \frac{m_2 * 100}{m_1} = \text{حلالیت}$$

$$\text{معادله شماره ۳} = \frac{m_3}{m_1 - m_2} = \text{قدرت تورم}$$

مقادیر  $m_1$ : وزن نمونه اولیه نشاسته، مقادیر  $m_2$ : وزن مایع رویی خشک‌شده و مقادیر  $m_3$ : وزن لایه ته‌نشین شده می‌باشد.

#### ۲-۷- اندازه گیری آب اندازی ژل های نشاسته

برای تعیین میزان آب‌اندازی ژل نشاسته، سوسپانسیون ۵ درصدی نشاسته در آب دیونیزه حاوی ۲۰۰ ppm سدیم آزید، در لوله در پیچ‌دار تهیه شد و پس از یکنواخت شدن، به مدت ۳۰ دقیقه همراه با هم زدن در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از طی زمان پخت، لوله‌ها با مخلوط آب و یخ سریعاً سرد شدند و در یخچال نگهداری گردیدند. سپس لوله‌ها از یخچال خارج و به مدت ۱۵ دقیقه در شتاب ۲۵۰۰ g سانتریفیوژ شدند. لایه شناور حذف و اختلاف وزن اندازه‌گیری گردید. درصد آب‌اندازی از محاسبه درصد آب جدا شده نسبت به وزن اولیه ژل محاسبه گردید [۲۱].

#### ۲-۸- اندازه گیری پایداری در برابر انجماد- ذوب

به منظور تعیین پایداری ژل های نشاسته در برابر انجماد و ذوب، سوسپانسیون ۵ درصدی نشاسته در آب دیونیزه حاوی ۲۰۰ ppm سدیم آزید در لوله در پیچ‌دار تهیه شد. این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط یکنواخت و سپس در حمام آب جوش به مدت ۲۰ دقیقه همراه با هم‌زدن مکانیکی با سرعت ۱۶۰ دور در دقیقه حرارت دهی شد. خمیر حاصل تا دمای اتاق سرد گردید و درون فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت منجمد

استفاده گردید. نمودار استاندارد با استفاده از آمیلوز و آمیلوپکتین خالص شده رسم شد [۱۷].

#### ۲-۵- تعیین میزان فسفر و درجه جایگزینی فسفر در نشاسته فسفریله

میزان فسفر موجود در نشاسته اصلاح شده با استفاده از روش رنگ‌سنجی، در نتیجه‌ی واکنش با آمونیوم مولیبدات مطابق با روش جکسون (۱۹۶۷) تعیین شد [۱۸]. در ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه‌های نشاسته با ۱۵ میلی‌لیتر از مخلوط سه اسید نیتریک اسید، پرکلریک اسید و سولفوریک اسید (با نسبت‌های به ترتیب از چپ به راست ۱:۴:۱۰) هضم شدند. بعد از شفاف شدن رنگ، نمونه‌ها به یک فلاسک پنجاه میلی‌لیتری استاندارد منتقل شد و با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق گردیدند. سپس پنج میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات به فلاسک‌ها اضافه و با آب مقطر به حجم رسانیده شد. نمونه شاهد نیز با استفاده از پنج میلی‌لیتر معرف آمونیوم مولیبدات تهیه گردید. جذب نمونه‌ها در ۴۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد. منحنی استاندارد با استفاده از جذب رقت‌های مختلف پتاسیم دی‌هیدروژن ارتوفسفات تهیه شد. در نهایت میزان درجه جایگزینی فسفر با استفاده از معادله ذیل تعیین گردید:

$$\text{معادله شماره ۱} = DS = \frac{162 \times P}{3100 - (102 \times P)}$$

که DS درجه جایگزینی و P درصد میزان فسفر (بر اساس وزن خشک) نشاسته فسفریله شده می‌باشد.

#### ۲-۶- اندازه گیری قدرت تورم و درصد حلالیت

مقدار معینی از نمونه نشاسته توزین و جهت تهیه سوسپانسیون ۱/۵ درصد وزنی-وزنی، آب دیونیزه به آن اضافه گردید. نمونه‌ها توسط همزن مغناطیسی یکنواخت شدند و در حمام آب با دماهای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت دهی گردیدند. طی این مدت، هر ۵ دقیقه یک‌بار نمونه‌ها یکنواخت شدند. نمونه‌ها پس از خنک شدن، به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ g سانتریفیوژ

بلورینگی هر یک از نمونه‌های نشاسته با استفاده از معادله زیر تعیین شد.

$$\text{Crystallinity}\% = \frac{A_c}{(A_c + A_d)} \quad (\text{معادله شماره ۴})$$

که  $A_c$  و  $A_d$  به ترتیب مساحت ناحیه کریستالی و آمورف بدست آمده بر اساس افتراق سنجی اشعه ایکس نمونه‌ها بود [۲۴].

#### ۲-۱۱- تعیین ویژگی‌های حرارتی (DSC)

به منظور بررسی ویژگی‌های حرارتی نشاسته، ۵ میلی‌گرم نشاسته (بر مبنای وزن خشک)، درون ظرف آلومینیومی ۴۰ μL توزین و پس از افزودن ۲۰ μL آب دیونیزه در ظرف در بسته به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال به تعادل رسید. پس از هم‌دما شدن ظرف با محیط، به وسیله دستگاه کالری‌سنجی روبشی افتراقی از دمای ۲۰ تا ۱۲۰ سانتی‌گراد با سرعت ۱۰°C/min حرارت دهی گردید. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار برای تعیین دمای شروع (To)، دمای اوج (Tp)، دمای نهایی (Tc) و آنتالپی ژلاتیناسیون (H) تحلیل شد [۲۵].

#### ۲-۱۲- بررسی مورفولوژی گرانول‌های نشاسته (SEM)

سوسپانسیون ۱ درصد نشاسته در اتانول تهیه و پس از یکنواخت شدن با همزن گردابی، یک قطره به پایه آلومینیومی منتقل و پس از خشک شدن، به وسیله دستگاه پوشش‌دهی طلا-پالادیوم با شدت جریان ۹mA و خلا ۱۰-۳ Pa پوشش‌دهی شد، سپس با میکروسکوپ الکترونی روبشی با ولتاژ شتاب‌دهنده ۲۰kV تصویربرداری انجام شد [۲۶].

#### ۲-۱۳- تعیین رفتاری خمیری شدن نشاسته

رفتار خمیری شدن نشاسته با استفاده از دستگاه آنالیز سریع ویسکوزیته (RVA) تعیین شد. سوسپانسیون ۱۴ درصد نشاسته به وزن ۲۸ گرم، درون ظرف دستگاه تهیه و پس از هم زدن مقدماتی با همزن دستگاه، درون محفظه دستگاه قرار

گردید. خروج از انجماد در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت درون انکوباتور انجام شد. لوله‌های سانتیفریوژ در شتاب ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شدند. آب‌اندازی ژل بر حسب درصد آب جدا شده نسبت به وزن اولیه ژل تعیین گردید [۲۲].

#### ۲-۹- شفافیت خمیرهای نشاسته

شفافیت خمیر بدست آمده از نشاسته‌های طبیعی و اصلاح‌شده بر اساس روش ردی و سیب (۱۹۹۹) تعیین شد [۲۳]. ابتدا ۰/۰۵ گرم از هر نشاسته در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سوسپانسیون شد و در یک لوله آزمایش در پیچ دار ریخته و در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت به طوری که هر پنج دقیقه چند بار همزده شد. بعد از سرد شدن، شفافیت نشاسته‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد آب اندازه‌گیری شد.

#### ۲-۱۰- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه<sup>۹</sup> (FTIR)

طیف مادون قرمز نمونه‌های نشاسته طبیعی و نمونه اصلاح‌شده بهینه با استفاده از دستگاه طیف سنج FTIR انجام شد. در ابتدا هر یک از نمونه‌ها با پودر بروماید پتاسیم به خوبی مخلوط شد و به صورت یک قرص پرس شده برای قرارگیری در دستگاه درآمد. طیف‌های مادون قرمز نمونه‌ها بر مبنای میزان عبور طیف و با وضوح ۱/۹۳ بر سانتیمتر در محدوده‌ی طول موجی  $4000 \text{ cm}^{-1}$  تا  $400 \text{ cm}^{-1}$  ثبت گردیدند [۲۴].

#### ۲-۱۱- تعیین الگوی پراش اشعه ایکس (XRD)

نمونه‌های نشاسته طبیعی و نمونه اصلاح شده بهینه در یک دستگاه افتراق سنج اشعه ایکس در ولتاژ ۳۵ kV و آمپر ۳۰ mA مورد بررسی قرار گرفتند. افتراق‌های ثبت شده بین زاویه ۲ تا ۷۰ درجه، با گام ۰/۰۴ درجه بود. درصد

9. Fourier Transform Infrared Spectroscopy

شرایط دو بار فشردن با سرعت 2 mm/s، درصد تغییرات پنجاه درصد و نیروی بارگذاری اولیه 10 گرم انجام شد. در این آزمون نمونه تحت تنش محوری پنجاه درصد قرار گرفته تا از تخریب ژل طی آزمون جلوگیری شود که توسط پونز و فیزمن [28] پیشنهاد شده است. بر اساس داده‌های تغییرات نیرو- زمان، شاخص سختی<sup>۱۴</sup> محاسبه شد.

## ۲-۱۵- آنالیز آماری

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی شرایط واکنش تولید نشاسته فسفریله با اکسی کلراید از روش رویه سطح در قالب طرح باکس بنکن استفاده گردید (جدول ۱). در مرحله اول سه متغیر مستقل شامل pH (9/5، 10/5 و 11/5)، دما (25، 35 و 45 درجه سانتی گراد) و غلظت واکنشگر (0/03، 0/075 و 0/12 درصد) در سه سطح، بهینه‌سازی شدند. ملاک بهینه‌سازی در این مرحله خصوصیات آب‌اندازی، قدرت تورم، شفافیت خمیر و پایداری در برابر انجماد و ذوب نمونه‌ها قرار داده شد. در مرحله بعد آزمون‌های تکمیلی بر روی نمونه بهینه و نشاسته طبیعی انجام شد. در این مرحله به منظور بررسی آزمون معنی داری از طرح آزمایشی آنووا یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین دانکن استفاده شد. پردازش داده‌ها و ترسیم نمودارها به کمک نرم افزار مینی‌تب و Origin 2022 صورت گرفت.

گرفت. سرعت هم زدن در ده ثانیه اول آزمون 960 rpm و سپس 160 rpm تنظیم گردید. تغییرات ویسکوزیته نمونه طی زمان آزمون بر اساس برنامه تغییرات دمایی نمونه در پنج مرحله اندازه‌گیری شد. ۱- نگهداری در 50°C به مدت یک دقیقه؛ ۲- افزایش دما از 50°C به 95°C با سرعت 12°C/min؛ ۳- نگهداری در دمای 95°C به مدت 2/5 دقیقه؛ ۴- کاهش دما از 95°C به 50°C با سرعت 12°C/min و ۵- نگهداری در دمای 50°C به مدت دو دقیقه. شاخص‌های دمای خمیری- شدن<sup>۱۰</sup>، ویسکوزیته حداکثر<sup>۱۱</sup>، ویسکوزیته شکست<sup>۱۲</sup> و ویسکوزیته نهایی<sup>۱۳</sup> بر اساس نمودار تغییرات ویسکوزیته در برابر دما توسط نرم افزار تعیین شد [27].

