

مجله علوم و صنایع غذایی ایران

صاحب امتیاز	انجمن متخصصان علوم و صنایع غذایی ایران
ناشر	دانشگاه تربیت مدرس
مدیر مسئول	دکتر ایرج شریفی آل آقا
سر دبیر	دکتر محمدحسین عزیزی

هیات تحریریه (به ترتیب الفبا)

سید محمد حسینی (استادیار گروه مهندسی شیمی صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی امیر کبیر)
زهره حمیدی اصفهانی (دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس)
محمدعلی سحری (استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس)
محمد حسین عزیزی (استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس)
محمد امین محمدی فر استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه داممارک)
حسن احمدی گاولیقی (استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس)
سلیمان عباسی (دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس)
منوچهر وثوقی (استاد گروه مهندسی شیمی صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی شریف)
علی رشیدنژاد (پژوهشگر موسسه تحقیقاتی ریدت)

کارشناس اجرایی:	ندا عزیزی
ویراستار ادبی - فنی فارسی:	محمد علی سحری
ویراستار ادبی - فنی لاتین:	محمد حسین عزیزی
حروفچینی و صفحه آرایی:	ندا عزیزی
لیتوگرافی و چاپ:	مرکز نشر دانشگاهی

نشانی دفتر مجله:	تهران: گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی ۴۸۲۹۲۲۰۰-۴۸۲۹۲۳۰۰، دورنگار: ۴۴۱۸۰۵۳۹ - ۴۸۲۹۲۴۷۵، تلفن: ۳۳۶-۱۴۱۱۵
	پست الکترونیک: fsct@modares.ac.ir یا food86@gmail.com
	وب سایت: www.fsct.ir

* مقاله ها بیانگر آرا و نظریات نویسندگان بوده، صرفاً سر مقاله مبین نظر هیات تحریریه است

به موجب قانون مطبوعات، وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی، پروانه انتشار این فصلنامه را به شماره ۱۲۴/۱۲۰۸۸ در تاریخ ۷۸/۹/۲ صادر کرده است.

دارای مجوز علمی - پژوهشی به شماره ۳/۲۹۱۰/۱۲۱۸ از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری می باشد.

از مولفان گرامی تقاضا می شود در ارسال مقالات به نکات زیر توجه فرمایند:

- ۱- زبان رسمی مجله فارسی است.
- ۲- مقالات باید پژوهشی و حاصل تحقیق نویسنده یا نویسندگان بوده و در مجله دیگر یا مجموعه مقالات سمینارها و مجامع علمی بصورت مقاله کامل به چاپ نرسیده یا همزمان برای سایر مجلات ارسال نشده باشد.
- ۳- مقالات قابل چاپ در مجله به دو دسته تقسیم می شوند:
(الف) مقالات کامل پژوهشی : با حداقل حجم ۳۵۰۰ کلمه و یا بیشتر از آن
(ب) یادداشتهای کوتاه پژوهشی : با حداکثر حجم ۳۵۰۰ کلمه و یا کمتر از آن
تبصره ۱: مقالات مروری از نویسندگان مجرب و صاحب مقالات پژوهشی در زمینه مورد بحث به شرطی پذیرفتنی است که منابع متناهی مستند تحقیق باشد.
تبصره ۲: مقالات ترجمه اصولا پذیرفته نمی شود.
- ۴- مقالات ارسال شده باید دارای بخشهای زیر باشند:
(الف) صفحه اول : عنوان کامل مقاله به فارسی و انگلیسی، نام نویسنده یا نویسندگان فارسی و انگلیسی (نام نویسنده عهده دار مکاتبات با ستاره مشخص شود)، آخرین مدرک تحصیلی، رتبه علمی و نام موسسه متناظر هر یک از نویسندگان به فارسی و انگلیسی، نشانی کامل پستی، شماره تلفن، شماره دورنگار و نشانی پست الکترونیکی به فارسی و انگلیسی
(ب) صفحه دوم : عنوان کامل مقاله به فارسی، چکیده فارسی (حداکثر ۳۰۰ کلمه)، کلید واژگان فارسی (حداکثر پنج واژه)، عنوان کامل مقاله به زبان انگلیسی(حداکثر ۳۰۰ کلمه)، کلید واژگان (حداکثر پنج واژه)
(ج) صفحات بعدی : شامل مقدمه، بدنه مقاله (شامل شرح مساله، روش تحقیق، تفسیر، تحلیل، نتایج)، نتیجه گیری، سپاسگزاری، فهرست واژگان لاتین، فهرست مراجع، نسخه اصلی شکلها و جداول (در صفحات جداگانه)
تبصره ۱: اصطلاحات خارجی با معادلهای دقیق و رسا در زبان فارسی و نام کامل واژه و عبارات اختصاری بکار رفته در متن به صورت زیر نویس ارجاع شود.
تبصره ۲: محل ارجاع عکسها، جداول، شکلها و نمودارها به طور دقیق ضمن رعایت ترتیب آنها در متن معین شود. ارسال اصل تصاویر، جداول به صورت سیاه و سفید با چاپگر لیزری و با کیفیت مطلوب ضروری است.
تبصره ۳: شماره و جهت عکسها، جداول، شکلها و نمودارها با مداد نرم در پشت آنها ذکر شده و زیر نویس آنها در صفحه ای به صورت جداگانه آورده شود.
تبصره ۴: تعیین محل دقیق مراجع در متن و فهرست نمودن مراجع به ترتیب ظهور در متن مقاله ضروری است. از تکرار یک منبع در فهرست مراجع خودداری شود. (تذکر: در قسمت فهرست منابع، مراجع فارسی به زبان انگلیسی برگردان شوند).
۵- شیوه نگارش مشخصات مراجع به شرح زیر است:
(الف) کتاب : نام خانوادگی، نام نویسنده(نویسندگان)، تاریخ انتشار، نام کتاب، نام مترجم، محل نشر، نام ناشر، شماره صفحات.
(ب) مقاله : نام خانوادگی، نام نویسنده (نویسندگان)، تاریخ انتشار، عنوان مقاله، نام نشریه، دوره (جلد)، شماره صفحات.
۶- مقالات باید در چهار نسخه (یک نسخه اصل همراه با سه نسخه تصویر) بر روی یک کاغذ A4 (۲۱×۲۹ cm) با حاشیه ۲/۵ سانتیمتر در هر طرف و رعایت دو فاصله میان سطور، ترجیحا با قلم لوتوس نازک ۱۲ (در مقالات لاتین با تایمز ۱۰) باشد و با برنامه word 2003 حروفچینی و همراه با صرفا سی دی مقاله به دفتر مجله ارسال شود.
۷- حداکثر حجم مقاله شامل جدولها، منحنی ها و تصاویر ۲۰ صفحه است.
۸- مقالات برگرفته از رساله دانشجویان دکتری با نام استاد راهنما، مشاوران و دانشجو به صورت توأم منتشر می شود، لذا استاد راهنما و مشاوران باید مسوولیت آن را تقبل فرمایند.
۹- مسوولیت صحت و سقم مطالب بر عهده نویسنده مسئول است.
۱۰- فصلنامه حق رد یا قبول مقالات را برای خود محفوظ می دارد و از بازگرداندن مقالات دریافتی معذور است.
۱۱- پس از چاپ فصلنامه، سه نسخه از مقاله به هر یک از نویسندگان اهدا خواهد شد.
۱۲- اصل مقالات پذیرفته شده، یکماه پس از انتشار فصلنامه از مجموعه خارج خواهد شد.
۱۳- در صورتیکه مقاله ارائه شده چهارچوب مورد قبول بر اساس بندهای ۱ الی ۱۰ را بر طبق نظر هیات تحریریه داشته باشد پس از صدور گواهی رسید مقاله با توجه به مصوبه هیات تحریریه و در جهت تامین بخشی از هزینه های آماده سازی و چاپ مقاله، لازم است نویسندگان در ابتدا مبلغ ۵۰ هزار تومان برای جبران بخشی از هزینه های داوری، مکاتبات، پست و... و در صورتیکه مقاله برای چاپ پذیرفته شود به ازای هر صفحه چاپی مبلغ ۱۵ هزار تومان به حساب جاری شماره ۴۳۳۷۶۸۹۳۵ در بانک تجارت شعبه دانشگاه تربیت مدرس واریز نمایند.
این نشریه در پایگاه اطاعات علمی جهاد دانشگاهی (SID) به آدرس www.sid.ir، پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (ISC) به آدرس www.ricest.ac.ir، اسکوپوس و سایر نمایه های موجود در صفحه اصلی سایت نمایه می شود. وب سایت مجله www.fscf.ir
آدرس: تهران، پل گیشا، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم و صنایع غذایی، صندوق پستی ۳۳۶-۱۴۱۱۵ تلفن: ۸۲۹۲۴۷۵-۰۲۱-۴۴۱۸۰۵۳۹، دورنگار: ۸۲۹۲۳۰۰-۰۲۱-۴۸۲۹۲۲۰۰ پست الکترونیک: fscf@modares.ac.ir یا food86@gmail.com

فهرست مقالات

- ۱- بهبود پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان ۱
- ۲- مروری بر کاربرد تکنولوژی‌های پیشرفته ۲۷
- ۳- بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ضد میکروبی اسانس ۴۳
- ۴- بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی ۵۵
- ۵- بهینه سازی شرایط واکنش تولید نشاسته گندم ۶۵
- ۶- بهینه سازی شرایط واکنش تولید نشاسته گندم فسفریله توسط ۹۲
- ۷- تأثیر غنی سازی پودر شکلات داغ ۱۲۲
- ۸- تأثیر استفاده از خمیر ترش سنتی بر ویژگی‌های ۱۳۳
- ۹- ریزپوشانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس Las در بستر ۱۴۴
- ۱۰- ارزیابی اثر حلال‌ها و روش‌های استخراج بر بازدهی استخراج ۱۵۷
- ۱۱- بررسی عملکرد فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ۱۶۹
- ۱۲- سم زدایی فلزات سنگین توسط باکتری‌های پروبیوتیک: بررسی ۱۹۵
- ۱۳- تحلیل رفتار خرید مصرف کنندگان میگو و بررسی ۲۰۷
- ۱۴- پردازش تصویر فیلم موسیلاژ دانه چیا حاوی نانوامولسیون ۲۲۱
- ۱۵- بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین حاوی ۲۳۲
- ۱۶- بررسی ویژگی‌های پکتین استخراج شده از کنجاله کلزا ۲۵۱
- ۱۷- بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، بافتی و ارگانولپتیکی ۲۶۷
- ۱۸- تأثیر فراوری، زمان و منطقه برداشت بر فعالیت آنتی اکسیدانی ۲۸۸
- ۱۹- امکان استفاده از داربست‌های هوشمند متشکل از موسیلاژ دانه به ۳۰۱
- ۲۰- بررسی اثر روش سرخ کردن و فرمولاسیون خمیرابه ۳۱۶



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بهبود پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان با استفاده از روغن پوست بانه در مقادیر بسیار کم

جواد توکلی^{۱*}، نگار رزمخواه^۲، معصومه رنجبر^۳

۱- نویسنده مسئول، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، فارس، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، فارس، ایران.

۳- آزمایشگاه کنترل غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، فارس، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۱۳

کلمات کلیدی:

آنتی اکسیدان طبیعی،

اکسایش،

روغن خوراکی،

آنتی اکسیدان سنتزی،

فعالیت آنتی اکسیدانی

DOI:10.22034/FSCT.22.159.1.

* مسئول مکاتبات:

ja_tavakoli@yahoo.com

javadtavakoli@jahromu.ac.ir

در تحقیق حاضر، اثر مقادیر مختلف روغن پوست بانه (۰/۰۵ تا ۰/۵ درصد) بر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان تصفیه شده طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد بررسی شد که از آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ پی پی ام جهت مقایسه استفاده گردید. بررسی نتایج آزمونهای مختلف پایداری اکسایشی (عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس، عدد دی-ان مزدوج و عدد اسیدی) نشان داد که استفاده از روغن پوست بانه باعث بهبود پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد. بهترین شرایط پایداری اکسایشی در روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بانه مشاهده شد و بعد از آن نمونه روغن حاوی ۰/۱ درصد روغن پوست بانه قرار داشت که هر دو دارای اثر آنتی اکسیدانی برتر از TBHQ بودند. به منظور تفسیر بهتر نتایج آزمونهای پایداری اکسایشی، تغییرات ترکیبات توکوفرولی و پلی فنلی به عنوان دو ترکیب آنتی-اکسیدانی شاخص طی فرایند حرارتی بررسی شد. نتایج نشان داد بین تغییرات این ترکیبات و آزمونهای پایداری اکسایشی ارتباط وجود ندارد. نمونه حاوی TBHQ دارای بیشترین اثر حفاظتی بر ترکیبات آنتی اکسیدانی بود که به علت ایجاد حالت پراکسیدانی ناشی از افزایش آنتی اکسیدانها، باعث کاهش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد. همچنین بررسی تغییرات فعالیت آنتی-اکسیدانی طی فرایند حرارتی به کمک دو آزمون قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و رنسیمت نیز نشان داد که نمونه روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بانه بهترین شرایط را داشت که با نتایج آزمونهای پایداری اکسایشی همخوانی داشت. ارزش این نتایج زمانی مشخص می شود که روغن پوست بانه در مقایسه با TBHQ اصلا خالص نبود.

۱-مقدمه

روغن‌های گیاهی بخش مهمی از محصولات غذایی مصرفی انسانها هستند. این روغن‌ها به عنوان حامل ویتامین های محلول در چربی و منبع انرژی و اسیدهای چرب ضروری برای انسان، مانند اسیدهای لینولئیک و لینولنیک بوده و نقش مهمی در تغذیه انسان دارند [۱]. یکی از مشکلاتی که روغنهای خوراکی با آن مواجه هستند، اکسیداسیون آنها می باشد. جهت جلوگیری از این واکنش از ترکیبات آنتی اکسیدانی استفاده می شود. آنتی اکسیدانهای شیمیایی بیشترین کاربرد را در روغنهای خوراکی دارا هستند [۲]. با توسعه استانداردهای زندگی مردم، آنها به طور فزاینده ای علاقه مند به استفاده از آنتی اکسیدان های طبیعی برای جلوگیری از سمیت بالقوه آنتی اکسیدان های مصنوعی مانند TBHQ هستند [۳]. به همین منظور، تحقیقات فراوانی در جهت شناسایی آنتی اکسیدانهای طبیعی صورت گرفته است. اما استفاده از آنتی اکسیدانهای طبیعی به جای آنتی اکسیدانهای شیمیایی دارای مشکلاتی است. اکثر این آنتی اکسیدانها پایداری مناسبی ندارند. ممکن است در لحظات ابتدایی استخراج، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی مناسبی باشند، اما در طول زمان و به خصوص طی فرایند حرارتی نمی توانند، قدرت آنتی اکسیدانی مناسبی از خود نشان دهند. مشکل دیگر استفاده از این آنتی اکسیدانها، هزینه بالای تهیه و استخراج آنها است که باعث می شود از نظر اقتصادی جهت استفاده صنعتی، مقرون به صرفه نباشند [۴]. در این راستا، گونه های گیاهی متعددی با خواص آنتی اکسیدانی متفاوت در ایران شناسایی شده است [۵-۷]. در سالهای گذشته تحقیقات مختلفی در مورد روغن پوست بانه انجام شده است که همگی بیانگر قدرت آنتی اکسیدانی بسیار بالا این روغن طی فرایند حرارتی در دمای بالا است [۵، ۸-۱۰]. بانه یکی از منابع

طبیعی خدادادی کشور ایران است که میوه آن از سه قسمت پوست چرب بیرونی، پوست چوبی داخلی و مغز تشکیل شده است. انتشار بانه از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران و افغانستان امتداد می یابد. در ایران، بانه در حد فاصل استان های فارس و کردستان به صورت انبوه و در بقیه نقاط کشور به صورت پراکنده دیده می شود و وسعت درختان بانه در ایران، حدود یک میلیون و دویست هزار هکتار است [۱۱]. پوست بانه حدود ۲۵ درصد میوه بانه را تشکیل می دهد که حدود ۳۵ درصد روغن دارد. فرهوش و همکاران گزارش کردند که روغن پوست بانه، به عنوان منبع جدیدی از روغن های گیاهی بسیار پایدار و آنتی اکسیدانی اخیراً به دنیا معرفی شده است [۹]. همچنین بر اساس نتایج شریف و همکاران، می توان روغن پوست بانه را مستقیماً به عنوان یک آنتی اکسیدان طبیعی به روغنهای خوراکی اضافه کرد. در این تحقیق مشخص شد روغن پوست بانه در مقایسه با روغن های بسیار پایدار کنجد و سبوس برنج، باعث بیشترین بهبود در پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد که از مقادیر بین ۲ تا ۸ درصد روغن پوست بانه استفاده شد. بر اساس نتایج مشخص گردید این روغن در مقادیر ۲ درصد بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی را در روغن آفتابگردان دارا بود [۸]. البته طی این پژوهش، محققین به این نکته توجه نکرده بودند که استفاده از مقادیر ۲ تا ۸ درصد روغن پوست بانه خام در روغن آفتابگردان دارای مشکلاتی است: روغن پوست بانه به حالت تصفیه نشده و خام استفاده شده است و مانند سایر روغن ها در حالت تصفیه نشده، دارای ناخالصی های نامناسب مانند موم و فسفولیپیدها است که استفاده از مقادیر بالا روغن پوست بانه باعث کاهش کیفیت روغن

افتابگردان تصفیه شده می‌شوند. همچنین روغن پوست بنه خام، دارای بوی تند است و اضافه کردن آن در مقادیر بالا باعث کاهش بازار پسندی روغن افتابگردان می‌شود. از طرف دیگر برتر بودن روغن پوست بنه در کمترین مقدار در این تحقیق (۲ درصد)، بیانگر این نکته می‌باشد که ممکن است این روغن در مقادیر پایین‌تر دارای اثر آنتی‌اکسیدانی بهتر باشد. از طرف دیگر باید ذکر شود، با وجود وسعت فراوان درختان بنه در ایران و شناسایی قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا آن، می‌توان روغن پوست بنه را به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی موثر در روغنهای خوراکی دیگر استفاده کرد. از نظر هزینه استخراج نیز چون این روغن به صورت مستقیم به روغنهای دیگر اضافه می‌شوند و به فراکسیونهای مختلف تبدیل نمی‌شود، مقرون به صرفه است. بنابراین با توجه به نکات ذکر شده، در پژوهش حاضر تصمیم گرفته شد از روغن پوست بنه در مقدار کمتر از ۰.۵ درصد جهت جایگزینی آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ در روغن افتابگردان طی فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد استفاده شود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

میوه درخت بنه از جنگل‌های شهرستان میمند در استان فارس (پاییز ۲۰۱۹) جمع‌آوری و تا زمان استخراج روغن، در فریزر ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. روغن افتابگردان تصفیه شده نیز از کارخانه روغن کشت و صنعت گلستان دزفول تهیه شد. همه استانداردها، مواد شیمیایی و حلال‌ها از شرکت های سیگما و مرک تهیه گردید.

۲-۲- استخراج روغن پوست بنه

ابتدا میوه بنه در دمای محیط در سایه خشک و سپس پوست سبز آن با فرایند سایش به کمک دستگاه آسیاب جدا شد. در مرحله بعد روغن پوست بنه با استفاده از حلال هگزان (نسبت ۱ به ۴) استخراج شد، سپس به کمک آون خلا حلال جدا گردید و در ظروف تیره رنگ حاوی نیتروژن در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد [۱۱].

۲-۳- فرایند حرارتی

ابتدا تیمارهای مختلف روغن افتابگردان با استفاده از مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ آماده شد. سپس ۸۰۰ گرم از هر نمونه روغن را درون بشر ریخته و در یک آون قرار داده شد و در دمای ۱۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۸ ساعت حفظ شد. در فواصل زمانی ۲ ساعت، ۵۰ گرم نمونه برای بررسی آزمون‌های مختلف برداشت شد [۷، ۱۲].

۲-۴- ساختار اسید چربی

ترکیب اسید چربی نمونه روغن به وسیله کروماتوگرافی گاز-مایع تعیین شد و بر اساس درصد نسبی سطوح گزارش شد. استرهای متیل اسیدهای چرب با اختلاط روغن و هگزان (۰/۳ گرم در ۷ میلی لیتر) با هفت میلی لیتر هیدروکسید پتاسیم متانولی دو نرمال در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه تهیه شدند. استرهای اسیدهای چرب با کروماتوگراف HP-5890 (Hewlett-Packard, CA, USA) مجهز به ستون‌های مویینه CP-FIL88 شیشه‌ای سیلیکا (۶۰ متر طول، ۰/۲۲ میلی متر قطر داخلی، ۰/۲ میکرومتر ضخامت لایه داخلی) و آشکار ساز یونی شعله‌ای شناسایی گردیدند. گاز هلیوم به عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه استفاده شد. دمای آون، بخش تزریق و آشکارساز به

ترتیب ۱۹۸، ۲۸۰ و ۲۵۰ درجه سانتیگراد بود. آزمایش ها در سه تکرار انجام شدند [۴].

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH روغن های مطالعه شده در این پژوهش به روش توضیح داده شده توسط بیم و همکاران تعیین شد [۱۷].

۲-۵- عدد اسیدی، عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوگس و عدد دیان مزدوج

۲-۹- اندازه گیری شاخص پایداری اکسایشی با کمک دستگاه رنسیمت

عدد اسیدی و عدد پراکسید به روش توضیح داده شده توسط توکلی و همکاران اندازه گیری شد [۱۳]. ، اندیس آنیزیدین و عدد دیان مزدوج نمونه های مختلف روغن نیز به ترتیب بر اساس روش توضیح داده شده توسط روشن پور و همکاران [۱۴] و توکلی و همکاران [۹] انجام شد. اندیس توتوگس نیز بر اساس فرمول زیر محاسبه شد:

برای تعیین قدرت اکسایشی نمونه های مختلف روغن، از دستگاه رنسیمت (شرکت Metrohm، مدل ۷۴۳) استفاده شد به این ترتیب که ۳ گرم روغن، در دمای ۱۱۰ درجه سانتیگراد با سرعت جریان هوا ۱۵ لیتر بر ساعت مورد آزمایش قرار گرفت. داده های به دست آمده بر مبنای شاخص پایداری اکسایشی روغن (ساعت) مقایسه شدند [۱۸].

(اندیس آنیزیدین) + (عدد پراکسید $\times 2$) = اندیس توتوگس

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری

۲-۶- مواد صابونی ناشونده، ترکیبات پلی فنلی، توکوفرولی و استرولی

کلیه آزمایش های مربوط به ویژگیهای شیمیایی اولیه در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شدند. همچنین آزمایشهای طی فرایند حرارتی با سه تکرار و ۷ تیمار در قالب طرح کرت های خرد شده دانکن انجام شد. میانگین ها با نرم افزار MStatC و بر اساس آزمون دانکن در سطح پنج درصد ($p < 0.05$) مقایسه شدند. نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel ترسیم گردیدند.

میزان مواد صابونی ناشونده روغنهای مطالعه شده در این پژوهش به روش لزانو و همکاران انجام شد [۱۵]. مقدار ترکیبات پلی فنلی کل به روش توضیح داده شده توسط اسفهلان و همکاران براساس اسید گالیک تعیین شدند [۱۶]. در این روش از معرف فولین سیوکالچو استفاده شد. مقدار ترکیبات توکوفرولی نیز به روش توکلی و همکاران تعیین شدند [۱۳].

۳- بحث و نتیجه گیری

۱-۳- بررسی برخی ویژگیهای شیمیایی اولیه روغن پوست بنه

۲-۸- اندازه گیری قدرت مهار کنندگی رادیکال آزاد

^۱ DPPH

برخی ویژگیهای اولیه روغنهای پوست بنه و آفتابگردان در جدول ۱ ذکر شده است. همانگونه که مشخص است،

اسیدهای چرب اولئیک (۵۱.۸٪)، پالمیتیک (۲۱.۲۵٪) و لینولئیک (۸.۷۱٪) سه اسید چرب اصلی روغن پوست بانه بودند، در صورتیکه در روغن آفتابگردان اسیدهای چرب لینولئیک (۵۴.۴٪)، اولئیک (۲۷.۸٪) و پالمیتیک (۸.۶٪) این شرایط را داشتند. همچنین میزان مواد صابونی ناشونده در روغنهای آفتابگردان و پوست بانه به ترتیب ۰/۶۵ و ۲/۱ درصد تعیین شد. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر، روغن خام پوست بانه، به عنوان آنتی اکسیدان به روغن آفتابگردان اضافه شد، بالا بودن مواد صابونی ناشونده به عنوان منبع اصلی ترکیبات آنتی اکسیدانی نقش مهمی در بهبود پایداری اکسایشی این روغن دارد. میزان این مواد در روغنهای سیبوس برنج خام، ذرت، کنجد، سویا خام، کانولا، زیتون بکر و پنبه دانه به ترتیب ۴/۲، حداکثر ۲/۸، ۰/۹ تا ۲/۳، ۱/۶، حداکثر ۲، ۰ تا ۱/۵ و ۰/۵ تا ۰/۷ درصد گزارش شده است [۱۹]. بنابراین مشخص شد که میزان مواد صابونی ناشونده در روغن پوست بانه نسبت به اکثر روغنهای خوراکی رایج در شرایط مناسبی قرار داشت. همچنین میزان ترکیبات توکوفرولی و فنلی کل روغن پوست بانه به ترتیب ۷۳۴ و ۸۶ میلی گرم بر میلی لیتر تعیین شد. مقدار توکوفرولها در روغن گردو، پنبه دانه، کانولا، زیتون، نخل، بادام زمینی، سویا و آفتابگردان به ترتیب ۸۳۰، ۱۵۰۰ تا ۹۰۰، ۶۹۰ تا ۶۹۵، ۳۰ تا ۳۰۰، ۳۶۰ تا ۵۶۰، ۳۳۰ تا ۴۸۰، ۹۰۰ تا ۱۴۰۰ و ۶۳۰ تا ۷۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم روغن گزارش شده است [۱۹] که مشخص شد، میزان این ترکیبات در روغن پوست بانه در شرایط مناسبی قرار داشت.

۳-۲- بررسی اثر روغن پوست بانه بر ویژگیهای مختلف روغن آفتابگردان تصفیه شده طی فرایند حرارتی

روغن خام پوست بانه در مقادیر ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد به عنوان آنتی اکسیدان به روغن آفتابگردان اضافه گردید تا اثر آن بر پایداری اکسایشی، فعالیت آنتی اکسیدانی و برخی ویژگیهای شیمیایی روغن آفتابگردان طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد مشخص شود. آنتی-اکسیدان سنتزی TBHQ به میزان ۱۰۰ پی پی ام جهت مقایسه با فعالیت آنتی اکسیدانی روغن پوست بانه استفاده شد. به این منظور آزمونهای عدد اسیدی، عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس، عدد دیان مزدوج، ترکیبات توکوفرولی کل، ترکیبات فنلی کل، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و شاخص پایداری اکسایشی (رنسیت) انجام شد.

۱-۲-۳- تغییرات پایداری اکسایشی طی فرایند حرارتی

شکل ۱، تاثیر اضافه کردن مقادیر مختلف روغن پوست بانه بر تغییرات عدد اسیدی روغن آفتابگردان طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد را نشان می دهد. عدد اسیدی نماد هیدرولیز تری گلیسیریدها به اسیدهای چرب آزاد است. با آزاد شدن اسیدهای چرب از ساختمان تری-گلیسیریدها، سرعت اکسایش آنها به صورت تصاعدی افزایش پیدا می کند و به ایجاد بدطعمی در روغن و محصول سرخ شده منجر می شود [۲]. در تحقیق حاضر عدد اسید نمونه های مختلف روغن آفتابگردان در لحظه صفر اختلاف معنی داری نداشت. اما پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی شرایط متفاوت بود. همانگونه که مشخص است، میزان افزایش عدد اسیدی روغن آفتابگردان خالص و نمونه های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بانه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۲۸۱/۸، ۹۳/۷، ۸۷/۵، ۸۳/۶، ۷۶/۷ و ۱۵۸/۵ درصد تعیین شد. این

نتایج نشان داد که آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ بهترین شرایط را از نظر آزمون عدد اسیدی در روغن آفتابگردان ایجاد کرد و بعد از آن به ترتیب روغن پوست بنه در سطوح ۰/۳۵، ۰/۲، ۰/۱، ۰/۰۵ و ۰/۵ درصد قرار داشتند. بر اساس استاندارد شماره 210-1999 کدکس، میزان عدد اسیدی روغنهای خوراکی جهت مصرف باید کمتر از ۰/۶ باشد [۲۰]. بنابراین در پایان فرایند حرارتی، عدد اسیدی تمامی نمونه‌های مطالعه شده در این پژوهش به جز روغن آفتابگردان خالص و نمونه روغن حاوی ۰/۵ درصد روغن پوست بنه، کمتر از ۰/۶ بود که نشان دهنده شرایط مناسب تیمارهای روغن ذکر شده بود. در تحقیق حاضر با افزایش غلظت روغن پوست بنه در روغن آفتابگردان تا سطح ۰/۳۵ درصد، مقاومت به تشکیل اسیدهای چرب آزاد بیشتر شد، اما با افزایش سطح روغن پوست بنه از ۰/۳۵ درصد به ۰/۵ درصد شرایط برعکس شد که به دلیل ایجاد حالت پراکسیدانی ناشی از افزایش آنتی‌اکسیدانها در روغن آفتابگردان بود. در تحقیقی مشابه، از مقادیر مختلف روغن پوست بنه به عنوان آنتی‌اکسیدان در روغن سویا استفاده شد. پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد، عدد اسیدی نمونه‌های روغن سویا حاوی ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد روغن پوست بنه نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۲۸۲، ۱۰۰، ۲۳۶ و ۱۷۲ درصد افزایش پیدا کرد [۴]. مقایسه نتایج این تحقیق با مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از روغن پوست بنه در مقادیر کمتر از ۰/۵ درصد دارای اثر آنتی‌اکسیدانی برتری در روغنهای خوراکی نسبت به مقادیر بالاتر از ۰/۵ درصد بود. استفاده از روغن پوست بنه در مقادیر ۰/۵ درصد و بالاتر از آن به سبب بروز فعالیت پراکسیدانی به جای فعالیت آنتی‌اکسیدانی، باعث اثر منفی بر عدد اسیدی روغنهای خوراکی شد. شرایعی و همکاران در تحقیقی از

مقادیر مختلف روغن مغز بنه به عنوان آنتی‌اکسیدان، در روغن کانولا استفاده کردند. نتایج این تحقیق نشان داد که میزان افزایش عدد اسیدی، پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی در روغن کانولا حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۰۲ و ۰/۴ درصد روغن مغز بنه به ترتیب ۱۲۶، ۸۲، ۱۲۰ و ۱۳۹ درصد بود که بهترین تیمار روغن مغز بنه، سطح ۰/۱ درصد آن گزارش شد [۵] که به نتایج تحقیق حاضر در سطحهای ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳۵ درصد روغن پوست بنه نزدیک بود. همچنین در تحقیق ذکر شده پس از ۴۸ ساعت فرایند حرارتی نیز، روغن کانولا حاوی ۰/۱ درصد مغز بنه، بهترین نمونه در آزمون عدد اسیدی بود. در تحقیقی دیگر از مقادیر ۰/۵ تا ۱۰ درصد روغن میوه کلخونگ به منظور بهبود پایداری اکسایشی روغن زیتون طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد استفاده شد. نتایج آزمون عدد اسیدی نشان داد که روغن میوه کلخونگ در سطح ۱ درصد بهترین تیمار آنتی‌اکسیدانی در روغن زیتون بود. میزان افزایش این فاکتور پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی ۳۱ درصد بود [۲۱] که در مقایسه با تحقیق حاضر شرایط مناسب تری داشت.

عدد پراکسید، شاخص اکسایش اولیه روغنهای خوراکی می‌باشد. ترکیبات هیدروپراکسیدی پایداری بالایی ندارند و امکان تجزیه آنها و تبدیل شدن به ترکیبات ثانویه وجود دارد [۲]. روند تغییرات عدد پراکسید روغن آفتابگردان تصفیه شده طی ۸ ساعت فرایند حرارتی، تحت تاثیر مقادیر مختلف روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در شکل ۲ آورده شده است. همانگونه که مشخص است بین عدد پراکسید نمونه‌های مختلف روغن در لحظه صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین طی فرایند حرارتی روند تغییرات عدد پراکسید تمامی نمونه‌های روغن، حالت افزایشی داشت. میزان افزایش عدد پراکسید روغن آفتابگردان خالص و

نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۸۲۸/۴، ۲۹۱/۶، ۴۸۵/۵، ۵۴۲/۶، ۴۸۸/۷، ۴۷۴/۱ و ۴۱۶/۷ درصد تعیین شد. بررسی نتایج نشان داد که بر خلاف آزمون عدد اسیدی، نمونه روغن حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بنه بهترین شرایط را در آزمون عدد پراکسید داشت و بعد از آن به ترتیب نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ، ۰/۵ درصد روغن پوست بنه، ۰/۱ درصد روغن پوست بنه، ۰/۳۵ درصد روغن پوست بنه و ۰/۲ درصد روغن پوست بنه و روغن آفتابگردان خالص قرار داشتند. بر خلاف آزمون عدد اسیدی، تغییرات عدد پراکسید طی فرایند حرارتی در سطح گسترده‌تری انجام شد. همچنین برتر بودن روغن پوست بنه در سطح ۰/۰۵ درصد نسبت به TBHQ و رقابت نزدیک سایر سطوح روغن پوست بنه با این آنتی‌اکسیدان از نتایج کاملاً ارزشمند این تحقیق بود، به این دلیل که روغن خام پوست بنه مانند TBHQ خالص نیست. فرهوش و همکاران در تحقیقی گزارش کردند که استفاده از روغن پوست بنه در مقایسه با روغن سبوس برنج به میزان ۰/۵ درصد در روغن آفتابگردان باعث اثر بهتر، در تغییرات عدد پراکسید طی ۱۰ روز گرمخانه‌گذاری در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد شد [۱۰]. این در حالی بود که در تحقیقی دیگر با شرایط مشابه، استفاده از روغن مغز بنه در سطح ۰/۵ درصد در مقایسه با روغن سبوس برنج در روغن آفتابگردان اثر کمتری بر تغییرات عدد پراکسید داشت [۱۸]. البته باید ذکر شود شرایط دو تحقیق ذکر شده با تحقیق حاضر از نظر دما و زمان کاملاً متفاوت بود.