## ۲-۱۴- اندازه گیری سختی ژل نشاسته

به منظور بررسی سختی ژل نشاسته، ابتدا سوسپانسیون 10 درصدی نشاسته در آب دیونیزه تهیه و به مدت 15 دقیقه توسط همزن مکانیکی هم‌زده شد. نمونه به مدت 15 دقیقه در حمام آب جوش با سرعت هم‌زن 160 دور در دقیقه برای پخت قرار داده شد. خمیر داغ حاصل به قالب استوانه‌ای با قطر و ارتفاع 10 میلی‌متر منتقل گردید و به مدت 24 ساعت در یخچال به منظور تشکیل و توسعه ژل نگهداری شد. آزمون تحلیل پروفایل بافت نمونه ژل با استفاده از دستگاه بافت‌سنج با لودسل 50 نیوتن در دمای محیط، تحت

**Table 1. Box-Benken's statistical design treatments used to optimize reaction conditions for the production of phosphorylated starch with oxychloride**

| Sample | pH   | Temperature (C) | Concentration (%) |
|--------|------|-----------------|-------------------|
| 1      | 11.5 | 35              | 0.12              |
| 2      | 10.5 | 45              | 0.03              |
| 3      | 9.5  | 25              | 0.075             |
| 4      | 10.5 | 25              | 0.12              |
| 5      | 11.5 | 25              | 0.075             |
| 6      | 11.5 | 35              | 0.03              |
| 7      | 10.5 | 35              | 0.075             |
| 8      | 10.5 | 45              | 0.12              |
| 9      | 11.5 | 45              | 0.075             |
| 10     | 9.5  | 35              | 0.12              |

13. Final viscosity

14. Hardness

10. Pasting temperature

11. Peak viscosity

12. Trough viscosity

|    |      |    |       |
|----|------|----|-------|
| 11 | 10.5 | 35 | 0.075 |
| 12 | 10.5 | 25 | 0.03  |
| 13 | 10.5 | 35 | 0.075 |
| 14 | 9.5  | 45 | 0.075 |
| 15 | 10.5 | 35 | 0.075 |
| 16 | 9.5  | 35 | 0.03  |
| 17 | 10.5 | 35 | 0.075 |

که نشاسته گندم خریداری شده بسیار خالص بوده و پروتئین باقیمانده در طول جداسازی به طور کامل حذف شده است در نتیجه می توان ادعا کرد که تفاوت در ویژگی های عملکردی نشاسته تحت تاثیر ناخالصی ها قرار نگرفته است [۲۹].

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- ترکیب شیمیایی

ترکیب شیمیایی نشاسته طبیعی گندم در جدول ۲ نشان داده شده است. محتوای بسیار کم پروتئین و چربی نشان می دهد

**Table 2. Chemical composition of commercial wheat starch**

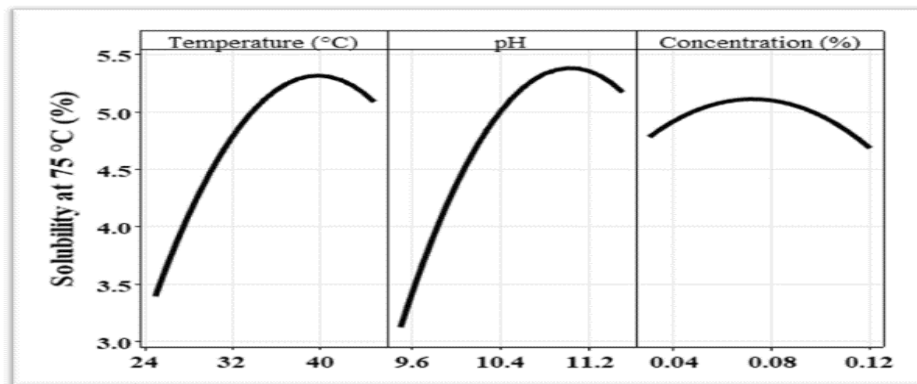
| Chemical composition | Content (%)  |
|----------------------|--------------|
| Moisture             | 11.00 ± 0.40 |
| Protein*             | 0.77 ± 0.06  |
| Fat*                 | 0.09 ± 0.02  |
| Ash*                 | 0.30 ± 0.01  |

\* The content of protein, fat and ash is calculated based on dry matter.

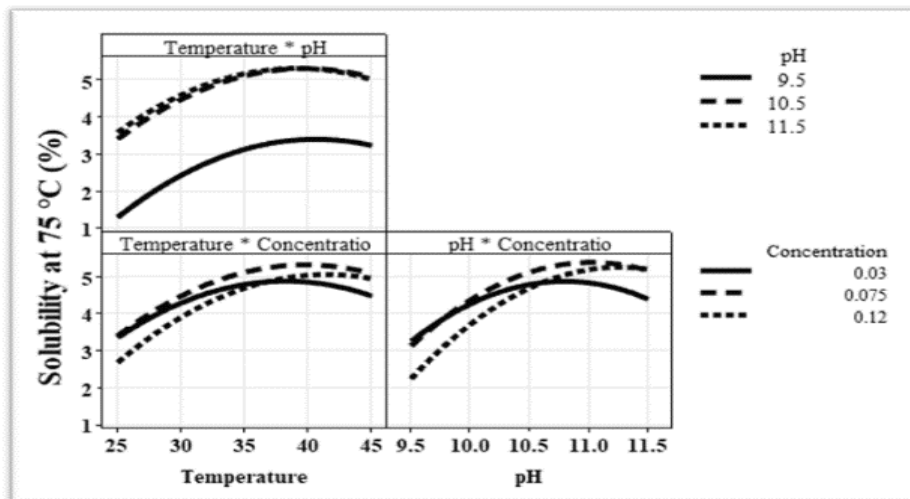
دست نیامد و هیچ همبستگی بین متغیرهای فرایند و حلالیت نشاسته در ۶۰ درجه سانتی گراد مشاهده نشد. از طرف دیگر حلالیت نشاسته طبیعی در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد معادل ۳/۵۷ درصد برآورد گردید. این پارامتر در نشاسته های فسفریله شده، ۵/۷۱ - ۱/۱۲ درصد متغیر بود و مدل درجه دو برای توصیف اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد نشاسته فسفریله تولید شده معنی دار گردید ( $p < 0.05$ ).

#### ۳-۲- انحلال پذیری

میزان انحلال پذیری در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد نشاسته- های گندم فسفریله شده در دامنه ۳/۹۸ - ۱/۱۲ درصد قرار داشت. این در حالی بود که این شاخص در نشاسته اولیه مورد استفاده معادل ۲/۰۰ درصد به دست آمد؛ با این وجود مدل معنی داری برای نحوه اثر متغیرهای فرایند بر میزان انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته های فسفریله به



A



B

Fig 1. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate of phosphorylated wheat starch at 75°C.

معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) بود و ضریب همبستگی برای این دو ویژگی معادل  $0.530$  - به دست آمد.

از طرف دیگر دامنه تغییرات حلالیت در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد نشاسته‌های فسفریله شده  $11/28 - 5/58$  درصد، متغیر بود در حالی که این مقدار در نشاسته خام اولیه  $4/98$  درصد بود. همچنین مدل‌های خطی برای توصیف اثر متغیرهای مورد بررسی بر مقدار انحلال در دمای ۹۰ درجه

طبق آنالیز واریانس داده‌ها، اثر خطی و مربع دما و pH بر انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولید شده معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). همانطور که در شکل ۱ نمایان است اثر دما تا حدود ۴۰ درجه سانتیگراد افزایشی و پس از آن کاهش بود. اثر مقدار pH نیز تا حدود ۱۱ افزایشی و پس از آن کاهش بود. همچنین میزان انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد با میزان فسفریله شدن دارای همبستگی



شکل ۲ نمایان است این اثر افزایشی بود. ضریب همبستگی بین میزان فسفریله شدن نمونه‌ها و میزان انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) و  $-0.7652$  بود.

سانتیگراد نمونه‌های فسفریله شده معنی‌دار گردید ( $p < 0.05$ ). آنالیز واریانس نشان داد که متغیرهای دما و pH فرایند اثر معنی‌دار بر میزان انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشاسته‌های فسفریله شده داشتند ( $p < 0.05$ ) همانطور که در

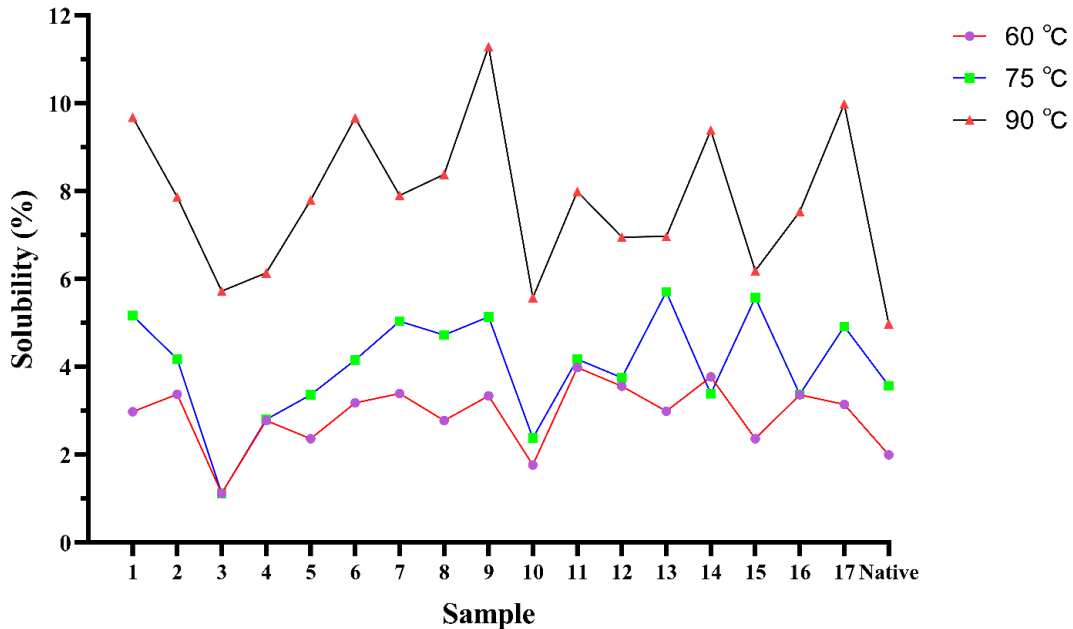


Fig 2. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate of phosphorylated wheat starch at 90°C.

میزان انحلال نشاسته فسفریله شده نسبت به نشاسته طبیعی افزایش می‌یابد در حالی با افزایش غلظت مواد فسفریله کننده میزان انحلال در مقایسه با نمونه طبیعی کاهش یافت [۳۰].

به طور کلی بررسی همبستگی بین میزان فسفریله شدن نشاسته و میزان انحلال نمونه‌های نشاسته فسفریله شده نشان داد که انحلال پذیری نشاسته‌های فسفریله شده همبستگی معکوس با میزان فسفریلاسیون دارند و با افزایش فسفریلاسیون، میزان انحلال پذیری کاهش می‌یابد (شکل ۳). از آنجا که شرایط انجام واکنش‌های فسفریلاسیون از جمله دما، pH و نوع مواد واکنش دهنده می‌تواند بر ویژگی‌های نشاسته حاصل تاثیرگذار باشد، تفاوت در میزان و روند انحلال پذیری نشاسته‌های فسفریله شده را می‌توان ناشی از این شرایط متفاوت واکنش دانست.

و نگساگونساپ و همکاران (۲۰۱۴) تاثیر ایجاد اتصال عرضی در نشاسته تاپوکا با استفاده از غلظت‌های مختلف STMP/STPP به روش آبی را بررسی کردند. نتایج این گزارش نشان داد که با افزایش غلظت این مواد تا حد معینی

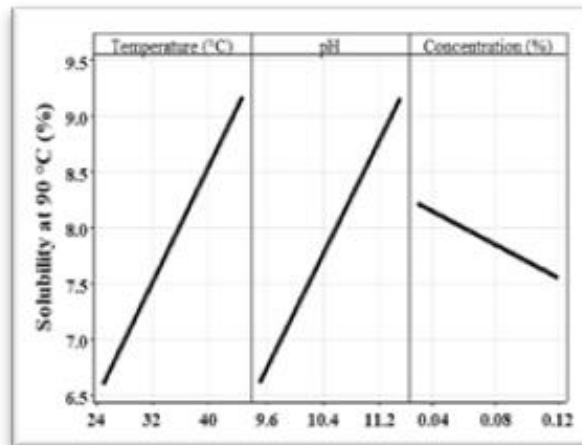


Fig 3. Solubility of native and crosslinked starch samples at 60, 75 and 90°C.

معنی‌دار درجه دو برای اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر میزان قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولیدشده به دست آمد ( $p < 0.05$ ).

### ۳-۳- قدرت تورم

نتایج نشان داد که میزان قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته‌های فسفریله شده در دامنه ۷/۴۸ g/g - ۶/۵۰ قرار داشت درحالی که این مقدار برای نشاسته خام اولیه ۵/۵۴ g/g تعیین گردید. در خصوص روند تغییرات مدل

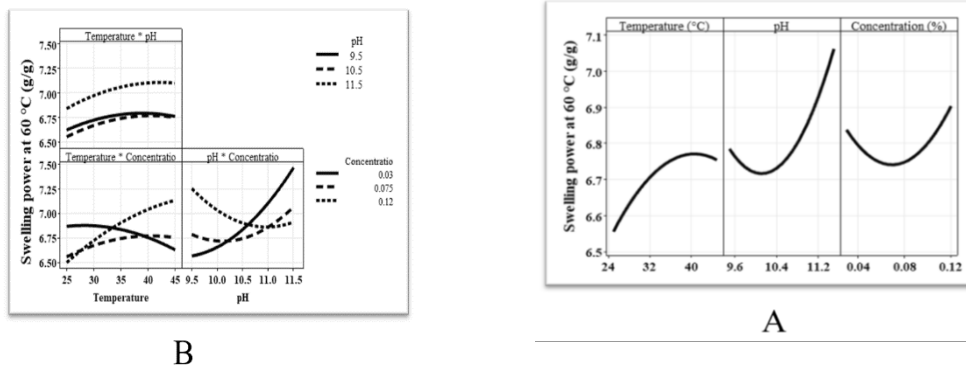


Fig 4. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on swelling power of phosphorylated wheat starch at 60°C.

اثر مقدار pH-غلظت واکنشگر از نوع آنتاگونیستی بود. از طرف دیگر آزمون همبستگی بین قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و میزان فسفریلاسیون معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ) و ضریب همبستگی معادل ۰/۵۴۴- به دست آمد. میزان قدرت تورم نشاسته‌های فسفریله در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در دامنه ۹/۷۸ - ۶/۵۳ g/g قرار داشت. مقدار این

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که، اثر خطی و مربع pH و نیز اثرات متقابل دما-غلظت واکنشگر و مقدار pH-غلظت واکنشگر معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). به طوری که افزایش مقدار pH تا حدود ۱۰/۲ موجب کاهش میزان قدرت تورم نشاسته فسفریله در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد شد و پس از آن باعث افزایش این مقدار گردید (شکل ۴). اثر متقابل دما-غلظت واکنشگر از نوع سینرژیستی و در مقابل

درخصوص روند تغییرات مدل خطی با اثرات متقابل برای اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر میزان قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولیدشده معنی دار گردید ( $p < 0.05$ ). شرایط واکنش تاثیر خود را به صورت اثر خطی افزایشی دما و مقدار pH (شکل ۵) و نیز اثرات متقابل سینرژیستی دما-pH و دما-غلظت واکنشگر بر قدرت تورم نشاسته‌های فسفریله در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشان دادند ( $p < 0.05$ ). ضریب همبستگی بین قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد و میزان فسفریلاسیون نشاسته گندم معنی دار ( $p < 0.05$ ) و معادل  $0.765$  بود.

شاخص در نشاسته طبیعی ۷/۵۹ درصد بود. مدل معنی‌داری در خصوص اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر قدرت تورم در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد نشاسته‌های فسفریله حاصله به دست نیامد و ضریب همبستگی بین قدرت تورم در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و میزان فسفریلاسیون معنی دار نبود.

از طرف دیگر نتایج نشان داد که محدوده تغییرات قدرت تورم نشاسته‌های فسفریله در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در دامنه  $13/79 - 10/51$  g/g قرار داشت در حالی که این میزان در نشاسته خام اولیه  $9/81$  g/g برآورد گردید.

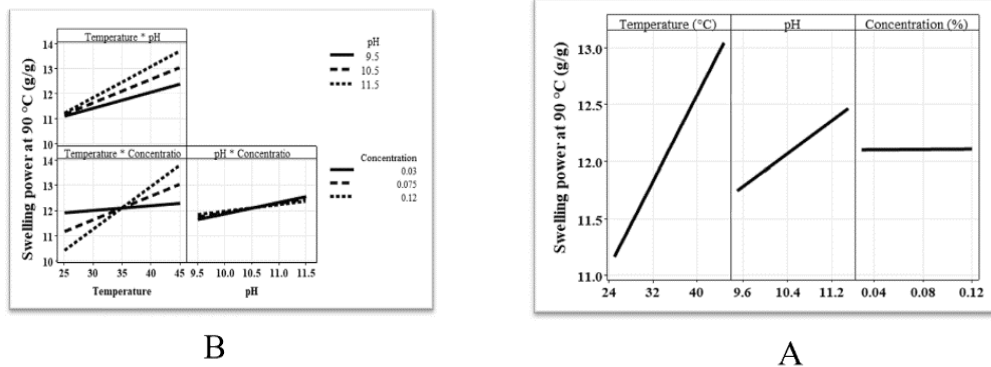


Fig 5. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on swelling power of phosphorylated wheat starch at 90°C.

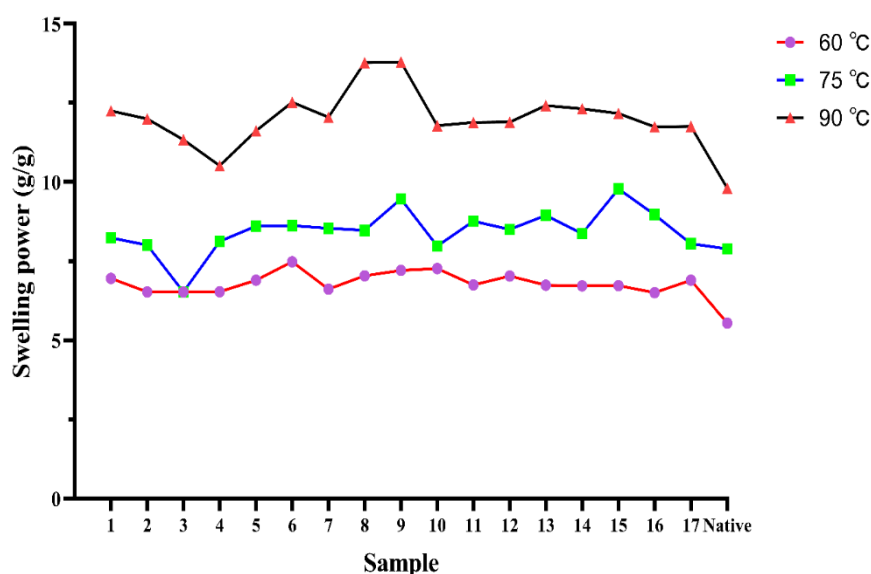


Fig 6. Swelling power of native and crosslinked starch samples at 60, 75 and 90°C.

بار منفی گروه‌های فسفات جذب شده بر روی مولکول نشاسته، سبب دفع این گروه‌ها از هم دیگر می‌شود و در نتیجه تسهیل نفوذ و جذب آب به گرانول‌های نشاسته و افزایش قدرت تورم و حلالیت را به دنبال دارد؛ همچنین با افزایش درصد فسفریلاسیون، قدرت تورم و حلالیت نشاسته روند افزایشی نشان داد [۳۳].

از طرف دیگر هوانگ و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نشاسته ذرت اتصال عرضی یافته به وسیله  $\text{POCl}_3$  دریافتند که در غلظت ۰.۰۱ درصد  $\text{POCl}_3$ ، میزان تورم گرانول‌های نشاسته در مقایسه با نمونه نشاسته طبیعی افزایش داشته اما با افزایش غلظت این ماده قدرت تورم دچار کاهش شده است [۳۱].

### ۳-۴- شفافیت

نتایج نشان داد مقدار شفافیت خمیر نشاسته‌های فسفریله شده در دامنه  $4/66 - 2/62$  درصد قرار داشت، درحالی که این مقدار برای نشاسته خام اولیه  $3/79$  درصد تعیین گردید. اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر شفافیت ژل نمونه‌ها، به صورت مدل دوجمله‌ای با اثرات متقابل معنی‌دار ( $p < 0.05$ )

به طور کلی نتایج بررسی ضرایب همبستگی بین قدرت تورم در دماهای مختلف و میزان فسفریلاسیون نشاسته‌های تولید شده نشان داد که بین قدرت تورم نشاسته‌های تولید شده و میزان فسفریلاسیون همبستگی منفی وجود داشته و با افزایش میزان فسفریلاسیون، قدرت تورم کاهش یافته است (شکل ۶). چراکه نشاسته‌های اتصال عرضی یافته دارای قدرت تورم کمتری نسبت به نشاسته طبیعی خود می‌باشند. این امر ناشی از تشکیل پل‌های درونی است که منجر به محدود شدن تورم گرانول‌ها می‌گردد [۳۱]. با این حال، وارد شدن گروه‌های فسفات به درون گرانول‌های نشاسته می‌تواند باعث افزایش میزان تورم نیز گردد. در واقع دافعه میان مولکول‌های نشاسته مجاور هم که ناشی از گروه‌های فسفات با بار منفی می‌باشد ممکن است اتصالات درون زنجیره‌ای را کاهش داده و باعث افزایش مقدار مولکول‌های متورم هیدراته گردد که این امر در نهایت منجر به افزایش قدرت تورم می‌گردد [۳۲].

وانگ و همکاران (۲۰۰۳) تاثیر اصلاح فسفریلاسیون را بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، حرارتی و خمیری شدن نشاسته ذرت مورد بررسی قرار دادند نتایج این گزارش نشان داد که

[۳۵]. محققان دیگر نیز نتایج مشابهی در خصوص ایجاد اتصالات عرضی در نشاسته‌های ذرت [۳۶] و تاپیوکا [۳۰] گزارش کرده اند که مشابه با نتایج مطالعه حاضر می باشد. این امر احتمالاً به این دلیل است که افزایش تعداد پیوندهای عرضی منجر به افزایش فشردگی و وزن مولکولی گرانول‌های نشاسته می‌گردد [۳۷]. در واقع گرانول‌هایی که بوسیله اتصالات عرضی در کنار یکدیگر نگه داشته شده اند باعث می شوند که این گرانول‌های متراکم به جای عبور نور آن را منکسر کرده و در نتیجه شفافیت کاهش می یابد [۳۲]. کائور و همکاران (۲۰۰۶) و ردی و سیب (۱۹۹۹) کاهش شفافیت خمیر نشاسته اتصال عرضی یافته را تا حدی ناشی از کاهش قدرت تورم دانسته اند [۲۳، ۳۲].

از طرف دیگر افزایش شفافیت ژل با افزایش میزان فسفریلاسیون می تواند ناشی از گروه‌های فسفات باردار باشد که به آگیری مولکول‌های نشاسته کمک کرده و میزان کریستالیزاسیون مجدد آن‌ها را کاهش می‌دهند. در واقع گروه‌های فسفات می‌توانند پیوندهای میان مولکول‌های نشاسته و آب را تقویت کرده و از این طریق به افزایش قدرت تورم و شفافیت خمیر کمک کنند [۳۸].

بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات خطی دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر، اثرات مربع دما و نیز اثر متقابل دما-pH بر شفافیت ژل نمونه‌های فسفریله شده معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). همانطور که در شکل ۷ نمایان است، افزایش دما و مقدار pH باعث افزایش و در مقابل، افزایش غلظت واکنشگر موجب کاهش شفافیت ژل گردید. همچنین با افزایش مقدار pH، اثر دما بر شفافیت ژل تشدید گردید. از طرف دیگر ضریب همبستگی بین میزان شفافیت ژل و میزان فسفریله شدن نشاسته معنی‌دار ( $p < 0.05$ ) و معادل  $-0.856$  به دست آمد که نشان می دهد با افزایش میزان فسفریلاسیون میزان شفافیت ژل کاهش یافته است.