طی اکسایش ثانویه، هیدروپراکسیدها شکسته شده و روغن وارد مرحله اکسایش ثانویه می‌شود. ترکیبات کربونیلی به

خصوص آلدوئیدها شاخص‌ترین ترکیب اکسایش ثانویه هستند و به عنوان ترکیب مولد بو شناخته می‌شوند. این ترکیبات بر خلاف هیدروپراکسیدها مقاومت مناسبی در برابر دما دارند و اندازه‌گیری آنها معیار مناسبی جهت تعیین پیشرفت و گسترش اکسایش روغنهای خوراکی می‌باشد. جهت اندازه‌گیری میزان اکسایش ثانویه از اندیس آنیزیدین استفاده می‌شود [۲]. روند تغییرات اندیس آنیزیدین روغن آفتابگردان تصفیه شده طی ۸ ساعت فرایند حرارتی، تحت تاثیر مقادیر مختلف روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در شکل ۳ آورده شده است. بر اساس نمودار، مشخص شد که مقدار اولیه اندیس آنیزیدین نمونه‌های مختلف روغن، اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما بر خلاف آزمون عدد پراکسید، روند تغییرات این شاخص در همه نمونه‌ها افزایشی نبود. میزان افزایش اندیس آنیزیدین روغن آفتابگردان خالص و نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۲۵۲، ۰/۰۴، ۱۴/۵، ۲۷/۹ و ۱۲۶/۴ درصد تعیین شد، این در حالی بود که در روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد روغن پوست بنه شاهد کاهش ۲۷/۸ و ۲۳/۲۳ درصدی اندیس آنیزیدین نسبت به لحظه صفر پس از فرایند حرارتی بودیم. علت این پدیده می‌تواند، به مقاومت بالای این دو سطح روغن پوست بنه به تشکیل ترکیبات ثانویه اکسایش مربوط باشد. طی فرایند حرارتی، مقداری از ترکیبات حاصل از اکسایش ثانویه مانند آلدوئیدها به دلیل انرژی جنبشی ناشی از فرایند حرارتی و فرار بودن از روغن جدا می‌شوند. اما به دلیل اینکه میزان تشکیل این ترکیبات، بیشتر از میزان خروج آنها در روغن است، معمولاً شاهد افزایش اندیس آنیزیدین طی فرایند حرارتی در دمای بالا هستیم. اما در این دو نمونه

روغن ذکر شده چون مقاومت بسیار بالایی به تشکیل ترکیبات ثانویه داشتند، میزان خروج این ترکیبات از روغن، بیشتر از تشکیل آنها طی فرایند حرارتی بود و کاهش این ترکیبات در انتهای فرایند حرارتی مشاهده شد. بنابراین با توجه به نتایج آزمون اندیس آنیزیدین، بهترین تیمار، روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بانه بود و بعد از آن به ترتیب نمونه روغن حاوی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بانه، نمونه روغن حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ و روغن آفتابگردان خالص قرار داشتند. نتایج بیانگر برتری کامل روغن پوست بانه در مقادیر کمتر از ۰/۵ درصد نسبت به آنتی‌اکسیدان شیمیایی TBHQ در کنترل اکسایش ثانویه بود. این در حالی بود که روغن پوست بانه بر خلاف TBHQ خالص نبود. همچنین مشخص شد، که با افزایش غلظت روغن پوست بانه در روغن آفتابگردان، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنها در برابر اکسایش ثانویه کاهش یافت. در تحقیقی که از مقادیر ۱ تا ۶ درصد روغن پوست بانه جهت بهبود پایداری اکسایشی روغن سویا استفاده شد، گزارش گردید که میزان ترکیبات کربونیلی در روغن سویا حاوی ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد روغن پوست بانه پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی به ترتیب ۳۱۷، ۲۱۴، ۲۱۸ و ۱۵۵ درصد افزایش پیدا کرد [۴]. مقایسه نتایج این تحقیق و مطالعه حاضر نشان داد که روغن پوست بانه در مقادیر کمتر از ۰/۵ درصد نسبت به مقادیر بالاتر از ۱ درصد دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار بالاتری در مهار اکسایش ثانویه است. شریف و همکاران نیز گزارش کردند که روغن پوست بانه در سطح ۲ درصد، نسبت به سطوح ۴ و ۸ درصد، توانایی بالاتری در مهار اکسایش ثانویه روغن آفتابگردان تصفیه شده داشت [۸]. در تحقیقی که توسط شرایعی و همکاران انجام شد، مشخص گردید که پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی، میزان افزایش ترکیبات

کربونیلی روغن کانولا حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ درصد روغن مغز بانه به ترتیب ۸۵، ۱۱/۱، ۶۱ و ۵۹ افزایش یافت [۵]. مقایسه این مطالعه و پژوهش حاضر نشان داد که روغن پوست بانه در مقایسه با روغن مغز بانه دارای فعالیت آنتی-اکسیدانی بالاتری جهت مهار اکسایش ثانویه بود. همچنین توکلی و همکاران گزارش کردند که استفاده از روغن میوه کلخونگ (نزدیکترین گونه پسته به بانه) در سطح ۰/۵ و ۱ درصد باعث مقاومت بالاتر به اکسایش ثانویه درمقایسه با TBHQ شد [۲۱].

اندیس توتوکس نشان‌دهنده میزان اکسایش کل شامل اکسایش اولیه و ثانویه، در روغن‌ها و چربی‌ها می‌باشد [۲]. روند تغییرات اندیس توتوکس روغن آفتابگردان تصفیه شده طی ۸ ساعت فرایند حرارتی، تحت تاثیر مقادیر مختلف روغن پوست بانه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در شکل ۴ آورده شده است. همانگونه که مشخص است، در لحظه صفر بین اندیس توتوکس نمونه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین روند تغییرات این شاخص در همه تیمارها، طی فرایند حرارتی، کاملاً افزایشی بود. میزان افزایش اندیس توتوکس روغن آفتابگردان خالص و نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بانه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۳۸۳/۱، ۶۵/۹، ۹۲/۴، ۱۲۳/۶، ۱۲۲/۶، ۱۲۹/۸ و ۱۹۲/۴ درصد تعیین شد. بررسی این نتایج نشان داد که روغن پوست بانه در تمامی مقادیر استفاده شده، کاملاً برتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی و قدرتمند TBHQ بود که با توجه به خالص نبودن روغن پوست بانه از نظر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نتیجه‌ای کاملاً قابل توجه بود. همچنین مشخص شد، با افزایش غلظت روغن پوست بانه از ۰/۰۵ درصد تا ۰/۵ درصد مقاومت به اکسایش کاهش یافت.

این نتیجه به این معنی است که روغن پوست بنه در مقادیر کمتر، باعث بهبود بهتر پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان طی فرایند حرارتی شد. قطعا افزایش میزان روغن پوست بنه در روغن آفتابگردان، باعث ایجاد حالت پراکسیدانی به جای اثر آنتی اکسیدانی شده و پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان، حالت کاهشی پیدا کرده بود. مشابه این نتایج در تحقیقات گذشته هم گزارش شده بود. شریف و همکاران گزارش کردند که در بین مقادیر مختلف ۲ تا ۸ درصد روغن پوست بنه اضافه شده به روغن آفتابگردان، نمونه روغن حاوی ۲ درصد روغن پوست بنه دارای بیشترین پایداری اکسایشی بود که مقادیر بیش از آن سبب بروز فعالیت پرواکسیدانی گردید [۸]. همچنین توکلی و سربی نیز مشابه تحقیق حاضر گزارش کردند که افزایش بیش از ۴ درصد روغن پوست بنه در روغن سویا، باعث ایجاد حالت پراکسیدانی طی فرایند سرخ کردن شد [۴]. در تحقیقی دیگر نیز گزارش شد که کاربرد روغن میوه کلخونگ (نزدیکترین گونه به بنه)، در مقادیر بیشتر از ۱ درصد به عنوان آنتی اکسیدان در روغن زیتون، باعث کاهش پایداری اکسایشی آن طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد شد [۲۱].

با توجه به اینکه، ترکیبات هیدروپراکسیدی در برابر دمای بالا شکننده هستند، این ویژگی می تواند در نتایج آزمون عدد پراکسید خطا ایجاد کند، به همین دلیل در کنار آزمون عدد پراکسید، باید از آزمون عدد دیان مزدوج نیز به عنوان تست تکمیلی، جهت بررسی کیفیت روغنهای خوراکی طی فرایند حرارتی با دمای بالا استفاده کرد [۲۲]. عدد دیان مزدوج، شاخص مناسبی برای نشان دادن میزان اکسایش لیپیدی در روغنهای حاوی مقدار قابل توجه اسیدهای چرب دارای چند پیوند دوگانه است و میزان آن با جذب اکسیژن و تشکیل پراکسیدهای لیپیدی افزایش می یابد. دیان مزدوج در

روغن چندغیراشباع به سرعت تشکیل و انباشته می شود. این ترکیبات می توانند با اکسیژن برای تشکیل هیدروپراکسیدهای مزدوج واکنش دهند [۲]. اندازه گیری عدد دیان مزدوج نشانگر خوبی از اکسایش اولیه نمونه های روغنی می باشد. افزایش جذب در طول موج ۲۳۴ نانومتر با افزایش مصرف اکسیژن و تشکیل هیدروپراکسیدها در طول مراحل اولیه اکسایش متناسب می باشد [۲۳]. روند تغییرات عدد دیان مزدوج نمونه های مختلف روغن مطالعه شده در پژوهش حاضر در شکل ۴ آورده شده است که بیانگر عدم اختلاف معنی دار در لحظه صفر و روند کاملاً افزایشی طی فرایند حرارتی در نمونه های مختلف است. میزان افزایش عدد دیان مزدوج روغن آفتابگردان خالص و نمونه های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۱۶۷/۴، ۱۲۸/۷، ۱۱۰/۹، ۱۲۲/۸، ۱۳۷/۶، ۱۵۲/۵ و ۱۵۲/۵ درصد تعیین شد. همانگونه که مشخص است بهترین تیمار، روغن آفتابگردان حاوی ۰/۱ درصد روغن پوست بنه بود و بعد از آن روغن آفتابگردان حاوی ۰/۲، ۰/۰۵، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ قرار داشتند. بین دو نمونه روغن حاوی ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ از نظر این آزمون اختلاف معنی داری وجود نداشت. نتایج این آزمون نیز همانند سه آزمون پایداری اکسایشی دیگر شامل عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین و اندیس توتوکس بیانگر برتری مطلق روغن پوست بنه نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی TBHQ بود. در تحقیقی مشابه؛ شریف و همکاران، از مقادیر ۲ تا ۸ درصد روغن پوست بنه جهت افزایش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان استفاده کردند، گزارش نمودند

که پس از ۳۲ ساعت فرایند سرخ کردن، روغن پوست بنه در سطح ۲ درصد باعث بیشترین ممانعت در تشکیل ترکیبات دی‌ان‌مزدوج شد [۸]. همچنین در تحقیقی دیگر نیز گزارش گردید که در بین مقادیر ۱ تا ۶ درصد روغن پوست بنه جهت افزایش پایداری اکسایشی روغن سویا طی ۳۲ ساعت فرایند سرخ کردن، سطح ۴ درصد بهترین شرایط را از نظر آزمون عدد دی‌ان‌مزدوج داشت [۴]. با توجه به اینکه در تحقیق حاضر از مقادیر کمتر از ۰/۵ درصد استفاده شده بود، بیانگر برتر بودن روغن پوست بنه در مقادیر کمتر در روغنهای خوراکی بود. در تحقیقی دیگر، شرایعی و همکاران (۲۰۱۱)، از مقادیر ۰/۰۵ تا ۰/۴ درصد روغن مغز بنه به عنوان آنتی‌اکسیدان جایگزین TBHQ جهت فرایند سرخ کردن روغن کانولا به مدت ۴۸ ساعت استفاده کردند، که مشخص شد، روغن مغز بنه در سطح ۰/۱ درصد باعث کمترین افزایش در عدد دی‌ان‌مزدوج روغن کانولا پس از فرایند حرارتی شد که شرایط مشابه‌ای با روغن پوست بنه استفاده شده در تحقیق حاضر داشت [۵]. توکلی و همکاران مطالعه ای که از مقادیر ۰/۵ تا ۱۰ درصد روغن میوه کلخونگ جهت بهبود پایداری اکسایشی روغن زیتون استفاده کردند، گزارش نمودند که طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد، روغن میوه کلخونگ در سطوح ۰/۵ و ۱۰ درصد بهترین شرایط را از نظر آزمون عدد دی‌ان‌مزدوج ایجاد کردند [۲۱].

در مجموع نتایج آزمونهای پایداری اکسایشی شامل عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس، عدد دی‌ان-مزدوج و عدد اسیدی نشان داد که روغن پوست بنه در سطح ۰/۰۵ درصد باعث بهترین شرایط از نظر پایداری اکسایشی طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در روغن آفتابگردان شد و بعد از آن سطح ۰/۱ درصد این روغن قرار داشت. نکته جالب

توجه برتری روغن پوست بنه نسبت به TBHQ که آنتی-اکسیدان کاملاً قدرتمند می‌باشد، بود. تنها در آزمون عدد اسیدی، TBHQ برتری داشت که با توجه به اینکه میزان افزایش عدد اسیدی طی فرایند حرارتی در تمامی نمونه‌ها ناچیز بود، در مقایسه با سایر آزمونها قابل توجه نبود. این نتایج در حالی حاصل شد که روغن پوست بنه در مقایسه با TBHQ خالص نبود. بنابراین به منظور درک بهتر آزمونهای پایداری اکسایشی، تغییرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن آفتابگردان تحت تاثیر مقادیر مختلف روغن پوست بنه نیز بررسی شد.

۲-۲-۳- تغییرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی طی فرایند حرارتی توکوفرونها، اصلی‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی روغنهای خوراکی هستند [۱۹]. تغییرات ترکیبات توکوفرولی نمونه-های روغن مطالعه شده در پژوهش حاضر، در شکل ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان داد، بین میزان ترکیبات توکوفرولی در لحظه صفر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. میزان کاهش ترکیبات توکوفرولی روغن آفتابگردان خالص و نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ نیز در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۲۰/۲، ۱۸/۲، ۱۵/۶، ۱۴/۴، ۲۱/۱، ۱۷/۴ و ۰/۲۴ درصد تعیین شد. همانگونه که مشخص است از نظر این آزمون، نمونه روغن حاوی TBHQ بهترین تیمار بود و بعد از آن به ترتیب نمونه‌روغنهای حاوی ۰/۲، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۰۵ درصد روغن پوست بنه، روغن آفتابگردان خالص و نمونه روغن آفتابگردان حاوی ۰/۳۵ درصد روغن پوست بنه قرار داشتند. این نتایج اصلاً با آزمونهای پایداری اکسایشی همخوانی نداشت. چون در این آزمونها، آنتی‌اکسیدان TBHQ در

، حفظ مقدار بالای ترکیبات توکوفرولی به علاوه آنتی-اکسیدان سنتزی TBHQ می‌تواند، باعث ایجاد حالت پراکسیدانی در روغن آفتابگردان طی ۸ ساعت فرایند حرارتی و کاهش پایداری اکسایشی آن شود. اثر توکوفرول طبیعی موجود در روغنهای خوراکی و یا توکوفرول اضافه شده به آنها طی فرایند سرخ کردن قابل پیشبینی نیست. استفاده از این ترکیبات در دمای بالا همیشه مفید نیست و حتی ممکن است اثر پراکسیدانی مشاهده شود. اکسیداسیون لیپیدها در دماهای بالا با افزایش فعالیت فلزات آلوده کننده و یا افزایش فعالیت پرواکسیدانی توکوفرول ها در روغن های گیاهی به طور نامنظم انجام می شود [۲۲].

توکلی و سربی در تحقیقی گزارش کردند که میزان کاهش ترکیبات توکوفرولی روغن سویا پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی، تحت تاثیر ۱، ۲، ۴ و ۶ درصد روغن پوست بنه به ترتیب ۳۸، ۴۰، ۴۶ و ۵۱ درصد بود. همچنین پس از ۳۲ ساعت فرایند حرارتی نیز مشخص شد ترکیبات توکوفرولی نمونه روغن سویا حاوی ۴ درصد روغن پوست بنه در میان تمامی تیمارها بیشترین کاهش را داشت. این در حالی بود که در آزمونهای پایداری اکسایشی نمونه روغن سویا حاوی ۴ درصد روغن پوست بنه دارای بهترین شرایط بود و همانند تحقیق حاضر با تغییرات ترکیبات توکوفرولی همخوانی نداشت [۴].

در تحقیقی دیگر نیز گزارش شد که پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد، میزان ترکیبات توکوفرولی روغن زیتون حاوی ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ روغن میوه کلخونگ به ترتیب ۸۱، ۸۶، ۸۵، ۸۴ و ۸۰ درصد کاهش یافت که خیلی بیشتر از کاهش ترکیبات توکوفرولی در تحقیق حاضر بود. از نظر آزمونهای پایداری اکسایشی نیز نمونه حاوی ۰.۵ درصد روغن میوه کلخونگ بهترین تیمار بود [۲۱].

مقایسه با سطوح مختلف روغن پوست بنه، شرایط خوبی نداشت، اما در آزمون ترکیبات توکوفرولی باعث کاهش بسیار اندک این ترکیبات شد. در مقابل در آزمونهای پایداری اکسایشی سطح ۰/۰۵ درصد روغن مغز بنه دارای بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی بود، در صورتیکه میزان کاهش ترکیبات توکوفرولی در این تیمار در بین تمامی نمونه ها کمترین بود. در مورد تفسیر این نتایج دلایل مختلفی را می توان بیان کرد. اولاً ممکن است سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی در نتایج آزمونها نقش داشته باشند. دوماً با بررسی نتایج مشخص شد که در بدترین شرایط حدود ۸۰ درصد توکوفرولها پس از فرایند حرارتی در روغن آفتابگردان باقیمانده اند. این یافته به این معنی می تواند باشد که بین میزان ترکیبات توکوفرولی نمونه های مختلف آفتابگردان اختلاف بسیار زیادی وجود نداشت. طی فرایند حرارتی در دمای بالا مانند سرخ کردن، ترکیبات توکوفرولی در روغنهای حاوی مقدار بالا اسیدهای دارای چند پیوند دوگانه، با سرعت کمتری نسبت به روغنهای اشباع تر تجزیه می شود. اسیدهای چرب دارای چند پیوند دوگانه، قبل از اینکه طی فرایند حرارتی در دمای بسیار بالا با توکوفرولها واکنش دهند، تجزیه می شوند. همچنین در مطالعات دیگری نیز گزارش شده است که بین ترکیبات توکوفرولی و چربیهای غیراشباع در واکنش با ترکیبات حاصل از تجزیه هیدروپراکسیدها (رادیکالهای آلکوکسیل و هیدروکسیل) رقابت وجود دارد [۲۲]. با توجه به اینکه روغن آفتابگردان مطالعه شده در تحقیق حاضر، حاوی بیش از ۵۷ درصد اسیدهای چرب دارای چند پیوند دوگانه بود، علت تغییرات کم در ترکیبات توکوفرولی قابل توجیه است. سوماً ممکن است در نمونه های روغن حاوی توکوفرول بیشتر، طی فرایند حرارتی حالت پراکسیدانی ایجاد شود و پایداری اکسایشی کاهش یابد. به عنوان مثال در نمونه حاوی TBHQ

ترکیبات پلی فنولی با فعالیت های بیولوژیکی قوی، آنتی اکسیدان های قدرتمندی هستند که به طور گسترده ای در گیاهان توزیع شده اند [۱۹]. تغییرات ترکیبات پلی فنلی نمونه های روغن مطالعه شده در پژوهش حاضر، در شکل ۷ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنلی در نمونه های مختلف روغن آفتابگردان (۳۲/۹ تا ۳۳/۱ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با توکوفرولها (۸۵۸ میلی گرم بر کیلوگرم) بسیار کم بود و این ترکیبات به عنوان آنتی اکسیدانی فرعی این نمونه های روغن شناخته شدند. روند تغییرات این ترکیبات، طی فرایند حرارتی نیز نسبت به توکوفرولها کاملاً متفاوت بود و هر دو حالت کاهش و افزایش در آنها مشاهده شد. پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی نیز میزان این ترکیبات ۲۵.۳ تا ۳۳ میلی گرم بر کیلوگرم تعیین شد که بیانگر کاهش کم این ترکیبات طی فرایند حرارتی بود. در بین نمونه های مختلف روغن، روغن آفتابگردان حاوی TBHQ با کاهش تقریباً صفر درصدی بهترین نمونه بود. این یافته به این معنی است که TBHQ همانند توکوفرولها، اثر محافظتی بسیار عالی بر ترکیبات پلی فنلی داشت.

۳-۲-۳- تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی طی فرایند حرارتی در تحقیق حاضر، فعالیت آنتی اکسیدانی روغنهای استفاده شده به کمک آزمونهای قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و آزمون شاخص پایداری اکسایشی تعیین شد. تغییرات قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH روغن آفتابگردان تصفیه شده؛ تحت تاثیر مقادیر مختلف روغن خام پوست بانه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در شکل ۸ نشان داده شده است. با وجود اینکه مقدار ترکیبات آنتی اکسیدانی شامل توکوفرولها و پلی فنلها نمونه های مختلف روغن قبل از فرایند حرارتی اختلاف

معنی داری با یکدیگر نداشتند، اما قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنها با یکدیگر متفاوت بود. باید ذکر شود در کنار توکوفرولها و پلی فنلها، سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی دیگر مثل کارتنوئیدها و برخی استرولها نیز در روغن آفتابگردان وجود دارند که بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی موثر هستند. حتی پدیده سینرژیست چندین ترکیب آنتی اکسیدانی نیز در فعالیت آنتی اکسیدانی آنها موثر است. روند تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های مختلف روغن به جز روغن آفتابگردان حاوی ۰.۰۵ درصد روغن پوست بانه در تحقیق حاضر طی فرایند حرارتی کاهش بود. میزان کاهش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد روغن آفتابگردان خالص و نمونه های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بانه و ۱۰۰ پی پی ام TBHQ نیز در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۲۶/۳، ۱۲/۲، ۱۴/۶، ۹/۹، ۱۵/۹ و ۸/۴ درصد تعیین شد. اما در مورد روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بانه، افزایش ۷/۵ درصدی قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد پس از فرایند حرارتی مشاهده شد. با توجه به اینکه در آزمون پایداری اکسایشی سطح ۰/۰۵ درصد روغن پوست بانه بهترین تیمار بود، یکی از دلایل این برتری را می توان به تغییرات قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد نسبت داد.

در برخی تحقیقات دیگر نیز روند افزایش و کاهش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد گزارش شده است. در تحقیقی که به بررسی اثر روغنهای پاپایا و ملون بر پایداری اکسایشی روغن سویا طی ۲۰ ساعت فرایند حرارتی در ۱۸۰ درجه سانتیگراد پرداخته شد، مشخص گردید که در روغنهای پاپایا و ملون و فرمول ترکیبی روغنهای سویا با روغنهای پاپایا و ملون، افزایش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و سپس

کاهش آن در برخی نمونه‌ها مشاهده شد که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی داشت [۲۴].

روند تغییرات شاخص پایداری اکسایشی نمونه‌های مختلف روغن طی فرایند حرارتی توسط دستگاه رنسیمت اندازه گیری شد (شکل ۹). شماری از روشهای تسریع‌شونده، جهت بررسی مقاومت روغنهای خوراکی گسترش پیدا کرده است. در همه این آزمون‌ها از دمای بالا به خاطر افزایش سرعت واکنش اکسایش استفاده می‌شود. [همچنین در برخی روشها مانند آزمون رنسیمت در کنار دمای بالا، جریان هوا نیز به کار می‌رود] [۲۵]. آزمون رنسیمت معمولی ترین روش تسریع شونده برای ارزیابی پایداری اکسایشی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی روغن‌ها و چربیهای خوراکی است. اما نکته‌ای که در مورد این آزمون وجود دارد، این است که به دلیل استفاده از شرایط تسریع شونده، نتایج این آزمون با شرایط واقعی تفاوت دارد. به همین دلیل پیشنهاد می‌شود که به عنوان یک تست تکمیلی در کنار آزمونهای رایج پایداری اکسایشی مانند عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس و عدد دی‌ان‌مزدوج طی اعمال فرایند حرارتی مانند سرخ کردن انجام شود [۲۲، ۲۶]. بررسی میزان اولیه آزمون رنسیمت نمونه‌های مختلف روغن نشان داد که افزودن روغن پوست بنه همانند TBHQ باعث افزایش شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد، اما استفاده از TBHQ به شدت باعث افزایش این شاخص شد، به طوریکه میزان این شاخص در روغن آفتابگردان با افزودن ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ، ۳۲۷ درصد افزایش پیدا کرد. این در حالی بود که با افزایش ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه به روغن آفتابگردان، شاخص پایداری اکسایشی به ترتیب ۲۷، ۲۹، ۵۴، ۴۱ و ۵۳ درصد افزایش یافت. اما روند تغییرات شاخص پایداری اکسایشی طی فرایند حرارتی، با شرایط

لحظه صفر کاملاً متفاوت بود. میزان کاهش شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان خالص و نمونه‌های روغن آفتابگردان حاوی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳۵ و ۰/۵ درصد روغن پوست بنه و ۱۰۰ پی‌پی‌ام TBHQ نیز در پایان فرایند حرارتی نسبت به لحظه صفر به ترتیب ۱۹/۹، ۱۲/۲، ۲۴/۱، ۲۱، ۲۲/۹، ۱۸/۸ و ۴۷/۱ درصد تعیین شد که بیانگر برتری روغن پوست بنه در سطح ۰/۰۵ درصد بود، این در حالی بود که در نمونه روغن حاوی TBHQ، بیشترین کاهش شاخص پایداری اکسایشی در پایان فرایند حرارتی مشاهده شد. باید به این نکته توجه داشت که شیب تغییرات کمیتهای مختلف روغنهای خوراکی، همانند شرایط روغن قبل از فرایند حرارتی دارای اهمیت است. به نظر می‌رسد، آنتی‌اکسیدان TBHQ حرارت ندیده در روغن آفتابگردان، مقاومت بسیار بالایی به شرایط دستگاه رنسیمت شامل دما و جریان هوا دارد و به همین دلیل در نمونه‌روغنهای حرارت ندیده دارای بیشتر اثر بر شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان است، اما بعد از اینکه نمونه‌های روغن تحت فرایند حرارتی قرار گرفت، این خصوصیات TBHQ به شدت ضعیف می‌شود و باعث بیشترین کاهش در شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی شد. البته همانگونه که ذکر شد، آزمون رنسیمت به تنهایی جهت شناسایی پایداری اکسایشی روغنهای خوراکی، قابل اعتماد نیست. چون مکانیسم اکسیداسیون در شرایط دستگاه رنسیمت از نظر دما و سرعت جریان هوا با شرایط واقعی متفاوت است [۲۲]. همچنین شرایط موجود در آزمون رنسیمت برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی واقعی روغنهای خوراکی مناسب نیست، چون آنتی‌اکسیدانهای فرار ممکن است با جریان هوا خارج شوند. همچنین روغن‌ها با رسیدن به نقطه پایانی این آزمون به شدت فاسد شده‌اند [۲۶].

۴- نتیجه گیری

بررسی نتایج آزمونهای مختلف پایداری اکسایشی (عدد پراکسید، اندیس آنیزیدین، اندیس توتوکس، عدد دی-ان-مزدوج و عدد اسیدی) نشان داد که استفاده از روغن پوست بنه در سطح ۰/۰۵ درصد، باعث ایجاد بهترین شرایط از نظر آزمونهای پایداری اکسایشی طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد نسبت به ۱۰۰ پی پی ام TBHQ شد. به منظور تفسیر بهتر نتایج آزمونهای پایداری اکسایشی، تغییرات ترکیبات توکوفرولی و پلی فنلی به عنوان دو ترکیب آنتی-اکسیدانی شاخص طی فرایند حرارتی بررسی شد. نتایج نشان داد بین تغییرات این ترکیبات و آزمونهای پایداری اکسایشی ارتباط وجود ندارد. به عنوان مثال در نمونه حاوی TBHQ دارای بیشترین اثر حفاظتی بر ترکیبات آنتی اکسیدانی بود که به علت ایجاد حالت پراکسیدانی ناشی از افزایش آنتی-اکسیدانها، باعث کاهش پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد. همچنین بررسی تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی طی فرایند حرارتی به کمک دو آزمون قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد و رنسیت نیز نشان داد که نمونه روغن آفتابگردان حاوی ۰/۰۵ درصد روغن پوست بنه بهترین شرایط را داشت که با نتایج آزمونهای پایداری اکسایشی همخوانی داشت. ارزش این نتایج زمانی مشخص می شود که روغن پوست بنه در مقایسه با TBHQ اصلاً خالص نبود. ترکیبات آنتی اکسیدانی معمولاً جز مواد صابونی ناشونده روغن های خوراکی هستند. یعنی اینکه اگر کل ترکیبات صابونی ناشونده روغن پوست بنه را دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی در نظر بگیریم، با اضافه شدن روغن پوست بنه به روغن آفتابگردان در سطوح ۰/۰۵ درصد، ۱۰/۵ پی پی ام مواد صابونی ناشونده به روغن آفتابگردان اضافه شده است

توکلی و همکاران در تحقیقی به بررسی بهبود پایداری اکسایشی روغن زیتون با استفاده از مقادیر مختلف روغن میوه کلخونگ پرداختند که جهت مقایسه از ۱۰۰ پی پی ام آنتی اکسیدان TBHQ نیز استفاده کردند. نتایج نشان داد که افزودن تمامی موارد ذکر شده، باعث افزایش شاخص پایداری اکسایشی روغن زیتون شد اما همانند تحقیق حاضر بیشترین اثر بهبود دهنده را در آزمون رنسیت، TBHQ داشت. همچنین طی ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه- سانتیگراد، بیشترین میزان کاهش شاخص پایداری اکسایشی در مورد روغن زیتون حاوی ۱۰۰ پی پی ام TBHQ (۸۳.۵٪) بود. همچنین میزان کاهش این شاخص در روغن زیتون حاوی ۰/۵، ۱، ۲، ۵ و ۱۰ درصد به ترتیب ۷۳، ۷۵/۶، ۸۷/۶، ۶۳/۸، ۵۹/۹ و ۷۹/۲ درصد تعیین شد [۲۱]. در تحقیقی دیگر نیز گزارش شد که استفاده از مقادیر مختلف مواد صابونی- ناشونده روغن میوه کلخونگ (۵۰ تا ۱۰۰۰ پی پی ام) باعث اثرات متفاوتی در نتایج آزمون رنسیت شد. در بین تیمارهای مختلف، سطوح ۵۰ و ۱۰۰ پی پی ام مواد صابونی ناشونده روغن میوه کلخونگ، بیشترین اثر حفاظتی را بر شاخص پایداری اکسایشی روغن زیتون پس از ۸ ساعت فرایند حرارتی در ۱۷۰ درجه سانتیگراد شد. همانند تحقیق حاضر نیز، روغن زیتون حاوی ۱۰۰ پی پی ام TBHQ، جز ضعیف ترین نمونه ها پس از فرایند حرارتی در آزمون رنسیت بود [۲۳]. در تحقیقی که توسط فرهوش و همکاران انجام شد، گزارش گردید که استفاده از روغن پوست بنه در سطح ۰.۵ درصد در روغن آفتابگردان، باعث افزایش شاخص پایداری این روغن به میزان ۲۹ درصد شد، این در حالی بود که در تحقیق حاضر، افزایش همین مقدار روغن پوست بنه، باعث رشد ۵۳ درصدی شاخص پایداری اکسایشی روغن آفتابگردان شد [۱۰].

موردشناسایی ترکیبات موثر در این خصوصیات منحصر به فرد روغن پوست بنبه باید ادامه پیدا کند.

که بیانگر قدرت بسیار بالای آنتی اکسیدانی روغن پوست بنبه طی فرایند حرارتی طولانی مدت در دمای بسیار بالا است. البته این نکته بیانگر این موضوع است که تحقیقات در

ه-منابع

- [1] Mota, M.F.S., Waktola, H.D., Nolvachai, Y., Marriott, P.J., 2021. Gas chromatography mass spectrometry for characterisation, assessment of quality and authentication of seed and vegetable oils. *TrAC Trends in analytical chemistry*, 138, 116238.
- [2] Schaich, K.M., 2005. Lipid Oxidation: Theoretical Aspects. In: Shahidi F (ed) Bailey's industrial oil and fat products. 6rd edn. Wiley, New Jersey, pp 268-355.
- [3] Sosa, V., Moliné, T., Somoza, R., Paciucci, R., Kondoh, H., Leonart, M.E., 2013. Oxidative Stress, and Cancer: An Overview. *Journal of Ageing Research Reviews*, 12, 376-390.
- [4] Tavakoli, J. & Sorbi, N., 2018. Fortification of refined soybean oil by hull oil of Kolkhoung (Wild pistachio in Iran): Improving thermal stability during frying process. *International Journal of Food Properties*, 20, 2990-3003.
- [5] Sharayei, P., Farhoosh, R., Poorazarang, H., Haddad Khodaparast, M.H., 2011. Effect of Bene Kernel Oil on the Frying Stability of Canola Oil. *American Oil Chemists' Society*, 88, 648-654.
- [6] Sharayei, P., Farhoosh, R., Poorazarang, H., Haddad Khodaparast, M.H., 2011. Improvement of canola oil frying stability by Bene kernel oil's unsaponifiable matter. *American Oil Chemists' Society*, 88: 993-1000.
- [7] Tavakoli, J., Hamedani, F., Haddad Khodaparast, M.H., (2016). Investigating Chemical Properties and Oxidative Stability of Kernel Oil from *Pistacia khinjuk* Growing Wild in Iran. *American Oil Chemists' Society*, 93: 681-687.
- [8] Sharif, A., Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Tavassoli-Kafrani, M.H., 2009. Antioxidant activity of Bene hull oil compared with sesame and rice bran oils during the frying process of sunflower oil. *Food Lipids*, 16, 394-406.
- [9] Farhoosh, R., Haddad Khodaparast, M. H., Sharif, A., 2009. Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1259-1265.
- [10] Farhoosh, R., Tavassoli-Kafrani, M.H., Sharif, A., 2011. Antioxidant activity of sesame, rice bran and bene hull oils and their unsaponifiable matters. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 113, 506-512.
- [11] Tavakoli, J., Sedaghat, N., Mousavi Khaneghah, A., 2019. Effects of packaging and storage conditions on Iranian wild pistachio kernels and assessment of oxidative stability of edible extracted oil. *Food Processing and Preservation*, 43, 1-10.
- [12] Farhoosh, R., & Pazhouhanmehr, S., 2009. Relative contribution of compositional parameters to the primary and secondary oxidation of canola oil. *Food Chemistry*, 114(3), 1002-1006.
- [13] Tavakoli, J., Emadi, T., Hashemi, S. M. B., Mousavi Khaneghah, A., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Brnčić, M., Barba, F. J., 2018. Chemical properties and oxidative stability of Arjan (*Amygdalus reuteri*) kernel oil as emerging edible oil. *Food Research International*, 107, 378-384.
- [14] Roshanpour, S., Tavakoli, J., Beigmohammadi, F., Alaei, Sh., 2021. Improving antioxidant effect of phenolic extract of *Mentha piperita* using nanoencapsulation process. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 23-32.
- [15] Lozano, Y., Mayer, C. D., Bannon, C., Gaydou, E. M., 1993. Unsaponifiable matter, total sterol and tocopherol contents of avocado oil varieties.

- Journal of the American Oil Chemists' Society*, 70, 561–565.
- [16] Sfahlan, A. J., Mahmoodzadeh, A., Hasanzadeh, A., Heidari, R., Jamei, R., 2009. Antioxidants and antiradicals in almond hull and shell (*Amygdalus communis* L.) as a function of genotype. *Food Chemistry*, 115(2), 529-533.
- [17] Yim, H. S., Chye, F. Y., Koo, S. M., Matanjun, P., How, S. E., Ho, C. W., 2012. Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, *Pleurotus porrigens*. *Food & Bioproducts Processing*, 90: 235-242.
- [18] Tavakoli, J., Hajpour Soq, K. H., Yousefi, A. R., Estakhr, P., Dalvi, M., Mousavi Khaneghah, A., 2019. Antioxidant activity of *Pistacia atlantica* var *mutica* kernel oil and it's unsaponifiable matters. *Journal of Food Science & Technology*, 56: 5336–5345.
- [19] Gunstone, F. D., 2005. Vegetable Oils. In: Shahidi F (ed) Bailey's industrial oil and fat products. 6rd edn. Wiley, New Jersey, pp 1-55.
- [20] Liu, R., Liu, R., Shi, L., Zhang, Z., Zhang, T., Lu, M., Chang, M., Jin, X., Wang, X., 2019. Effect of refining process on physicochemical parameters, chemical compositions and in vitro antioxidant activities of rice bran oil. *LWT-Food Science and Technology*, 109, 26–32.
- [21] Tavakoli, J., Brewer, M.S., Zarei Jelyani, A., Estakhr, P., 2017. Oxidative stability of olive oil during the thermal process: Effect of Pistacia khinjuk fruit oil. *International Journal of Food Properties*, 20, 3256-3265.
- [22] Frankel, E.N. 2005. Lipid Oxidation (2ed). The Oily Press LTD
- [23] Tavakoli, J., Estakhr, P., Zarei Jelyani, A., 2017. Effect of unsaponifiable matter extracted from *Pistacia khinjuk* fruit oil on the oxidative stability of olive oil. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2980–2988.
- [24] Veronezi, C.M., Jorge, N., 2018. Effect of *Carica papaya* and *Cucumis melo* seed oils on the soybean oil stability. *Food Science and Biotechnology*. 27, 1031–1040.
- [25] Kowalski, B., Ratusz, K., Kowalska, D., Bekas, W., 2004. Determination of the oxidative stability of vegetable oils by differential scanning calorimetry and Rancimat measurements. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106, 165–169.
- [26] Shahidi, F. & Zhong, Y., 2005. Lipid Oxidation: Measurement Methods. In: Shahidi F (ed) Bailey's industrial oil and fat products. 6rd edn. Wiley, New Jersey, pp 370-373.

Table 1 Some chemical properties of Baneh skin oil and sunflower oil

parameter	Baneh skin oil	sunflower oil
Fatty acid composition		
14:0	-	0.08±0.05
16:0	21.25±0.2 a	8.6±0.09 b
16:1	12.2±0.13 a	0.32±0.04 b
18:0	3.79±0.06 b	4.59±0.03 a
18:1	51.8±0.3 a	27.8±0.21 b
18:2	8.71±0.2 b	54.4±0.25 a
18:3	1.3±0.03 b	2.75±0.06 a
20:1	0.46±0.02 a	0.42±0.03 a
22:0	0.39±0.02 b	0.84±0.03 a
Unsaponifiable matter content (%)	2.1±0.04 a	0.65±0.03 b
Total tocopherols content (mg/kg)	734±1 b	858±19 a
Total phenolics content (mg/kg)	86±1.4 a	33±2.1 b

Mean ± SD within a row with the same lowercase letters are not significantly different at P<0.05.