تفاوت‌های موجود در ویژگی‌های نشاسته پس از فسفریلاسیون می تواند ناشی از ۱- تفاوت در میزان فسفریلاسیون، ۲- تفاوت در توزیع گروه فسفات بین آمیلوز و آمیلوپکتین و ۳- انواع مختلف فسفریلاسیون به صورت مونوفسفات یا اتصالات عرضی دی فسفات باشد [۳۴]. هیو و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی ایجاد نشاسته سیب زمینی با اتصالات عرضی فسفات بیان کردند که شفافیت ژل نشاسته در این ترکیب در مقایسه با نشاسته طبیعی کاهش یافته است

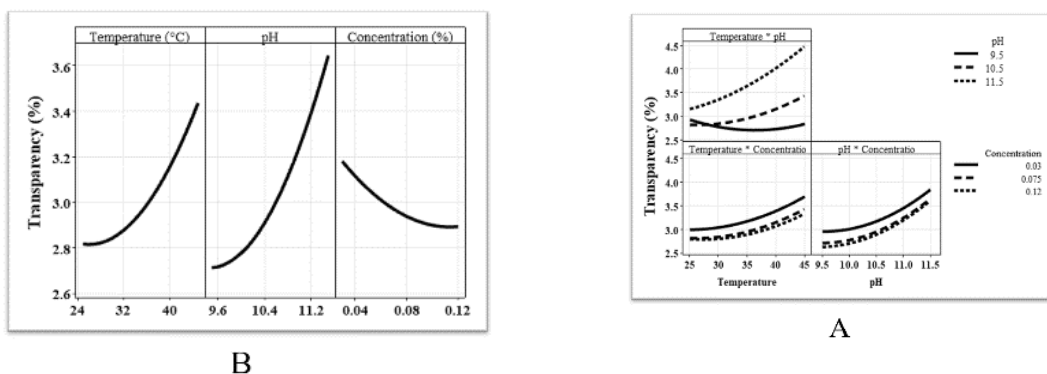


Fig 7. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the transparency of phosphorylated wheat starch paste.

میزان آب اندازی نمونه‌های نشاسته گندم فسفریله شده در دامنه  $۴۱/۵۹ - ۲۱/۴۲$  درصد قرار داشت. در حالی که این مقدار برای نشاسته خام اولیه  $۳۳/۶۴$  درصد برآورد گردید.

۳-۵- سینرسیس

نشان داد که، در بین متغیرهای فرایند فقط اثر دما معنی دار بود ( $p < 0.05$ ) به طوری که با افزایش آن میزان آب اندازی نمونه‌ها کاهش یافت (شکل ۸).

مدل خطی برای تفسیر اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر آب اندازی نمونه‌های نشاسته فسفریله معنی دار ( $p < 0.05$ ) گردید. از طرف دیگر نتایج تجزیه واریانس

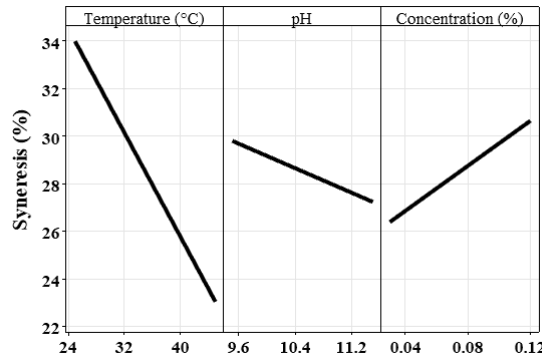


Fig 8. Effects of temperature, pH and reactant concentration on phosphorylated wheat starch syneresis

نماین است اثر خود را به صورت کاهشی نشان داد. میزان آب اندازی پس از انجماد-ذوب با میزان فسفریلاسیون همبستگی معنی دار ( $p < 0.05$ ) داشت به طوری که میزان ضریب همبستگی معادل  $-0.692$  به دست آمد.

نتایج نشان داد که میزان پایداری انجماد-ذوب در نمونه‌های فسفریله شده، با افزایش میزان اتصالات عرضی، کاهش یافته است؛ چرا که وجود نیروی دافعه میان گروه‌های فسفات درون مولکول‌های نشاسته فسفریله می تواند از اتصال مجدد این مولکول‌ها جلوگیری کرده و موجب تقویت اتصال به آب گردد و از این رو کاهش آب اندازی و افزایش پایداری انجماد-ذوب را به دنبال داشته باشد [۴۰].

### ۳-۶- پایداری انجماد-ذوب

میزان آب اندازی پس از طی شرایط انجماد و ذوب، تخمینی از رفتار رتروگراداسیون نشاسته طی شرایط تشدید شده است [۳۹]. دامنه تغییرات میزان آب اندازی پس از انجماد-ذوب نمونه‌های نشاسته فسفریله شده بین  $۳۶/۸۶ - ۱۲/۸۵$  درصد به دست آمد در حالی که میزان آب اندازی پس از انجماد-ذوب نشاسته خام اولیه  $۳۱/۲۶$  درصد بود (شکل ۹). مدل خطی برای تفسیر اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر میزان آب اندازی پس از طی شرایط انجماد و ذوب نمونه‌های نشاسته فسفریله معنی دار ( $p < 0.05$ ) گردید. نتایج نشان داد که تنها اثر مقدار pH بر آب اندازی پس از انجماد-ذوب معنی دار بود ( $p < 0.05$ ) و همانطور که در شکل ۱۰

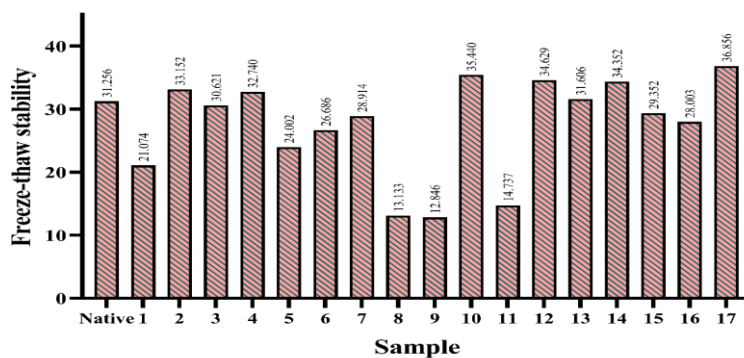


Fig 9. Freeze-thaw stability of native and crosslinked starch samples.

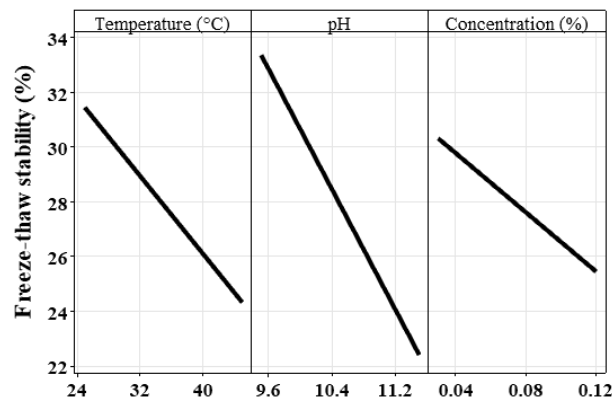


Fig 10. The effect of temperature, pH and reactant concentration on the Freeze-thaw stability of phosphorylated wheat starch.

سانگ و همکاران (۲۰۱۰) با بررسی اثر pH های ۹، ۱۰، ۱۱ و ۱۲ بر نشاسته گندم فسفریله به این نتیجه رسیدند که افزایش pH محیط حاوی نشاسته فسفریله شده سبب کاهش محتوای فسفر آن می‌شود، بطوریکه در pH ۱۲، کمترین میزان محتوای فسفر محاسبه شد [۴۲]. لین و همکاران (۲۰۰۹) با بررسی اثر دماهای ۱۵۰-۱۲۰ درجه سانتیگراد در فسفریلاسیون نشاسته برنج با استفاده از مونسدیم دی هیدروژن فسفات مشاهده کردند که با افزایش دما تا ۱۴۰°C میزان فسفریلاسیون افزایش و پس از آن کاهش یافت [۴۳].

### ۳-۷- محتوای فسفر

میزان هر نوع استخلاف شیمیایی اعمال شده در نشاسته‌های اصلاح شده، بر خواص آن نشاسته تاثیر زیادی می‌گذارد، و با تغییر درصد یک نوع استخلاف شیمیایی بر روی یک نوع نشاسته ممکن است خصوصیات متفاوتی مشاهده گردد [۴۱]. راندمان واکنش ایجاد اتصالات عرضی به وسیله درجه جایگزینی بیان می‌شود که نشان دهنده تعداد مول فسفات اتصال عرضی یافته در گلوکز بی آب (انیدریدگلوکز) می‌باشد. نشاسته طبیعی دارای مقادیر مشخصی از مونواستر فسفات بوده و بنابراین درجه جایگزینی نشاسته اصلاح شده پس از تفریق درصد فسفر درونی نشاسته طبیعی محاسبه می‌گردد. در بررسی حاضر، دامنه تغییرات میزان فسفریله شدن ۰/۴۶ - ۰/۱۴ درصد برآورد گردید و میزان فسفر ذاتی موجود در نشاسته گندم مورد استفاده نیز ۰/۰۴۷ درصد بود (شکل ۱۱). نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که بهترین مدل برای بررسی اثرات دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر میزان فسفریله شدن نشاسته گندم، مدل خطی بود ( $p < 0.05$ ). از طرف دیگر نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنها اثر pH معنی دار بود ( $p < 0.05$ ) به طوری که با افزایش pH میزان فسفریلاسیون کاهش یافت (شکل ۱۲).

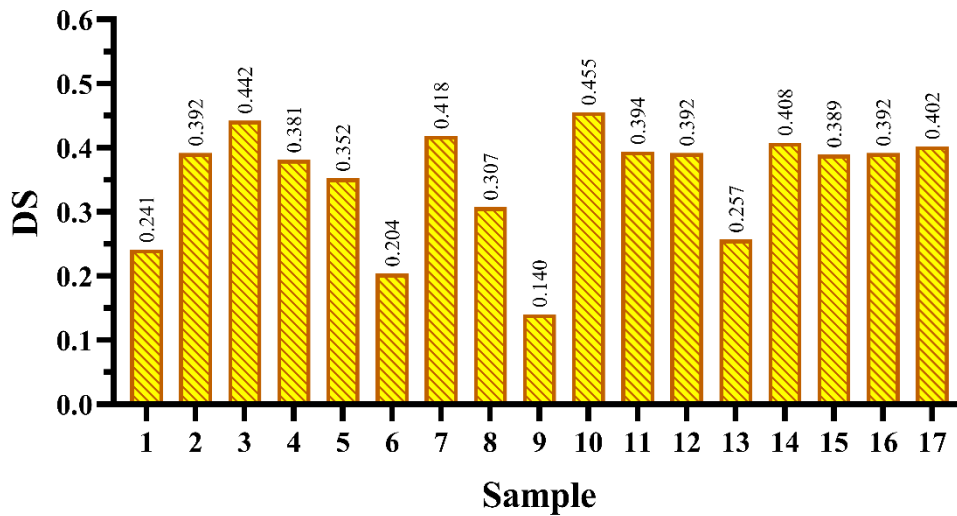


Fig 11. Degree of substitution of cross-linked starches.

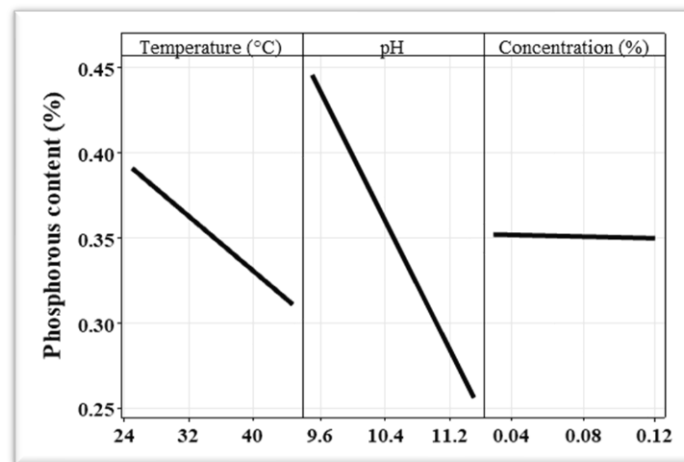


Fig 12. The effect of temperature, pH and reagent concentration on the degree of phosphorylation of wheat starch.

### ۳-۸- محتوای آمیلوز و سفتی ژل

نشاسته گندم طبیعی حاوی ۲۵.۷۸ درصد آمیلوز و ۷۴.۲۲ درصد آمیلوپکتین بود (جدول ۳). بر اساس نظر ساساکی و همکاران ۲۰۰۲، محتوای آمیلوز نشاسته گندم از ۱۸.۵ تا ۲۸.۶ درصد برای ژنوتیپ‌های نشاسته گندم متفاوت است [۲۹]. مجذوبی و همکاران (۲۰۱۲) نیز میزان آمیلوز نشاسته گندم را ۲۶/۳۵ درصد گزارش کرده اند [۴۴]. از طرف دیگر

با توجه به نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، ویژگی‌های نشاسته مورد استفاده در فرمولاسیون محصولات کنسروی به عنوان ملاک بهینه سازی قرار داده شد؛ نشاسته فسفریله شده با قدرت تورم، حلالیت، شفافیت خمیر و پایداری انجماد - ذوب بالاتر و سینرسیس کمتر ژل انتخاب گردید؛ سپس به منظور بررسی خصوصیات ریخت شناسی، ساختاری، حرارتی، ژل دهندگی و خمیری شدن آزمون‌های تکمیلی بر روی نمونه بهینه و نشاسته طبیعی انجام شد.



سفتی، مقاومت ماده غذایی نسبت به اعمال نیروی فشاری به کار رفته می باشد و با افزایش سفتی ژل، میزان نیروی لازم برای تخریب ساختار ژل بیشتر می گردد [۴۹]. نتایج حاصل از بررسی میزان سفتی ژل نشاسته طبیعی و فسفریله در این بررسی در جدول ۳ نشان داده شده است. طبق نتایج حاصل میزان سفتی ژل نشاسته فسفریله (۴/۸۴ نیوتن) به طور معنی دار بیشتر از نمونه شاهد بود ( $p < 0.05$ ). چراکه کاهش مقدار آمیلوز محلول شده منجر به ژل نرم تر می شود و آمیلوز بیشتری از گرانول های نشاسته نشت پیدا می کند و در نتیجه یک شبکه ژل مستحکم تر را تشکیل داد که منجر به ژل سفت تر نسبت به نشاسته طبیعی شد [۲۹]. از طرف دیگر تغییرات بافتی طولانی مدت مرتبط با رتروگراداسیون یا تبلور مجدد بخش آمیلوپکتین می باشد و تغییرات کوتاه مدت مربوط به بخش آمیلوز است که باعث تشکیل شبکه اولیه ژل می شود. تبلور مجدد بخش آمیلوپکتین شامل تبلور مجدد شاخه های بیرونی آمیلوپکتین و افزایش سفتی گرانول های متورم شده است، در نتیجه فاز آمیلوز پیوسته را تقویت می کند. در نتیجه می توان اینگونه بیان کرد که ارتباط مجدد زنجیره های آمیلوپکتین نقش عمده ای در رتروگراداسیون ژل نشاسته ایفا می کند [۵۰]. سختی ژل بالاتر نشاسته فسفریله شده نسبت به نشاسته طبیعی موید تمایل بیشتر این نشاسته به تشکیل ژل و مقادیر بالاتر ویسکوزیته نهایی و ویسکوزیته برگشت به عقب می باشد.

نتایج نشان داد که فسفریلاسیون سبب کاهش معنی دار آمیلوز گردید ( $p < 0.05$ ) به طوریکه در نشاسته فسفریله شده این میزان به ۱۲/۶۲ درصد رسید. دلیل این پدیده را می توان ناشی از pH بالای فرایند فسفریلاسیون دانست. چراکه استفاده از مقادیر بالای pH در طی واکنش ایجاد اتصالات عرضی (فسفریلاسیون) منجر به خروج زنجیره های آمیلوز از گرانول های نشاسته و کاهش محتوای آمیلوز می گردد [۴۵]. علاوه بر این، وارد شدن پیوندهای فسفودی استری در زنجیره های نشاسته منجر به کاهش میزان تشکیل کمپلکس های آمیلوز-ید می گردد [۴۶]. همچنین کاهش آمیلوز را می توان ناشی از این دانست که اتصالات عرضی میان زنجیره های آمیلوز و آمیلوپکتین رخ می دهد، به طوری که ساختار حاصل اجازه ترکیب با ید را نداده و این پیوندهای ایجاد شده در تعیین میزان آمیلوز تداخل ایجاد می کنند [۴۷]. به طور مشابه سودهش و همکاران (۲۰۲۱)، تاثیر اصلاح اتصال عرضی را بر ویژگی های نشاسته کیتول مورد بررسی قرار دادند. این محققان گزارش کردند که این اصلاح، کاهش محتوای آمیلوز نشاسته اصلاح شده نسبت به نشاسته طبیعی را به دنبال داشت [۴۸]. از طرف دیگر وی و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که افزودن ۱۱ درصد تری پلی فسفات به نشاسته سیب زمینی منجر به کاهش میزان آمیلوز از ۲۸.۷۹ درصد در نشاسته خام به ۱۴.۰۵ درصد در نشاسته اصلاح شده گردید [۱۴].

Table 3. Amylose content and gel hardness of native and phosphorylated wheat starch.

| Sampel                | Amylose                   | Firmness of the gel (N)  |
|-----------------------|---------------------------|--------------------------|
| Native starch         | 25.78 ± 1.31 <sup>a</sup> | 0.21 ± 0.41 <sup>b</sup> |
| Phosphorylated Starch | 12.61 ± 0.84 <sup>b</sup> | 4.83 ± 0.23 <sup>a</sup> |

در شکل نمایان است، الگوهای کریستالی نشاسته گندم فسفریله شده مشابه با الگوی کریستالی نشاسته گندم طبیعی بود در نتیجه می توان اینگونه بیان کرد که این روش اصلاح الگوی کریستالی نشاسته را تغییر نداد [۵۲].

از طرف دیگر نتایج نشان داد که نشاسته های دارای فسفر و اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی، به دلیل

### ۳-۹- پراش اشعه ایکس و درصد بلورینگی (RC%)

الگوی XRD نشاسته گندم معمولی و اتصال عرضی یافته در شکل ۱۳ نشان داده شده است. نشاسته گندم طبیعی یک الگوی کریستالی نوع A با پیک های پراش قوی در حدود ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۳ درجه را دارا می باشد [۵۱]. همانطور که

کاهش پیوندهای هیدروژنی در ساختار کریستالی گرانول‌های نشاسته گندم، بلورینگی کمتری نشان دادند (جدول ۴). بر اساس نظر کو و همکاران (۲۰۱۰)، اتصال عرضی فسفات در نواحی آمورف گرانول‌های نشاسته رخ می‌دهد [۵۳]. در مطالعه حاضر کاهش بلورینگی پس از فسفریلاسیون نشان داد که نظم در ساختار کریستالی گرانول‌های نشاسته گندم بعد از اتصال عرضی کاهش یافته است. از طرف دیگر بلاشک و همکاران (۲۰۱۲)، گزارش کردند که نشاسته ذرت مومی فسفریله شده کاهش قابل توجهی در بلورینگی در مقایسه با نشاسته طبیعی نشان داد [۵۴].

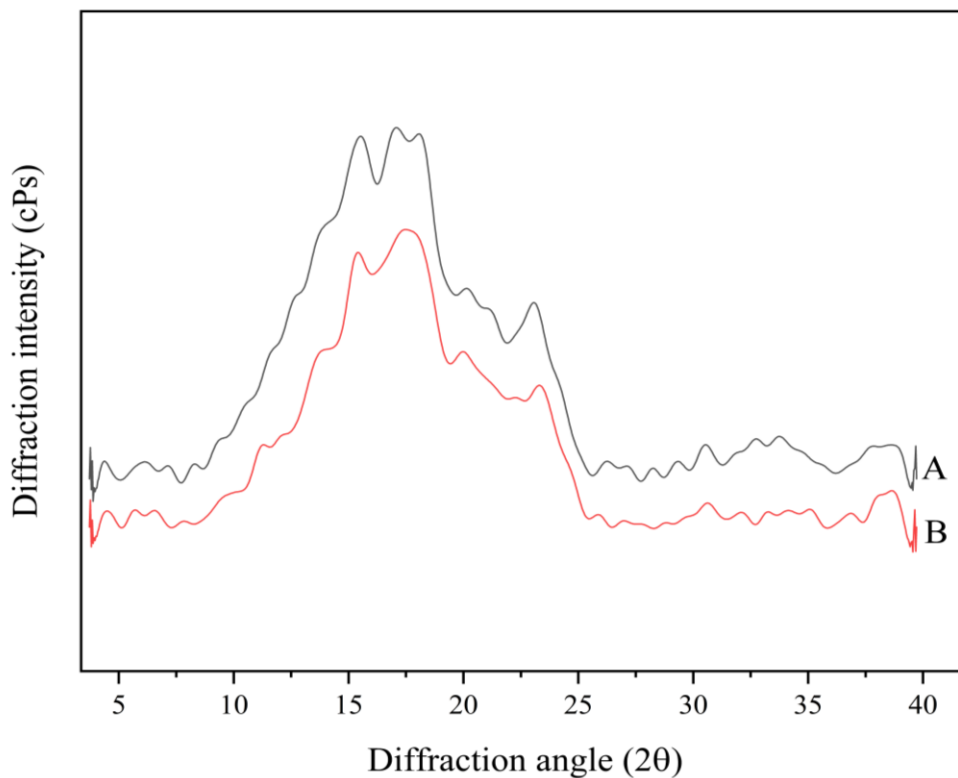


Fig 13. X-ray diffraction pattern of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

همان طور که مشاهده می‌شود، نشاسته طبیعی و فسفریله شده طیف‌های جذب مشابهی داشتند، که این موضوع بیانگر این است که روش مورد استفاده به منظور تولید نشاسته فسفریله هیچ گروه شیمیایی جدیدی در ساختار

### FTIR -۱۰-۳

به منظور درک تغییرات ایجادشده در ساختار مولکولی نشاسته اتصال عرضی یافته نسبت به نشاسته طبیعی، طیف FTIR این نمونه‌ها در شکل ۱۴، به نمایش درآمده است.

OH مولکول نشاسته واکنش می‌دهد و کاهش شدت پیک  $3290\text{cm}^{-1}$  به دلیل کاهش ارتعاشات کششی OH را به دنبال دارد [۵۷].

از طرف دیگر فسفریلاسیون به دلیل ایجاد پیوند P-O-C سبب افزایش جزئی در شدت پیک‌های  $836\text{cm}^{-1}$  و  $889\text{cm}^{-1}$  نشاسته‌های اتصال عرضی یافته نسبت به نشاسته طبیعی شد. همچنین افزایش جزئی شدت پیک‌های نشاسته فسفریله در ناحیه  $1300-1150\text{cm}^{-1}$  نسبت به نمونه نشاسته طبیعی افزایش کشش متقارن پیوند فسفر-اکسیژن (P=O) را تایید کرد [۵۶]. بر اساس نظر سانگ و همکاران (۲۰۰۷)، در نشاسته اتصال عرضی یافته با STMP/STPP ساختار نشاسته شکسته نشده است، اما گروه‌های فسفات پس از ایجاد اتصال عرضی تشکیل شده‌اند [۵۸].

از طرف دیگر شدت جذب پیک‌ها در  $994\text{cm}^{-1}$  و  $1082\text{cm}^{-1}$  را می‌توان به تغییرات در ساختار کریستالی و بلورینگی پلیمرهای نشاسته نسبت داد، در حالی که شدت جذب پیک در  $1018\text{cm}^{-1}$  با ساختار مناطق آمورف گرانول‌های نشاسته مرتبط است [۵۹]. بنابراین، نسبت‌های جذب  $1082\text{cm}^{-1}$  تا  $1018\text{cm}^{-1}$  و  $994\text{cm}^{-1}$  تا  $1018\text{cm}^{-1}$  ترتیب برای توصیف درجه نظم مناطق کریستالی گرانول‌های نشاسته (درجه نظم؛  $DO^{15}$ ) و محتوای ماریچ دوگانه ( $DD^{16}$ ) استفاده می‌شوند. با این حال، نسبت جذب  $1018\text{cm}^{-1}$  تا  $994\text{cm}^{-1}$  با تغییرات داخلی در مناطق آمورف گرانول‌های نشاسته مرتبط است [۶۰].