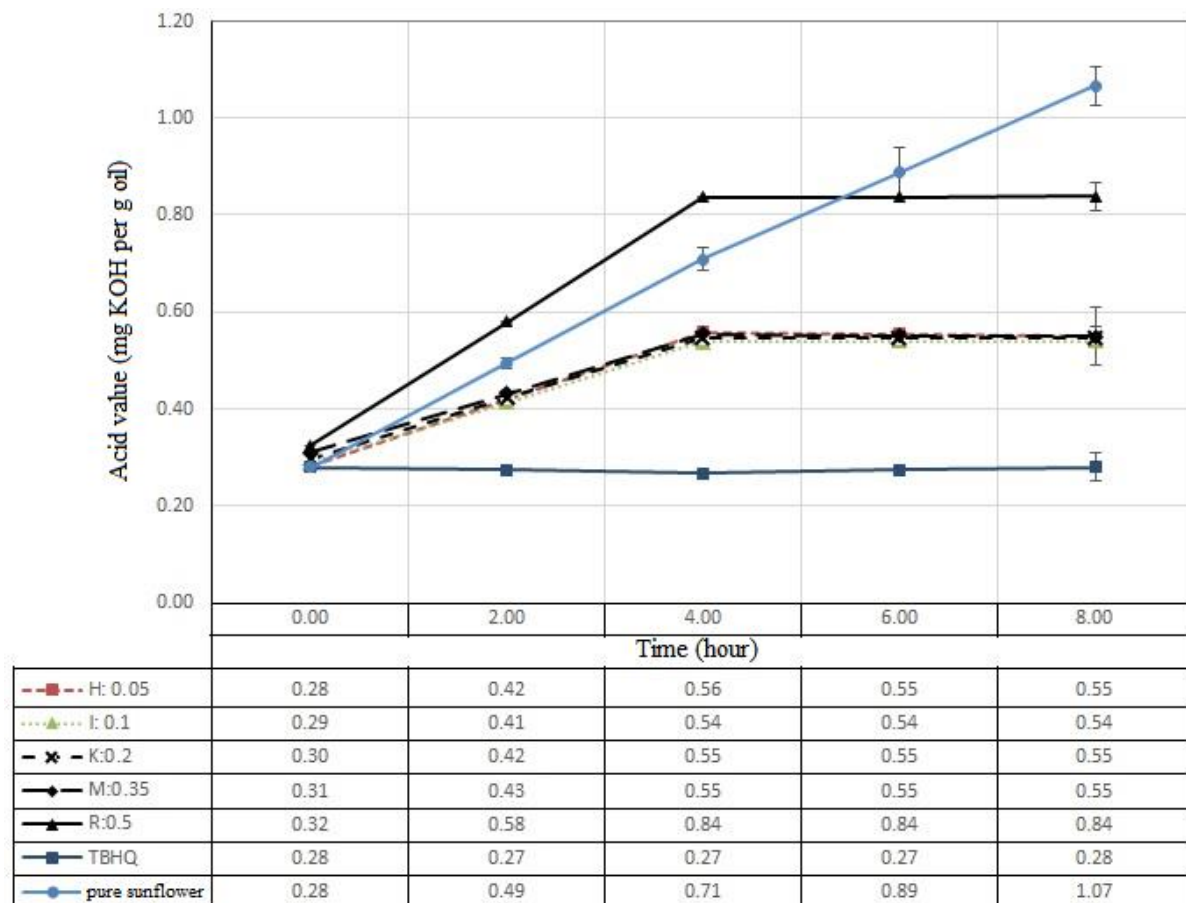


Figure 1- Changes in the acid value of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

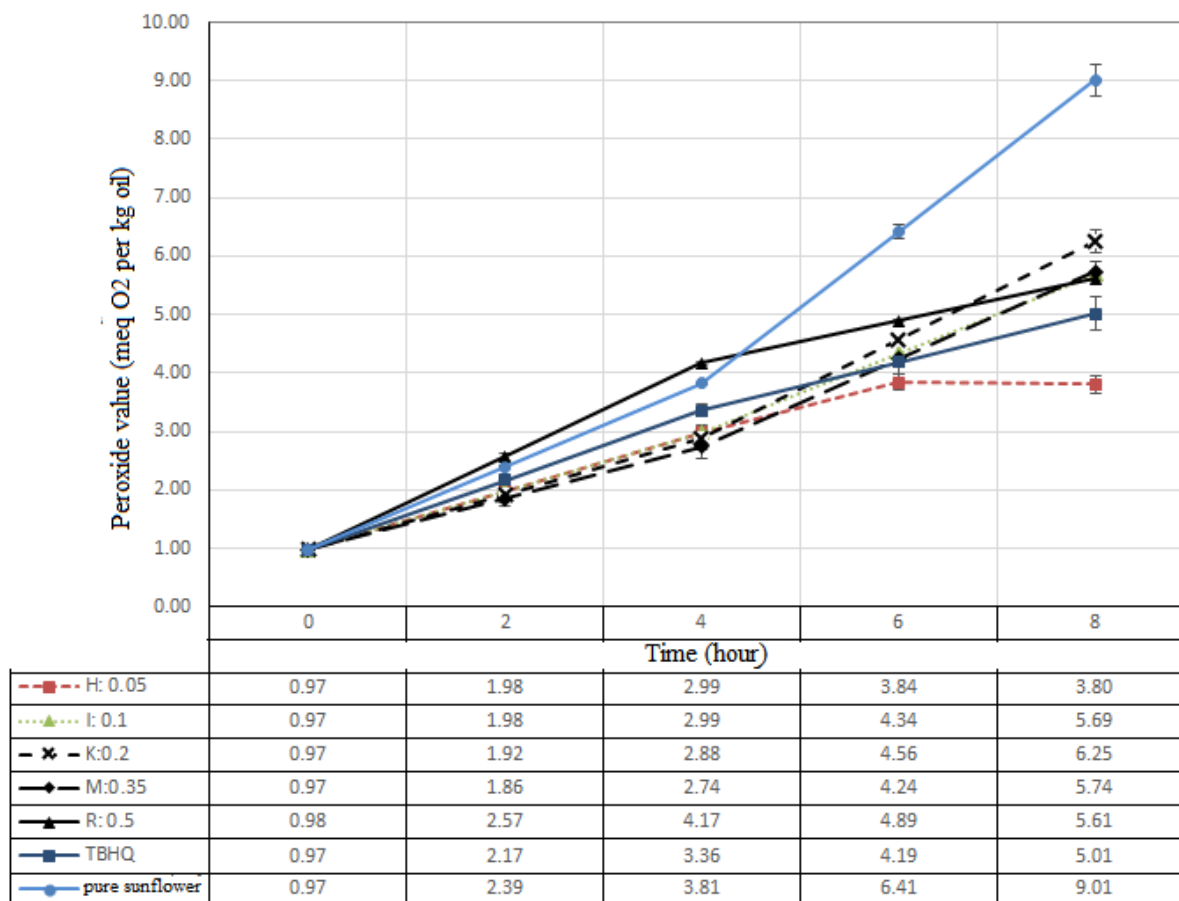


Figure 2- Changes in the peroxide value of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

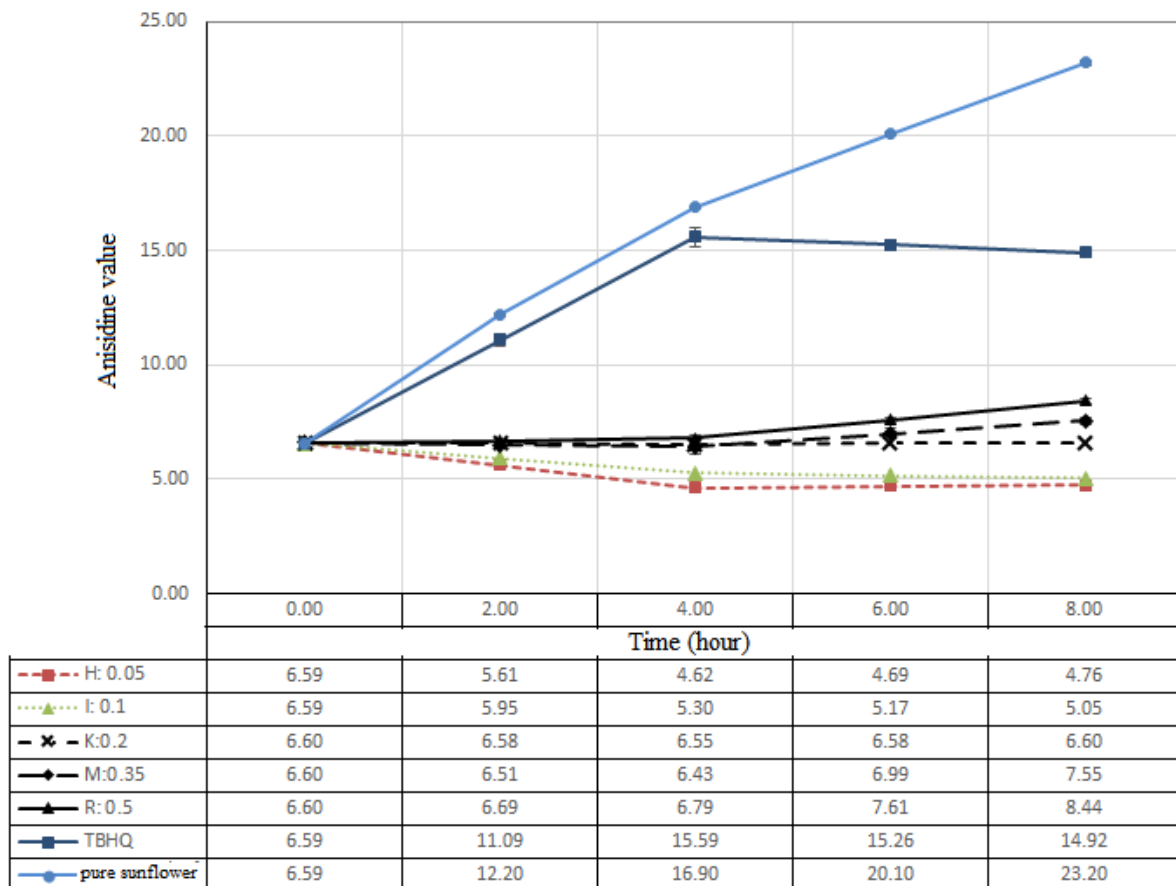


Figure 3- Changes in the anisidine value of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

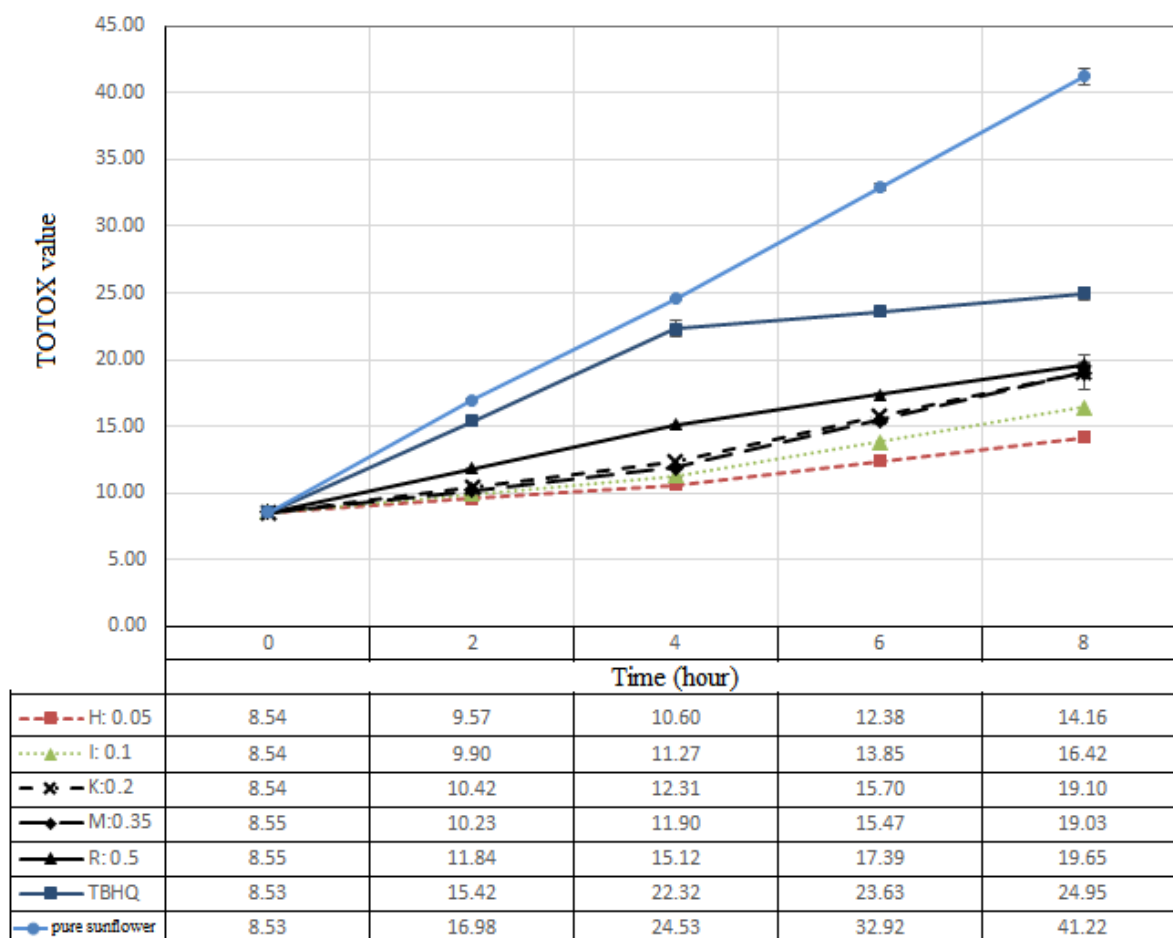


Figure 4- Changes in the TOTOX value of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

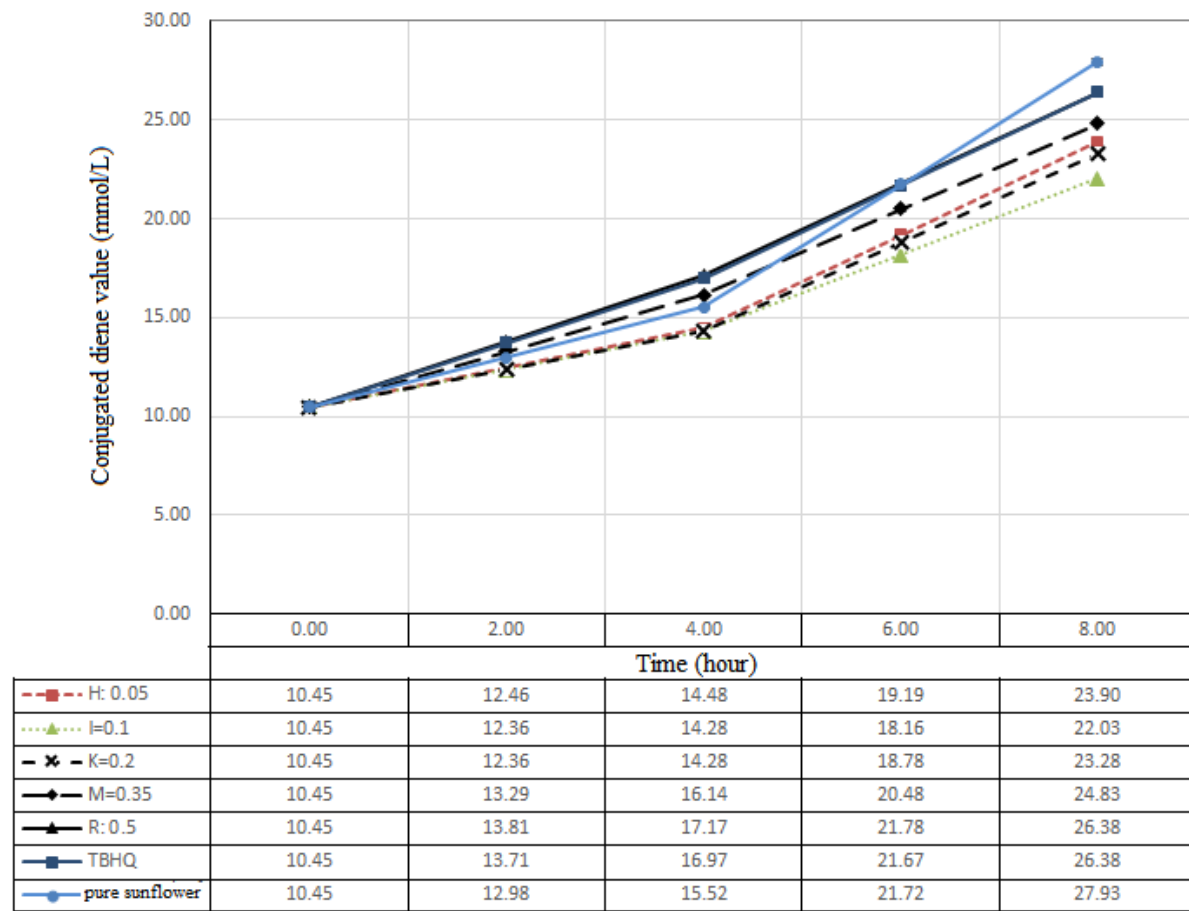


Figure 5- Changes in the conjugated diene value of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

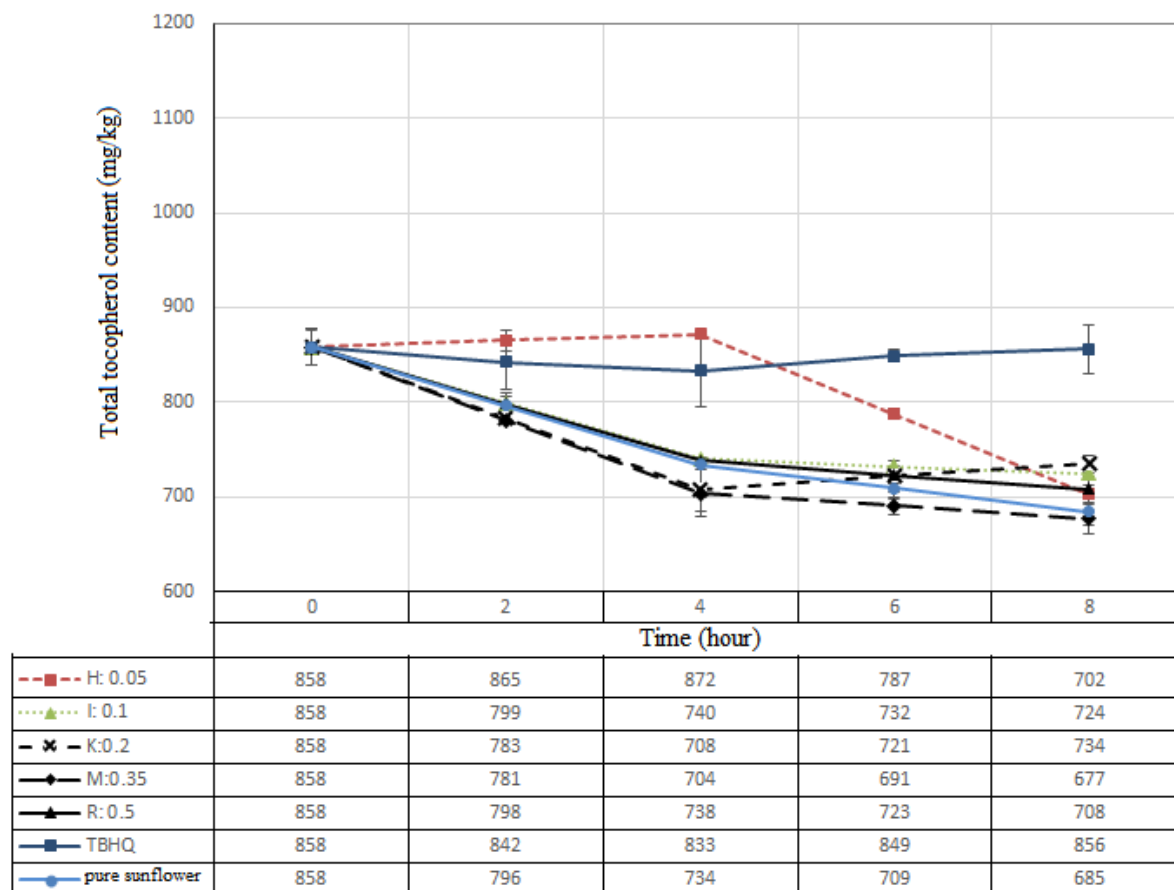


Figure 6- Changes in the Total tocopherols content of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

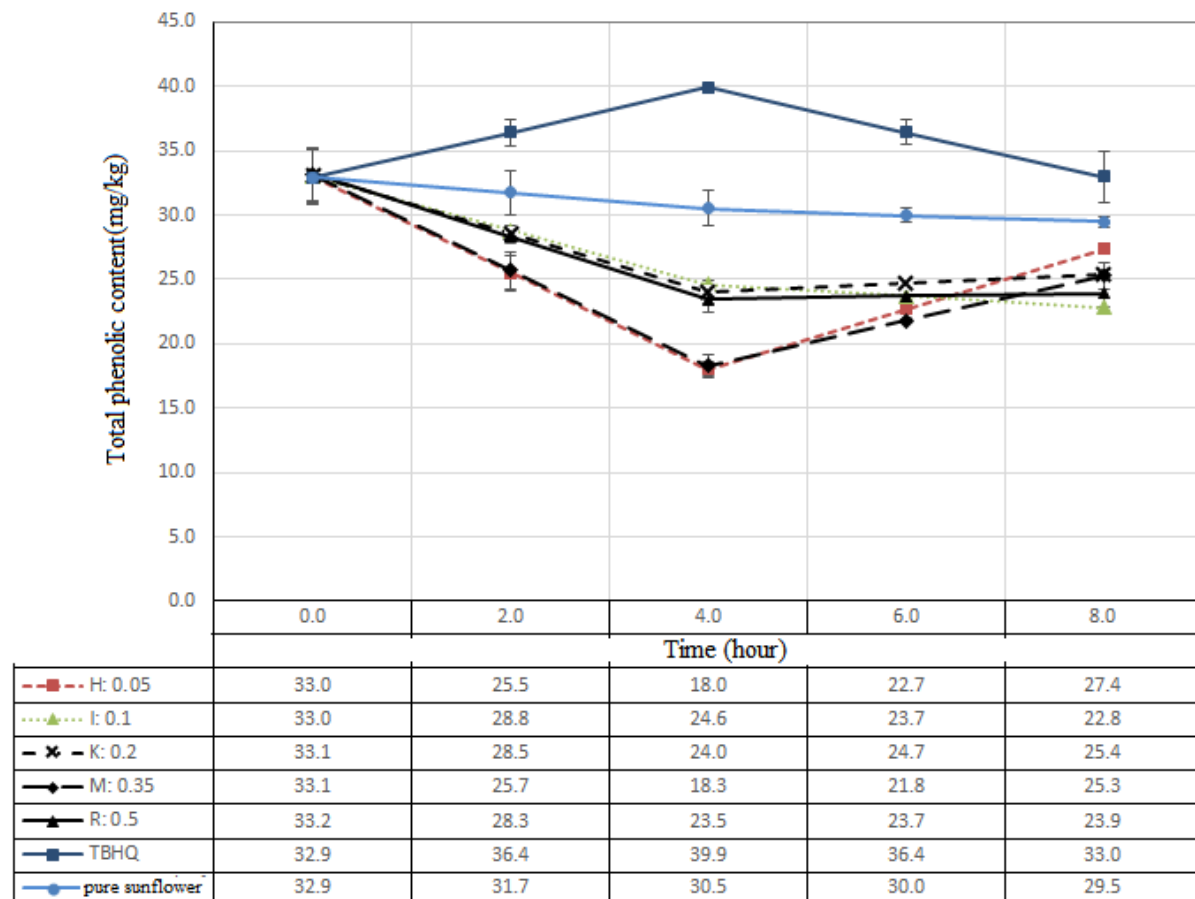


Figure 7- Changes in the Total phenolic content of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

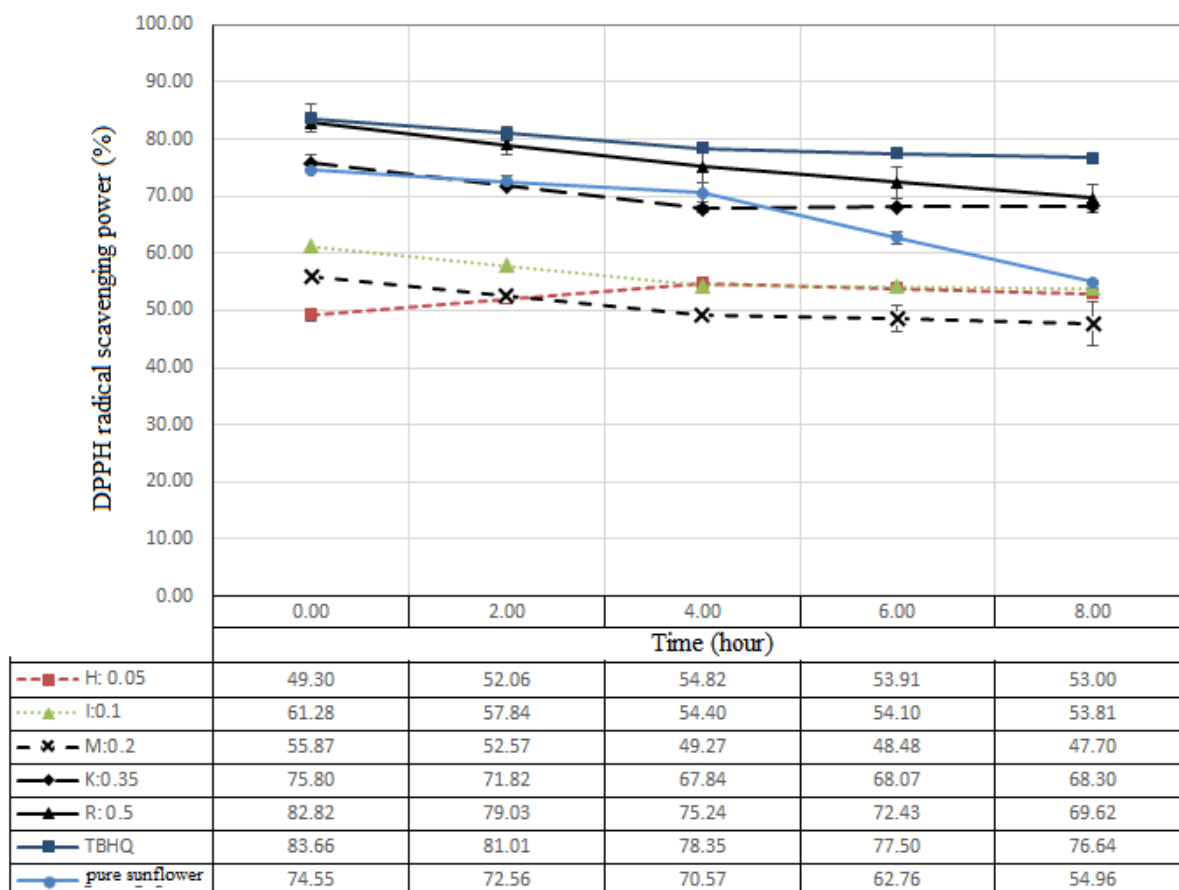


Figure 8- Changes in the DPPH radical scavenging power of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.

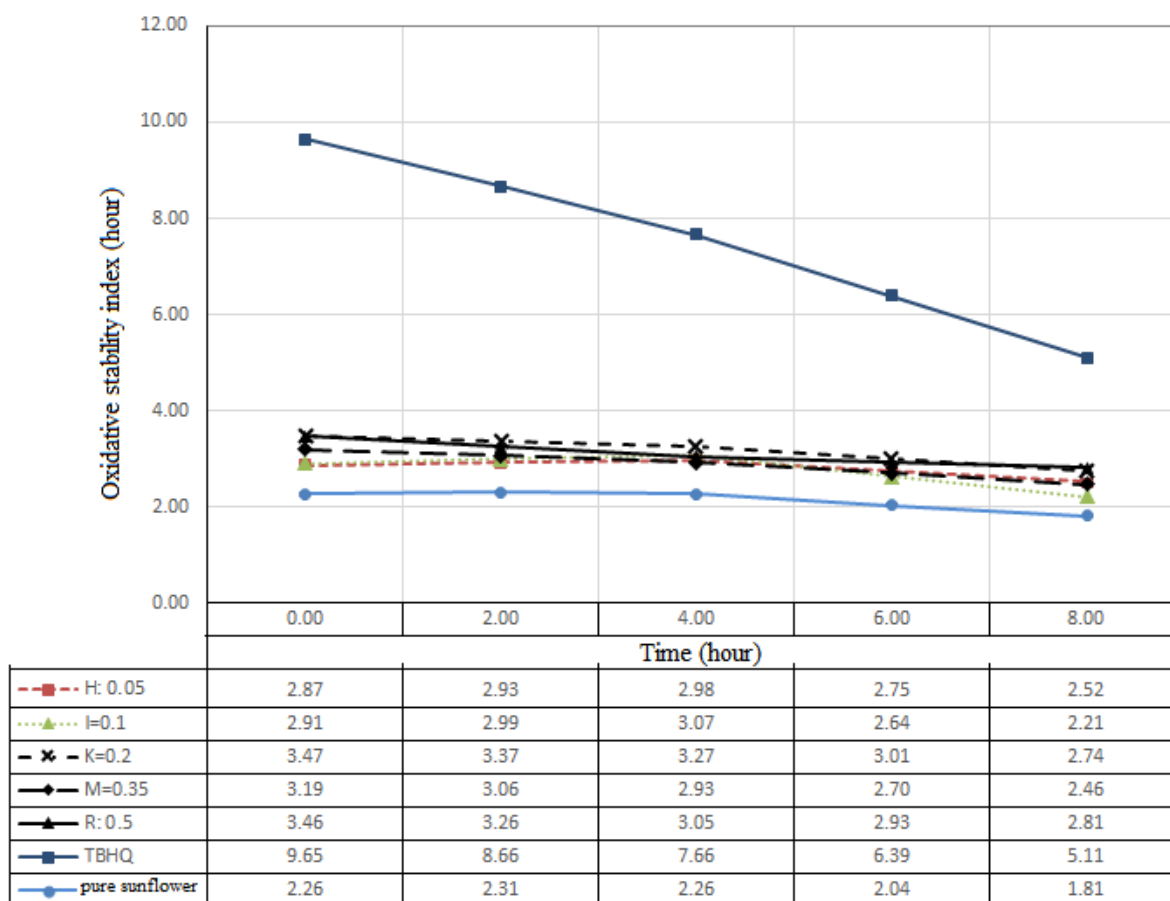


Figure 9- Changes in the oxidative stability index (measured with Rancimat device) of refined sunflower oil under the influence of different amounts of crude Baneh skin oil and 100 ppm of TBHQ during 8 hours of thermal processing at 170 °C. H: sample of sunflower oil containing 0.05% of crude Baneh skin oil; I: sunflower oil sample containing 0.1% of crude Baneh skin oil; K: sample of sunflower oil containing 0.2% of crude Baneh skin oil; M: sample of sunflower oil containing 0.35% of crude Baneh skin oil, R: sample of sunflower oil containing 0.5% of crude Baneh skin oil.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Improving the oxidative stability of sunflower oil by using the oil from the Baneh skin in very small amounts

Javad Tavakoli^{*1}, Negar Razmkhah¹, Masoomah Ranjbar²

¹ Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Fars, Iran.

² Food and Drug Laboratory, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2023/6/12 Accepted:2023/9/4 Keywords: Natural antioxidant, oxidation, edible oil, synthetic antioxidant, antioxidant activity DOI: 10.22034/FSCT.22.159.1. *Corresponding Author E- ja_tavakoli@yahoo.com javadtavakoli@jahromu.ac.ir	In the present study, the effect of different amounts of Baneh skin oil (0.05% to 0.5%) on the oxidative stability of refined sunflower oil during 8 hours of thermal process at 170 °C was investigated, which was 100 ppm of synthetic antioxidant TBHQ. used for comparison. Evaluating the results of various oxidative stability tests (peroxide value, anisidine value, totox value, Conjugated diene value and acid value) showed that the use of Baneh skin oil improved the oxidative stability of sunflower oil. The best conditions of oxidative stability were observed in sunflower oil containing 0.05% of Baneh skin oil, followed by the oil sample containing 0.1% of Baneh skin oil, both of which had a superior antioxidant effect than TBHQ. In order to better interpret the results of oxidative stability tests, the changes of tocopherol and polyphenolic compounds as two indicator antioxidant compounds were investigated during the thermal process. The results showed that there is no relationship between the changes of these compounds and oxidative stability tests. The sample containing TBHQ had the greatest protective effect on antioxidant compounds, which due to the creation of a peroxidative state caused by the increase of antioxidants, it decreased the oxidative stability of sunflower oil. Also, the investigation of changes in antioxidant activity during the thermal process with the help of two DPPH radical scavenging and Rancimet tests also showed that the sunflower oil sample containing 0.05% of Baneh skin oil had the best conditions, which was consistent with the results of oxidative stability tests. The results of the present research are very important because the oil of the Baneh skin oil was not pure at all compared to TBHQ.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

مروری بر کاربرد تکنولوژی‌های پیشرفته غیرحرارتی در صنایع غذایی

مرزا حسینی^۱، بیژن خورشیدپور^{۲*}

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۹

کلمات کلیدی:

بهبود کیفیت،

فراوری مواد غذایی،

فراصوت،

میکروکپسولاسیون،

روش های غیر حرارتی

صنعت فراوری مواد غذایی یکی از مهم ترین صنایع می باشد که امروزه با توجه به درخواست روز افزون مواد غذایی با کیفیت دچار تحولات بسیاری گشته است. توجه به حفظ مواد مغذی و عدم تغییر بافت و رنگ محصولات لزوم استفاده از فناوری هایی با دمای پائین تر را به خوبی مشخص می گرداند چرا که در فناوری های قدیمی تر معمولاً از دمای بالا استفاده می گردید. امروزه اثرات سلامت بخشی غذاها از جمله مهم ترین فاکتورهای مقبولیت یک فراورده می باشد که در فراوری های جدیدتر می توان با حرارت کمتر، باعث حفظ انواع ویتامین ها و کیفیت و رنگ محصول نهایی گشت. از جمله این فراوری ها می توان به فیلتراسیون غشایی، باکتریوسین ها، میکروکپسولاسیون، فراصوت، پخت اکستروژن و پرتودهی اشاره نمود. روش های فوق علاوه بر حفظ کیفیت و مواد مغذی محصول، مقرون به صرفه و سازگار با محیط زیست نیز می باشد که لزوم توجه بیشتر به آن ها برای حفظ سلامتی و در کنار مسائل اقتصادی و زیست محیطی را به خوبی آشکار می سازد. کپسوله نمودن مواد مغذی باعث حفظ مواد در شرایط محیطی و دستگاه گوارش نیز می گردد که باعث شده امروزه این روش بیشتر مورد توجه متخصصین قرار گیرد. در این مقاله به بررسی انواع روش های نوین فراوری در صنعت غذا پرداخته شده است.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.27.