در مطالعه حاضر، مقایسه نسبت شدت پیک‌ها نشاسته فسفریله با نشاسته طبیعی نشان داد که فسفریلاسیون از طریق کاهش پیوند‌های هیدروژنی در ساختار کریستالی گرانول‌های نشاسته گندم سبب کاهش نسبت DD و DO نسبت به نشاسته شاهد گردید در حالی که فسفریلاسیون از طریق کاهش نظم در ساختار کریستالی گرانول‌های نشاسته گندم، افزایش نسبت  $1018\text{cm}^{-1}$  تا  $994\text{cm}^{-1}$  را به دنبال

نشاسته ایجاد نکرده است و فقط شدت جذب برخی پیک‌ها را تغییر داده است. به منظور بررسی تغییرات شدت پیک‌ها، پنج پیک اصلی زیر در طیف FTIR نمونه‌های نشاسته گندم مورد توجه قرار گرفتند:

طول موج  $3427\text{cm}^{-1}$  به ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل درونی (O-H) نسبت داده می‌شود. همچنین کشش نامتقارن پیوند کربن-هیدروژن (C-H) را می‌توان به طول موج  $2926\text{cm}^{-1}$  نسبت داد. از طرف دیگر طول موج  $1640\text{cm}^{-1}$  به آب جذب شده منطقه آمورف مربوط بوده، ارتعاشات خمشی H-O-H در مناطق آمورف نشاسته، یک نوار جذبی نشاسته است (۱۰۴). نوارهای حدود  $1363\text{cm}^{-1}$  و  $1338\text{cm}^{-1}$  به کشش C-H در آلکان اختصاص داده شدند و  $1242\text{cm}^{-1}$  به کشش C-OH، C-OH و  $1100-1160\text{cm}^{-1}$  عمدتاً به کشش نامتقارن C-O-C نسبت داده می‌شود. در حالی که پیک‌های  $1077-928\text{cm}^{-1}$  به کشش C-O، C-O-H در نشاسته اختصاص داده می‌شود [۵۵].

نتایج نشان داد که هیچ تفاوت مشخصی بین نوارهای ارتعاشی O-H، C-H و C-O در نشاسته‌های طبیعی و فسفریله شده، به دلیل عدم تغییر ساختار شیمیایی مولکول‌ها نسبت به نشاسته طبیعی، وجود ندارد. با این حال، فسفریلاسیون به دلیل شکستن پیوندهای هیدروژنی و قرارگرفتن گروه فسفات در بین گروه‌های هیدروکسیل نمونه‌های نشاسته سبب کاهش جزئی در شدت پیک‌های  $3264\text{cm}^{-1}$  (مرتبط با هیدروکسیل)،  $1640\text{cm}^{-1}$  (مرتبط با پیوند هیدروژنی درون مولکولی)، و همچنین  $994\text{cm}^{-1}$  (مرتبط با پیوند هیدروژنی درون مولکولی گروه‌های هیدروکسیل در C-6) برای نشاسته فسفریله شد [۵۶]. به طور مشابه اشوار و همکاران (۲۰۱۷) اثر ترکیب STMP/STPP بر نشاسته برنج را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این گزارش نشان داد که STMP/STPP با گروه‌های

داشت که نتایج آزمون پراش اشعه ایکس و درصد بلورینگی موید این ادعاست.

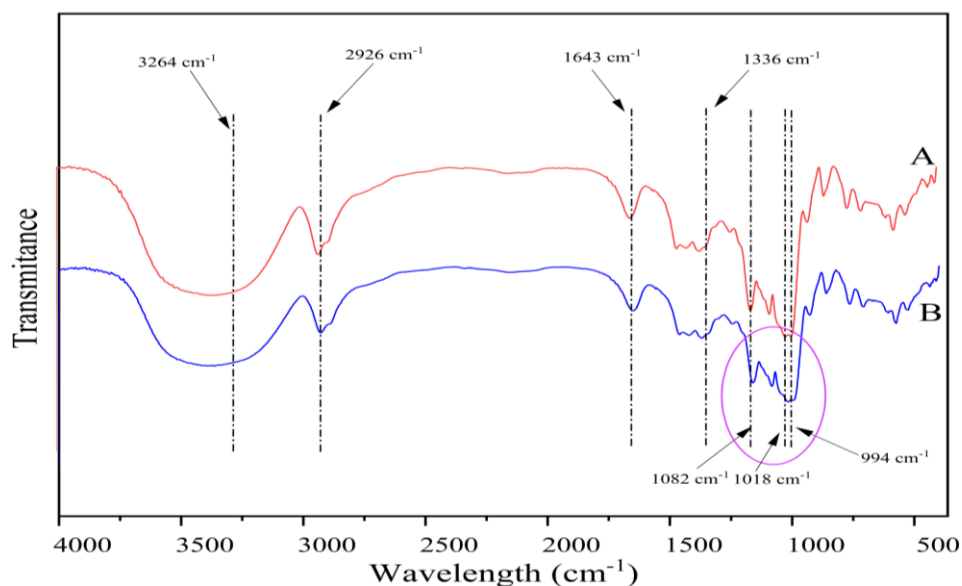


Fig 14. FT-IR spectra of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

Table 4. XRD and FTIR parameters of native and phosphorylated wheat starch.

| Sample                | 1082/1018 (DO)           | 994/1018 (DD)            | 1018/994 (Amorphous)     | RC%                       |
|-----------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Native starch         | 1.34 ± 0.06 <sup>a</sup> | 1.29 ± 0.04 <sup>a</sup> | 0.77 ± 0.03 <sup>b</sup> | 44.52 ± 0.57 <sup>a</sup> |
| Phosphorylated Starch | 1.28 ± 0.08 <sup>b</sup> | 1.21 ± 0.05 <sup>b</sup> | 0.82 ± 0.07 <sup>a</sup> | 37.93 ± 0.46 <sup>b</sup> |

کووالانسی، ایجاد ساختار داخلی بسیار آمورف و پیچیده را به دنبال داشت که این امر منجر به کاهش دمای نهایی  $T_c$  و آنتالپی ژلاتیناسیون  $\Delta H$  نشاسته فسفریله نسبت به نشاسته طبیعی شد [۶۲] که نتایج حاصل از نسبت شدت پیک‌ها در آزمون طیف سنجی فوریه و درصد بلورینگی موید این ادعاست و با نتایج این آزمون همبستگی مثبتی را نشان داد.

گونکک و همکاران (۲۰۱۹) ویژگی‌های حرارتی نشاسته ذرت اتصال عرضی یافته با گلوکارآلدئید GLU را در دو محیط اسیدی و قلیایی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این

### ۱۱-۳ DSC

ویژگی‌های حرارتی نشاسته‌های طبیعی و فسفریله در جدول ۵ نشان داده شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود فسفریلاسیون از طریق معرفی گروه فسفات به مولکول‌های نشاسته با اتصال عرضی، برهمکنش بین مولکولی را تقویت کرد، در نتیجه مهار ژلاتیناسیون و افزایش دماهای ژلاتیناسیون اولیه  $T_o$ ، اوج  $T_p$  نسبت به نشاسته طبیعی را به دنبال داشت [۶۱]. در حالی که همین تیمار اصلاحی به دلیل تقویت ساختار آمورف گرانول‌های نشاسته از طریق پیوند

ژلاتیناسیون احتمالا ناشی از تغییراتی در گرانول‌های نشاسته مانند باز شدن مارپیچ‌های دوگانه آمیلوپکتین در طی فسفریلاسیون می باشد [۳۸].

کاتور و همکاران (۲۰۰۶)، با بررسی تاثیر ایجاد اتصالات عرضی به وسیله  $POCl_3$  در نشاسته سیب زمینی مشاهده کردند که در سطوح پایین استفاده از  $POCl_3$  مقادیر  $T_p$ ،  $T_o$  و  $T_c$  و آنتالپی ژلاتیناسیون دچار کاهش چشمگیر شده اند و با افزایش غلظت واکنشگر، این ویژگی‌های حرارتی در نشاسته‌های اتصال عرضی یافته به نحو معنی داری افزایش داشته اند [۳۲] نتایج مشابهی در همین زمینه توسط یونیا و همکاران (۲۰۰۳) نیز گزارش شده است [۶۵].

مطالعه نشان داد که دمای اوج ژلاتیناسیون نشاسته‌های اتصال عرضی یافته در محیط اسیدی به دلیل ورود پیوندهای عرضی همی استال به نشاسته توسط  $GLU$ ، ساختار مولکولی نشاسته را سفت کرده و افزایش دمای ژلاتینه شدن را به دنبال داشت در حالی که آنتالپی ژلاتیناسیون بطور قابل ملاحظه ای کاهش یافت. با این حال، در محیط قلیایی، هر دو دمای اوج ژلاتیناسیون و آنتالپی ژلاتیناسیون در مقایسه با نشاسته طبیعی کاهش یافت [۶۳].

مطالعات دیگر نشان داده اند که تشکیل مونواسترهای نشاسته با فسفات منجر به کاهش دماهای ژلاتیناسیون و آنتالپی ژلاتیناسیون گشته است [۶۴]. بنابراین کاهش دمای

Table 5. Thermal properties of native, phosphorylated wheat starch.

| Sampel                | To                      | Tp                      | Tc                      | $\Delta H$             |
|-----------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|------------------------|
| Native starch         | 52.90±0.13 <sup>b</sup> | 58.12±11 <sup>b</sup>   | 64.37±0.06 <sup>a</sup> | 8.48±0.11 <sup>a</sup> |
| Phosphorylated Starch | 53.81±0.10 <sup>a</sup> | 59.80±0.12 <sup>a</sup> | 62.30±0.08 <sup>b</sup> | 8.03±0.11 <sup>b</sup> |

می کند که توانایی پیوند هیدروژنی بین زنجیره‌های نشاسته را افزایش می‌دهد و افزایش سرعت رتروداسیون را به دنبال دارد [۶۶].

به طور مشابه سودهش و همکاران (۲۰۲۰)، گزارش کردند که فسفریلاسیون نشاسته کیتول با عامل  $POCl_3$  به طور قابل توجهی میزان رتروداسیون را افزایش داد؛ دلیل این افزایش را بازآرایی مجدد زنجیره‌های نشاسته نشت پیدا کرده به بیرون گرانول‌های نشاسته از طریق ایجاد آسیب‌های سطحی که در طول اصلاح پدید آمدند، دانستند [۴۶] در حالی که سودهش و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که فسفریلاسیون نشاسته سورگوم با عامل اپی کلروهیدرین EPI به طور قابل توجهی میزان رتروداسیون را کاهش داد [۶۷].

از طرف دیگر نتایج نشان داد که ویسکوزیته حداکثر (PV) نشاسته فسفریله شده نسبت به نشاسته طبیعی به دلیل واکنش پذیری بالای  $POCl_3$  و ایجاد اتصال عرضی بر لایه بیرونی و یا کانال‌های داخلی گرانول‌های نشاسته و در نتیجه ایجاد سطح گرانول سفت تر نسبت به نشاسته طبیعی کاهش یافت

### ۳-۱۲- خمیری شدن

ویژگی‌های خمیری شدن نشاسته طبیعی و فسفریله شده در جدول ۶ ارائه شده است. نتایج نشان داد که دمای خمیری شدن (PT) نشاسته‌های فسفریله نسبت به نشاسته طبیعی تا حدودی کاهش نشان داد؛ در حالی که میزان ویسکوزیته نهایی (FV) و بازگشت ویسکوزیته (SB) نشاسته فسفریله شده نسبت به نشاسته طبیعی افزایش چشمگیری داشت.

این امر نشان دهنده تمایل بالاتر به رتروداسیون (پدیده بازگشت به عقب) در این نشاسته می باشد. دلیل افزایش تمایل این نوع نشاسته اصلاح شده به رتروداسیون را می توان تغییرات مورفولوژیکی در طول اصلاح که سبب نشت زنجیره‌های آمیلوز از گرانول‌های نشاسته و اتصال این زنجیره ها را دانست. از دیدگاه دیگر اتصال عرضی با غلظت کم تحرک زنجیره‌های نشاسته را محدود می کند و می تواند رتروداسیون را به تاخیر بیاورد. با این حال، غلظت بالاتر ماده ایجاد کننده اتصال عرضی، ساختار فشرده تری را ایجاد

دنبال دارد [۶۹]. به طور مشابه، اتصال عرضی نشاسته کیتول با اکسی کلرید فسفر نیز PV، TV، SB و FV را افزایش داد [۶۹]. در نتیجه می توان اینگونه بیان کرد که اصلاح اتصال عرضی نشاسته بر رفتار خمیری شدن نشاسته بسته به منبع نشاسته، عامل ایجاد کننده اتصال عرضی، غلظت آن و شرایط واکنش متفاوت است. غلظت معرف کمتر و درجه اتصال عرضی کمتر می تواند تورم و ویسکوزیته حداکثر را در حین گرم کردن نشاسته با آب افزایش دهد، در حالی که درجه اتصال عرضی بالاتر استحکام گرانول را افزایش می دهد و کاهش ویسکوزیته حداکثر را به دنبال دارد [۵۲].

[۶۸]. اولاووی و همکاران (۲۰۲۲) اثر ماده ایجاد کننده اتصال عرضی هگزامتافسفات سدیم را بر ویژگی های خمیری شدن نشاسته موز مورد بررسی قرار دادند، نتایج این گزارش نشان داد که این اصلاح کاهش پارامترهای خمیری شدن از جمله دمای خمیری شدن (PT)، ویسکوزیته حداکثر (PV)، ویسکوزیته شکست (TV)، شکست ویسکوزیته (BD)، ویسکوزیته نهایی (FV)، و بازگشت ویسکوزیته (SB) را به دنبال داشت [۶۸].

نتایج مطالعه عالی و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که اتصال عرضی از طریق افزایش برهمکنش درون و بین مولکولی گرانول های نشاسته سبب کاهش تخریب گرانول های نشاسته در طول حرارت دهی می شود و افزایش ویسکوزیته را به

Table 6. Pasting property of native and phosphorylated wheat starch.

| Sampel                | Viscosity (cP)          |                            |                         |                           |                            |                            |
|-----------------------|-------------------------|----------------------------|-------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
|                       | PT (°C)                 | PV                         | TV                      | BD                        | FV                         | SB                         |
| Native starch         | 65.90±0.64 <sup>a</sup> | 1774.00±19.50 <sup>a</sup> | 1541±18.38 <sup>a</sup> | 233.00±18.50 <sup>a</sup> | 1869.00±11.46 <sup>b</sup> | 464.00±17.10 <sup>b</sup>  |
| Phosphorylated Starch | 64.77±0.57 <sup>b</sup> | 1587.00±16.94 <sup>b</sup> | 1460±10.32 <sup>b</sup> | 127.00±13.70 <sup>b</sup> | 3147.00±21.20 <sup>a</sup> | 1606.00±22.80 <sup>a</sup> |

بنابراین به نظر می رسد که واکنش های فسفریلاسیون نشاسته در این مطالعه تاثیر اندکی در خصوصیات ظاهری گرانول ها ایجاد کرده است. گزارش هایی مبنی بر عدم تغییر خصوصیات سطحی گرانول های نشاسته توسط برخی محققان مانند کائور و همکاران (۲۰۰۶) در خصوص ایجاد اتصالات عرضی در نشاسته سیب زمینی و همچنین سان و همکاران (۲۰۱۷) در خصوص ایجاد اتصالات عرضی در نشاسته گندم وجود دارد [۳۲، ۷۰]. با این وجود مطالعه مجدوبی همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که در اثر ایجاد اتصالات عرضی در نشاسته گندم بوسیله  $POCl_3$  نقاط تاول ماندی در سطح گرانول های نشاسته ایجاد شده است [۷۱].

### ۳-۱۳- بررسی مورفولوژی گرانول های نشاسته

تصاویر میکروسکوپ الکترونی نشاسته های طبیعی و فسفریله گندم در شدت بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر در شکل ۱۵ نشان داده شده است. در این تصاویر گرانول های بزرگ نشاسته نوع A با ابعاد حدود ۱۲ تا ۲۰ میکرومتر و گرانول های کوچک نوع B با ابعاد حدود ۲ تا ۸ میکرومتر قابل مشاهده بوده و گرانول های موجود دارای اشکال گرد، بیضوی، دیسک مانند و همچنین نامنظم می باشند.

در بین گرانول های نشاسته طبیعی و فسفریله مورد بررسی، تفاوت اندکی از نظر ویژگی های ریخت شناسی سطحی وجود داشت. به طوری که در نشاسته گندم طبیعی حفراتی در سطح گرانول مشاهده می شود (شکل A) اما به نظر می رسد تعداد و عمق این حفرات در گرانول نشاسته های فسفریله شده (شکل B) اندکی افزایش نشان می دهد.

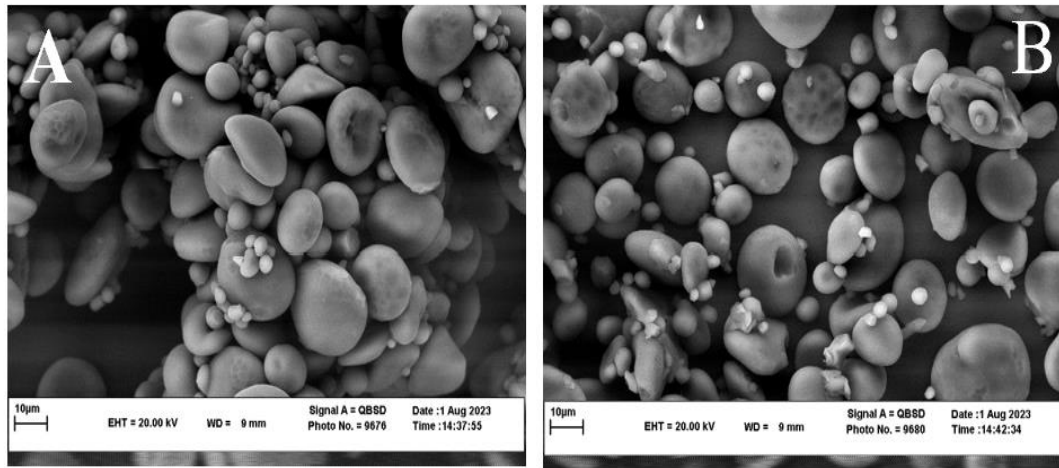


Fig 15. Scanning electron micrography of native (A) and phosphorylated wheat starch (b).

#### ۴- نتیجه گیری

بلورینگی نشاسته طبیعی را از ۴۴/۵۲ به ۳۷/۹۳ درصد کاهش داد که این کاهش بلورینگی با محتوای مارپیچ دوگانه و درجه نظم در نتایج آزمون FTIR همبستگی مثبت نشان داد. از طرف دیگر این تیمار اصلاحی میزان PV، PT، TV و BD را نسبت به نشاسته طبیعی کاهش و میزان SB و FV را افزایش داد. در نتیجه می‌توان اینگونه بیان کرد که فسفریلاسیون نشاسته سبب ایجاد مقاومت نشاسته در برابر دماهای بالا و نیروهای برشی شد و نشاسته‌ای را ایجاد کرد که بتواند در شرایط فرآوری سخت در تولید مواد غذایی مقاومت کند و این نوع نشاسته اصلاح شده را برای استفاده در فرمولاسیون محصولات کنسروی مناسب سازد. علاوه بر این، نشاسته بهینه را می‌توان برای ایجاد ژل‌های پایدار در برابر حرارت در مواد غذایی آماده به مصرف یا به عنوان جایگزین چربی در محصولات کم چرب استفاده کرد.

نتایج ارائه شده در مطالعه حاضر نشان داد که شرایط واکنش (pH، دما، غلظت واکنشگر) به طور موثر می‌تواند بر خصوصیات نشاسته گندم تاثیر گذار باشد. به همین دلیل تحت تمامی تغییرات شرایط واکنش، ۱۷ نوع نشاسته اصلاح شده مختلف تولید شد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. در این بین با توجه به ویژگی‌های مورد نیاز نشاسته مورد استفاده در محصولات کنسروی، نشاسته‌ای با قدرت تورم بالاتر، حلالیت بالاتر، شفافیت خمیر بیشتر، سینرسیس کمتر و پایداری انجماد-ذوب بیشتر، به عنوان نمونه بهینه انتخاب شد و تمامی آزمون‌های تکمیلی بر روی آن انجام و با نمونه نشاسته طبیعی مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج نشان داد که فسفریلاسیون نشاسته گندم،

#### ۵- منابع

- [1] Alcázar-Alay, S.C. and M.A.A. Meireles, *Physicochemical properties, modifications and applications of starches from different botanical sources*. Food Science and Technology, 2015. **35**: p. 215-236.
- [2] Majzoobi, M. and A. Farahnaky, *Granular cold-water swelling starch; properties, preparation and applications, a review*. Food hydrocolloids, 2021. **111**: p. 106393.

- [3] Laovachirasuwan, P., et al., *The physicochemical properties of a spray dried glutinous rice starch biopolymer*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2010. **78**(1): p. 30-35.
- [4] Kaur, B., et al., *Progress in starch modification in the last decade*. Food hydrocolloids, 2012. **26**(2): p. 398-404.

- [5] Joshi, M., et al., *Physicochemical and functional characteristics of lentil starch*. Carbohydrate polymers, 2013. **92**(2): p. 1484-1496.
- [6] Hu, A., Y. Li, and J. Zheng, *Dual-frequency ultrasonic effect on the structure and properties of starch with different size*. Lwt, 2019. **106**: p. 254-262.
- [7] Thirumdas, R., D. Kadam, and U. Annature, *Cold plasma: An alternative technology for the starch modification*. Food Biophysics, 2017. **12**: p. 129-139.
- [8] Neelam, K., S. Vijay, and S. Lalit, *Various techniques for the modification of starch and the applications of its derivatives*. International research journal of pharmacy, 2012. **3**(5): p. 25-31.
- [9] Chen, X., et al., *The effect of ethanol solution annealing on the physicochemical properties of pea and potato starches*. Food Hydrocolloids, 2022. **125**: p. 107428.
- [10] Chaiwat, W., et al., *Argon plasma treatment of tapioca starch using a semi-continuous downer reactor*. Food and Bioprocess Technology, 2016. **9**: p. 1125-1134.
- [11] Sjöö, M. and L. Nilsson, *Starch in food: Structure, function and applications*. 2017: Woodhead Publishing.
- [12] Jyothi, A.N., S.N. Moorthy, and K.N. Rajasekharan, *Effect of cross-linking with epichlorohydrin on the properties of cassava (Manihot esculenta Crantz) starch*. Starch-Stärke, 2006. **58**(6): p. 292-299.
- [13] Huber, K. and J. BeMiller, *Modified starch: chemistry and properties*. Starches: characterization, properties, and applications. CRC Press, Boca Raton, FL, 2010: p. 145-203.
- [14] Wei, M., et al., *Preparation and application of starch phosphate with a low degree of substitution*. Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, 2011. **186**(4): p. 982-994.
- [15] Horwitz, W. and G.W. Latimer, *Official methods of analysis of AOAC International*. Vol. 1. 2000: AOAC International Gaithersburg.
- [16] Sui, Z., K.C. Huber, and J.N. BeMiller, *Effects of the order of addition of reagents and catalyst on modification of maize starches*. Carbohydrate polymers, 2013. **96**(1): p. 118-130.
- [17] McGrance, S.J., H.J. Cornell, and C.J. Rix, *A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylose in starch products*. Starch-Stärke, 1998. **50**(4): p. 158-163.
- [18] Jackson, M.L., *Soil chemical analysis: advanced course: a manual of methods useful for instruction and research in soil chemistry, physical chemistry of soils, soil fertility, and soil genesis*. 2005: UW-Madison Libraries parallel press.
- [19] Leach, H.W. *Structure of starch granule I. Swelling and solubility patterns of various starches*. J. Cereal Chem., 1959. **36**: p. 534-544.
- [20] Mandala, I. and E. Bayas, *Xanthan effect on swelling, solubility and viscosity of wheat starch dispersions*. Food Hydrocolloids, 2004. **18**(2): p. 191-201.
- [21] Ehtiati, A., et al., *Pasting, rheological, and retrogradation properties of starches from dual-purpose sorghum lines*. Starch-Stärke, 2017. **69**(7-8): p. 1600262.
- [22] Dutta, H., et al., *Effect of acid concentration and treatment time on acid-alcohol modified jackfruit seed starch properties*. Food chemistry, 2011. **128**(2): p. 284-291.
- [23] Reddy, I. and P.A. Seib, *Paste properties of modified starches from partial waxy wheats*. Cereal Chemistry, 1999. **76**(3): p. 341-349.
- [24] Pozo, C., et al., *Study of the structural order of native starch granules using combined FTIR and XRD analysis*. Journal of Polymer Research, 2018. **25**: p. 1-8.
- [25] Pascoal, A.M., et al., *Extraction and chemical characterization of starch from S. lycocarpum fruits*. Carbohydrate polymers, 2013. **98**(2): p. 1304-1310.
- [26] Singh, H., N.S. Sodhi, and N. Singh, *Characterisation of starches separated from sorghum cultivars grown in India*. Food chemistry, 2010. **119**(1): p. 95-100.
- [27] Committee, A.A.o.C.C.A.M., *Approved methods of the American association of cereal chemists*. Vol. 1. 2000: American Association of Cereal Chemists.
- [28] Pons, M. and S. Fiszman, *Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems*. Journal of texture studies, 1996. **17**(6): p. 597-624.
- [29] Sasaki, T., et al., *Comparison of physical properties of wheat starch gels with different amylose content*. Cereal chemistry, 2002. **79**(6): p. 861-866.
- [30] Wongsagonsup, R., et al., *Effect of cross-linking on physicochemical properties of tapioca starch and its application in soup product*. Carbohydrate polymers, 2014. **101**: p. 656-665.
- [31] Hwang, D.K., B.Y. Kim, and M.Y. Baik, *Physicochemical properties of non-thermally cross-linked corn starch with phosphorus oxychloride using ultra high pressure (UHP)*. Starch-Stärke, 2009. **61**(8): p. 438-447.
- [32] Kaur, L., J. Singh, and N. Singh, *Effect of cross-linking on some properties of potato (Solanum tuberosum L.) starches*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006. **86**(12): p. 1945-1954.