* مسئول مکاتبات:

bijankhorshidpour@gmail.com

۱-مقدمه

امروزه در کشورهای توسعه یافته برای حفظ مواد مغذی، کاهش آسیب‌های زیست محیطی، کاهش و پیشگیری آلودگی و به حداقل رساندن ضایعات به دنبال روش‌های جایگزین فراوری رفته‌اند که با حداقل پردازش برای حفظ ظاهر تازه بتوان ایمنی محصول را حفظ کرد [۱،۲]. توسعه غذاهای کاربردی جدید نیازمند فناوری‌هایی است که بتوان مواد غذایی سلامت بخش و مغذی را حفظ کرده تا مواد غذایی سالمتری تولید نمود [۳]. روش‌های حرارتی که برای افزایش نگهداری مواد غذایی و نابودی میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و غیر فعال سازی آنزیم‌ها استفاده می‌شوند بسیار زمان‌بر هستند و انرژی بالایی مصرف می‌کنند که باعث افزایش هزینه تولید می‌گردد. همچنین استفاده از روش‌های حرارتی اثرات مضری مانند کاهش کیفیت محصول، از دست دادن خواص تغذیه‌ای مانند ویتامین‌ها، اکسیداسیون، تاثیر نامطلوب در خواص حسی و دنا توره شدن پروتئین را به همراه دارند که لزوم استفاده از روش‌های غیر حرارتی را که سازگار با محیط زیست نیز هستند را بیشتر می‌کند [۴]. استفاده از تکنیک‌های جدید نیاز به زمان، انرژی و آب کمتری دارند. از روش‌های غیر حرارتی می‌توان به فیلتراسیون غشایی، باکتریوسین‌ها، میکروکپسولاسیون، فراصوت، پخت اکستروژن و پرتو دهی را نام برد که باعث حفظ مواد مغذی و کاهش آسیب به محصول می‌گردند [۵،۶]. یکی از روش‌های نوین فیلتراسیون غشایی است که بیشتر در فراوری شیر، آبمیوه، آبجو و نوشابه کاربرد دارد. غشا از مواد طبیعی و مصنوعی ساخته شده و به عنوان یک مانع نفوذ پذیری انتخابی مواد را به دو بخش تحت فشار جدا می‌کند [۷]. از این روش در صنایع لبنی برای حذف باکتری‌ها و هاگ‌ها از شیر بدون چربی، جداسازی میسل‌های کازئین،

جداسازی و متلاشی شدن گلبول‌های چربی از شیر کامل، تغلیظ آب پنیر، تفکیک پروتئین‌های آب‌پنیر و نمک زدایی فرآورده‌های غشایی آب پنیر استفاده می‌شود. در صنعت آبجو سازی برای شفاف سازی، در صنعت قند برای تصفیه املاح معدنی کاربرد دارد [۸]. از آنجایی که مواد زیست فعال دارای خواص آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و درمانی هستند امروزه به حفظ و نگهداری این مواد در صنایع غذایی توجه ویژه می‌شود و می‌توان با میکروکپسوله کردن این ترکیبات از تخریب آن‌ها جلوگیری نمود این ترکیبات اثرات خود را بر کیفیت و پایداری محصولات غذایی می‌گذارند [۸]. در میکروکپسولاسیون با آزادسازی هدفمند باعث پایداری ترکیبات در طول فراوری، نگهداری و هضم می‌شوند. همچنین با حفظ ارزش غذایی محصول می‌تواند در حفظ طعم، عطر و بوی مواد موثر باشد. موادی که داخل پوشش قرار می‌گیرند را هسته یا فاز داخلی گویند و مواد پوشاننده را غشا یا پوسته می‌نامند که از موادی چون کربوهیدرات‌ها، صمغ‌ها، چربی‌ها و مواد پلیمری استفاده می‌شود. از میکروکپسولاسیون برای باکتری‌های پروبیوتیک و ترکیبات زیست فعال مانند ویتامین‌ها، آنزیم‌ها و ترکیبات فنلی استفاده قرار می‌گیرد [۱۰،۱۱]. همچنین از این روش برای پوشش دادن یا محصور کردن مواد دارای طعم نامطلوب، اسانس‌های روغنی، اسیدها، قلیاها و بافرها برای رها سازی هدفند در زمان مشخص برای محافظت آن‌ها از عوامل محیطی مانند اکسیژن، حرارت، عوامل بیولوژیکی و شیمیایی صورت می‌گیرد. به عبارت دیگر این روش بین مواد فعال زیستی و محیط سدی ایجاد می‌کند که باعث محافظت آن‌ها می‌شود [۱۲]. از دیگر فراوری‌های جدید که برای مواد غذایی آماده مانند تنقلات و پاستا کاربرد دارد می‌توان به اکسترون اشاره

کاربرد، مزایا و معایب و تاثیر آن‌ها بر کیفیت و حفظ ارزش غذایی پرداخته شده است.

۲- فیلتراسیون غشایی

فیلتراسیون غشایی در سال ۱۹۶۰ با کاربردهای وسیع به وجود آمد و از قدیمی‌ترین و شناخته شده‌ترین این روش‌ها می‌توان به نمک‌زدایی و تصفیه آب با اسمز معکوس اشاره نمود. فیلتراسیون غشایی روشی ملایم برای تفکیک و شفاف‌سازی است. در فیلتراسیون از غشا متخلخل آنیونی، کاتیونی و غیر یونی استفاده می‌شود که نسبت به اجرای مختلف یک سیال به صورت انتخابی عمل می‌کند. این جدا سازی به اندازه ملکول‌ها، نوع ماده غذایی و جنس غشا و فشار بستگی دارد [۲]. فیلتراسیون غشایی یک فناوری در حال تکامل است و بیشتر در فراوری شیر، آبمیوه و نوشابه کاربرد دارد. غشا از مواد طبیعی و مصنوعی ساخته شده و به عنوان یک مانع نفوذ پذیری انتخابی مواد را به دو بخش تحت فشار جدا می‌کند [۷]. فازها شامل، فاز جامد مانند جامدات معلق، جامدات آلی، جامدات معدنی فاز مایع مانند آب، اتانول، کلروفرم و فاز گاز مانند هوا، نیتروژن، اکسیژن هستند. فرایندهای غشایی به پنج دسته تقسیم می‌شوند که شامل ۱. میکروفیلتراسیون (MF) ^۱ که فرایند فیلتراسیون تحت فشار برای جداسازی جامدات معلق به ذرات بین ۰/۰۸ تا ۱۰ میلی متر و فشار هیدرولیک اعمال شده در این روش ۱-۲ بار یا ۲۰-۱۵ است. بیشترین کاربرد این روش برای جدا سازی جامدات از آب و اندازه جامدات است ۲. اولترافیلتراسیون (UF) ^۲ که برای جدا سازی جامدات ماکرومولکولی تحت فشار است که اندازه ذرات ۰/۰۱ تا ۰/۱ میلی متر و فشار حدود ۱-۷ بار است ۳.

نمود. در این روش با اعمال عملیات‌های مختلفی مانند مخلوط کردن، پخت، ورز دادن، برش، قالب گیری و شکل دهی محصولات متنوعی تولید می‌گردد. این روش به دلیل حفظ درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌ها، ترکیبات فعال زیستی که باعث بهبود خواص تغذیه‌ای و عملکردی محصول نهایی می‌گردد محبوبیت پیدا کرده است. این روش با استفاده از دمای بالا و در زمان کوتاه محصولات کشاورزی را که به صورت دانه‌ای یا پودری هستند را به محصولات غذایی کاملاً پخته تبدیل می‌کند و با بیرون راندن آن از انتهای دستگاه به اشکال مختلفی تبدیل می‌کند [۱۳]. روش دیگر مورد استفاده در صنایع غذایی که توسط پرتوهای یونیزه برای بهبود ایمنی، سالم سازی و افزایش نگهداری مورد استفاده است پرتودهی نام دارد. در این روش مواد غذایی در معرض مقدار دقیقی از انرژی تابشی قرار می‌گیرند. این پرتوها کاربرد گسترده‌ای دارند که می‌توان به توانایی شکستن پیوندهای شیمیایی، از بین بردن باکتری‌های مضر و میکروارگانیسم‌های موجود در غذاهای دریایی، مرغ و گوشت، ضد عفونی کردن ادویه‌ها، افزایش ماندگاری میوه و سبزیجات تازه و جلوگیری از جوانه زنی پیاز و سیب‌زمینی اشاره نمود [۱۴]. سازمان بهداشت جهانی (WHO) نیز پرتودهی را روشی بی‌خطر و مناسب برای بهبود ایمنی، حفظ کیفیت و ماندگاری محصولات غذایی عنوان نموده است. این روش به عنوان روشی جایگزین برای افزایش ماندگاری، سازگار با محیط زیست، آسان و مناسب برای صرفه جویی در انرژی است [۱۵، ۱۶، ۱۷]. در این مقاله به بررسی پیشرفت‌های اخیر در خصوص روش‌های نوین فراوری، نوع مکانیسم عمل،

انرژی می‌شود [۷]. شفاف سازی نوشیدنی‌های گازدار با روش MF و UF، تغلیظ برای کنسانتره آب میوه با روش RO و اسید زدایی برای کاهش اسیدیته آب میوه با روش ED انجام می‌شود. رسوب‌ها شامل پنج نوع پوسته پوسته شدن غشا، رسوب اکسیدهای فلزی، رسوب کلوئیدی، رسوب بیولوژیکی و رسوب عامل تمیز کننده هستند. از مهمترین کاربردهای فیلتراسیون غشایی می‌توان به تولید محصولات لبنی مانند تولید خامه پر چرب و شیر بدون چربی با استفاده از روش MF، تولید پنیر با روش UF، تولید شیر خشک و شیر فله، پاستوریزاسیون، هموژنیزاسیون، آب‌نبات، آبمیوه، نوشابه و جدا سازی املاح از آب اشاره نمود. در صنعت لبنیات برای حذف کردن باکتری، شکسته شدن چربی شیر و جداسازی کازئین میسلی شیر بدون چربی و پروتئین‌های حامل از میکروفیلتراسیون استفاده می‌شود [۲،۷].

۳- باکتریوسین‌ها^۶

باکتریوسین‌ها پپتیدهایی هستند که به صورت ریبوزومی سنتز می‌شوند و از رشد باکتری‌های عامل فساد در غذا جلوگیری می‌کنند و روشی مناسب برای افزایش ماندگاری مواد غذایی است [۱]. باکتریوسین‌ها ترکیبات ضد میکروبی هستند که توسط گونه‌های مختلف باکتریایی به ویژه باکتری‌های اسید لاکتیک به صورت ریبوزومی سنتز می‌شوند [۱۸]. برخی از باکتری‌های گرم مثبت و منفی در زمان رشد خود موادی با ساختار پروتئینی و دارای فعالیت ضد میکروبی به نام باکتریوسین تولید می‌کنند که به عنوان نگهدارنده طبیعی در صنایع غذایی کاربرد دارند. علیرغم تصور بر آنتی بیوتیک بودن باکتریوسین‌ها به علت فعالیت و تاثیر بر سویه‌های

نانوفیلتراسیون (NF)^۳ که غشاها در این گروه کامپوزیت‌های لایه پلیمری هستند که از گروه‌های شیمیایی با بار منفی تشکیل شده و برای حفظ جامدات ملکولی مانند شکر و نمک‌های چند ظرفیتی مانند سولفات منیزیم استفاده می‌شود که اندازه جامدات بین ۰/۰۰۰۵ تا ۰/۰۰۷ میلی متر هستند ۴. اسمز معکوس (RO)^۴ این غشاها عمدتاً از استات سلولز و با اندازه منافذ ۵ تا ۲۰ واحد آنگستروم ساخته شده‌اند و برای دفع نمک‌ها و مواد آلی استفاده می‌شود که اندازه ذرات بین ۰/۰۰۰۲۵ تا ۰/۰۰۳ میلی متر هستند ۵. الکترودیالیز (ED)^۵ که از ولتاژ یا جریان به عنوان نیروی محرکه برای جداسازی املاح یونی استفاده می‌کند و اندازه املاح بین ۰/۰۰۰۲۵ تا ۰/۰۸ میلی متر است [۲]. تقاضای مصرف کنندگان برای نوشیدنی‌های سالم و با کیفیت مانند آب میوه و سبزیجات به دلیل وجود ترکیباتی چون کربوهیدرات، ویتامین‌ها و مواد معدنی رو به افزایش است و باعث گشته تولید کنندگان به دنبال روش‌های جایگزین برای حفظ ارزش غذایی و کیفیت حسی آن‌ها باشند. روش‌های فراوری حرارتی باعث کاهش کیفیت، از دست دادن عطر، قهوه‌ای شدن غیر آنزیمی، کاهش پلی فنل‌ها و اسید اسکوربیک است. استفاده از روش‌های جایگزین غیر حرارتی مانند فیلتراسیون غشایی برای حفظ ویژگی غذایی و حسی، شفاف سازی و نگهداری آبمیوه مورد بسیار پر کاربرد است. یکی از مشکلات عمده در فیلتراسیون آبمیوه رسوب غشایی است که رسوب تشکیل شده توسط اجزای آبمیوه روی منافذ غشا جمع می‌شود و فشار نفوذی را کاهش و باعث کاهش راندمان می‌شود. رسوب باعث کاهش طول عمر غشا، کاهش کیفیت آبمیوه، افزایش زمان و

5- Electrodialysis

6 -Bacteriocins

3-Nanofiltration

4- Reverse osmosis

نزدیک به خود و به علت سنتز و تولید به صورت ریبوزومی نمی‌توان آن‌ها را در زمره آنتی‌بیوتیک‌ها دانست. باکتریوسین‌ها وزن ملکولی پایینی دارند که به ندرت به بیش از ۱۰ کیلو دالتون می‌رسند و به راحتی توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک تجزیه می‌شوند. به علت داشتن مقدار زیادی باقی‌مانده لیزین و آرژنیل جزء ملکول‌های کاتیونی و آمفی پاتیک هستند. آن‌ها در ترکیب با محلول‌های آبی بدون ساختار هستند اما با قرار گیری در مجاورت حلال‌هایی مانند تریوفلورواتانول که ساختار را تقویت می‌کنند، ساختار مارپیچی تشکیل می‌دهند [۱۹]. تولید باکتریوسین‌ها آسان است و عموماً بی‌خطر هستند [۲۰]. از روش‌های جدا سازی آن می‌توان به کروماتوگرافی و جدا سازی دو فاز آبی^۷ (ATPS) اشاره نمود [۲۱]. بیشتر باکتریوسین‌های اسید لاکتیک دارای پپتیدهای کاتیونی کوچک، مقاوم در برابر حرارت، نفوذ پذیر غشایی و در pH پائین‌تر فعالیت ضد باکتری بیشتری دارند. بعضی از باکتریوسین‌ها ویژگی جذب کمی دارند اما دیواره سلولی باکتری گرم مثبت اجازه عبور ملکول‌های نسبتاً بزرگ را می‌دهد. باکتریوسین‌ها به سه گروه تقسیم می‌شوند که شامل لانتی‌بیوتیک‌ها، باکتریوسین‌های کوچک مقاوم به حرارت و باکتریوسین‌های بزرگ و حساس به حرارت هستند که لانتی‌بیوتیک‌ها دسته‌ای از مواد پپتیدی که حاوی اسید آمینه چند حلقه‌ای تیواتر لانتیونین با متیل لانتیونین و اسیدهای آمینه غیر اشباع دهیدروآلانین و اسید^۲ آمینو ایزوبوتیریک هستند. لانتی‌بیوتیک بر اساس شباهت ساختاری دو نوع هستند که A از ملکول‌های نسبتاً کشیده تشکیل شده و پیچدار، با بار مثبت، آمفی پاتیک، انعطاف پذیر و با جرم ملکولی ۲ تا ۴ کیلو دالتون است که از طریق

تشکیل منافذ و غشا عمل می‌کنند. نوع B دارای ساختار کروی و با واکنش‌های آنزیمی سلولی تداخل دارند. جرم ملکولی آن‌ها ۲ تا ۳ کیلو دالتون است و با بار منفی خالص یا فاقد بار خالص است [۱۲، ۱۸، ۱۹]. از معایب این روش می‌توان به هزینه جداسازی و خالص سازی بالا، فعالیت محدود، قابل تجزیه با آنزیم و پایداری و حلالیت کم اشاره نمود. از مهمترین آن‌ها می‌توان به ناپسین و پدیوسین اشاره نمود [۱].

۴- میکروکپسولاسیون^۸

میکرو کپسولاسیون یکی از تکنیک‌های حفظ کیفیت مواد حساس و روشی مناسب برای تولید موادی با حفظ خواص مغذی و ارزش‌های آن است [۲۲]. امروزه از این روش پردازش بسیار استفاده می‌شود و به ماده فعالی که کپسوله می‌شود هسته یا فاز داخلی و مواد پوشاننده را پوسته یا غشا می‌گویند که برای حفاظت از ترکیبات حساس و اطمینان از تحویل ایمن آن‌ها استفاده می‌شود [۲۳]. میکروکپسولاسیون یک روش موثر برای ترکیب زیست فعال حساس و حفظ آن‌ها در کپسول‌های کوچک برای افزایش پایداری و حفظ خواص مورفولوژیکی است [۲۴]. از این روش برای بهبود انتقال ترکیبات زیست فعال، حفاظت و کنترل رها سازی ترکیبات غذایی استفاده می‌شود. همچنین برای انتقال بهتر ترکیباتی مانند ویتامین‌ها، اسیدهای چرب، آنتی‌اکسیدان‌ها، فیبرها، غذا داروها، باکتری‌های پروبیوتیک، طعم دهنده‌ها، رنگ‌ها، آنزیم‌ها، مواد مغذی و مواد معدنی موجود در ماده غذایی استفاده می‌شود که عموماً در برابر دما، اسید معده، pH و نور حساس می‌باشند که با این روش می‌توان از آن‌ها

محافظت نمود [۲۵،۲۶،۲۷]. از متداولترین روش‌های بهبود ارزش غذایی افزودن مواد فعالی مانند باکتری‌های پروبیوتیک، ویتامین B، اسید لینولئیک و پروتئین‌ها است که در مواجهه با گرما، اسید، اکسیژن و نور بی ثبات هستند که با میکروکپسولاسیون می‌توان از آن‌ها محافظت نمود [۲۸]. این روش کاربردهای فراوانی در صنایع غذایی و بیوتکنولوژی دارد که توسط آن می‌توان ذرات و قطرات جامد، مایع و گاز را در غشایی به دام انداخت و با سرعت کنترل شده و در زمان مشخص رها کرد [۲۹،۳۰]. ویتامین‌های محلول در آب و محلول در چربی را می‌توان با استفاده از فناوری‌های مختلف کپسوله کرد. از مهم‌ترین علل کپسوله کردن ویتامین‌ها افزایش عمر مفید و محافظت در مقابل اکسیداسیون است [۳۱]. از این روش برای توسعه محصولات غذایی کاربردی، کاهش میزان چربی و بهبود خواص حسی در مواد غذایی مختلفی مانند گوشت، لبنیات، آبمیوه و غلات استفاده می‌شود [۲۶]. این روش برای به حداقل رساندن تلفات مواد حساس و موادی که پایداری کمی نسبت به تخریب، حرارت، انتشار یا نشت مواد هسته دارند، مناسب است. در محصولات لبنی که مستعد اکسیداسیون هستند ریزپوشانی می‌تواند موثر باشد یا برای پوشاندن طعم نامطلوب و عطر برخی از ترکیبات قبل از ترکیب آنها در هر غذایی استفاده می‌شود [۳۲]. موادی که قرار است کپسوله شوند جامد یا مایع بوده و شامل موادی مانند دارو یا ماده فعال افزودنی مانند رقیق کننده و تثبیت کننده است و مواد پوشش دهنده ماده‌ای بی اثر است که روی هسته را با ضخامت مورد نظر و سازگار با مواد اصلی می‌پوشاند که می‌تواند انعطاف پذیر، شکننده، سخت و یا نازک باشد [۳۳]. مواد پوشش در ریزپوشانی باید به گونه ای باشد که بتواند یک لایه منسجم بر روی هسته ایجاد کند و

به آن انسجام دهد. همچنین باید غیر قابل نفوذ، واکنشی با هسته نداشته باشد، طعم خاصی ایجاد نکند و قابلیت آزاد سازی هسته در یک نقطه خاص و زمان خاص را داشته باشد که باعث محافظت مواد هسته شوند [۲۲،۳۵]. استفاده از نانوکپسول‌ها منجر به بهبود ویژگی حسی و شفافیت بیشتر می‌شود و در صنعت نوشیدنی بسیار کاربرد دارد [۳۴]. مواد تشکیل دهنده دیواره می‌تواند ۱. موم‌ها و لیپیدها که شامل موم زنبور عسل، موم‌های کندلیله، کارنوبا، دی‌استئارات گلیسرول، فسفولیپیدها، اسید استئاریک ۲. پروتئین‌ها که شامل ژلاتین، پروتئین آب پنیر، زئین، پروتئین سویا، گلوتن، آلبومین ۳. کربوهیدرات‌ها که انواع نشاسته، مالتودکستترین، کیتوزان، ساکارز، گلوکز، اتیل سلولز، استات سلولز، کربوکسی متیل سلولز، متی سلولز، انواع آلژینات، کاراگینان یا ۴. پلیمرها که شامل پلی‌پروپیلن، پلی‌وینیل استات، پلی‌استایرن، پلی‌بوتادین باشد [۳۳]. از مهمترین فواید ریزپوشانی می‌توان به تثبیت آنزیم‌ها و میکروارگانیسم‌ها، محافظت در برابر اشعه ماورا بنفش، حرارت، اکسیداسیون، اسیدها، بازها، بهبود ماندگاری به دلیل پیشگیری واکنش‌های تخریبی، پوشش طعم و بو، بهبود پردازش، کاهش هدر دادن مواد تشکیل دهنده، استفاده از مایعات به صورت جامد، کاهش واکنش هسته در ارتباط با عوامل محیطی (نور، اکسیژن و آب)، افزایش تقاضا برای غذاهای مغذی، افزایش بازاریابی با بهبود جنبه بصری و توانایی مخلوط کردن ترکیبات ناهنجار اشاره نمود [۳۳،۳۵]. ذرات میکروکپسول‌ها بسته به خواص فیزیکی و شیمیایی هسته، ترکیبات دیواره و روش کپسولاسیون مورد استفاده می‌توانند به شکل کره ساده، کره با پوشش با ضخامت یکنواخت، هسته با شکل بی قاعده، کپسول‌های چند دیواره‌ای و چندین هسته با کپسول یکسان باشند [۲۳]. برای تشکیل کپسول‌ها از تکنیک‌های مختلفی

استفاده می‌شود که می‌توان به خشک کردن با اسپری، سرمایش اسپری یا خنک کننده اسپری، اکستروژن پوشش، پوشش بستر سیال، به دام افتادن لیپوزوم و اکستروژن اشاره نمود [۱۰]. از مورد استفاده ترین روش می‌توان به خشک‌کن پاششی اشاره نمود که به دلیل هزینه پایین در میکروکپسوله کردن مواد غذایی و تولید میکروکپسول‌های کارآمد و باکیفیت، یکی از رایج‌ترین و قدیمی‌ترین روش‌ها است. این روش مبتنی بر کاهش فعالیت آب، کاهش رشد میکروبی محصول، افزایش کیفیت محصول، کاهش هزینه ذخیره سازی و حمل و نقل و باعث محافظت از محصول می‌شود. از مزایای این روش می‌توان به مقرون به صرفه بودن، استفاده برای عوامل کپسوله کننده مختلف، انعطاف پذیری و قابلیت استفاده از آن برای مواد غذایی مختلف را اشاره نمود [۲۳].

از معایب این روش می‌توان به تخریب بعضی مواد به دلیل پایداری حرارتی، عدم کنترل اندازه ذرات و نیازمند بودن این روش به فرایندهای جانبی مانند توده‌ای کردن اشاره کرد [۳۶]. این روش به دلیل تولید بالا و هزینه عملیاتی پایینی که دارد در صنایع مختلفی مانند صنایع غذایی، دارویی و شیمیایی به طور گسترده کاربرد دارد. این روش برای کپسوله کردن عطر، رنگ، روغن‌ها، ملکول‌های غذایی فعال و پروبیوتیک‌ها بسیار کاربرد دارد. در سال‌های اخیر مصرف کنندگان به غذاهای طبیعی روی آورده‌اند. استفاده از رنگدانه‌های طبیعی به دلیل اینکه رنگ یکی از محبوب‌ترین شاخص‌های کیفیت و مقبولیت مواد غذایی است و مصرف کننده با مشاهده و ارزیابی محصول آن را خریداری می‌کند بسیار مورد توجه است. کاروتنوئیدها رنگ‌های زرد، نارنجی و قرمز هستند که در میوه، سبزی، قارچ و جلبک یافت می‌شوند و دارای عملکرد سلامتی بسیاری هستند. کاروتنوئیدها ناپایدارند و مقاومت کمی نسبت به گرما، نور

و pH دارند از این رو نیاز به محافظت دارند که می‌توان با میکروکپسوله کردن به روش خشک‌کن پاششی از آن محافظت نمود [۳۷]. در این روش مواد هسته و دیواره متمایز می‌شوند و در داخل محفظه با هوای داغ به غبار تبدیل می‌شوند [۲۳]. در روش خشک‌کن پاششی در یک محفظه گرم ذرات هسته در محلول پلیمری پراکنده می‌شوند و انحلال اولیه و امولسیون سازی پراکنده ترکیب هسته در محلول‌های مواد حامل صورت می‌گیرد که در یک محفظه داغ اسپری می‌شوند سپس با تبخیر حلال و پوشش مواد دیواره اطراف هسته منجر به تشکیل میکروکپسول‌هایی از نوع چند هسته‌ای یا ماتریس می‌شود. بنابراین این تکنیک شامل متمایز کردن یک امولسیون که حامل هسته و بازیابی میکروکپسول‌های خشک شده است می‌باشد [۹]. از تکنیک‌های مورد استفاده دیگر برای کپسولاسیون می‌توان به امولسیون سازی اشاره نمود که در این روش یک فاز ناپیوسته به فاز پیوسته اضافه می‌شود. برای ایجاد امولسیون آب در روغن همگن سازی به کمک یک سورفاکتانت انجام می‌گردد و دانه‌های ژل نامحلول تشکیل شده در فاز روغن، توسط فیلتراسیون یا سانتریفیوژ از محلول مایع جدا می‌شوند [۳۶ و ۳۸]. همانطور که گفته شد یکی از کاربردهای میکروکپسولاسیون برای محافظت از پروبیوتیک‌هاست که میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که با مصرف کافی آن‌ها می‌توان در درمان اختلالات عملکرد روده مانند عدم تحمل لاکتوز، یبوست و پیشگیری از سرطان قدم بزرگی برداشت [۳۹، ۴۰]. همچنین پروبیوتیک می‌تواند به عنوان آنتی‌بیوتیک عمل کنند و در کنترل عفونت‌ها، جلوگیری از اختلالات آلرژیک، بیماری‌های التهابی و تنفسی را درمان کند [۴۱]. از مهمترین میکروارگانیسم‌های پروبیوتیکی می‌توان به باکتری‌های اسید

آلژینات سدیم و صمغ عربی در مربای گل رز و نگهداری آن در مدت زمان ۹۰ روز پرداختند. نتایج نشان داد در شرایط شبیه سازی شده گوارشی بقای باکتری‌های پروبیوتیک افزایش داشت و در تمامی نمونه‌های حاوی کپسول، تعداد باکتری‌ها بیشتر از حد مجاز (10^6 CFU/g) مشاهده شد [۴۶].

۵-فراصوت^{۱۰}

از روش‌های دیگر پایدار نوظهور که سرعت فرایند و کارایی را افزایش می‌دهد و باعث حفظ کیفیت و ایمنی محصول می‌شود فراصوت است. این فناوری پایدار، سریع، غیر حرارتی، کم هزینه و غیر مخرب، با حفظ کیفیت، حفظ مواد فرار، افزایش ماندگاری، بهبود کیفیت حسی و ظاهری است و مزایای بسیاری برای تولید کننده و مصرف کننده دارد [۴۹، ۵۰، ۴۸، ۴۷، ۱۱]. به امواجی که بیش از محدوده‌ی قابل شنیدن در انسان باشد را اولتراسوند یا فراصوت گویند که شامل اموج بیشتر از ۲۰ کیلوهرتز می‌شوند. برای کارایی بیشتر می‌توان این امواج را با دما (صوت حرارتی) و یا با فشار (مانوسونیکسیون) ترکیب کرد. این اموج بر اساس شدت و فرکانس به دو دسته اولتراسوند با شدت پائین و با شدت بالا تقسیم می‌شوند. امواج با شدت کم یا فرکانس بالا به امواجی با فرکانس ۱۰۰ کیلوهرتز و شدت کمتر از 1 W/cm^2 است [۵۱]. از این روش می‌توان در فرایندهای تخمیر، امولسیون سازی، استخراج، سینتیک واکنش‌ها و امولسیون سازی استفاده کرد. استخراج با اولتراسوند بر اساس اصل کاویتاسیون و با آسیب به دیواره سلولی گیاه و

لاکتیک (LAB)^۹ اشاره نمود که محصول نهایی تخمیر قند است و میله‌ای شکل، گرم مثبت، غیر اسپور ساز، فاقد سیتوکروم، غیر هوازی و مقاوم به هوا و تخمیر کننده هستند. از مهمترین آن‌ها می‌توان به لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس آمیلوروس، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس دلبروکی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس کریسپاتوس اشاره نمود. از دیگر میکروارگانیسم‌های رایج پروبیوتیک می‌توان به بیفیدوباکتری‌ها اشاره نمود که گرم مثبت، میله‌ای شکل و بی‌هوازی هستند [۴۲]. میکروکپسولاسیون یک فناوری مهم و جدید برای حفظ زنده‌مانی در طول ذخیره سازی، مصرف مواد غذایی و برای توسعه حامل‌های جدید مواد غذایی است و پتانسیل آن برای محافظت از پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش اثبات شده است [۴۳]. به دلیل حساسیت پروبیوتیک‌ها به pH، اکسیژن، دما و عوامل فیزیکی، برای زنده ماندن و بهبود عملکرد می‌توان از روش‌هایی مانند میکروکپسولاسیون و نانوذرات استفاده نمود تا بتوانند از آن‌ها در مقابل شرایط سخت دستگاه گوارش و مدت زمان نگهداری محصول محافظت نمود و از آسیب به پروبیوتیک جلوگیری نمود [۴۴، ۴۵]. در پژوهشی که افشاری و همکاران (۱۴۰۲) بر روی بیاتی و خصوصیات ارگانولپتیکی نان باگت انجام دادند عنوان کردند نانوکپسول‌های حاوی عصاره هسته خرما با غلظت ۴۰٪ و به میزان ۱٪ باعث افزایش رطوبت، افزایش حجم، افزایش ترکیبات فنلی و کاهش بیاتی گردید [۱۲]. شعاعی و همکاران (۲۰۲۲) به بررسی زنده‌مانی لاکتوباسیلوس پلانتاروم کپسوله شده با

9 -Lactic acid bacteria

آزاد سازی ترکیبات فعال زیستی صورت می گیرد [۶،۵۲]. مکانیسم عمل در امواج فراصوت بر دو حالت ایجاد حفره و تشکیل رادیکال آزاد است. هنگامی که امواج فراصوت از طریق محیط نوسان می کنند انبساط و تراکم زیادی را در محیط ایجاد و با افزایش فاصله بین ملکول ها و غلبه بر چسبندگی، مایع شکسته و حفره ایجاد می شود و در تجزیه صوتی، رادیکال های آزاد با واکنش پذیری بالا تولید می شوند. امواج اولتراسوند با شدت بالا و فرکانس پائین دارای فرکانس بین ۲۰ تا ۱۰۰ کیلوهرتز و شدت آن ها در محدوده ۱۰ تا ۱۰۰۰ وات بر سانتی متر مربع است و می تواند بر خواص فیزیکی، بیوشیمیایی و مکانیکی محصولات اثر گذارند. کاربرد آن در کف سازی، امولسیون سازی، خواص عملکردی پروتئین، کریستالیزاسیون صوتی، اصلاح ویژگی بافت در محصولات چرب و تنظیم ریز ساختارها است. همچنین از این روش در انجماد، خشک کردن، نرم کردن، ذوب، پختن، استریل کردن، ضد عفونی و غلظت استفاده می شود. در اولتراسوند با فشار بالا با القای کاویتاسیون صوتی و به دلیل تولید، رشد و ترکیدن حباب ها انرژی آزاد می شود [۵۱،۵۳،۵۴]. با کمک امواج فراصوت امکان تسریع انجماد با افزایش هسته زایی یخ و بهبود سرعت انتقال جرم و حرارت فراهم می شود. استفاده از امواج فراصوت در انجماد موجب حفظ ریزساختار، کاهش افت قطره، حفظ ویژگی های کیفی، کاهش تغییرات رنگ و بافت مواد غذایی می گردد. در فرآیند ذوب، اثرات فیزیکی ناشی از امواج فراصوت، انرژی صوتی را به گرما تبدیل می کند و موجب تشکیل جت های پرسرعت می گردد. این روش سرعت انتقال حرارت ذوب شدن را افزایش می دهد و از فساد ناشی از میکروارگانیسم ها

و آنزیم ها جلوگیری می کند و موجب حفظ ویژگی های ماده غذایی می گردد [۵۵]. پژوهش انجام شده بر روی امواج فراصوت در ذرت نشان داد، استفاده از این امواج موجب حفظ کیفیت محصول و تخریب آفلاتوکسین B1¹¹ (AFB1) و زیرانون¹² (ZEA) می گردد [۵۶]. در پژوهشی Hernández-Falcón و همکاران (۲۰۱۸) به بررسی اثر امواج فراصوت بر میزان آفلاتوکسین M1، خواص فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی شیر پرداختند. آزمایش ها در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ و امواج با سرعت ۲۰ کیلو هرتز به مدت ۱۰ یا ۱۵ دقیقه و دامنه ۹۵٪ بر روی شیر هموژن و غیر هموژن انجام شد. نتایج نشان داد امواج فراصوت بدون تغییر در رنگ شیر، موجب حفظ ترکیبات فنلی، حفظ کیفیت فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی می گردد و می تواند میزان آفلاتوکسین را در شیر کاهش دهد. کمترین میزان AFM1 در شیر غیر هموژن، تیمار شده به مدت ۱۰ دقیقه و یک روز پس از ذخیره سازی با ۰/۰۵ pg AFM1E/mL ± ۰/۱۵ مشاهده شد [۵۷].

۶- پخت اکستروژن

اکستروژن از کلمه لاتین Extrudere که به معنی هل دادن یا بیرون راندن است به وجود آمده است. امروزه حبوبات به دلیل اینکه منبع مهمی از غذاهای بدون گلوتن هستند و برای رژیم غذایی سالم با منبع پروتئین، فیبر، مواد معدنی و ویتامین بسیار مورد توجه است که می توان با فراوری درست و ایجاد تنوع و اشکال گوناگون جایگاهشان را در سبد غذایی خانوارها افزایش داد. از طرف دیگر مطالعات نشان داده که مصرف بالای گوشت و فراورده های گوشتی باعث ایجاد مشکلاتی مانند دیابت نوع دوم، افزایش فشار خون، چاقی و بیماری قلبی عروقی می گردد که با مصرف حبوبات بیشتر به

11 -Aflatoxin B1

12 -Zearalenone

عنوان ماده غذایی با مزایای تغذیه‌ای و سازگار با محیط زیست می‌توان از بروز بیماری‌ها جلوگیری نمود [۱۳، ۵۶]. اکستروژن یک سیستم پردازش است که در آن از یک یا مجموعه‌ای از پیچ‌ها برای ایجاد فشار بر روی مواد غذایی و فرستادن آن‌ها به داخل دهانه کوچکی استفاده می‌شود. هنگامی که ماده غذایی با فشار وارد اکسترودر می‌گردد، توسط فشار بالا، برش بالا و دمای بالا پخته می‌شود و در هنگام خروج اغلب به دلیل آزاد شدن فشار و تبدیل شدن آب به بخار پف می‌کنند. به دلیل پیوسته بودن این فرایند در زمان کوتاهی انجام می‌شود و از متداول‌ترین اکسترودها می‌توان به سیستم تک پیچ و دو مارپیچ که دارای انعطاف پذیری بیشتری است اشاره نمود [۵۷]. در این روش با استفاده از فرایندهای فیزیکی و شیمیایی و با بیرون راندن مواد از داخل دهانه کوچک دستگاه برای شکل دادن به محصولات صورت می‌گیرد. با استفاده از برش مکانیکی، حرارت و فشار مواد غذایی که دارای رطوبت، پروتئین و نشاسته‌ای هستند را می‌توان پردازش نمود. پخت اکستروژن روش HTST می‌باشد که با استفاده از دمای بالا، در مدت زمان کوتاه صورت می‌گیرد و بیشتر برای غلات صبحانه، تنقلات مبتنی بر غلات، ماکارونی، فیبر رژیمی، غذای کودک، آردهای از پیش پخته شده و غذای حیوانات خانگی استفاده می‌شود. این روش به دو صورت اکستروژن کم فشار که در دمای زیر ۱۰۰ درجه سانتی گراد و تحت فشار بالا و دمای حدود ۲۰۰ درجه سانتی گراد می‌باشد. غلات و نشاسته طی پخت اکستروژن دچار تغییرات فیزیکی و شیمیایی می‌شوند که میزان تخریب ملکولی به پارامترهایی چون دما، رطوبت، سرعت و ترکیب ماده غذایی بستگی دارد. در محصولاتی که

بر پایه غلات هستند درجه فراوری نشاسته برای حفظ کیفیت، طعم، بافت، ظاهر و قابلیت هضم بسیار حائز اهمیت است. از مهمترین فواید این روش می‌توان به کیفیت بالای محصول، متنوع بودن شکل محصول، تولید محصولات جدید، غیر فعال شدن عوامل ضد تغذیه‌ای، چند منظوره بودن، هزینه پائین، بهره وری بالا و به سازگاری آن با محیط زیست اشاره نمود [۵۸، ۵۹، ۶۰، ۶۱]. امروزه به دلیل اینکه در پخت اکستروژن از کاربرد همزمان عملیات واحد که شامل مخلوط شدن، ورز دادن، پختن و شکل دادن با استفاده از دمای بالا در مدت زمان کوتاه و برش بالاست برای استفاده بهینه از ضایعات مواد غذایی برای مدیریت مواد خام و جلوگیری از هدر رفت مواد و همچنین در راستای کمک به محیط زیست مورد استفاده قرار می‌گیرد. از مهمترین مزیت‌های اکستروژن به حداقل رساندن تلفات تغذیه‌ای است که به دلیل زمان کوتاه مورد استفاده در این روش است. در روش اکستروژن با دمای بالا ترکیبات ضد تغذیه‌ای مانند فیتات‌ها و مهارکننده‌هایی مثل تربپسین و آنزیم‌هایی مانند لیپاز و لیپاکسیدازها از بین می‌روند [۶۲]. در کنار فوایدی مانند ژلاتینه شدن نشاسته، از بین رفتن عوامل ضد تغذیه‌ای، افزایش فیبر محلول، کاهش یافتن اکسیداسیون لیپیدها و میکروارگانسیم‌های آلوده کننده، حفظ رنگ و طعم محصولات غذایی، این روش دارای معایبی چون واکنش میلارد که باعث کاهش ارزش غذایی پروتئین می‌گردد و همچنین از بین رفتن ویتامین‌های حساس به حرارت می‌باشد [۶۳].