- [33] Wang, Y.-J., V.-D. Truong, and L. Wang, *Structures and rheological properties of corn starch as affected by acid hydrolysis*. Carbohydrate Polymers, 2003. **52**(3): p. 327-333.
- [34] Liu, H., L. Ramsden, and H. Corke, *Physical properties and enzymatic digestibility of phosphorylated ae, wx, and normal maize starch prepared at different pH levels*. Cereal chemistry, 1999. **76**(6): p. 938-943.
- [35] Heo HyeMi, H.H., L.Y. Lee YunKyung, and C.Y. Chang YoonHyuk, *Effect of cross-linking on physicochemical and in vitro digestibility properties of potato starch*. 2017.
- [36] Koo, S.H., K.Y. Lee, and H.G. Lee, *Effect of cross-linking on the physicochemical and physiological properties of corn starch*. Food hydrocolloids, 2010. **24**(6-7): p. 619-625.
- [37] Chen, B., et al., *Physicochemical properties and micro-structural characteristics in starch from kudzu root as affected by cross-linking*. Food chemistry, 2017. **219**: p. 93-101.
- [38] Liu, C., et al., *Influence of phosphorylation and acetylation on structural, physicochemical and functional properties of chestnut starch*. Polymers, 2022. **14**(1): p. 172.
- [39] Jacobson, M.R. and J.N. BeMiller, *Method for determining the rate and extent of accelerated starch retrogradation*. Cereal chemistry, 1998. **75**(1): p. 22-29.
- [40] Landarito, N.A. and Y.J. Wang, *Preparation and properties of starch phosphates using waxy, common, and high-amylose corn starches. I. Oven-heating method*. Cereal chemistry, 2005. **82**(3): p. 264-270.
- [41] Singh, J., L. Kaur, and O. McCarthy, *Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications—A review*. Food hydrocolloids, 2007. **21**(1): p. 1-22.
- [42] Sang, Y., et al., *Effects of alkaline treatment on the structure of phosphorylated wheat starch and its digestibility*. Food Chemistry, 2010. **118**(2): p. 323-327.
- [43] Lin, Q., et al., *Characterization of the pasting, flow and rheological properties of native and phosphorylated rice starches*. Starch-Stärke, 2009. **61**(12): p. 709-715.
- [44] Majzoobi, M., et al., *Physicochemical properties of cross-linked-annealed wheat starch*. Iranian Polymer Journal, 2012. **21**: p. 513-522.
- [45] Hazarika, B.J. and N. Sit, *Effect of dual modification with hydroxypropylation and cross-linking on physicochemical properties of taro starch*. Carbohydrate polymers, 2016. **140**: p. 269-278.
- [46] Sudheesh, C., et al., *Effect of dual modification with annealing, heat moisture treatment and cross-linking on the physico-chemical, rheological and in vitro digestibility of underutilised kithul (Caryota urens) starch*. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020. **14**: p. 1557-1567.
- [47] Dos Santos, T.P.R., et al., *Crystallinity, thermal and pasting properties of starches from different potato cultivars grown in Brazil*. International Journal of Biological Macromolecules, 2016. **82**: p. 144-149.
- [48] Sudheesh, C., K.V. Sunooj, and J. George, *Kithul palm (Caryota urens) as a new source of starch: Effect of single, dual chemical modifications and annealing on the physicochemical properties and in vitro digestibility*. International journal of biological macromolecules, 2019. **125**: p. 1084-1092.
- [49] Szczesniak, A.S., *Texture is a sensory property*. Food quality and preference, 2002. **13**(4): p. 215-225.
- [50] Abd Karim, A., M. Norziah, and C. Seow, *Methods for the study of starch retrogradation*. Food chemistry, 2000. **71**(1): p. 9-36.
- [51] Bruni, G.P., et al., *Phosphorylated and cross-linked wheat starches in the presence of polyethylene oxide and their application in biocomposite films*. Starch-Stärke, 2018. **70**(7-8): p. 1700192.
- [52] Dong, H. and T. Vasanthan, *Effect of phosphorylation techniques on structural, thermal, and pasting properties of pulse starches in comparison with corn starch*. Food Hydrocolloids, 2020. **109**: p. 106078.
- [53] Kou, T. and Q. Gao, *New insight in crosslinking degree determination for crosslinked starch*. Carbohydrate research, 2018. **458**: p. 13-18.
- [54] Shukri, R. and Y.-C. Shi, *Physicochemical properties of highly cross-linked maize starches and their enzymatic digestibilities by three analytical methods*. Journal of cereal science, 2015. **63**: p. 72-80.
- [55] Kizil, R., J. Irudayaraj, and K. Seetharaman, *Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy*. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. **50**(14): p. 3912-3918.
- [56] Shalviri, A., et al., *Novel modified starch-xanthan gum hydrogels for controlled drug delivery: Synthesis and characterization*. Carbohydrate Polymers, 2010. **79**(4): p. 898-907.
- [57] Ashwar, B.A., et al., *Physicochemical properties, in-vitro digestibility and structural elucidation of RS4 from rice starch*. International

- journal of biological macromolecules, 2017. **105**: p. 471-477.
- [58] Sang, Y., O. Prakash, and P.A. Seib, *Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by <sup>31</sup>P nuclear magnetic resonance (<sup>31</sup>P NMR) spectroscopy*. Carbohydrate Polymers, 2007. **67**(2): p. 201-212.
- [59] Soler, A., et al., *Double helical order and functional properties of acid-hydrolyzed maize starches with different amylose content*. Carbohydrate research, 2020. **490**: p. 107956.
- [60] Zhou, D., et al., *Structural characteristics and physicochemical properties of field pea starch modified by physical, enzymatic, and acid treatments*. Food Hydrocolloids, 2019. **93**: p. 386-394.
- [61] Chakraborty, I., et al., *An insight into the gelatinization properties influencing the modified starches used in food industry: a review*. Food and Bioprocess Technology, 2022. **15**(6): p. 1195-1223.
- [62] Sharma, V., et al., *Barnyard millet starch cross-linked at varying levels by sodium trimetaphosphate (STMP): film forming, physico-chemical, pasting and thermal properties*. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2021. **2**: p. 100161.
- [63] Gonenc, I. and F. Us, *Effect of glutaraldehyde crosslinking on degree of substitution, thermal, structural, and physicochemical properties of corn starch*. Starch-Stärke, 2019. **71**(3-4): p. 1800046.
- [64] Park, E.Y. and S.-T. Lim, *Characterization of waxy starches phosphorylated using phytic acid*. Carbohydrate polymers, 2019. **210**: p. 115225.
- [65] Yoneya, T., et al., *Influence of cross-linked potato starch treated with POCl<sub>3</sub> on DSC, rheological properties and granule size*. Carbohydrate Polymers, 2003. **53**(4): p. 447-457.
- [66] Sriprablom, J., et al., *Effect of single and dual modifications with cross-linking and octenylsuccinylation on physicochemical, in-vitro digestibility, and emulsifying properties of cassava starch*. Food Research International, 2023. **163**: p. 112304.
- [67] Sandhu, K.S., et al., *Effect of degree of cross linking on physicochemical, rheological and morphological properties of Sorghum starch*. Carbohydrate Polymer Technologies and Applications, 2021. **2**: p. 100073.
- [68] Huber, K.C. and J.N. BeMiller, *Location of sites of reaction within starch granules*. Cereal chemistry, 2001. **78**(2): p. 173-180.
- [69] Aaliya, B., et al., *Impact of microwave irradiation on chemically modified talipot starches: A characterization study on heterogeneous dual modifications*. International Journal of Biological Macromolecules, 2022. **209**: p. ۱۹۵۵-۱۹۴۳.
- [70] Sun, F., et al., *Effect of the phytate and hydrogen peroxide chemical modifications on the physicochemical and functional properties of wheat starch*. Food Research International, 2017. **100**: p. 180-192.
- [71] Majzoubi, M., et al., *Physico-chemical properties of phosphoryl chloride cross-linked wheat starch*. 2009.



## Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: [www.fsct.modares.ir](http://www.fsct.modares.ir)

### Scientific Research

Optimizing reaction conditions for the production of phosphorylated wheat starch in order to be used in the formulation of canned foods

Mohammadkazem Heydarian<sup>1</sup>, Majid Hashemi<sup>2\*</sup>, Elnaz Milani<sup>3</sup>, Qulamali Goli-Movahhed<sup>4</sup>, Shahram Beiraghi-Toosi<sup>2</sup>

1- Department of Food Science, Faculty of Agricultural Engineering and Technology, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

2- Assistant Professor, Food processing research department, Food science and technology research institute, Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Province, Mashhad, Iran.

3- Associate Professor, Food processing research department, Food science and technology research institute, Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Province, Mashhad, Iran.

4- Food processing research department, Food science and technology research institute, Academic Center for Education Culture and Research (ACECR), Khorasan Razavi Province, Mashhad, Iran

#### ARTICLE INFO

#### ABSTRACT

##### Article History:

Received: 2024/6/8

Accepted: 2024/7/22

##### Keywords:

Gelatination,

Canned products,

Phosphorylation,

Wheat starch

**DOI: 10.22034/FSCT.22.159.65.**

\*Corresponding Author E-

majid\_hashemi1@yahoo.com

Wheat is one of the main crops of Iran, most of which consists of starch and protein. The widespread use of starch provides many possibilities in various industries due to its reasonable price, high safety and biodegradability. However, natural starch needs to be modified for various industrial applications due to limitations such as insolubility in cold water and heat intolerance. Therefore, it is necessary to modify wheat starch in order to improve its properties and reduce the dependence on the import of modified starches. Chemical modification is one of the most efficient starch modification techniques, but it is associated with concerns such as environmental pollution and high costs of chemicals. In this study, the reaction conditions for the production of phosphorylated starch with oxychloride (PoCl<sub>3</sub>) using three independent variables of pH (9.5, 10.5 and 11.5), temperature (25, 35 and 45 degrees Celsius) and reactant concentration (0.03, 0.075 and 0.12 percent), were optimized. According to the results of the physicochemical tests, the optimization criteria of starch used in canned products with higher swelling and solubility index, high transparency of dough, less gel syneresis, and higher freeze-thaw stability were selected, then additional tests were carried out in order to check structural and thermal properties. and pulping was done on selected and natural starch sample; The results showed that phosphorylation made the resulting modified starch suitable for use in the formulation of canned products by improving textural characteristics, creating higher viscosity and increasing heat tolerance.