۷- پرتودهی^{۱۳}

پرتودهی به عنوان یک روش جایگزین برای غیر فعال کردن میکروب‌ها و افزایش عمر مفید محصول کاربرد دارد. پرتودهی از پردازش مواد غذایی با استفاده از اعمال امواج الکترومغناطیسی است و توانایی از بین بردن میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا را به دلیل آسیب به DNA آن‌ها را دارد. پرتودهی را می‌توان بر روی طیف گسترده‌ای از مواد غذایی خشک مانند ادویه و چاشنی‌ها، مواد غذایی با رطوبت بالا مانند گوشت و مرغ و همچنین مواد غذایی تازه، یخچالی و منجمد استفاده نمود. میوه و سبزیجات به دلیل غنی بودن مواد مغذی ضروری برای سلامت بسیار مفید هستند و باعث کاهش بیماری‌های مزمن مانند چاقی و دیابت می‌شوند که می‌توان با این روش بدون استفاده از مواد شیمیایی و حرارت آن‌ها را ضد عفونی کرد. در پرتودهی مواد غذایی در معرض دوز خاصی از تابش‌های غیر یونیزاسیون مانند UV، نور مرئی، مادون قرمز و امواج رادیویی یا تشعشعات یونیزان مانند پرتوهای گاما، ایکس و الکترون قرار می‌گیرند. واحد دوز مصرف شده، گری (GY) با کیلو گری (KGY) است و به مقدار انرژی جذب شده در واحد جرم محصولات غذایی گفته می‌شود. بر اساس دوز مورد استفاده، نوع ماده غذایی و هدف از انجام این روش، پرتودهی را به سه نوع رادیسیداسیون، رادوریزاسیون و راداپرتیزاسیون تقسیم می‌کنند. از مهمترین مزایای این روش می‌توان به غیر حرارتی بودن، حفظ ارزش تغذیه‌ای، تاخیر در رسیدن میوه‌جات، توقف جوانه‌زنی محصولات کشاورزی مانند سیب‌زمینی و پیاز، عدم تولید پسماند، از بین بردن میکروارگانیسم‌ها، به تاخیر انداختن رشد قارچ، قابلیت استفاده برای مواد تازه،

۹-منابع

منجمد و بسته بندی شده و همچنین نابودی حشرات و آفات در محصولات کشاورزی را نام برد. این روش باعث ایجاد معایبی چون نرم شدن بعضی میوه و سبزیجات، اکسیداسیون و تند شدن در چربی‌ها، ایجاد طعم نامطلوب در شیر به علت حساسیت بالا به اکسیداسیون و ایجاد طعم و رنگ نامطلوب در گوشت می‌شود. همچنین این روش به تنهایی توانایی جلوگیری از فعالیت آنزیمی را ندارد و باید قبل از پرتودهی بلانچینگ انجام گیرد [۵،۱۵،۱۷،۶۴].

۸-نتیجه گیری

توجه روز افزون مصرف کنندگان مواد غذایی به استفاده از غذای سالم و مغذی باعث شده که تولید کنندگان در صدد جایگزین کردن روش‌های جدیدتر می‌باشند. مزیت روش‌های جدید که عموماً در دمای پائین انجام می‌گیرند حفظ مواد مغذی و ویتامین‌ها، حفظ رنگ و طعم می‌باشد. این روش‌ها علاوه بر سالم سازی محصولات و عاری از میکروب نمودن آن‌ها، دارای مزایای فوق نیز می‌باشد که عموماً در روش‌های قدیمی‌تر به علت دمای فراوری بالا دچار افت می‌گردد، لذا توجه تولید کنندگان به استفاده فراوری‌های جدید و توسعه تجهیزات مرتبط با آن‌ها در راستای سلامت عمومی جامعه به خوبی درک می‌گردد. با توجه به مزیت‌های فراوان روش‌های نوین در کنار هزینه پایین‌تر و سازگاری با محیط زیست این روش‌ها، توسعه و تحقیقات بیشتر به منظور جایگزینی این روش‌ها با روش‌های مرسوم حائز اهمیت است.

- other hurdles of physicochemic and microbiome to prolong shelf life of food: A review. *Science of the Total Environment*, 825, 154058.
- [2] Wang, L. K., Shammass, N. K., Cheryan, M., Zheng, Y. M., & Zou, S. W. (2011). Treatment of food industry foods and wastes by membrane filtration. *Membrane and Desalination Technologies*, 237-269.
- [3] Poshadri, A., & Aparna, K. (2010). Microencapsulation technology: a review. *Journal of Research ANGRAU*, 38(1), 86-102.
- [4] Dehnad, D., Emadzadeh, B., Ghorani, B., & Rajabzadeh, G. (2023). High hydrostatic pressure (HHP) as a green technology opens up a new possibility for the fabrication of electrospun nanofibers: Part I-improvement of soy protein isolate properties by HHP. *Food Hydrocolloids*, 140, 108659.
- [5] Bisht, B., Bhatnagar, P., Gururani, P., Kumar, V., Tomar, M. S., Sinhmar, R., ... & Kumar, S. (2021). Food irradiation: Effect of ionizing and non-ionizing radiations on preservation of fruits and vegetables—a review. *Trends in Food Science & Technology*, 114, 372-385.
- [6] Singla, M., & Sit, N. (2021). Application of ultrasound in combination with other technologies in food processing: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 73, 105506.
- [7] Lu, C., Bao, Y., & Huang, J. Y. (2021). Fouling in membrane filtration for juice processing. *Current Opinion in Food Science*, 42, 76-85.
- [8] Charcosset, C. (2021). Classical and recent applications of membrane processes in the food industry. *Food Engineering Reviews*, 13(2), 322-343.
- [9] Mehta, N., Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Kumar, Y., Malav, O. P., ... & Lorenzo, J. M. (2022). Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: A comprehensive review. *Applied Sciences*, 12(3), 1424.
- [10] Furuta, T., & Neoh, T. L. (2021). Microencapsulation of food bioactive components by spray drying: A review. *Drying Technology*, 39(12), 1800-1831.
- [11] Ghadiri Amrei S M H, ahmadi M, Shahidi S, Ariaii P, Golestan L. Study of the physicochemical, microbial and sensory properties of hamburgers enriched with turmeric and omega-3 loaded nanoliposomes. *FSCT* 2023; 20 (134) :71-86
- [12] Afshari K, Javanmard Dakheli M, Ramezan Y, Bassiri A, Ahmadi Chenarbon H. (2024). Effect of microencapsulated date pit (*Phoenix dactylifera* L.) extract on staling and organoleptic properties of Baguette bread. *FSCT*, 20 (144) :227-241
- [13] Cotacallapa-Sucapuca, M., Vega, E. N., Maieyes, H. A., Berrios, J. D. J., Morales, P., Fernández-Ruiz, V., & Cámara, M. (2021). Extrusion process as an alternative to improve pulses products consumption. A review. *Foods*, 10(5), 1096.
- [14] Joshua Ajibola, O. (2020). An overview of irradiation as a food preservation technique. *Novel Research in Microbiology Journal*, 4(3), 779-789.
- [15] Farkas, J., & Mohácsi-Farkas, C. (2011). History and future of food irradiation. *Trends in Food Science & Technology*, 22(2-3), 121-126.
- [16] Indiarto, R., Pratama, A. W., Sari, T. I., & Theodora, H. C. (2020). Food irradiation technology: A review of the uses and their capabilities. *Int. J. Eng. Trends Technol*, 68(12), 91-98.
- [17] Indiarto, R., & Qonit, M. A. H. (2020). A review of irradiation technologies on food and agricultural products. *Int. J. Sci. Technol. Res*, 9(1), 4411-4414.
- [18] Saeed, M., Khan, W. A., Shabbir, M. A., Khan, M. I., Randhawa, M. A., & Yasmin, I. (2014). Bacteriocins as a natural antimicrobial agent in food preservation: A review. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 24(4), 244-255.
- [19] Zacharof, M. P., & Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria a review article. *Apcbee Procedia*, 2, 50-56.
- [20] Todorov, S. D., Popov, I., Weeks, R., & Chikindas, M. L. (2022). Use of bacteriocins and bacteriocinogenic beneficial organisms in food products: benefits, challenges, concerns. *Foods*, 11(19), 3145.
- [21] Yap, P. G., Lai, Z. W., & Tan, J. S. (2022). Bacteriocins from lactic acid bacteria: purification strategies and applications in food and medical

- industries: a review. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 1-18.
- [22] Jyothi, N. V. N., Prasanna, P. M., Sakarkar, S. N., Prabha, K. S., Ramaiah, P. S., & Srawan, G. Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of microencapsulation*, 27(3), 187-197.
- [23] Choudhury, N., Meghwal, M., & Das, K. (2021). Microencapsulation: An overview on concepts, methods, properties and applications in foods. *Food Frontiers*, 2(4), 426-442.
- [24] Huang, K., Yuan, Y., & Baojun, X. (2023). A critical review on the microencapsulation of bioactive compounds and their application. *Food Reviews International*, 39(5), 2594-2634.
- [25] Saberi M, Saremnezhad S, Soltani M, Faraji A. (2023). Evaluation of the quality properties of grape pomace and flaxseed oil microcapsules stabilized with different ratios of maltodextrin and gum tragacanth. *FSCT*, 20 (139) :201-219
- [26] Calderón-Oliver, M., & Ponce-Alquicira, E. (2022). The role of microencapsulation in food application. *Molecules*, 27(5), 1499.
- [27] Trilokia, M., Bandral, J. D., Chib, A., & Choudhary, P. (2022). Microencapsulation for food: An overview. *Pharma Innov. J*, 11, 1174-1180.
- [28] Ye, Q., Georges, N., & Selomulya, C. (2018). Microencapsulation of active ingredients in functional foods: From research stage to commercial food products. *Trends in Food Science & Technology*, 78, 167-179.
- [29] Emami S, Ahmadi M, Roozbeh Nasiraie L, Shahidi S, Jafarizadeh-Malmiri H. (2023). The effect of free and encapsulated essential oil and extract of cinnamon with nanoliposome on *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* inoculated into ground beef. *FSCT*, 19 (133) :1-16
- [30] Nazzaro, F., Orlando, P., Fratianni, F., & Coppola, R. (2012). Microencapsulation in food science and biotechnology. *Current opinion in biotechnology*, 23(2), 182-186.
- [31] Schrooyen, P. M., van der Meer, R., & De Kruif, C. G. (2001). Microencapsulation: its application in nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 60(4), 475-479.
- [32] Kwak, H. S., Mijan, M. A., & Ganesan, P. (2014). Application of nanomaterials, nano-and microencapsulation to milk and dairy products. *Nano-and Microencapsulation for Foods*, 273-300.
- [33] Jyothi, S. S., Seethadevi, A., Prabha, K. S., Muthuprasanna, P., & Pavitra, P. (2012). Microencapsulation: a review. *Int. J. Pharm. Biol. Sci*, 3(2), 509-531.
- [34] Gruskiene, R., Bockuviene, A. and Sereikaite, J., 2021. Microencapsulation of bioactive ingredients for their delivery into fermented milk products: A review. *Molecules*, 26(15), p.4601.
- [35] Bhosale, S., Desale, R. J., & Fulpagare, Y. G. (2020). Microencapsulation: applications in the different dairy products. *Int J Pharm Biomed Eng*, 6, 7-11.
- [36] BÜYÜKGÜMÜŞ, E., ÖZCAN, M., & BULCA, S. (2022). USE OF MICROENCAPSULATION AND NANOENCAPSULATION TECHNIQUES IN DAIRY TECHNOLOGY. *Scientific Bulletin Series F. Biotechnologies*, 26(2).
- [37] Janiszewska-Turak, E. (2017). Carotenoids microencapsulation by spray drying method and supercritical micronization. *Food research international*, 99, 891-901.
- [38] Frakolaki, G., Giannou, V., Kekos, D., & Tzia, C. (2021). A review of the microencapsulation techniques for the incorporation of probiotic bacteria in functional foods. *Critical reviews in food science and nutrition*, 61(9), 1515-1536.
- [39] Das, A., Ray, S., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2014). Microencapsulation of probiotic bacteria and its potential application in food technology. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(1), 47-53.
- [40] Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*, 3(2), 39-48.
- [41] da Silva, S. Â. D., Batista, L. D. S. P., Diniz, D. S., Nascimento, S. S. D. C., Moraes, N. S., de Assis, C. F., ... & de Sousa Júnior, F. C. (2023). Microencapsulation of Probiotics by Oil-in-Water Emulsification Technique Improves Cell Viability

- under Different Storage Conditions. *Foods*, 12(2), 252.
- [42] Anal, A. K., & Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in food science & technology*, 18(5), 240-251.
- [43] De Prisco, A. and Mauriello, G., 2016. Probiotication of foods: A focus on microencapsulation tool. *Trends in food science & technology*, 48, pp.27-39.
- [44] Pech-Canul, A. D. L. C., Ortega, D., García-Triana, A., González-Silva, N., & Solis-Oviedo, R. L. (2020). A brief review of edible coating materials for the microencapsulation of probiotics. *Coatings*, 10(3), 197.
- [45] Sbehat, M., Mauriello, G., & Altamimi, M. (2022). Microencapsulation of probiotics for food functionalization: An update on literature reviews. *Microorganisms*, 10(10), 1948.
- [46] Shoaee, F., Heshmati, A., Mahjub, R., Garmakhany, A. D., & Taheri, M. (2022). The assessment of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* survivability in rose petal jam and the changes in physicochemical, textural and sensorial characteristics of the product during storage. *Scientific reports*, 12(1), 6200.
- [47] Ahmadi A, Shahidi S, Safari R, Motamedzadegan A, Ghorbani-HasanSaraei A. Comparison of antioxidant properties of chlorophyll extracted from alfalfa (*Medicago sativa* L.) using enzymatic and ultrasonic extraction methods. *FSCT* 2023; 20 (134) :99-108
- [48] Xu, B., Azam, S. R., Feng, M., Wu, B., Yan, W., Zhou, C., & Ma, H. (2021). Application of multi-frequency power ultrasound in selected food processing using large-scale reactors: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 81, 105855.
- [49] Lauteri, C., Ferri, G., Piccinini, A., Pennisi, L., & Vergara, A. (2023). Ultrasound Technology as Inactivation Method for Foodborne Pathogens: A Review. *Foods*, 12(6), 1212.
- [50] Heydarian M, Heydarian A, Mortazavi S A. (2023). The effect of ultrasound treatment on the physicochemical, rheological and structural properties of starches extracted from different legumes. *FSCT*, 20 (137) :156-190
- [51] Bhargava, N., Mor, R. S., Kumar, K., & Sharanagat, V. S. (2021). Advances in application of ultrasound in food processing: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 70, 105293.
- [52] Inanloodoghous M, Salehi F, Karami M, Gohari Ardabili A. The effect of ultrasound pretreatment at different powers and temperatures on the drying process of cornelian cherry. *FSCT* 2023; 20 (134) :109-118
- [53] Chen, F., Zhang, M., & Yang, C. H. (2020). Application of ultrasound technology in processing of ready-to-eat fresh food: A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 63, 104953.
- [54] Hosseiny, Morva. Khorshidpour, Bijan (1402). An overview of new food processing methods in the food industry. In the national conference of applied research on food security, food safety and health (pp. 102-97). Research Institute of Science and Food Industry, Mashhad, Mehr 1402.
- [55] Qiu, L., Zhang, M., Chitrakar, B., & Bhandari, B. (2020). Application of power ultrasound in freezing and thawing Processes: Effect on process efficiency and product quality. *Ultrasonics sonochemistry*, 68, 105230.
- [56] Liu, Y., Liu, Y., Zhao, W., Li, M., Liu, N., & Bian, K. (2022). Reduction of aflatoxin B1 and zearalenone contents in corn using power ultrasound and its effects on corn quality. *Toxins*, 14(12), 834.
- [57] Hernández-Falcón, T. A., Monter-Arciniega, A., del Socorro Cruz-Cansino, N., Alanís-García, E., Rodríguez-Serrano, G. M., Castañeda-Ovando, A., ... & Jaimez-Ordaz, J. (2018). Effect of thermoultrasound on aflatoxin M1 levels, physicochemical and microbiological properties of milk during storage. *Ultrasonics sonochemistry*, 48, 396-403.
- [58] Pasqualone, A., Costantini, M., Coldea, T. E., & Summo, C. (2020). Use of legumes in extrusion cooking: A review. *Foods*, 9(7), 958.
- [59] Gu, B. J., Kowalski, R. J., & Ganjyal, G. M. (2017). Food extrusion processing: An overview.
- [60] Shah, M. A., Mir, S. A., & Dar, B. N. (2021). Advances in extrusion technologies. *Food*

Formulation: Novel Ingredients and Processing Techniques, 147-163.

- [61] Choton, S., Gupta, N., Bandral, J. D., Anjum, N., & Choudary, A. (2020). Extrusion technology and its application in food processing: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 9(2), 162-168.
- [62] Shelar, G. A., & Gaikwad, S. T. (2019). Extrusion in food processing: An overview. *The Pharma Innovation Journal*, 8(2), 562-568.
- [63] Navale, S. A., Swami, S. B., & Thakor, N. J. (2015). Extrusion cooking technology for foods: A review. *Journal of Ready to Eat Food*, 2(3), 66-80.

- [64] Dey, D., Richter, J. K., Ek, P., Gu, B. J., & Ganjyal, G. M. (2021). Utilization of food processing by-products in extrusion processing: A review. *Frontiers in sustainable food systems*, 4, 603751.
- [65] Dendegh, T. A., Enefolo, O. S., Akpapunam, S. O., Yelmi, B. M., & Abdullahi, M. J. B. (2022). Extrusion Technology and its Application in Food Processing-An Overview. *TROPICAL JOURNAL OF ENGINEERING, SCIENCE AND TECHNOLOGY*, 1(2), 25-53.
- [66] Arapcheska, M., Spasevska, H., & Ginovska, M. (2020). Effect of irradiation on food safety and quality. *Current Trends in Natural Sciences*, 9(18), 100-106.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

An overview of the application of advanced non-thermal technologies in the food industry

Morva Hosseiny¹, Bijan Khorshidpour^{2*}

1- PhD student, Department of Food Science and Technology, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/2/19 Accepted:2024/11/19 Keywords: quality improvement, food processing, ultrasound, microencapsulation, non-thermal methods DOI: 10.22034/FSCT.22.159.27. *Corresponding Author E- bijankhorshidpour@gmail.com	Food processing is one of the most important industries, and it has undergone many changes due to the increasing demand for high-quality food. Attention to preserving nutrients and not changing the texture and color of products indicates the need to use technologies with lower temperatures because older technologies usually use high temperatures. Today, the health effects of food are among the most important factors in the acceptability of a product. In newer processes, it is possible to preserve all kinds of vitamins and the quality and color of the final product with less heat. Among these processes, we can mention membrane filtration, bacteriocins, microencapsulation, ultrasound, extrusion cooking, and irradiation. In addition to maintaining the quality and nutrients of the product, the above methods are also cost-effective and environmentally friendly, which clearly shows the need to pay more attention to them to maintain health, along with economic and environmental issues. Encapsulating nutrients also preserves the substances in ecological conditions and the digestive tract, which has led to this method receiving more attention from specialists today. In this article, various types of modern processing methods in the food industry have been investigated.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی های شیمیایی و ضد میکروبی اسانس بابونه بهاری بر باکتری های *سالمونلا تیفی موریوم*، *انتروباکتر ائروژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *باسیلوس سرئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز*

محمد امین مهرنیا^{*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۱، محمد نوشاد^۱

^۱ - دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملائانی، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۱۲

کلمات کلیدی:

اسانس،

اثر آنتی اکسیدانی،

فعالیت ضد میکروبی،

بابونه بهاری،

ترکیبات زیست فعال.

این مطالعه با هدف استخراج اسانس از گیاه دارویی بابونه بهاری (*Anthemis cotula*) و بررسی میزان فنول کل، فلاونوئید کل، اثر آنتی اکسیدانی و فعالیت ضد میکروبی آن صورت پذیرفت. بررسی محتوای فنول کل اسانس با کمک روش فولین سیوالتو نشان داد که اسانس دارای ۲۹/۸۰ mg GAE/g فنول کل می باشد. محتوای فلاونوئید کل اسانس برابر با ۱۳/۴۷ mg QE/g بود. بررسی اثر آنتی اکسیدانی اسانس با کمک روش های مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS نشان داد که اسانس دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی می باشد. اثر آنتی اکسیدانی در برابر رادیکال های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با ۵۳/۸۰ و ۵۵/۶۰ درصد به دست آمد. ارزیابی فعالیت ضد میکروبی اسانس در برابر باکتری های *سالمونلا تیفی موریوم*، *انتروباکتر ائروژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *باسیلوس سرئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* بر اساس روش های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار و حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی نشان داد که فعالیت ضد باکتریایی اسانس قابل توجه است. باکتری های *استافیلوکوکوس اورئوس* و *شیگلا دیسانتری* به ترتیب با بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد، حساس ترین و مقاوم ترین سویه ها در برابر اسانس بودند. نتایج نشان داد که اسانس بابونه بهاری منبع طبیعی ترکیبات فعال با اثرات آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی در برابر باکتری های پاتوژن می باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.43.

* مسئول مکاتبات:

mehrnia@asnrukh.ac.ir

۱-مقدمه

افزایش شکست شیمی درمانی و مقاومت آنتی بیوتیکی نشان داده شده توسط عوامل میکروبی بیماری زا منجر به غربالگری گیاهان دارویی برای فعالیت ضد میکروبی بالقوه آنها شده است. تحقیق و استفاده از داروها و مکمل های غذایی گرفته شده از گیاهان در سال های اخیر به سرعت افزایش یافته است. داروسازها، گیاه شناسان، میکروبیولوژیست ها و شیمیدانان محصولات طبیعی در حال بررسی زمین برای یافتن مواد شیمیایی گیاهی می باشند که می تواند برای درمان بیماری های مختلف استفاده شود [۱-۱۰].

علاوه بر این، تعدادی از آنتی اکسیدان های مصنوعی، مانند هیدروکسی بوتیل تولوئن و هیدروکسی بوتیل آنیزول، معمولاً در غذاهای فرآوری شده استفاده می شوند. با این حال، استفاده از آنها محدود شده است زیرا این ترکیبات مشکوک به داشتن برخی اثرات سمی و سرطانزا می باشند. بنابراین، علاقه فزاینده ای به توسعه و جداسازی آنتی اکسیدان های طبیعی از منابع گیاهی، به ویژه گیاهان خوراکی با ظرفیت آنتی اکسیدانی بالا وجود داشته است [۱۱-۱۶].

پلی فنل های گیاهی گروه متنوعی از متابولیت های ثانویه هستند که دارای یک حلقه آروماتیک حاوی یک یا چند جایگزین هیدروکسی می باشند. در گیاهان، این ترکیبات عملکردهای مختلفی از جمله عوامل محافظتی در برابر اشعه ماوراء بنفش، مشارکت در رشد و تولید مثل و به عنوان اجزای رنگدانه ها، اسانس ها، طعم دهنده ها و غیره انجام می دهند. فنولیک های گیاهی مانند فلاونوئیدها به عنوان پاک کننده رادیکال های آزاد، شلاته کننده های فلزی و خاموش کننده های اکسیژن یگانه عمل می کنند. آنها به دلیل پتانسیل ردوکس بالایی که دارند خواص آنتی اکسیدانی از خود نشان می دهند.

آنها همچنین طیف گسترده ای از فعالیت بیولوژیکی از جمله فعالیت ضد میکروبی و ضد سرطانزایی را نشان می دهند و بسیاری از فعالیت های بیولوژیکی را می توان به خواص آنتی اکسیدانی آنها نسبت داد. مطالعات نشان داده است که مصرف رژیم غذایی غنی از محتوای فنولیک با پیشگیری از بیماری های فرسایشی - تخریبی مرتبط با استرس اکسیداتیو مانند سرطان، بیماری های عصبی و بیماری های قلبی عروقی نقش مهمی در سلامت انسان ایفا می کند [۱۱، ۱۷-۱۹].

جنس بابونه (*Anthemis*) متعلق به خانواده *Asteraceae* (*Compositae*)، امروزه به عنوان دومین جنس بزرگ از تبار *Anthemideae* تعریف می شود که تقریباً ۲۱۰ گونه را شامل می شود. در طب عامیانه از گونه های بابونه برای درمان ناراحتی های گوارشی، هموروئید، دیسمنوره و معده درد استفاده می شود. همچنین، اعضای این جنس دارای فعالیت های ضد باکتری، ضد اسپاسم، ضد التهاب، محافظت از کبد، آنتی کولین استراز، آنتی بیوفیلیم و آنتی اکسیدان هستند. بررسی فیتوشیمیایی چندین گیاه بابونه وجود لاکتون های سسکوئی ترپن، پلی استیلن ها، فلاونوئیدها و اسانس ها را نشان می دهد [۲۰].

بابونه بهاری (*Anthemis cotula*) یک گیاه غده ای یک ساله است که با طعم و بوی تند با ارتفاع ۳۰ تا ۶۰ سانتی متر مشخص می شود. در طب گیاهی عامیانه برای درمان پسوریازیس، تب، مشکلات گوارشی، اسهال خونی و آرتریت نقرسی به خوبی شناخته شده است [۲۰]. با این حال مطالعات محدودی در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی اسانس بابونه بهاری در منابع علمی موجود است. لونای و همکاران (۲۰۲۳) اسانس های برگ و گل بابونه بهاری رشد یافته در اردن را با روش تقطیر با آب

۲-۳- استخراج اسانس

لندام‌های هوایی تازه بابونه بهاری به مدت یک ماه در دمای اتاق در سایه خشک شدند. سپس نمونه‌های خشک شده به پودر تبدیل شدند. مقدار ۲۰۰ گرم از پودر به مدت ۴ ساعت تحت روش تقطیر با آب کلاسیک با استفاده از دستگاه کلونجر قرار گرفت. سپس اسانس به دست آمده روی سولفات سدیم بی‌آب خشک شده و بلافاصله در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۰].

۲-۴- اندازه‌گیری میزان فنول کل

حجم معینی از معرف فولین سیوکالتو (۰/۱۲ میلی‌لیتر) با ۰/۰۲ میلی‌لیتر اسانس و ۱/۹۷ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. پس از ۳ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، محلول کربنات سدیم (۰/۳۷ میلی‌لیتر؛ ۲۰۰ گرم در لیتر) اضافه شد. محلول به مدت ۲ ساعت در اتاق تاریک نگهداری شد و سپس جذب آن در ۷۵۰ نانومتر خوانده شد. محتوای فنول کل اسانس به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک در گرم اسانس (mg GAE/g) گزارش شد [۲۱].

۲-۵- تعیین میزان فلاونوئید کل

برای تعیین فلاونوئیدها از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم ارائه شده توسط آلبارک و آکسوی [۱۱] با اندکی تغییر استفاده شد. برای این منظور، ۰/۵ میلی‌لیتر اسانس با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. جذب مخلوط واکنش در ۴۱۵ نانومتر

استخراج نمودند. هیدروکربن‌های سسکوئی‌ترین اجزای غالب در روغن‌های استخراج شده از برگ‌ها و گل‌های بابونه بهاری بودند. ۷-موورولن^۱ و آرومادندرن^۲، ترکیبات عمده‌ای بودند که از اسانس گل به دست آمدند، در حالی که ۷-موورولن و اتر کادینن ترانس^۳ به عنوان مواد اصلی در عصاره برگ شناسایی شدند. آپیزنین و اسید کلروژنیک ترکیبات اصلی شناسایی شده در عصاره الکلی گل‌ها و عصاره آبی برگ‌ها بودند. علاوه بر این، اسانس‌ها و تمام عصاره‌های تهیه‌شده از نظر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل مورد سنجش قرار گرفتند و در مقایسه با کنترل‌های مثبت بکار گرفته شده (α-توکوفرول و اسید اسکوربیک) فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی را نشان دادند [۲۰].

با توجه به مطالب فوق، هدف از این مطالعه، استخراج اسانس بابونه بهاری و تعیین محتوای فنول و فلاونوئید کل، بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سنجش اثر ضد میکروبی آن بود.

۲- مواد و روش

۲-۱- مواد شیمیایی

مواد مورد استفاده در این پژوهش از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند و از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۲-۲- سویه‌های میکروبی

باکتری‌های *سالمونلا تیفی* موریوم، *انتروباکتر ائروژنز*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *شیگلا دیسانتری*، *باسیلوس سرئوس* و *استرپتوکوکوس پیوژنز* از مجموعه میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه شدند.

3- trans-cadinene ether

1- γ-Murolene

2- aromadendrene

اندازه گیری و نتایج به صورت میلی گرم معادل کوئرستین در گرم اسانس (mg QE/g) بیان گردید.

۲-۶- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

۲-۶-۱- اندازه گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

در این روش، ۳۷/۵ میکرو لیتر اسانس یا متانول (به عنوان کنترل) با ۲ میلی لیتر محلول DPPH مخلوط گردید. پس از نگهداری مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. فعالیت مهارکنندگی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۲].

$$(\%) = ([A \text{ control} - A \text{ sample}] / A \text{ control})$$

100 × فعالیت مهارکنندگی

۲-۶-۲- اندازه گیری مهار رادیکال آزاد ABTS

رادیکال ABTS نیز برای ارزیابی توانایی آنتی اکسیدانی استفاده گسترده ای دارد که اساساً شامل تبدیل ABTS بی رنگ به آبی با افزودن پرسولفات آمونیوم است. به طور خلاصه، محلول ABTS با افزودن ۷/۴ میلی مولار و پرسولفات آمونیوم ۲/۶ میلی مولار تهیه شد. سپس اسانس بابونه بهاری به آن اضافه و مخلوط به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در تاریکی نگهداری شد. جذب در ۷۳۴ نانومتر اندازه گیری شد و درصد مهار مطابق فرمول ارائه شده در بخش آزمون مهار رادیکال DPPH محاسبه گردید [۲۲].

۲-۷- اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی

۲-۷-۱- دیسک دیفیوژن آگار

ابتدا میکروارگانیسم ها بر روی محیط کشت مولر هیتون آگار به صورت سطحی کشت داده شد. سپس دیسک های استریل آغشته شده به اسانس روی محیط تثبیت گردید. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه-

گذاری شدند. در پایان قطر هاله های عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد [۵].

۲-۷-۲- انتشار چاهک در آگار

این آزمون با استفاده از سوسپانسیون با کدورت استاندارد ۰/۵ مک فارلند انجام شد. اسانس بابونه بهاری توسط فیلتر سرنگی ۰/۲۲ میکرونی استریل شد. چاهک هایی به قطر ۶ میلی متر بر روی محیط مولر هیتون آگار ایجاد و سپس حجم مشخصی از سوسپانسیون میکروبی در آنها ریخته شد. پتری دیش در دمای ۳۵ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد و قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک ها تعیین گردید [۲۳].

۲-۷-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

پس از تهیه استوک ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر از اسانس، رقت های متوالی ۲۵۶، ۱۲۸، ۶۴، ۳۲، ۱۶، ۸، ۴ و ۲ میلی گرم در میلی لیتر از آن تهیه شد. از هر یک از رقت ها به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر و از هر باکتری به میزان ۱۰ میکرو لیتر چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای اضافه شد. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری، به هر یک از چاهک ها معرف تری فنیل - ترازولیوم کلراید (۵ میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه شد و پلیت مجدداً به مدت ۳۰ دقیقه گرمخانه گذاری شد. در پایان کمترین غلظتی که در آن تغییر رنگی مشاهده نشد به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش گردید [۳].

۲-۷-۴- حداقل غلظت کشندگی

۱۰۰ میکرو لیتر از چاهک های فاقد تغییر رنگ در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی در پلیت های حاوی محیط کشت مولر هیتون کشت داده شد و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در

دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در پایان، غلظت‌های فاقد رشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد [۴].

۲-۸- آنالیز آماری

تمامی آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد. نتایج این پژوهش با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸، از طریق واریانس یک‌طرفه انجام شد. از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p < 0.05$) جهت بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

شکل ۱، میزان فنول و فلاونوئید کل اسانس بابونه بهاری را نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد که اسانس بابونه بهاری حاوی ۲۹/۸۰ mg GAE/g فنول کل و ۱۳/۴۷ mg QE/g فلاونوئید کل می‌باشد. لوئای و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که عصاره آبی برگ‌های بابونه بهاری حاوی بالاترین میزان کلروژنیک اسید (۷۷/۲۵ درصد) نسبت به سایر عصاره‌های متانولی و بوتانولی بود. عصاره متانولی برگ حاوی اسید

سینامیک، ویتکسین، لوتولین و آپیزنین به عنوان اجزای اصلی بود. در حالی که عصاره بوتانولی با حضور آپیزنین، کوئرسیتین و لوتولین مشخص گردید [۲۰]. در راستای نتایج این پژوهش، آلبیراک و آکسوی (۲۰۱۳) با ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی دو گونه بابونه بومی در ترکیه گزارش نمودند که محتوای فنول کل *A. cretica subsp. argaea* (۴۸/۵۱ mg GAE/g) بالاتر از *A. fumariifolia* (۳۱/۹۴ mg GAE/g) بود. با این حال، محتوای فلاونوئید کل *A. fumariifolia* (۱۲/۸۸ mg QE/g) بالاتر از *A. cretica subsp. argaea* (۱۱/۴۹ mg QE/g). این تغییر ممکن است به دلیل شرایط محیطی باشد که می‌تواند اجزای تشکیل دهنده گیاه را تغییر دهد [۲۴]. با توجه به محتوای بالای اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها در اسانس بابونه بهاری، این گیاه می‌تواند به عنوان یک منبع امیدوارکننده برای عوامل آنتی‌اکسیدانی طبیعی در نظر گرفته شود.

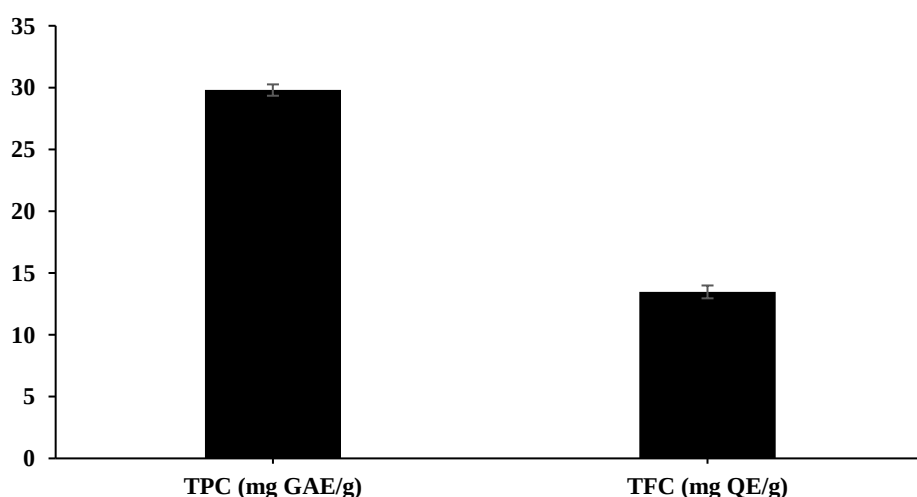


Figure 1. Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *Anthemis cotula* essential oil. GAE = Gallic acid equivalent; QE = Quercetin equivalent.

به ویژه غنی از اسید کلروژنیک، اسید سینامیک، ویتکسین، آپیزنین، کوئرستین و لوتئولین نسبت داده می شود [۲۵، ۲۶]. در ارتباط با اسانس بابونه بهاری، فعالیت آنتی اکسیدانی مشاهده شده می تواند مربوط به محتوای هیدروکربن سسکوئی ترین بالای آن باشد که به عنوان آنتی اکسیدان قوی شناخته می شوند [۲۷]. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس سایر گونه های بابونه نیز در مطالعات مختلف گزارش شده است [۱۱، ۲۸، ۲۹].

شکل ۲، نتایج اثر آنتی اکسیدانی اسانس بابونه بهاری را ارائه می دهد. فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس در برابر رادیکال آزاد DPPH برابر با ۵۳/۸۰ درصد بود. علاوه بر این، اسانس قادر به مهار رادیکال های آزاد ABTS بود و فعالیت آن برابر با ۵۵/۶۰ درصد مشاهده شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره و اسانس بابونه بهاری توسط لوئای و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شده است [۲۰]. کارایی آنتی اکسیدانی عصاره های مختلف به دست آمده از برگ ها و گل های بابونه بهاری عمدتاً به محتوای بالای ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی آنها از قبیل

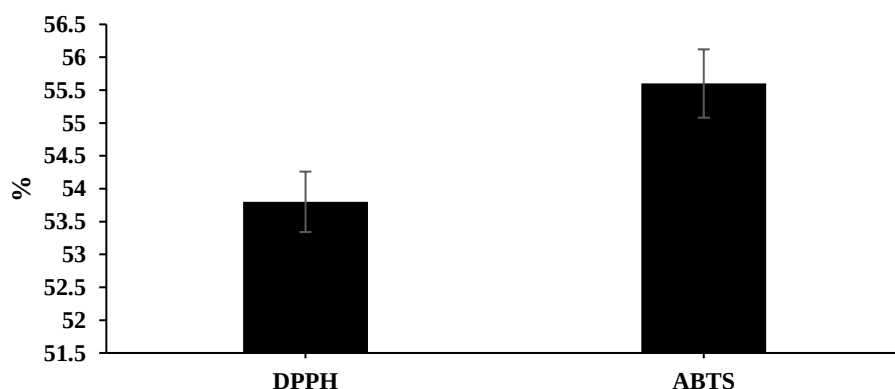


Figure 2. Antioxidant effect of *Anthemis cotula* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

ترتیب برابر با ۱۹ و ۱۲/۱۰ میلی متر به دست آمد. میانگین قطر هاله عدم رشد برای باکتری های باسیلوس سرئوس، استرپتوکوکوس پیورنز، انتروباکتر ائروژنز و سالمونلا تیفی موریوم به ترتیب برابر با ۱۶/۳۰، ۱۷/۸۰، ۱۴/۵۰ و ۱۳/۳۰ میلی متر بود.

شکل ۳، یافته های اثر ضد میکروبی اسانس بابونه بهاری بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار را نشان می دهد. باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس و شیگلا دیسانتری به ترتیب با بالاترین و کمترین قطر هاله عدم رشد، حساس ترین و مقاوم ترین سویه ها در برابر اسانس بودند ($p < 0.05$). بطوریکه میانگین قطر هاله عدم رشد برای این باکتری ها به

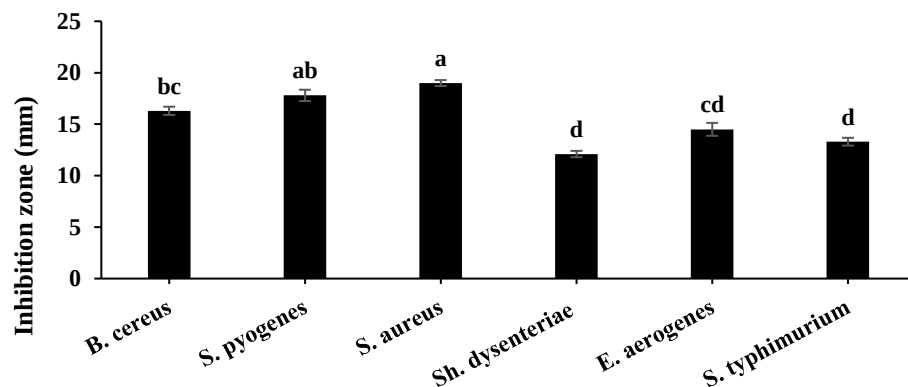


Figure 3. Antibacterial effect of *Anthemis cotula* essential oil based on disc diffusion agar method.

هاله ۲۰/۴۰ میلی‌متر بیشترین حساسیت و باکتری شیگلا

دیسانتیری با قطر هاله ۱۳/۸۰ میلی‌متر بیشترین مقاومت را به

اسانس بابونه بهاری نشان دادند ($p < 0.05$).

نتایج آزمون چاهک آگار (شکل ۴) در راستای آزمون دیسک

دیفیوژن آگار بود و باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با قطر

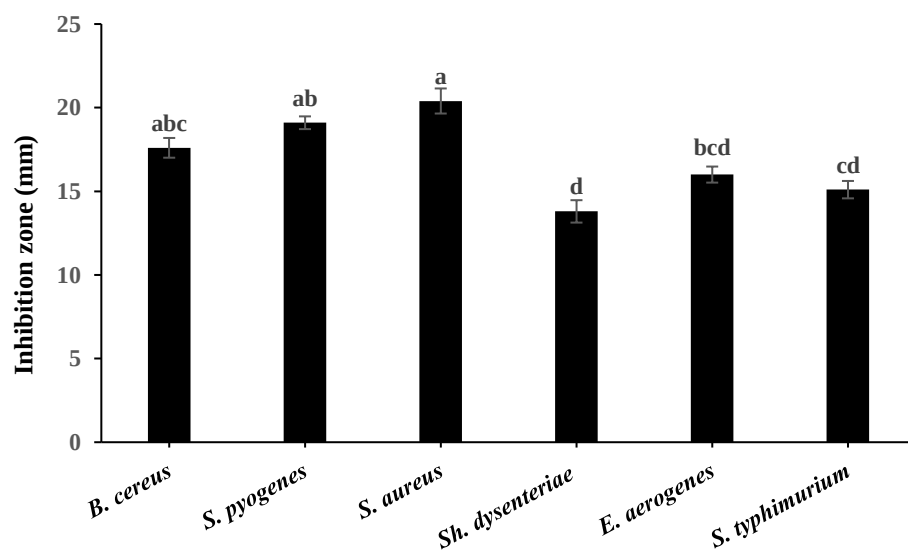


Figure 4. Antibacterial effect *Anthemis cotula* essential oil based on well diffusion agar method.

استرپتوکوکوس پیوژنز) کمتر از باکتری‌های گرم منفی

(انتروباکتر ائروژنز، شیگلا دیسانتیری و سالمونلا

تیفی‌موریوم) بود که حساسیت بیشتر این باکتری‌ها را نسبت

به اسانس نشان می‌دهد.

جدول ۱، نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

اسانس بابونه بهاری را نشان می‌دهد. حداقل غلظت

مهارکنندگی و کشندگی برای باکتری‌های گرم مثبت

(استافیلوکوکوس اورئوس، باسیلوس سرئوس و

Table 1. Antibacterial effect of *Anthemis cotula* essential oil based on minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration methods.

Bacterial type	Minimum inhibitory concentration (mg/mL)	Minimum bactericidal concentration (mg/mL)
<i>B. cereus</i>	32	512
<i>S. pyogenes</i>	16	256
<i>S. aureus</i>	16	256
<i>Sh. dysenteriae</i>	256	> 512
<i>E. aerogenes</i>	128	> 512
<i>S. typhimurium</i>	128	> 512

اپیدرمیدیس حساس ترین باکتری گرم مثبت بود در حالی که /شرشیا کلی مقاوم ترین باکتری گرم منفی شناخته شد [۳۳]. نتایج به دست آمده نشان دهنده پتانسیل بالای اسانس بابونه بهاری به عنوان روغن زیست فعال، برای کاربردهای غذایی و پزشکی، دارای فعالیت های آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی است.

۴- نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس بابونه بهاری فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان می دهد و می تواند به عنوان داروی جایگزین برای پیشگیری یا درمان استرس اکسیداتیو استفاده شود. علاوه بر این، اسانس مورد بررسی فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی در برابر میکروارگانیسم های پاتوژن نشان داد. بنابراین، بابونه بهاری می تواند به عنوان یک منبع امیدوارکننده برای عوامل آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی طبیعی در نظر گرفته شود. با اینحال، تحقیقات بیشتر در مورد مکانیسم های مولکولی و همچنین جداسازی و شناسایی ترکیبات شیمیایی مسئول فعالیت بیولوژیکی برای استفاده بالینی ضروری است.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح

بطور کلی، باکتری های گرم منفی نسبت به باکتری های گرم مثبت کمتر به اسانس حساس هستند و این به طور مستقیم به ساختار دیواره سلولی باکتری مرتبط است. در باکتری های گرم منفی، دیواره سلولی یک پوشش پیچیده است که از غشای سیتوپلاسمی، پری پلاسم و غشای خارجی تشکیل شده است [۳۰]. غشای فسفولیپیدی خارجی در باکتری های گرم منفی، اجزای لیپوبلی ساکارید ساختاری را حمل می کند که باعث می شود دیواره سلولی در برابر مواد شیمیایی ضد میکروبی نفوذ ناپذیر باشد. در ارتباط با باکتری های گرم مثبت، تنها دارای یک لایه پپتیدوگلیکان بیرونی در دیواره سلولی وجود دارد که یک مانع نفوذپذیری مؤثر نیست [۳۱]. گزارش شده است که فلاونوئیدهای (مانند پاتولتین و کامفرول) جدا شده از گل بابونه بهاری فعالیت ضد میکروبی نشان می دهند [۳۲]. در حقیقت، عصاره متانولی برگ بابونه بهاری دارای اثر ضد میکروبی در برابر باکتری های /استافیلوکوکوس اورئوس، /استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، میکروکوکوس لوتئوس، /شرشیا کلی، سودوموناس /اerوزینوزا و پروتئوس و لگاریس بود [۳۲]. نتایج برداول و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد که اسانس بابونه فلسطینی (*Anthemis palestina*) دارای فعالیت ضد باکتریایی در برابر طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها می باشد. نتایج نشان داد که باکتری های گرم مثبت نسبت به باکتری های گرم منفی حساس تر به تیمار اسانس بودند. به ویژه، /استافیلوکوکوس

پژوهشی شماره ۱۴۰۲/۵۲ که این مقاله مستخرج از آن می-
باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶-منابع

- [1] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Mortazavi, S. A. , & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(1), 58-64.
- [2] Shirani, K., Falah, F., Vasiee, A., Yazdi, F. T., Behbahani, B. A. , & Zanganeh, H. (2022). Effects of incorporation of *Echinops setifer* extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2899-2907.
- [3] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A. , & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of *Citrus aurantium* essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, 16(87), 291-304.
- [4] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. , & Falah, F. (2020). The combined effect of the combined Fennel and Clove essential oils on *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* and *Enterobacter aerogenes* using Checkerboard assay (fractional inhibitory concentration index). *Journal of Food Science and Technology*, 17(106), 75-83.
- [5] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F. , & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic *Eucalyptus camaldulensis* L. leaves extract against *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Archives of Advances in Biosciences*, 5(2), 59-69.
- [6] Yazdi, F. T., Falah, F., Behbahani, B. A., Vasiee, A. , & Mortazavi, S. A. (2019). Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. *Qom University of Medical Sciences Journal* 13(3), 50-62.
- [7] Noshad, M., Behbahani, B. A., & Nikfarjam, Z. (2022). Chemical composition, antibacterial activity and antioxidant activity of *Citrus bergamia* essential oil: Molecular docking simulations. *Food bioscience*, 50, 102123.
- [8] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A. , & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [9] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T. , & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". *International Journal of Agronomy and Plant Production*, 4(7), 1652-1658.
- [10] Yazdi, F. T. , & Behbahani, B. A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". *Archives of Advances in Biosciences*, 4(4), 56-62.
- [11] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Shahidi, F., & Mohebbi, M. (2012). Antimicrobial activity of *Avicennia marina* extracts ethanol, methanol & glycerin against *Penicillium digitatum* (citrus green mold). *Scientific Journal of Microbiology*, 1(7), 147-151.
- [12] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T. , & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102.
- [13] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A. , & Tabatabaei Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage

- edible coating incorporated with chicory essential oil. *Food science & nutrition*, 9(5), 2458-2467.
- [14] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.
- [15] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615.
- [16] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of *Prangos ferulacea* plant extract and its effect on *Listeria monocytogenes* virulence gene expression [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- [17] Oliveira, L. d. L. d., Carvalho, M. V. d., & Melo, L. (2014). Health promoting and sensory properties of phenolic compounds in food. *Revista Ceres*, 61, 764-779.
- [18] Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J., & Garrido, M. (2020). Plant phenolics: Bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications. *Antioxidants*, 9(12), 1263.
- [19] Halliwell, B., Rafter, J., & Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or not? *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 268S-276S.
- [20] Lo'ay, A., Abu-Orabi, S. T., Hlail, H. M., Alkhatib, R. Q., Al-Dalahmeh, Y., & Al-Qudah, M. A. (2023). *Anthemis cotula* L. from Jordan: Essential oil composition, LC-ESI-MS/MS profiling of phenolic acids-flavonoids and in vitro antioxidant activity. *Arabian Journal of Chemistry*, 16(2), 104470.
- [21] Sabeghi, Y., Varidi, M., & Nooshkam, M. (2024). Bioactive foamulsion gels: a unique structure prepared with gellan gum and *Acanthophyllum glandulosum* extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10.1002/jsfa.13267.
- [22] Panda, S. S., Sahoo, A., Das, K. T., Jena, S., Ray, A., Das, P. K., Nayak, S., & Panda, P. C. (2023). Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of the leaf essential oil of Roxburgh's Cherry (*Eugenia roxburghii*), an underutilized species. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 1-12.
- [23] Noshad, M., Hojjati, M., & Behbahani, B. A. (2018). Black Zira essential oil: Chemical compositions and antimicrobial activity against the growth of some pathogenic strain causing infection. *Microbial pathogenesis*, 116, 153-157.
- [24] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2020). Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study. *Food Science and Biotechnology*, 29(5), 717-728.
- [25] Romanova, D., Vachalkova, A., Cipak, L., Ovesna, Z., & Rauko, P. (2001). Study of antioxidant effect of apigenin, luteolin and quercetin by DNA protective method. *Neoplasma*, 48(2), 104-107.
- [26] Babaei, F., Moafizad, A., Darvishvand, Z., Mirzababaei, M., Hosseinzadeh, H., & Nassiri-Asl, M. (2020). Review of the effects of vitexin in oxidative stress-related diseases. *Food science & nutrition*, 8(6), 2569-2580.
- [27] Victoria, F. N., Lenardão, E. J., Savegnago, L., Perin, G., Jacob, R. G., Alves, D., da Silva, W. P., da Motta, A. d. S., & da Silva Nascente, P. (2012). Essential oil of the leaves of *Eugenia uniflora* L.: antioxidant and antimicrobial properties. *Food and chemical toxicology*, 50(8), 2668-2674.
- [28] Yue, L., Wang, S., Xie, Y., Hou, Z., Liu, L., & Zhang, Y. (2021). Study on Antioxidant Activity of *Anthemis nobilis* Extract in Liquid. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 792(1), 012011.
- [29] Huiwen, T., Bingting, C., Yilizere, A., Delong, L., & Xiaoli, M. (2022). Monosaccharide composition and antioxidant activity of polysaccharides from *Matricaria chamomilia* and *Anthemis nobilis*. *China Food Additives*, 33(2).
- [30] Djihane, B., Wafa, N., Elkhamssa, S., Maria, A. E., & Mihoub, Z. M. (2017). Chemical

- constituents of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don essential oil and their antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and *Candida albicans*. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(5), 780-787.
- [31] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaei Yazdi, F., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi, A. , & Tabatabaei Yazdi, F. (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 18(2), e5989.
- [32] Quarenghi, M., Tereschuk, M., Baigori, M. , & Abdala, L. (2000). Antimicrobial activity of flowers from *Anthemis cotula*. *Fitoterapia*, 71(6), 710-712.
- [33] Bardaweel, S. K., Tawaha, K. A. , & Hudaib, M. M. (2014). Antioxidant, antimicrobial and antiproliferative activities of *Anthemis palestina* essential oil. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 14, 1-8.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the chemical and antimicrobial properties of *Anthemis cotula* essential oil against *Salmonella typhimurium*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae*, *Bacillus cereus* and *Streptococcus pyogenes*

Mohammad Amin Mehrnia^{*1}, Behrooz Alizadeh Behbahani¹, Mohammad Noshad¹

1–Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/4/13 Accepted:2024/6/1 Keywords: Essential oil, antioxidant effects, antimicrobial activity, Mayweed, bioactive compounds. DOI: 10.22034/FSCT.22.159.43. *Corresponding Author E- mehrnia@asnrukh.ac.ir	This study aimed to extract essential oil from the medicinal plant <i>Anthemis cotula</i> (Mayweed) and evaluate its total phenolic content, total flavonoids, antioxidant properties, and antimicrobial activity. The analysis of total phenolic content in the essential oil using the Folin-Ciocalteu method revealed a value of 29.80 mg GAE/g. Additionally, the total flavonoid content was determined to be 13.47 mg QE/g. The essential oil exhibited significant antioxidant activity based on its ability to scavenge free radicals using the DPPH and ABTS methods. The antioxidant activity against DPPH and ABTS radicals was found to be 53% and 55%, respectively. Furthermore, the antimicrobial activity of the essential oil was assessed against various pathogenic bacteria, including <i>Salmonella typhimurium</i>, <i>Enterobacter aerogenes</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Shigella dysenteriae</i>, <i>Bacillus cereus</i>, and <i>Streptococcus pyogenes</i>. The disk diffusion agar, well diffusion agar, and minimum inhibitory concentration methods demonstrated that the essential oil exhibited remarkable antibacterial activity. Among the tested strains, <i>Staphylococcus aureus</i> and <i>Shigella dysenteriae</i> were the most sensitive and resistant, respectively, to the essential oil. These findings highlight that Mayweed essential oil serves as a natural source of bioactive compounds with antioxidant and antibacterial effects against pathogenic bacteria. 3



بررسی پتانسیل آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی اسانس بابونه رومی: مطالعه در شرایط آزمایشگاهی

بهروز علیزاده بهبهانی^{۱*}، محمد نوشاد^۱، محمدامین مهرنیا^۱

۱- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۳/۲۲	در این مطالعه، پس از تهیه اسانس بابونه رومی (<i>Anthemis nobilis</i>) میزان فنول و فلاونوئید کل، خاصیت آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی آن به ۴ روش دیسک دیفیوژن، چاهک آگار، تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و کشندگی بر باکتری های مختلف شامل <i>باسیلوس سرئوس</i> ، <i>استرپتوکوکوس پیورنز</i> ، <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> ، <i>شیگلا دیسانتری</i> ، <i>انتروباکترائروژنز</i> و <i>سالمونلا تیفی</i> موربوم مورد بررسی قرار گرفت. مقدار فنول کل برابر با ۳۳/۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم اسانس و میزان فلاونوئید کل برابر با ۱۴/۶۰ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره به دست آمد. میزان خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس بابونه رومی در روش مهار رادیکال آزاد DPPH برابر با ۵۱/۷۰ درصد و در مهار رادیکال آزاد ABTS برابر با ۵۷/۹۰ به دست آمد. در تمامی روش های ضد میکروبی اسانس تهیه شده بیشترین اثر ضد میکروبی را بر باکتری گرم مثبت <i>استافیلوکوکوس اورئوس</i> و کمترین اثر را بر باکتری <i>شیگلا دیسانتری</i> نشان داد. نتایج به دست آمده نشان می دهد که از اسانس گیاه بابونه رومی می تواند در تولید محصولات غذایی و دارویی به عنوان ترکیبی آنتی اکسیدان و ضد میکروب مورد استفاده قرار گیرد.
کلمات کلیدی: اسانس بابونه رومی، ترکیبات فنولی، خاصیت آنتی اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی	
DOI:10.22034/FSCT.22.159.55. * مسئول مکاتبات: B.alizadeh@asnrukh.ac.ir	

۱- مقدمه

آزولین، گوگرد و گروستین می باشد [۵ و ۶]. اسانس این گیاه دارای اثرات ضد التهابی، آنتی هیستامینی و ضد اسپاسم است و به دلیل اسید والرینیک و گلیکوزیدهای سیانوزنیک خاصیت آرام بخشی دارد. دو ترکیب هیدروپراکسید جدا شده از بابونه رومی دارای فعالیت ضد باکتریایی متوسطی می باشند [۷].

با توجه به خواص موجود در گیاه بابونه رومی، هدف از این پژوهش تهیه اسانس این گیاه و بررسی میزان فنول کل، فلاونوئید کل، خاصیت ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی آن بود.

۲- مواد و روش

۲-۱- سوبه های میکروبی و مواد شیمیایی مورد استفاده میکروارگانیزم های مورد استفاده شامل *اثر واکتر ائروژنز*، *سالمونلا تیفی موریوم*، *شیگلا دیسانتری*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استرپتوکوکوس پیوژنز* و *باسیلوس سرئوس* از کلکسیون میکروبی گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تهیه گردید. محلول کوئرستین، معرف فولین-سیوکالچو، محلول ABTS و محلول DPPH از شرکت سیگما (آمریکا)، محیط های کشت مولر هینتون آگار، مولر هینتون برات و دیسک بلانک از شرکت مرک (آلمان) و اتانول ۹۶ درصد از شرکت صنایع شیمیایی غدیر (ایران) تهیه شدند. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از درجه آزمایشگاهی برخوردار بودند.

۲-۲- تهیه اسانس بابونه

جهت تهیه اسانس، گیاه پودر شده با روش تقطیر با آب در دستگاه کلونجر به مدت ۳ ساعت اسانس گیری شد. اسانس تهیه شده در ظروف تیره و شرایط سرد نگهداری شد [۸].

۲-۳- اندازه گیری میزان فنول کل

ظهور مقاومت به ترکیبات ضد میکروبی رایج مشکل جدی است که پزشکان با آن مواجه هستند. این امر مستلزم توسعه مداوم عوامل جدیدتر است که می توانند رشد ارگانیزم های مقاوم را مهار کنند. استفاده از گیاهان دارویی قرن هاست که شناخته شده است و اثربخشی درمانی آن ها به طور گسترده توصیف شده است [۱]. اخیراً محققان تخمین زده اند که حدود ۴۰۰۰۰۰ گونه گیاهی در سراسر جهان وجود دارد که حدود یک سوم تا یک چهارم آن ها توسط شرکت ها برای اهداف دارویی استفاده شده است. برای هزاران سال، محصولات گیاهی و مشتقات اصلاح شده آن ها منابع غنی برای داروهای مفید بالینی بوده اند. حتی امروزه، بیشتر جمعیت جهان برای مراقبت های بهداشتی عمدتاً به گیاهان و عصاره های گیاهی متکی هستند. گیاهان معطر از دیرباز شناخته شده اند و به دلیل خواص معطر و ضد عفونی کننده خود به عنوان ادویه و نگهدارنده طبیعی مواد غذایی، در صنعت عطرسازی، رایحه درمانی و برای اهداف مختلف پزشکی استفاده می شوند [۲]. اسانس های موجود در گیاهان به عنوان ترکیبات ایمن (GRAS) شناخته می شوند و از مهم ترین محصولات طبیعی استخراج شده از انواع گیاهان هستند. به دلیل خواص ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بالا، اسانس های گیاهی اغلب در صنایع غذایی به عنوان طعم دهنده، آنتی اکسیدان و عامل ضد باکتری استفاده می شود [۳ و ۴].

بابونه رومی با نام علمی *Anthemis nobilis* گیاهی از تیره کاسنی (*Asteraceae*) یا مرکبان (*Compositae*) می باشد که بلندی آن ۲۰ تا ۳۰ سانتی متر و بسیار معطر است. ساقه این گیاه به رنگ سبز مایل به سفید بوده و برگ های آن پوشیده از کرک است. گیاه رومی دارای ترکیباتی مانند اسانس های روغنی و فرار، تانن، ترپنوئیدها، فسترون، فلاونوئیدها،

پس از تهیه کاتیون ABTS، اسانس تهیه شده با ABTS مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در مکان تاریک قرار گرفت. سپس جذب نمونه در ۷۳۴ نانومتر ذخیره شد و قدرت مهارکنندگی (%/ آن طبق فرمول زیر اندازه گیری شد [۱۲]:

$$(\%) = ([A \text{ control} - A \text{ sample}] / A \text{ control})$$

100×فعالیت مهارکنندگی

۲-۶- اندازه گیری فعالیت ضد میکروبی

۲-۶-۱- دیسک دیفیوژن آگار

پس از کشت میکروارگانیسم ها بر روی محیط های کشت مولر هیتون آگار دیسک های آغشته شده به اسانس روی محیط تثبیت گردید. پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد قطر هاله های عدم رشد بر حسب میلی متر اندازه گیری شد [۱۳].

۲-۶-۲- انتشار چاهک در آگار

پس از ایجاد چاهک هایی با قطر ۶ میلی متر در پلیت های حاوی محیط های کشت مولر هیتون آگار، سوسپانسیون های میکروبی در سطح محیط ها کشت داده شد. ۲۰ میکزولیت از غلظت های تهیه شده در چاهک ها ریخته شد. پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شدند. در پایان زمان گرمخانه گذاری قطر هاله های عدم رشد اطراف چاهک ها بر حسب میلی متر با خط کش اندازه گیری گردید [۱۴].

۲-۶-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی

از اسانس تهیه شده در محیط مولر هیتون برات رقت های ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر تهیه شد. سپس، ۱۰۰ میکزولیت از هر رقت و ۱۰ میکزولیت از هر یک از باکتری های مورد استفاده به پلیت های ۹۶ خانه ای اضافه شد. پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از پایان گرمخانه گذاری، به هر

در این روش، ۲۰ میکزولیت اسانس گیاه بابونه رومی به ۱۱۰ میکزولیت معرف فولین-سیوکالچو اضافه شد. در مرحله بعد ۷۰ میکزولیت محلول سدیم کربنات به نمونه اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق، جذب آن در طول موج ۷۶۰ نانومتر ثبت شد. از گالیک اسید جهت تهیه نمودار استاندارد استفاده شد. میزان فنول کل بر حسب میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره گزارش شد [۹].

۲-۴- تعیین میزان فلاونوئید کل

۰/۱ میلی لیتر اسانس (۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر) یا کوئرستین (۰-۰/۵ میلی گرم در میلی لیتر) با ۰/۳ میلی لیتر محلول نیتريت سدیم ۵ درصد مخلوط شد. سپس ۰/۳ میلی لیتر آلومینیوم تری کلراید ۱۰ درصد وزنی/حجمی به آن اضافه شد. پس از ۶ دقیقه، ۲ میلی لیتر سود ۱ مولار به آن اضافه گردید. در پایان جذب نمونه در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه گیری شد. میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی گرم کوئرستین در گرم اسانس گزارش گردید [۱۰].

۲-۵- اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی

۲-۵-۱- اندازه گیری مهار رادیکال آزاد DPPH

در این روش، ۲ میلی لیتر نمونه با ۱ میلی لیتر محلول DPPH ۰/۲ میلی مولار در اتانول مخلوط شد. نمونه ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق در مکانی تاریک نگهداری شدند. جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه گیری شد. نمونه کنترل طبق روش ذکر شده تهیه گردید با این تفاوت که به جای نمونه از آب مقطر استفاده شد. در انتها، فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH اسانس بابونه رومی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۱].

$$(\%) \text{فعالیت مهارکنندگی} = \frac{Abs \text{ sample} - Abs \text{ control}}{Abs \text{ control}} \times 100$$

۲-۵-۲- اندازه گیری مهار رادیکال آزاد ABTS

درصد ($p < 0.05$) بررسی گردید. تمامی آزمون‌ها در ۳ تکرار انجام شد.

۳- نتایج و بحث

میزان فنول و فلاونوئید کل اسانس بابونه رومی در شکل ۱ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان فنول کل برابر با $33/50$ میلی گرم گالیک اسید در گرم اسانس و مقدار فلاونوئید کل آن برابر با $14/60$ میلی گرم کوئرستین در گرم اسانس بود. میزان فنول کل قسمت رویشی بابونه رومی کشت داده شده در عراق $33/5$ درصد گزارش شده است [۱۷]. همچنین میزان فنول کل در عصاره *Anthemis cretica* subsp. *argaea* و *Anthemis fumariifolia* به ترتیب $48/51$ و $31/94$ میلی گرم گالیک اسید در گرم عصاره و میزان فلاونوئید این دو نوع بابونه به ترتیب $11/49$ و $12/88$ میلی گرم کوئرستین در گرم عصاره گزارش شده است [۱۸].

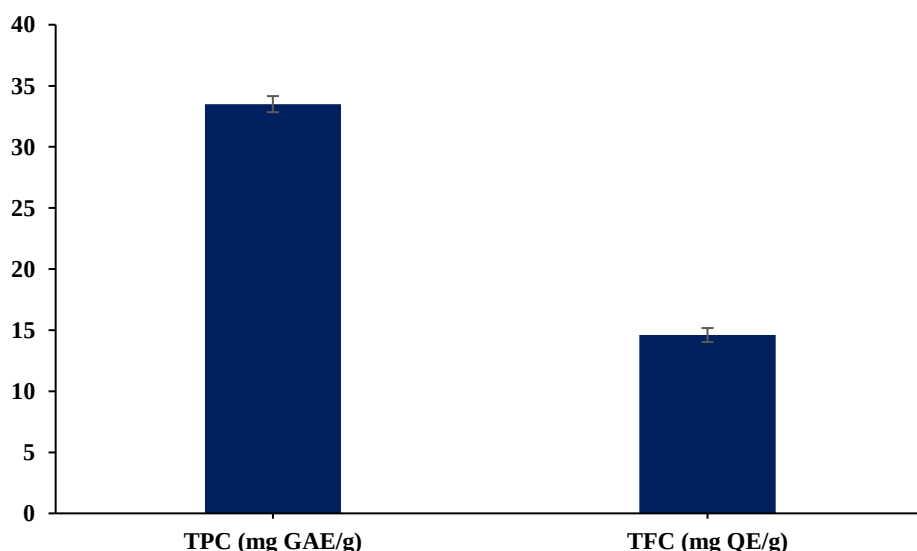


Figure 1. Total phenol content (TPC) and total flavonoid content (TFC) of *A. nobilis* essential oil. GAE = Gallic acid equivalent; QE = Quercetin equivalent.

داده شده است. مشاهده می‌شود که میزان فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH و ABTS برابر با $51/70$ و $57/90$ درصد بود. در پژوهشی خاصیت آنتی اکسیدانی

یک از چاهک‌ها معرف تری فنل تترازولیوم (5 میلی گرم بر میلی لیتر) اضافه و به مدت 30 دقیقه گرمخانه‌گذاری شد. در پایان کمترین غلظتی که در آن هیچ‌گونه تغییر رنگی مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی گزارش شد [۱۵].

۲-۶-۴- حداقل غلظت کشندندگی

از چاهک‌های فاقد تغییر رنگ در آزمون حداقل غلظت مهارکنندگی میزان 100 میکرولیتر در پلیت‌های حاوی محیط‌های کشت مولر هیتون کشت داده شد. سپس پلیت‌های حاوی باکتری به مدت 24 ساعت در دمای 37 درجه سانتی‌گراد غلظت‌های فاقد رشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی گزارش شد [۱۶].

۲-۷- آنالیز آماری

نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۸، از طریق واریانس یک طرفه انجام شد. معنی‌دار بودن اختلاف بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان 95

میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس بابونه رومی به هر دو روش مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS در شکل ۲ نشان

در نتایج فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولی در گونه‌های مختلف یک گیاه به نحوه کشت، زمان برداشت، روش استخراج، شرایط اقلیمی، روش خشک کردن و تفاوت روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی مرتبط دانست [۲۲ و ۲۳].

عصاره بابونه رومی بالاتر از آنتی اکسیدان مصنوعی دی بوتیل هیدروکسی تولوئن گزارش شده است [۱۹]. در پژوهش یو همکاران (۲۰۲۱) [۲۰]، هوون و همکاران (۲۰۲۲) [۲۱] و آلباراک و آکسوی (۲۰۱۳) [۱۸] فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه بابونه گزارش شده است. دلیل تفاوت

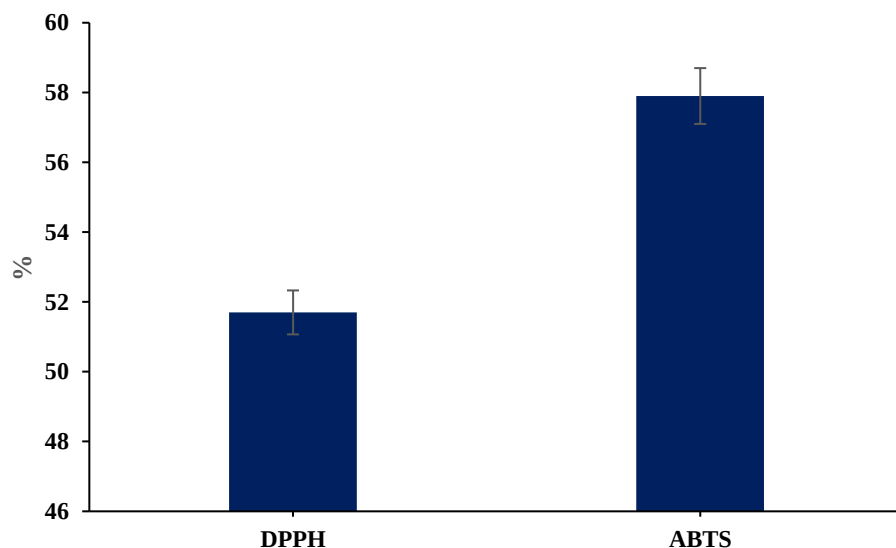


Figure 2. Antioxidant effect of *A. nobilis* essential oil based on DPPH and ABTS radical scavenging methods.

بیشترین قطر هاله عدم رشد (۱۸/۸۰ میلی‌متر) و باکتری شیگلا دیسانتری با کمترین قطر هاله عدم رشد (۱۰/۲۰ میلی‌متر) به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین باکتری به اسانس می‌باشند ($p \leq 0.05$).

نتایج فعالیت ضد میکروبی اسانس بابونه رومی به روش دیسک دیفیوژن در شکل ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود که باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* با

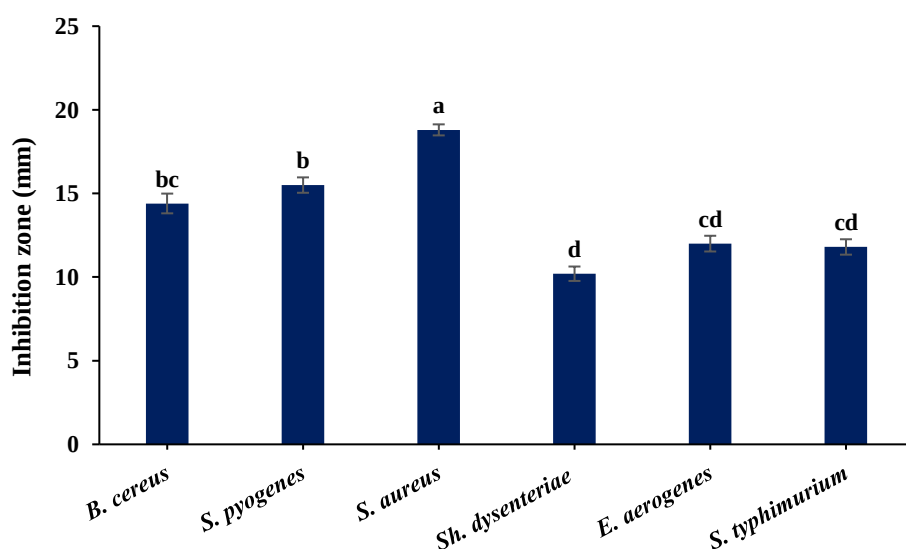


Figure 3. Antibacterial effect of *A. nobilis* essential oil based on disc diffusion agar method.

حساسیت و باکتری شیگلا دیسانتری با قطر هاله‌ای برابر با

۱۰/۹۰ میلی‌متر بیشترین مقاومت را به اسانس نشان دادند

($p \leq 0.05$).

همچنین با توجه به نتایج آزمون چاهک آگار در شکل ۴،

مشاهده می‌شود که در این روش نیز باکتری/استافیلوکوکوس

/اورئوس با قطر هاله‌ای برابر با ۲۰/۱۰ میلی‌متر بیشترین

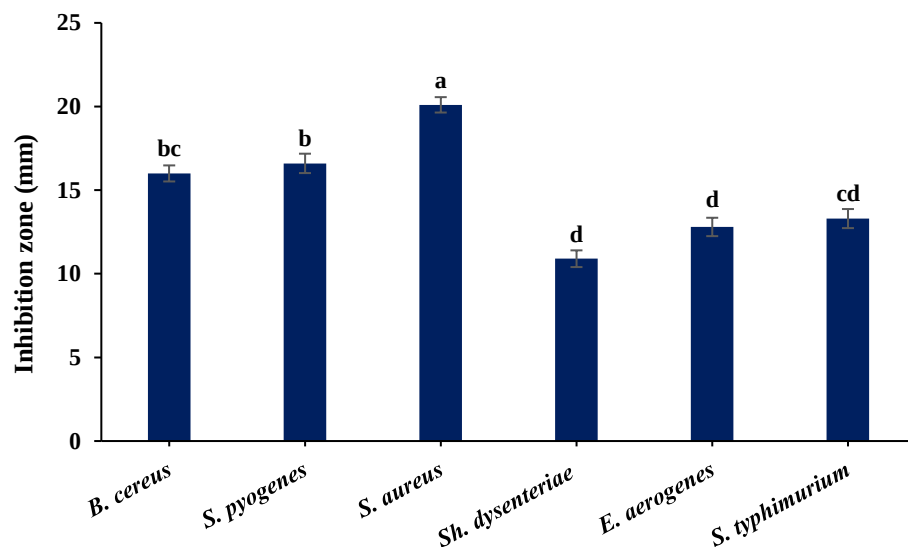


Figure 4. Antibacterial effect of *A. nobilis* essential oil based on well diffusion agar method.

دیسک‌ها اثر ضعیف‌تری را بر روی باکتری‌ها نشان می‌دهد

[۲۴].

نتایج حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی اسانس بابونه

در جدول ۱ نشان داده شده است. مشاهده می‌شود که

باکتری/استافیلوکوکوس/اورئوس کمترین غلظت

مهارکنندگی (۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کشندگی (۱۲۸

میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و باکتری شیگلا دیسانتری بیشترین

غلظت مهارکنندگی (۱۲۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کشندگی

(بزرگتر از ۵۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) را نشان دادند.

مقایسه دو آزمون دیسک دیفیوژن و چاهک آگار نشان

می‌دهد که قطر هاله‌های عدم رشد در روش دیسک دیفیوژن

بیشتر از قطر هاله‌های عدم رشد در روش چاهک آگار

می‌باشد. این امر می‌تواند به این دلیل باشد که در روش

چاهک آگار اسانس با میکروارگانیسم‌ها تماس مستقیم

داشته و اثر بیشتری را روی آن‌ها نشان می‌دهد، در حالی که

در روش دیسک دیفیوژن اسانس پس از عبور از سطح

Table 1. Antibacterial effect of *A. nobilis* essential oil based on minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) methods

Bacterial type	MIC (mg/mL)	MBC (mg/mL)
<i>B. cereus</i>	16	256
<i>S. pyogenes</i>	8	256
<i>S. aureus</i>	4	128
<i>Sh. dysenteriae</i>	128	> 512
<i>E. aerogenes</i>	64	> 512
<i>S. typhimurium</i>	64	> 512

است با مکانیسم‌های متفاوتی نسبت به مکانیسم‌هایی که در حال حاضر استفاده می‌شوند، رشد باکتری‌ها را مهار کنند. بنابراین، این ترکیبات ضد میکروبی ممکن است ارزش بالینی قابل توجهی در درمان سویه‌های میکروبی مقاوم داشته باشند. به طور خاص، فعالیت ضد میکروبی روغن‌ها و عصاره‌های گیاهی اساس بسیاری از کاربردها از جمله نگهداری مواد غذایی خام و فرآوری شده، داروسازی و درمان‌های طبیعی را تشکیل داده است [۲۸].

۴- نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که اسانس گیاه بابونه رومی حاوی مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی بوده و به دنبال آن دارای اثرات آنتی اکسیدانی بالایی می‌باشد. علاوه بر این بررسی خاصیت ضد میکروبی اسانس این گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی نشان داد که گیاه بابونه رومی قادر به مهار طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا و عامل فساد می‌باشد، هر چند که اثرات ضد میکروبی آن بر باکتری‌های گرم مثبت بالاتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد. به توجه به این نتایج این اسانس می‌تواند به عنوان یک ترکیب مؤثره در صنعت داروسازی و غذایی مورد استفاده قرار گیرد.

۵- تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت حمایت مالی طرح پژوهشی شماره ۱۴۰۲/۵۲ که این مقاله مستخرج از آن می‌باشد تشکر و قدردانی می‌نمایند.

اثر ضد میکروبی بیشتر اسانس بابونه بر روی باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکوس اورئوس*) در مقایسه با باکتری گرم منفی (*شیگلا دیسانتری*) می‌توان به دلیل تفاوت در ساختارهای مورفولوژیکی بین این میکروارگانیسم‌ها نسبت داد. باکتری‌های گرم منفی یک غشای فسفولیپیدی خارجی دارند که اجزای لیپولی ساکارید ساختاری را حمل می‌کند. این باعث می‌شود که دیواره سلولی در برابر مواد شیمیایی ضد میکروبی نفوذ ناپذیر باشد. از طرف دیگر، باکتری‌های گرم مثبت تنها دارای یک لایه پپتیدوگلیکان بیرونی هستند که یک مانع نفوذپذیری مؤثر نیست. بنابراین، دیواره سلولی ارگانیسم‌های گرم منفی که پیچیده‌تر از ارگانیسم‌های گرم مثبت هستند به عنوان یک مانع انتشار عمل می‌کنند و آن‌ها را نسبت به باکتری‌های گرم مثبت نسبت به عوامل ضد میکروبی کمتر حساس می‌کند. با وجود این تفاوت‌های نفوذپذیری، برخی از عصاره‌ها هنوز در جاتی از بازدارندگی را در برابر ارگانیسم‌های گرم منفی نیز اعمال می‌کنند [۲۵].

در مطالعات مختلف خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها و اسانس‌های گونه‌های مختلف بابونه گزارش شده است. به عنوان مثال، گزارش شده است که اسانس بابونه دارای خاصیت ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری‌های *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *سراشیا مارسینس* و *اشرشیاکلی* در مقایسه با آنتی‌بیوتیک جنتامایسین می‌باشد [۲۶]. در مطالعه دیگری اثر ضد میکروبی اسانس‌های تهیه شده از بابونه آلمانی و بابونه کبیر بر روی باکتری‌های *باسیلوس سوبتیلیس*، *لیستریا مونوسیتوژنز*، *باسیلوس سرئوس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *اشرشیاکلی* و *سالمونلا تیفی موریوم* گزارش شده است [۲۷]. گیاهان ممکن

۶- منابع

- [1] Alizadeh Behbahani, B., Yazdi, F. T., Mortazavi, A., Gholian, M. M., Zendeboodi, F., & Vasiee, A. (2014). Antimicrobial effect of Carboxy Methyl Cellulose (CMC) containing aqueous and ethanolic *Eucalyptus camaldulensis* L. leaves extract against *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*. *Archives of Advances in Biosciences*, 5(2), 59-69.
- [2] Sureshjani, M. H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., Behbahani, B. A., & Shahidi, F. (2014). Antimicrobial effects of *Kelussia odoratissima* extracts against food borne and food spoilage bacteria" in vitro. *Journal of Paramedical Sciences*, 5(2), 115-120.
- [3] Heydari, S., Jooyandeh, H., Alizadeh Behbahani, B., & Noshad, M. (2020). The impact of Qodume Shirazi seed mucilage-based edible coating containing lavender essential oil on the quality enhancement and shelf life improvement of fresh ostrich meat: An experimental and modeling study. *Food Science & Nutrition*, 8(12), 6497-6512.
- [4] Tanavar, H., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B., & Mehrnia, M. A. (2021). Investigation of the chemical properties of *Mentha pulegium* essential oil and its application in *Ocimum basilicum* seed mucilage edible coating for extending the quality and shelf life of veal stored in refrigerator (4°C). *Food Science & Nutrition*, 9(10), 5600-5615.
- [5] Azizi, M. (2007). Study of four improved cultivars of *Matricaria chamomilla* L. in climatic condition of Iran. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 22(4), 386-396.
- [6] Neshat Gharamaleky, M., Bagheri, Y., Delashoub, M., Rafie, H., Bahrami, A. M., & Delkhosh, A. (2020). Effects of *Chamaemelum nobile* hydro alcoholic extract on reproductive and behavioural parameters in male rats exposed to immobility stress. *Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal*, 14(53), 61-71.
- [7] Harfouch, R. M., Darwish, M., Al-Asadi, W., Mohammad, A. F., Gharib, N. M., & Haroun, M. (2019). Antibacterial activity of essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis* and *Anthemis nobilis* widespread in the Syrian coast. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 12(7), 3410-3412.
- [8] Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M., & Falah, F. (2020). The combined effect of the combined Fennel and Clove essential oils on *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* and *Enterobacter aerogenes* using Checkerboard assay (fractional inhibitory concentration index). *Journal of Food Science and Technology*, 17(106), 75-83.
- [9] Tabatabaei Yazdi, F., Falah, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., & Mortazavi, A. (2019). Antimicrobial effect of *Citrus aurantium* essential oil on some food-borne pathogens and its determination of chemical compounds, total phenol content, total flavonoids content and antioxidant potential. *Journal of Food Science and Technology*, 16(87), 291-304.
- [10] Falah, F., Shirani, K., Vasiee, A., Yazdi, F. T., & Behbahani, B. A. (2021). In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of *Echinops setifer* extract. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 35, 102102.
- [11] Noshad, M., Behbahani, B. A., & Nikfarjam, Z. (2022). Chemical composition, antibacterial activity and antioxidant activity of *Citrus bergamia* essential oil: Molecular docking simulations. *Food bioscience*, 50, 102123.
- [12] Shirani, K., Falah, F., Vasiee, A., Yazdi, F. T., Behbahani, B. A., & Zanganeh, H. (2022). Effects of incorporation of *Echinops setifer* extract on quality, functionality, and viability of strains in probiotic yogurt. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(4), 2899-2907.
- [13] Tabatabaei Yazdi, F., Alizadeh Behbahani, B., Vasiee, A., Mortazavi, S. A., & Yazdi, F. T. (2015). An investigation on the effect of alcoholic and aqueous extracts of *Dorema aucheri* (Bilhar) on some pathogenic bacteria in vitro. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(1), 58-64.
- [14] Jalil Sarghaleh, S., Alizadeh Behbahani, B., Hojjati, M., Vasiee, A., & Noshad, M. (2023). Evaluation of the constituent compounds, antioxidant, anticancer, and antimicrobial potential of *Prangos ferulacea* plant extract and its effect on *Listeria monocytogenes* virulence gene expression [Original Research]. *Frontiers in Microbiology*, 14.
- [15] Yazdi, F. T., Falah, F., Behbahani, B. A., Vasiee, A., & Mortazavi, S. A. (2019).

- Identification of Chemical Compounds, Antioxidant Potential, Phenolic Content and Evaluation of Inhibitory and Bactericidal/Fungicidal Effects of Ginger Essential Oil on Some Pathogenic Microorganisms in Vitro. Qom University of Medical Sciences Journal 13(3), 50-62.
- [16] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T. , & Mohebbi, M. (2013). Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro". International Journal of Agronomy and Plant Production, 4(7), 1652-1658.
- [17] Mohammed, I. H., Hameed, A. T. , & Salman, H. F. (2020). Phytochemical and Biological of *Anthemis nobilis* (Asteraceae family) a Native Herbs of Iraq. Systematic Reviews in Pharmacy, 11(2).
- [18] Albayrak, S. , & Aksoy, A. (2013). Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activities of Two Endemic *Anthemis* Species in Turkey. Journal of Food Biochemistry, 37(6), 639-645.
- [19] Povilaityte, V. , & Venskutonis, P. R. (2000). Antioxidative activity of purple peril (*Perilla frutescens* L.), moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), and roman chamomile (*Anthemis nobilis* L.) extracts in rapeseed oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 77(9), 951.
- [20] Yue, L., Wang, S., Xie, Y., Hou, Z., Liu, L. , & Zhang, Y. (2021). Study on Antioxidant Activity of *Anthemis nobilis* Extract in Liquid. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 792(1), 012011.
- [21] Huiwen, T., Bingting, C., Yilizere, A., Delong, L. , & Xiaoli, M. (2022). Monosaccharide composition and antioxidant activity of polysaccharides from *Matricaria chamomilla* and *Anthemis nobilis*. China Food Additives, 33(2).
- [22] Alizadeh Behbahani, B., Falah, F., Vasiee, A. , & Tabatabaee Yazdi, F. (2021). Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a *Lepidium perfoliatum* seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil. Food science & nutrition, 9(5), 2458-2467.
- [23] Alizadeh Behbahani, B. , & Imani Fooladi, A. A. (2018). Evaluation of phytochemical analysis and antimicrobial activities *Allium* essential oil against the growth of some microbial pathogens. Microbial Pathogenesis, 114, 299-303.
- [24] Alizadeh Behbahani, B. , & Shahidi, F. (2019). *Melissa officinalis* Essential Oil: Chemical Compositions, Antioxidant Potential, Total Phenolic Content and Antimicrobial Activity. Nutrition and Food Sciences Research, 6(1), 17-25.
- [25] Alizadeh Behbahani, B., Tabatabaee Yazdi, F., Noorbakhsh, H., Riazi, F., Jajarmi, A. , & Tabatabaee Yazdi, F. (2016). Study of the antibacterial activity of methanolic and aqueous extracts of *Myrtus communis* on pathogenic strains causing infection. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 18(2), e5989.
- [26] Kapadia, L. , & Talib, B. (2001). Antibacterial activity of the essential oil of (*Matricaria chamomilla* L.).
- [27] Rashidi, Z. , & Najafzadeh, R. (2018). Investigating Growth Traits Variation, Essential Oil Percentage and Ecological Characteristics of Different *Anthemis* Species in Kurdistan Province (Iran). Taxonomy and Biosystematics, 10(37), 1-12.
- [28] Yazdi, F. T. , & Behbahani, B. A. (2013). Antimicrobial effect of the aqueous and ethanolic *Teucrium polium* L. extracts on gram positive and gram negative bacteria "in vitro". Archives of Advances in Biosciences, 4(4), 56-62.



Scientific Research

Investigating the antioxidant potential and antimicrobial effect of Roman (*Anthemis nobilis*) chamomile essential oil: “*in vitro*”

Behrooz Alizadeh Behbahani^{*1}, Mohammad Noshad¹, Mohammad Amin Mehrnia¹

¹Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/4/29 Accepted:2024/6/11	In this study, after preparing Roman chamomile (<i>Anthemis nobilis</i>) essential oil, the total phenol and flavonoid content, antioxidant properties, and antimicrobial effects were evaluated using four methods: disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and bactericidal inhibitory concentration. The study included various bacteria such as <i>Bacillus cereus</i>, <i>Streptococcus pyogenes</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Shigella dysenteriae</i>, <i>Enterobacter aerogenes</i>, and <i>Salmonella typhimurium</i>. The total phenol content was 33.50 mg gallic acid per gram of essential oil, and the total flavonoid content was 14.60 mg quercetin per gram of extract. The antioxidant activity of <i>A. nobilis</i> essential oil was 51.70% in the DPPH radical scavenging method and 57.90% in the ABTS radical scavenging method. Among all antimicrobial methods, the essential oil exhibited the highest antimicrobial effect against Gram-positive bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> and the least effect against <i>Shigella dysenteriae</i>. The results suggest that <i>A. nobilis</i> essential oil can be used in the production of food and pharmaceutical products as an antioxidant and antimicrobial compound.
Keywords: <i>Anthemis nobilis</i> essential oil, Phenolic compounds, Antioxidant properties, Antimicrobial activity.	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.55. *Corresponding Author E- B.alizadeh@asnrukh.ac.ir	



عنوان: بهینه سازی شرایط واکنش تولید نشاسته گندم فسفریله به منظور استفاده در فرمولاسیون کنسروها

محمدکاظم حیدریان^۱، مجید هاشمی^{۲*}، الناز میلانی^۳، غلامعلی گلی موحد^۴، شهرام بیرقی طوسی^۲

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.

چکیده

اطلاعات مقاله

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 (POCl₃) با استفاده از سه متغیر مستقل pH (۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵)، دما (۳۵، ۴۵ و ۵۵ 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 حالیت، 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 می شود [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 هزینه های بالای مربوط به روش های اصلاح شیمیایی موجود است [۱۰]. به همین منظور بهینه سازی 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 گروه های عاملی به گرانول های نشاسته بدون هیچ گونه تغییر فیزیکی در شکل می باشد. هر یک از واحدهای گلوکز موجود در آمیلوز و آمیلوپکتین دارای سه گروه هیدروکسیل فعال هستند که مکان های اصلی اصلاح شیمیایی در نشاسته می باشند [۱۱]. خواص نشاسته های 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 نشاسته های اصلاح شده تأثیر گذار است [۱۲].

فرایند تولید نشاسته های دارای اتصالات عرضی، با استفاده از مواد شیمیایی، شاخه های آمیلوز و آمیلوپکتین را از طریق پیوندهای استری به یکدیگر اتصال می دهند، بنابراین باعث افزایش تقویت و یکپارچگی ساختار گرانول می شوند [۱۳]. هدف از اتصال عرضی، تولید نشاسته اصلاح شده ای است که در مقایسه با نشاسته طبیعی، ژل سفت تر، 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 سال های اخیر راه اندازی شده است. با این وجود، به دلیل عدم امکان بکار گیری نشاسته طبیعی^۱ در صنایع مختلف، اصلاح نشاسته گندم به منظور بهبود خصوصیات آن و جلوگیری از واردات گسترده نشاسته های اصلاح شده به کشور ضروری به نظر می رسد. کاربرد نشاسته طبیعی در صنعت به دلیل ماهیت ناپایدار در برابر تغییرات دما، pH و نیروهای برشی (شکست ویسکوزیته^۲ 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) می شود؛ بنابراین، نشاسته ها به منظور افزایش حلالیت، بهبود ویژگی های 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، روش های اصلاح مختلفی در دهه های گذشته اعمال شده اند [۴]. هر گونه تغییر در ساختار مولکول نشاسته ناشی از عوامل مختلف محیطی، عملیاتی و فراوری به عنوان اصلاح^۳ نامیده می شود [۵]. در صنعت، برای تغییر خواص نشاسته طبیعی از تیمار فیزیکی، شیمیایی و آنزیمی استفاده می شود. تفاوت در خواص فیزیکوشیمیایی نشاسته، کاربرد آن را در صنعت تعیین می کند [۶، ۷].

اصلاح شیمیایی شامل اکسیداسیون، سوکسینیلایسیون، استریفیکاسیون، اتریفیکاسیون و فسفریلایسیون است [۸]. در این روش اصلاح نشاسته، جایگزین کردن ترکیب گروه های

1. Native

2. Break-Down

3. Modification

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

۳-۲- تولید نشاسته‌های فسفریله به روش فسفر اکسی کلراید اِبی (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 اصلاح‌شده حاصل بوسیله سانتریفوژ (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) بازبایی 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^۸ 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 دیونیزه و پنج میلی‌لیتر محلول ید (0.025 mol/L) در 0.065 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 (STMP^5)، تری پلی فسفات سدیم (STPP^6)، اپی کلروهیدرین (ECH^7) و فسفوریل کلرید (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 (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 سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شدند. وزن لایه ته نشین شده محاسبه، و سپس حلالیت و قدرت تورم بر اساس روابط زیر تعیین گردید [۱۹، ۲۰].

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

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

مقادیر m_1 : وزن نمونه اولیه نشاسته، مقادیر m_2 : وزن مایع رویی خشک شده و مقادیر m_3 : وزن لایه ته نشین شده می باشد.

۲-۷- اندازه گیری آب اندازی ژل های نشاسته

برای تعیین میزان آب اندازی ژل نشاسته، سوسپانسیون ۵ درصدی نشاسته در آب دیونیزه حاوی ۲۰۰ ppm سدیم آزید، در لوله در پیچ دار 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، لوله ها با مخلوط آب و یخ سریعاً سرد شدند و در یخچال نگهداری گردیدند. سپس لوله ها از یخچال خارج و به مدت ۱۵ دقیقه در شتاب ۲۵۰۰ g سانتریفیوژ شدند. لایه شناور حذف و اختلاف وزن اندازه گیری گردید. درصد آب اندازی 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 پیچ دار تهیه شد. این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط یکنواخت و سپس در حمام آب جوش به مدت ۲۰ دقیقه همراه با هم زدن 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 رنگ سنجی، در نتیجه ی واکنش با آمونیوم مولیبدات مطابق با روش جکسون (۱۹۶۷) تعیین شد [۱۸]. در ابتدا ۰/۱ گرم از نمونه های نشاسته با ۱۵ میلی لیتر از مخلوط سه اسید نیتریک اسید، پرکلریک اسید و سولفوریک اسید (با نسبت های به ترتیب از چپ به راست ۱:۴:۱۰) هضم شدند. بعد از شفاف شدن رنگ، نمونه ها به یک فلاسک پنجاه میلی لیتری استاندارد منتقل شد و با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق گردیدند. سپس پنج میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات به فلاسک ها اضافه و با آب مقطر به حجم رسانیده شد. نمونه شاهد نیز با استفاده از پنج میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات تهیه گردید. جذب نمونه ها در ۴۹۰ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین شد. منحنی استاندارد با استفاده از جذب رقت های مختلف پتاسیم دی هیدروژن ارتوفسفات تهیه شد. در نهایت میزان درجه جایگزینی فسفر با استفاده از معادله ذیل تعیین گردید:

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

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

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. نمونه ها توسط همزن مغناطیسی یکنواخت شدند و در حمام آب با دماهای ۶۰، ۷۵ و ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت دهی گردیدند. طی این مدت، هر ۵ دقیقه یک بار نمونه ها یکنواخت شدند. نمونه ها 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.

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

که A_c و A_a 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 میلی گرم 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 کالری سنجی روبشی افتراقی از دمای ۲۰ تا ۱۲۰ سانتی گراد 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 سانتی گراد به مدت دو ساعت درون انکوباتور انجام شد. لوله‌های سانتریفیوژ در شتاب ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ 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 اصلاح شده 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 سانتی گراد 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 (FTIR)

طیف مادون قرمز نمونه‌های نشاسته طبیعی و نمونه اصلاح شده 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 cm^{-1} تا 400 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 ۴۰ درجه، با گام ۰/۰۴ درجه بود. درصد

شرایط دو بار فشردن با سرعت 2 mm/s، درصد تغییرات پنجاه درصد و نیروی بارگذاری اولیه ۱۰ 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 [۲۸] پیشنهاد شده است. بر اساس داده‌های تغییرات نیرو-زمان، شاخص سختی^{۱۴} 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 (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) 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 آن‌ها 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 ۹۶۰ rpm و سپس ۱۶۰ rpm تنظیم گردید. تغییرات ویسکوزیته نمونه طی زمان آزمون بر اساس برنامه تغییرات دمایی نمونه در پنج مرحله اندازه‌گیری شد. ۱- نگهداری در ۵۰°C به مدت یک دقیقه؛ ۲- افزایش دما از ۵۰°C به ۹۵°C با سرعت ۱۲°C/min؛ ۳- نگهداری در دمای ۹۵°C به مدت ۲/۵ دقیقه؛ ۴- کاهش دما از ۹۵°C به ۵۰°C با سرعت ۱۲°C/min و ۵- نگهداری در دمای ۵۰°C به مدت دو دقیقه. شاخص‌های دمای خمیری- شدن^{۱۰}، ویسکوزیته حداکثر^{۱۱}، ویسکوزیته شکست^{۱۲} و ویسکوزیته نهایی^{۱۳} بر اساس نمودار تغییرات ویسکوزیته در برابر دما توسط نرم افزار تعیین شد [۲۷].

۲-۱۴- اندازه گیری سختی ژل نشاسته

به منظور بررسی سختی ژل نشاسته، ابتدا سوسپانسیون ۱۰ درصدی نشاسته در آب دیونیزه تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه توسط همزن مکانیکی هم‌زده شد. نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش با سرعت هم‌زن ۱۶۰ دور در دقیقه برای پخت قرار داده شد. خمیر داغ حاصل به قالب استوانه‌ای با قطر و ارتفاع ۱۰ میلی‌متر منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال به منظور تشکیل و توسعه ژل نگهداری شد. آزمون تحلیل پروفایل بافت نمونه ژل با استفاده از دستگاه بافت‌سنج با لودسل ۵۰ 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

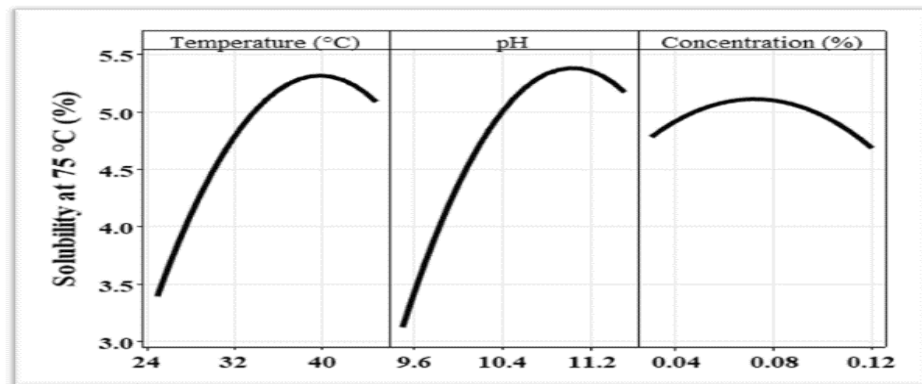
Chemical composition	Content (%)
Moisture	11.00 ± 0.40
Protein*	0.77 ± 0.06
Fat*	0.09 ± 0.02
Ash*	0.30 ± 0.01

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

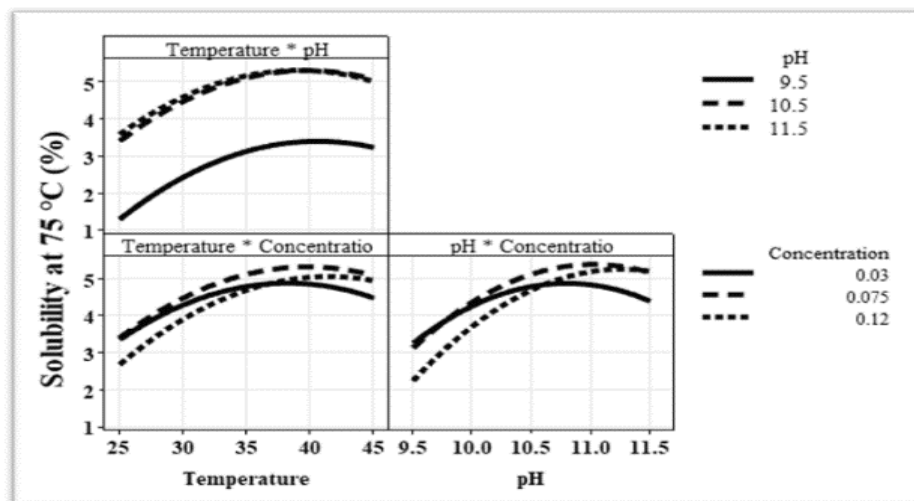
۳-۲- انحلال پذیری

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 ($p < 0.05$).

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 سانتی گراد 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 تولیدشده 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 -0.752 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

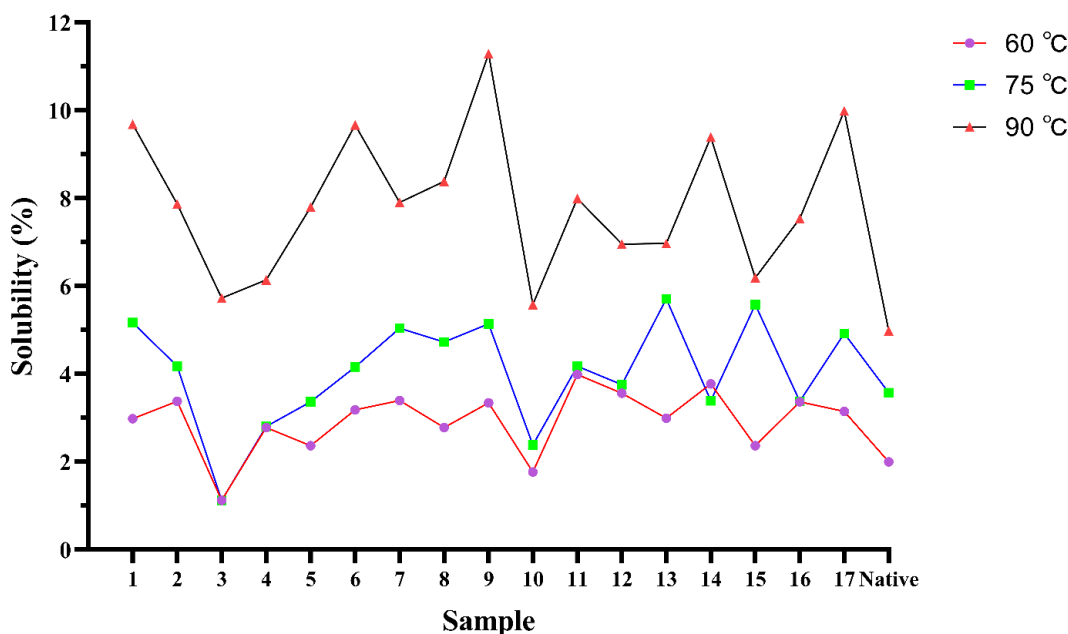


Fig 2. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate of phosphorylated wheat starch at 90°C.

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.

ونگساگونساپ 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

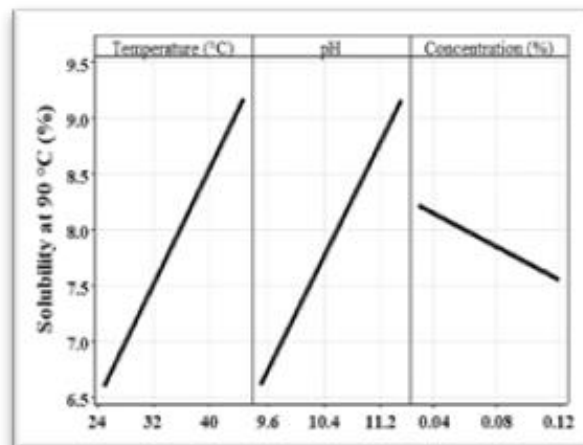
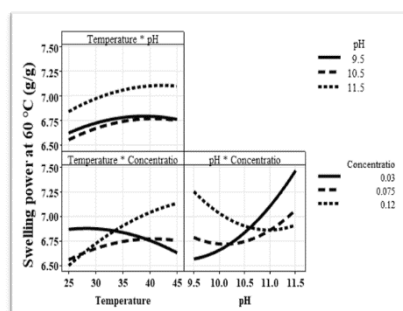


Fig 3. Solubility of native and crosslinked starch samples at 60, 75 and 90°C.

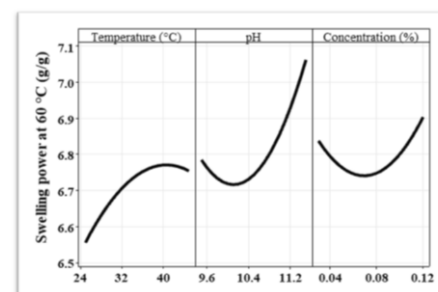
معنی دار درجه دو برای اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر میزان قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولیدشده به دست آمد ($p < 0.05$).

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



B



A

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 معنی دار بود ($p < 0.05$) و ضریب همبستگی معادل ۰/۵۴۴- به دست آمد.

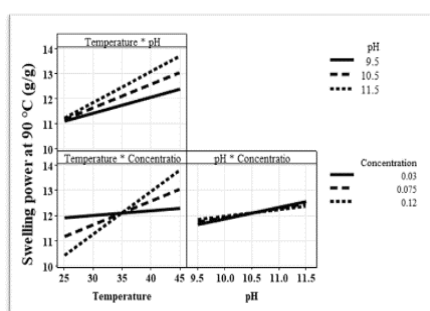
میزان قدرت تورم نشاسته‌های فسفریله در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد در دامنه ۹/۷۸ g/g – ۶/۵۳ قرار داشت. مقدار این

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 معنی دار 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

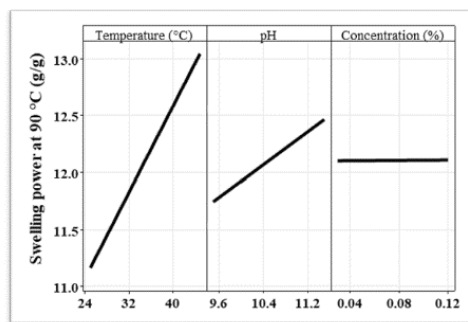
درخصوص روند تغییرات مدل خطی با اثرات متقابل برای اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر میزان قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولیدشده معنی دار گردید ($p < 0.05$). شرایط واکنش تاثیر خود را به صورت اثر خطی افزایشی دما و مقدار pH (شکل ۵) و نیز اثرات متقابل سینرژیستی دما-pH و دما-غلظت واکنشگر 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 -0.7655 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.



B



A

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

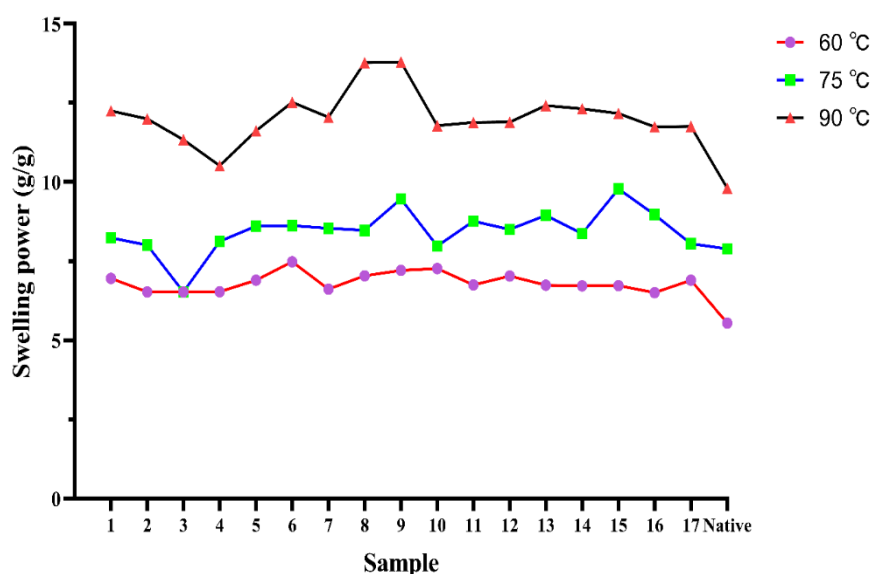


Fig 6. Swelling power of native and crosslinked starch samples at 60, 75 and 90°C.

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 فیزیکیوشیمیایی نشاسته ذرت اتصال عرضی یافته به وسیله POCl_3 دریافتند که در غلظت ۰.۰۱ درصد 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 ۴/۶۶ – ۲/۶۲ درصد قرار داشت، درحالی که این مقدار برای نشاسته خام اولیه ۳/۷۹ 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].

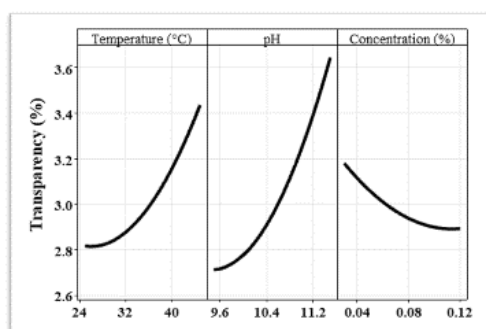
وانگ و همکاران (۲۰۰۳) تاثیر اصلاح فسفریلاسیون را بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی، حرارتی و خمیری شدن نشاسته ذرت مورد بررسی قرار دادند نتایج این گزارش نشان داد که

[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].

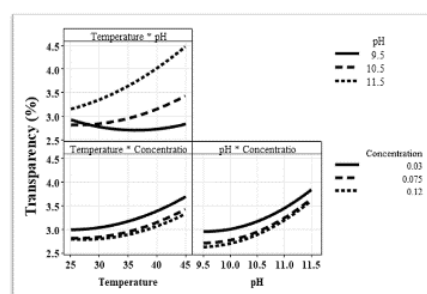
از طرف دیگر افزایش شفافیت ژل با افزایش میزان فسفریلاسیون می تواند ناشی از گروه‌های فسفات باردار باشد که به آگیری مولکول‌های نشاسته کمک کرده و میزان کریستالیزاسیون مجدد آن‌ها را کاهش می‌دهند. در واقع گروه‌های فسفات می‌توانند پیوندهای میان مولکول‌های نشاسته و آب را تقویت کرده و از این طریق به افزایش قدرت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



B



A

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- سینر سیس

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 نمونه ها کاهش یافت (شکل ۸).

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

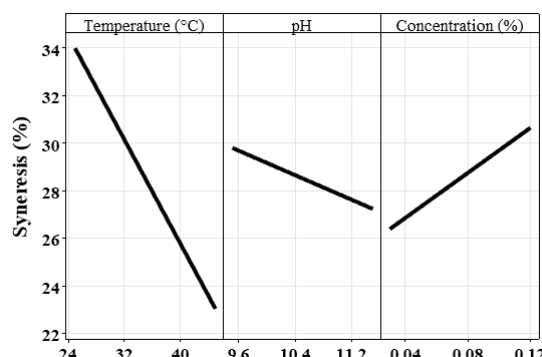


Fig 8. Effects of temperature, pH and reactant concentration on phosphorylated wheat starch syneresis

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 نمونه های فسفریله شده، با افزایش میزان اتصالات عرضی، کاهش یافته است؛ چرا که وجود نیروی دافعه میان گروه های فسفات درون مولکول های نشاسته فسفریله می تواند از اتصال مجدد این مولکول ها 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 نمونه های 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 نمونه های 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

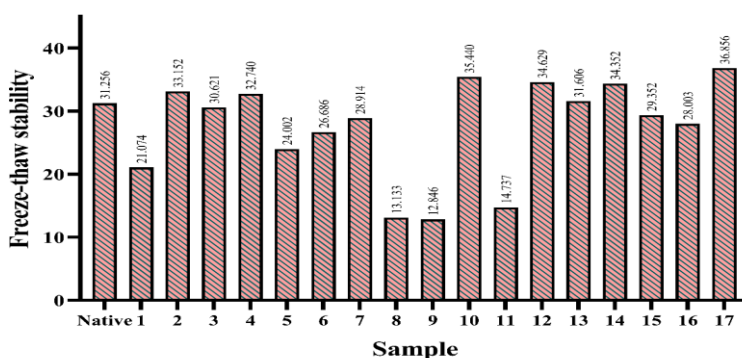


Fig 9. Freeze-thaw stability of native and crosslinked starch samples.

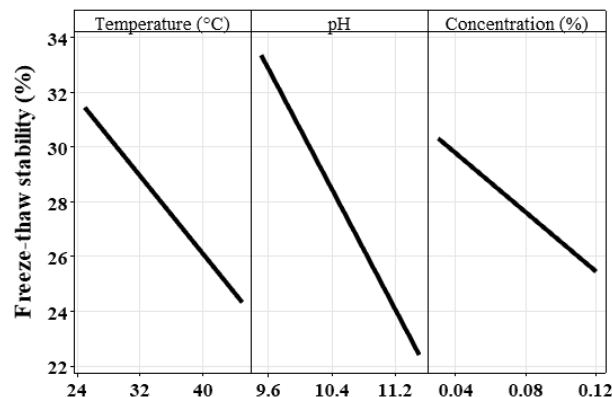


Fig 10. The effect of temperature, pH and reactant concentration on the Freeze-thaw stability of phosphorylated wheat starch.

۳-۷- محتوای فسفر

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 مونوسدیم دی هیدروژن فسفات مشاهده کردند که با افزایش دما تا ۱۴۰°C میزان فسفریلاسیون افزایش و پس از آن کاهش یافت [۴۳].

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).

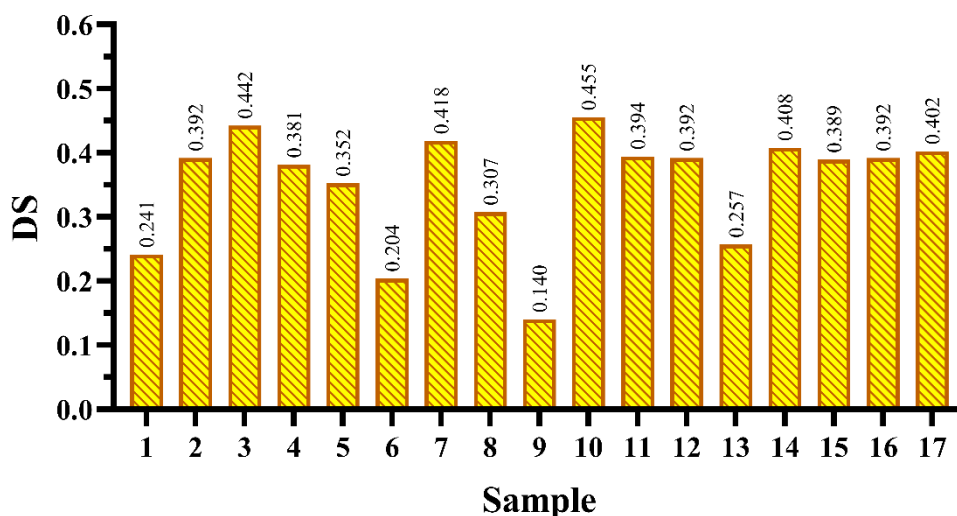


Fig 11. Degree of substitution of cross-linked starches.

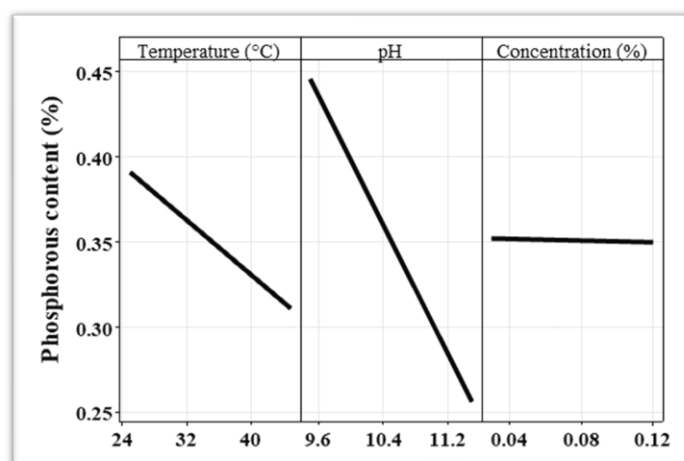


Fig 12. The effect of temperature, pH and reagent concentration on the degree of phosphorylation of wheat starch.

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 دهنده‌گی و خمیری شدن آزمون‌های تکمیلی بر روی نمونه بهینه و نشاسته طبیعی انجام شد.

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].

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 رتروگراسیون 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 رتروگراسیون 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.

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 ^a	0.21 ± 0.41 ^b
Phosphorylated Starch	12.61 ± 0.84 ^b	4.83 ± 0.23 ^a

در شکل نمایان است، الگوهای کریستالی نشاسته گندم فسفریله شده مشابه با الگوی کریستالیتی 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 کریستالیتی 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].

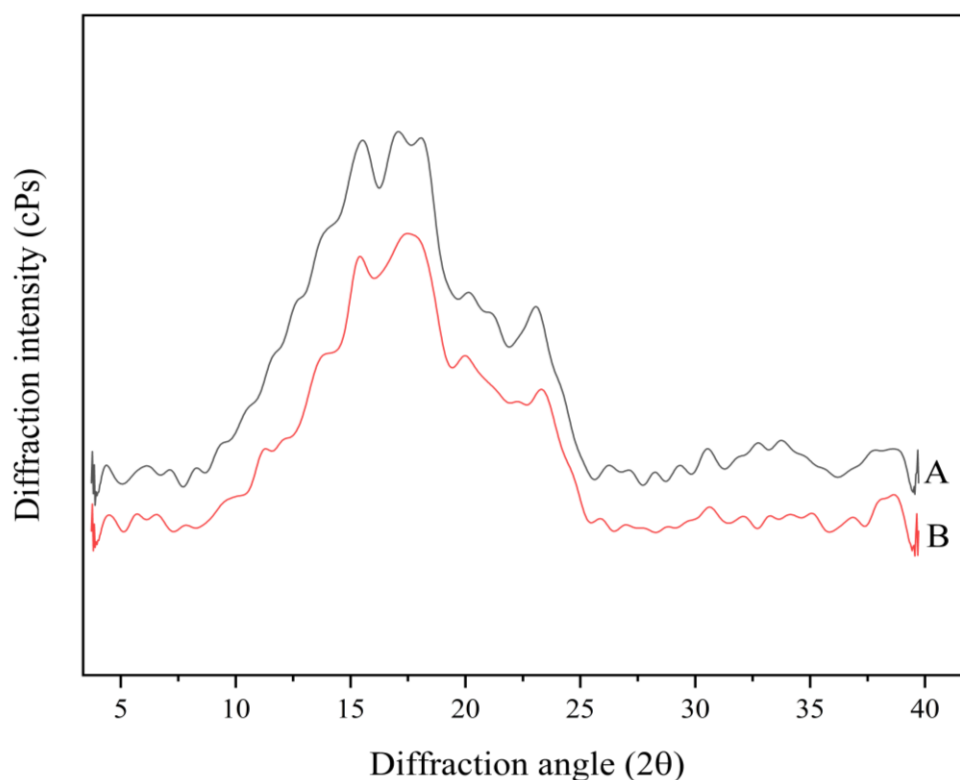


Fig 13. X-ray diffraction pattern of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

۳-۱۰- FTIR

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

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.

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 3427cm^{-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 2926cm^{-1} نسبت داد. از طرف دیگر طول موج 1640cm^{-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 cm^{-1} 1338 و 1333 به کشش C-H در آلکان اختصاص داده شدند و 1242cm^{-1} به کشش C-OH، CH₂OH نسبت داده می‌شود. از سوی دیگر پیک‌های منطقه cm^{-1} $1160-1100$ عمدتاً به کشش نامتقارن C-O-C نسبت داده می‌شود. در حالی که پیک‌های $1077-928\text{cm}^{-1}$ به کشش C-O-H، C-O 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 3264cm^{-1} (مرتبط با هیدروکسیل)، 1640cm^{-1} (مرتبط با پیوند هیدروژنی درون مولکولی)، و همچنین 994cm^{-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

OH مولکول نشاسته واکنش می‌دهد و کاهش شدت پیک 3290cm^{-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 836cm^{-1} و 889cm^{-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 994cm^{-1} و 1082cm^{-1} را می‌توان به تغییرات در ساختار کریستالی و بلورینگی پلیمرهای نشاسته نسبت داد، در حالی که شدت جذب پیک در 1018cm^{-1} با ساختار مناطق آمورف گرانول‌های نشاسته مرتبط است [۵۹]. بنابراین، نسبت‌های جذب 1082cm^{-1} تا 1018cm^{-1} و 994cm^{-1} تا 1018cm^{-1} به ترتیب برای توصیف درجه نظم مناطق کریستالی گرانول‌های نشاسته (درجه نظم؛ DO¹⁵) و محتوای ماریچ دوگانه (DD¹⁶) استفاده می‌شوند. با این حال، نسبت جذب 1018cm^{-1} تا 994cm^{-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 پیوند های 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 1018cm^{-1} تا 994cm^{-1} را به دنبال

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

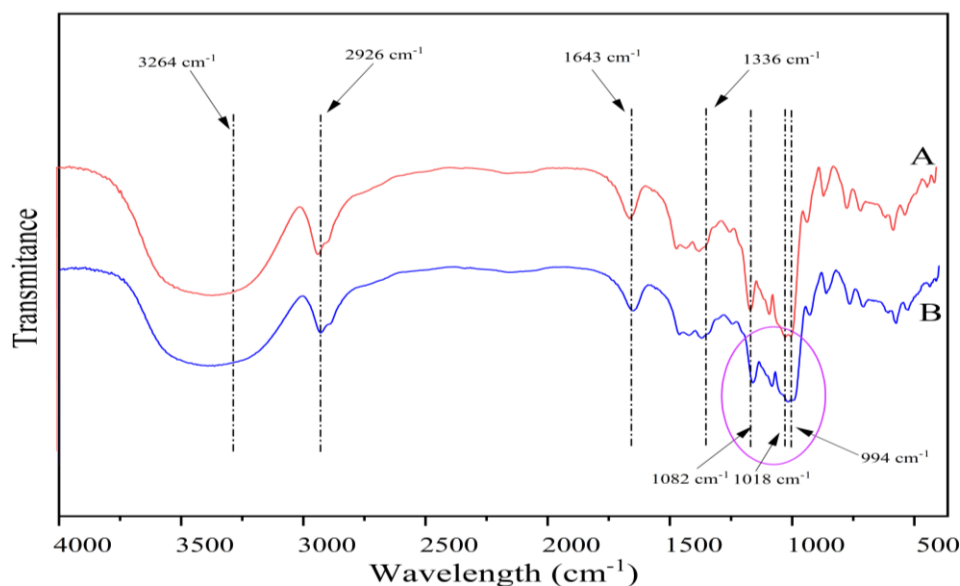


Fig 14. FT-IR spectra of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

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^a	1.29 ± 0.04^a	0.77 ± 0.03^b	44.52 ± 0.57^a
Phosphorylated Starch	1.28 ± 0.08^b	1.21 ± 0.05^b	0.82 ± 0.07^a	37.93 ± 0.46^b

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 ΔH نشاسته فسفریله نسبت به نشاسته طبیعی شد [۶۲] که نتایج حاصل از نسبت شدت پیک‌ها در آزمون طیف سنجی فوری و درصد بلورینگی موید این ادعاست و با نتایج این آزمون همبستگی مثبتی را نشان داد.

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

۳-۱۱- 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].

کاور 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	ΔH
Native starch	52.90±0.13 ^b	58.12±11 ^b	64.37±0.06 ^a	8.48±0.11 ^a
Phosphorylated Starch	53.81±0.10 ^a	59.80±0.12 ^a	62.30±0.08 ^b	8.03±0.11 ^b

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 کانال های 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 بباندازد. 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]. اولووی 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.

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

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.

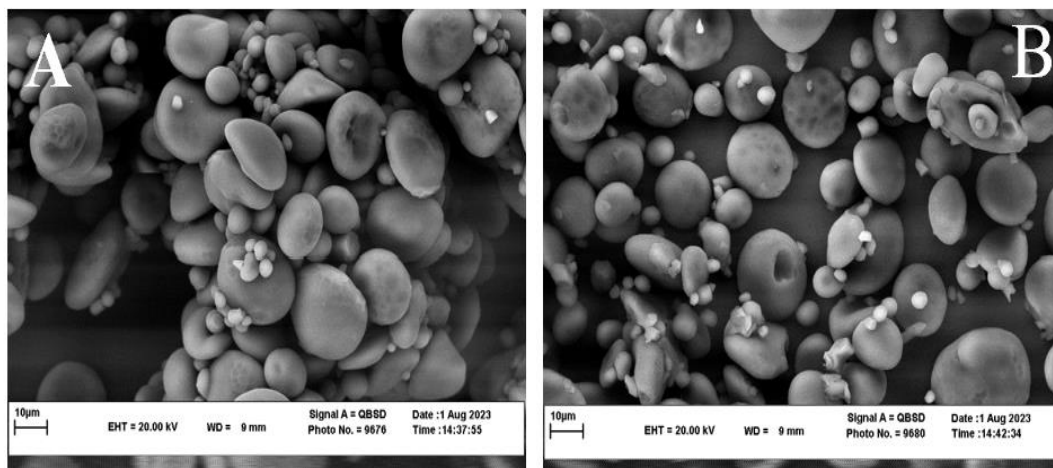


Fig 15. Scanning electron micrography of native (A) and phosphorylated wheat starch (b).

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 BD و TV، PV، PT و FV 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، حالیت 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] Landerito, 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, *Physiochemical 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 ^{31}P nuclear magnetic resonance (^{31}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, physicochemical, 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. **215**: p. 115225.
- [65] Yoneya, T., et al., *Influence of cross-linked potato starch treated with POCl_3 on DSC, rheological properties and granule size*. Carbohydrate Polymers, 2003. **53**(4): p. 447-457.
- [66] Sriprabhom, 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

Scientific Research

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

Mohammadkazem Heydarian¹, Majid Hashemi^{2*}, Elnaz Milani³, gholamali Goli-Movahhed⁴, Shahram Beiraghi-Toosi²

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	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 (PoCl₃) 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.
Keywords: Gelatination, Canned products, Phosphorylation, Wheat starch	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.65. *Corresponding Author E- majid_hashemi1@yahoo.com	

مجله علوم و صنایع غذایی ایران



سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بهینه سازی شرایط واکنش تولید نشاسته گندم فسفریله توسط تری متافسفات سدیم (STMP) به منظور استفاده در فرمولاسیون انواع سس ها

محمدکاظم حیدریان^۱، مجید هاشمی^{۲*}، شهرام بیرقی طوسی^۳، غلامعلی گلی موحد^۴، الناز میلانی^۴

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

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

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۸

کلمات کلیدی:

نشاسته گندم،

فسفریلاسیون،

خمیری شدن، سس

نشاسته به دلیل مقرون به صرفه بودن، ایمنی بالا و زیست تخریب پذیری، در صنایع مختلف غذایی و غیرغذایی به طور گسترده مورد استفاده قرار می گیرد. اگرچه، ویژگی های ی مانند نامحلول بودن در آب سرد، عدم تحمل گرما، مقاومت کم نسبت به تنش های اعمالی و پایداری انجماد- ذوب کم، کاربرد نشاسته طبیعی برای مصارف مختلف صنعتی را محدود می کند. نشاسته گندم یکی از رایج ترین انواع نشاسته در بسیاری از کشورها به ویژه ایران است و می توان آن را برای کاربرد در محصولات مختلف اصلاح کرد. یکی از کارآمدترین تکنیک ها برای اصلاح نشاسته، اصلاح شیمیایی است، اما نگرانی هایی را در مورد آلودگی محیط زیست و هزینه های بالای مواد شیمیایی ایجاد می کند. به همین دلیل در این مطالعه به منظور کاهش مصرف مواد شیمیایی، شرایط واکنش تولید نشاسته فسفریله با تری- متافسفات سدیم (STMP) با استفاده از سه متغیر مستقل pH (۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵)، دما (۱۱۰، ۱۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد) و غلظت واکنشگر (۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد)، بهینه سازی شد. ملاک بهینه سازی وجود شاخص تورم و حلالیت بالاتر، شفافیت بالاتر خمیر، سینرسیس کمتر ژل و پایداری انجماد- ذوب بالاتر به منظور استفاده در انواع سس انتخاب گردید. سپس به منظور بررسی خصوصیات ساختاری، حرارتی و خمیری شدن، آزمون های تکمیلی بر نمونه نشاسته بهینه و طبیعی انجام شد؛ نتایج نشان داد که نشاسته تولید شده تحت شرایط بهینه به دلیل بهبود ویژگی بافتی، ایجاد ویسکوزیته بالاتر و افزایش تحمل گرما برای استفاده در فرمولاسیون انواع سس ها مناسب می باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.92.

* مسئول مکاتبات:

majid_hashemi1@yahoo.com

۱-مقدمه

گندم یکی از رایج ترین ارقام مورد استفاده در رژیم غذایی انسان است. این محصول علاوه بر تولید آرد، نان و ماکارونی، در تولید نشاسته نیز کاربرد فراوانی دارد [۱]. در بسیاری از کشورها (مانند ایران و بسیاری از کشورهای اروپایی) نشاسته گندم رایج ترین نوع نشاسته است که می توان آن را برای تولید انواع مختلف نشاسته اصلاح شده استفاده کرد [۲].

نشاسته به عنوان پلی ساکارید اصلی در گیاهان، کاربردهای گسترده ای در بسیاری از محصولات غذایی و غیر غذایی دارد. این ماده بیشتر به عنوان منبع انرژی برای انسان بوده و همچنین با عمل به عنوان غلیظ کننده، تثبیت کننده کلوئیدی، حجیم کننده، احتباس آب و عوامل ژل کننده، بر خواص فیزیکوشیمیایی غذاها تأثیر می گذارد [۳]. نشاسته طبیعی یک تثبیت کننده و تنظیم کننده بافت مناسب در سیستم های غذایی است [۴]، اما محدودیت هایی مانند مقاومت برشی و حرارتی کم، تجزیه حرارتی و میل بالا نسبت به رتروگراسیون، حلالیت کم، شفافیت و پایداری ضعیف کاربرد آن را در برخی از محصولات غذایی محدود می کند [۵، ۶]. برای غلبه بر محدودیت های نشاسته طبیعی و تولید قابلیت های جدید، اصلاح نشاسته امری ضروری است که از سالیان گذشته انجام می گیرد. نشاسته های مختلف اصلاح شده عموماً از طریق روش های فیزیکی، شیمیایی، ژنتیکی یا آنزیمی تولید می شوند [۷، ۸]. اصلاح نشاسته تاریخچه طولانی دارد و برای معرفی گروه های عاملی به مولکول های نشاسته استفاده شده است. [۹]. اصلاح شیمیایی نشاسته را می توان با انواع واکنش های شیمیایی مختلف مانند هیدرولیز اسیدی، اکسیداسیون، اتریفیکاسیون، استریفیکاسیون و اتصال عرضی ایجاد کرد [۱۰]. در میان این روش ها، ایجاد اتصالات عرضی معمولاً برای اصلاح نشاسته طبیعی مورد استفاده قرار می گیرد که در آن از عوامل اتصال عرضی مختلف مانند تری متافسفات سدیم (STMP)، تری پلی فسفات سدیم (STPP)،

اپی کلروهیدرین (EPI) و کلرید فسفریل (POCl_3) استفاده شده است [۱۱]. با استفاده از این روش، پیوندهای بین مولکولی و درون مولکولی در مکان های تصادفی در گرانول های نشاسته تشکیل می شوند که گرانول ها را تثبیت و تقویت می کنند [۱۲]. همچنین، اتصال عرضی نشاسته تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله منبع نشاسته، غلظت و ترکیب عامل ایجاد پیوند متقابل، میزان جایگزینی، pH، زمان واکنش و دما قرار دارد [۱۳]. در مطالعه حاضر، STMP به دلیل ماهیت غیر سمی، نرخ نفوذ کمتر و قابلیت اتصال متقابل بهتر به عنوان یک عامل ایجاد کننده اتصال عرضی برای نشاسته گندم مورد استفاده قرار گرفت [۱۴].

نشاسته مورد استفاده در فرمولاسیون سس باید بتواند دمای فرایند پاستوریزاسیون را تحمل کند و پایداری و بافت مورد نظر را در فرآورده نهایی حاصل کند. مطالعات نشان می دهند که اصلاح اتصال عرضی نشاسته ویژگی های رئولوژیکی، پایداری حرارتی، مقاومت در برابر برش، شفافیت خمیر و پایداری انجماد-ذوب را افزایش می دهد و همه این ها مجموعاً به خاصیت غلیظ شدن نشاسته شبکه ای در محصولات غذایی مختلف مانند سوپ و سس کمک می کنند [۱۵]. بنابراین هدف از این مطالعه بهینه سازی روش تولید نشاسته گندم فسفریله با تری متافسفات سدیم (STMP) به منظور استفاده در فرمولاسیون سس بود. در این مطالعه علاوه بر بهینه سازی شرایط تولید نشاسته گندم فسفریله و به منظور درک تغییرات ایجاد شده، خصوصیات ساختاری، حرارتی، ژل دهندگی، خمیری شدن و مورفولوژیکی، نشاسته گندم بهینه اصلاح شده با نشاسته طبیعی گندم مورد بررسی قرار گرفت.

۲-مواد و روش

۲-۱-مواد

شستشو داده شد و دو مرتبه توسط اتانول-فیلتراسیون شسته شده و درون هود خشک گردید [۱۷].

۲-۴- اندازه گیری مقدار آمیلوز

۰/۱ گرم نشاسته در ۸ میلی لیتر محلول دی متیل سولفوکساید^۱ ۹۰ درصد در دمای ۸۵°C به مدت ۱۵ حل شد و پس از به حجم رساندن در ۲۵ میلی لیتر، یک میلی لیتر از این محلول به فالکون پنجاه میلی لیتری منتقل گردید و ۴۰ میلی لیتر آب دیونیزه و پنج میلی لیتر محلول ید (۰/۰۰۲۵mol/L) ید در ۰/۰۰۶۵mol/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 واکنش گرها بدون نمونه نشاسته به عنوان شاهد جذب استفاده گردید. نمودار استاندارد با استفاده از آمیلوز و آمیلوپکتین خالص شده رسم شد [۱۸].

۲-۵- تعیین میزان فسفر و درجه جایگزینی فسفر در

نشاسته فسفریله

میزان فسفر موجود در نشاسته اصلاح شده با استفاده از روش رنگ سنجی، در نتیجه ی واکنش با آمونیوم مولیبدات مطابق با روش جکسون (۱۹۶۷) تعیین شد [۱۹]. در ابتدا ۰/۱ از نمونه های نشاسته با ۱۵ میلی لیتر از مخلوط سه اسید نیتریک اسید، پرکلریک اسید و سولفوریک اسید (با نسبت های به ترتیب از چپ به راست ۱:۴:۱۰) هضم شدند. بعد از شفاف شدن رنگ، نمونه ها به یک فلاسک پنجاه میلی لیتری استاندارد منتقل شد و با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر رقیق گردیدند. سپس پنج میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات به فلاسک ها اضافه و با آب مقطر به حجم رسانیده شد. نمونه شاهد نیز با استفاده از پنج میلی لیتر معرف آمونیوم مولیبدات تهیه گردید. جذب نمونه ها در ۴۹۰ نانومتر با استفاده از

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 (۱۱۰۱۲۰) و آمیلوز خالص حاصل از نشاسته سیب زمینی آمیلوزی (A0512) از شرکت سیگما تهیه گردید.

۲-۲- اندازه گیری رطوبت، پروتئین، چربی و خاکستر

اندازه گیری رطوبت به روش آون گذاری، پروتئین به روش کج لیدال، چربی به روش سوکسله و خاکستر به روش سوزاندن در کوره، بر طبق روش های استاندارد (AOAC, 2000) و در سه تکرار انجام شد [۱۶].

۲-۳- تولید نشاسته های فسفریله به روش تری متافسفات

سدیم

نشاسته خام (۶۰ گرم) در ۹۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد توسط همزن مغناطیسی حل شد و ۵ درصد سولفات سدیم بر اساس وزن نشاسته به آن اضافه گردید و pH سوسپانسیون بوسیله سود یک مولار در مقادیر ۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵ تنظیم گردید. سپس مخلوط STMP/STPP به نسبت ۱:۹۹ در غلظت های ۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد اضافه شد. محیط واکنش در pH های ذکر شده به مدت ۱ ساعت همراه با هم زدن نگهداری گردید و سپس تا حدود ۱۰-۱۵ درصد رطوبت در دمای ۴۰ درجه سانتیگراد با استفاده از آون دارای جریان هوا خشک شد. مخلوط خشک شده به یک ظرف بسته منتقل شد و به مدت ۲ ساعت در دمای ۱۱۰، ۱۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتیگراد حرارت دید. پس از خنک کردن تا دمای اتاق، نشاسته در ۱۲۰ میلی لیتر نشاسته مقطر حل شد و pH آن توسط اسید کلریدریک به ۶/۵ رسید. در نهایت نشاسته اصلاح شده حاصل بوسیله سانتریفوژ (۳۰۰۰g، ۱۰ دقیقه) بازیابی و چهار مرتبه با آب مقطر

1. Dimethyl sulfoxide (DMSO)

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:

$$DS = \frac{162 \times P}{3100 - (102 \times P)}$$

که DS درجه جایگزینی، P درصد میزان فسفر (بر اساس وزن خشک) نشاسته فسفریله شده می باشد.

۲-۶- اندازه گیری قدرت تورم و درصد حلالیت

مقدار معینی از نمونه نشاسته توزین و درون فالكون ریخته شد، سپس جهت تهیه سوسپانسیون ۱/۵ درصد وزنی-وزنی آب دیونیزه به آن اضافه گردید. نمونه‌ها توسط ورتکس 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 توسط ورتکس یکنواخت شدند. لوله‌ها پس از خنک شدن، به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰g سانتریفیوژ گردیدند. مایع رویی (سوپرناتانت) با دقت به درون پلیت توزین شده از قبل، تخلیه و در آون 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 [۲۰، ۲۱].

$$\text{حلالیت} = \frac{m2 * 100}{m1}$$

$$\text{قدرت تورم} = \frac{m3}{m1 - m2}$$

m1: وزن نمونه اولیه نشاسته، m2: مایع رویی خشک شده و m3: لایه ته‌نشین شده

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 با ورتکس، به مدت ۳۰ دقیقه همراه با هم زدن در حمام آب جوش قرار داده شد. پس از طی زمان پخت، لوله با مخلوط آب و یخ سریعاً سرد شد و در یخچال نگهداری گردید. سپس لوله‌ها از یخچال خارج و به مدت ۱۵ دقیقه در شتاب ۲۵۰۰g سانتریفیوژ شد. لایه شناور حذف و اختلاف وزن اندازه‌گیری گردید. درصد آب‌اندازی از محاسبه درصد آب جدا شده نسبت به وزن اولیه ژل محاسبه گردید [۲۲].

۲-۸- اندازه گیری پایداری 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 با ورتکس یکنواخت شد و سپس در حمام آب جوش به مدت ۲۰ دقیقه همراه با هم‌زدن مکانیکی با سرعت ۱۶۰ دور در دقیقه، پخت انجام شد. خمیر تا دمای اتاق سرد و درون فریزر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت منجمد گردید. خروج از انجماد در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت دو ساعت درون انکوباتور انجام شد. لوله‌های سانتریفیوژ در شتاب ۸۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. آب‌اندازی ژل بر حسب درصد آب جدا شده نسبت به وزن اولیه ژل تعیین شد [۲۳].

۲-۹- شفافیت خمیرهای نشاسته

شفافیت خمیر بدست آمده از نشاسته‌های طبیعی و اصلاح شده بر اساس روش ردی و سیب (۱۹۹۹) تعیین شد [۲۴]. ابتدا ۰/۰۵ گرم از هر نشاسته در پنج میلی‌لیتر آب مقطر سوسپانسیون شد و در یک لوله آزمایش در پیچ‌دار ریخته شد و در حمام آب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار

به منظور بررسی ویژگی های حرارتی ژلاتینه شدن نشاسته، ۵ میلی گرم نشاسته (بر مبنای وزن خشک)، درون ظرف آلومینیومی ۴۰ mL توزین و پس از افزودن ۲۰ mL آب دیونیزه در ظرف در بسته به مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال به تعادل رسید. پس از هم دما شدن ظرف با محیط، به وسیله دستگاه کالری سنجی روبشی افتراقی از دمای ۲۰ تا ۱۲۰ ° سانتی گراد با سرعت ۱۰ °C/min حرارت دهی گردید. داده ها به وسیله نرم افزار برای تعیین دمای شروع (To)، دمای اوج (Tp)، دمای نهایی (Tc) و آنتالپی ژلاتیناسیون (ΔH) تحلیل شد [۲۶].

۱۲-۲- بررسی مورفولوژی گرانول های 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 پوشش دهی طلا-پالادیوم با شدت جریان ۹ mA و خلا ۳- Pa ۱۰ پوشش دهی شد، سپس با میکروسکوپ الکترونی روبشی با ولتاژ شتاب دهنده ۲۰ kV تصویربرداری انجام شد [۲۷].

۱۳-۲- 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 گرفت. سرعت هم زدن در ده ثانیه اول آزمون ۹۶۰ rpm و سپس ۱۶۰ rpm تنظیم گردید. تغییرات ویسکوزیته نمونه طی زمان آزمون بر اساس برنامه تغییرات دمایی نمونه در پنج مرحله اندازه گیری شد. ۱- نگهداری در ۵۰ °C به مدت یک دقیقه؛ ۲- افزایش دما از ۵۰ °C به ۹۵ °C با سرعت ۱۲ °C/min؛ ۳- نگهداری در دمای ۹۵ °C به مدت ۲/۵ دقیقه؛ ۴- کاهش

گرفت به طوری که هر پنج دقیقه چند بار هم زده شد. بعد از سرد شدن، شفافیت نشاسته ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۵۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد آب اندازه گیری شد.

۱۰-۲- طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوری^۲ (FTIR)

طیف مادون قرمز نمونه های نشاسته طبیعی و نمونه اصلاح شده بهینه با استفاده از دستگاه طیف سنج FTIR انجام شد. در ابتدا هر یک از نمونه ها با پودر بروماید پتاسیم به خوبی مخلوط شد و به صورت یک قرص پرس شده برای قرار گیری در دستگاه در آمد. طیف های مادون قرمز نمونه ها بر مبنای میزان عبور طیف و با وضوح ۱/۹۳ بر سانتیمتر در محدوده ی طول موجی 4000 cm^{-1} تا 400 cm^{-1} ثبت گردیدند [۲۵].

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

نمونه های نشاسته طبیعی و نمونه اصلاح شده بهینه در یک دستگاه افتراق سنج اشعه ایکس در ولتاژ ۳۵ kV و آمپراژ ۳۰ mA مورد بررسی قرار گرفتند. افتراق های ثبت شده بین زاویه ۲ تا ۴۰ درجه، با گام ۰/۰۴ درجه بود. درصد کریستالیتی هر یک از نمونه های نشاسته با استفاده از زیر تعیین شد.

$$\text{Crystallinity}\% = \frac{A_c}{(A_c + A_a)}$$

که A_a و A_c به ترتیب مساحت ناحیه کریستالی و آمورف بدست آمده بر اساس افتراق سنجی اشعه ایکس نمونه ها بود [۲۵].

۱۱-۲- تعیین ویژگی های حرارتی (DSC)

از تخریب ژل طی آزمون جلوگیری شود که توسط پونز و فیزمن [۲۹] پیشنهاد شده است. بر اساس داده‌های تغییرات نیرو- زمان، شاخص سختی^۷ محاسبه خواهد شد.

۲-۱۵- آنالیز آماری

در این پژوهش به منظور بهینه‌سازی شرایط واکنش تولید نشاسته فسفریله با تری‌متافسفات سدیم نیمه خشک از روش رویه سطح در قالب طرح باکس بنکن استفاده گردید (جدول ۱). در مرحله اول سه متغیر مستقل شامل pH (۹/۵، ۱۰/۵ و ۱۱/۵)، دما (۱۱۰، ۱۳۰ و ۱۵۰ درجه سانتی گراد) و غلظت واکنشگر (۱/۵، ۳ و ۴/۵ درصد) در سه سطح، بهینه‌سازی شد. ملاک بهینه‌سازی در این مرحله خصوصیات آب‌اندازی، قدرت تورم، شفافیت خمیر، 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 معنی‌دار ی از طرح آزمایشی آن‌ها یک طرفه و آزمون مقایسه میانگین دانکن استفاده شد. پردازش داده‌ها و ترسیم نمودارها به کمک نرم افزار مینی تب و Origin 2022 صورت گرفت.

دما از ۹۵°C به ۵۰°C با سرعت ۱۲°C/min و ۵- نگهداری در دمای ۵۰°C به مدت دو دقیقه. شاخص‌های دمای خمیری- شدن^۳، ویسکوزیته حداکثر^۴، ویسکوزیته شکست^۵ و ویسکوزیته نهایی^۶ بر اساس نمودار تغییرات ویسکوزیته در برابر دما توسط نرم افزار تعیین شد [۲۸].

۲-۱۴- اندازه گیری سختی ژل نشاسته

به منظور بررسی سختی ژل نشاسته، ابتدا سوسپانسیون ۱۰ درصدی نشاسته در آب دیونیزه تهیه و به مدت ۱۵ دقیقه توسط همزن مکانیکی هم‌زده شد. نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش با سرعت هم‌زن ۱۶۰ دور در دقیقه برای پخت قرار داده شد. خمیر داغ حاصل به قالب استوانه‌ای با قطر و ارتفاع ۱۰ میلی‌متر منتقل گردید و به مدت ۲۴ ساعت در یخچال به منظور تشکیل و توسعه ژل نگهداری شد. آزمون تحلیل پروفایل بافت نمونه ژل با استفاده از دستگاه بافت‌سنج با لودسل ۵۰ نیوتن در دمای محیط، تحت شرایط دو بار فشردن با سرعت ۲ mm/s، درصد تغییرات پنجاه درصد و نیروی بارگذاری اولیه ۱۰ گرم انجام شد. در این آزمون نمونه تحت تنش محوری پنجاه درصد قرار گرفته تا

Table 1. Box-Benken design matrix for optimization of parametrs affecting phosphorylated starch production.

Sample	pH	Temperature (C)	Concentration (%)
1	11.5	130	4.5
2	10.5	150	1.5
3	9.5	110	3
4	10.5	110	4.5
5	11.5	110	3
6	11.5	130	1.5
7	10.5	130	3
8	10.5	150	4.5
9	11.5	150	3
10	9.5	130	4.5
11	10.5	130	3
12	10.5	110	1.5

6. Final viscosity

7. Hardness

3. Pasting temperature

4. Peak viscosity

5. Trough viscosity

13	10.5	130	3
14	9.5	150	3
15	10.5	130	3
16	9.5	130	1.5
17	10.5	130	3

۳- نتایج و بحث:

۳-۱- ترکیب شیمیایی

که نشاسته گندم خریداری شده دارای خالص مناسب بوده و بخش عمده پروتئین باقی مانده در طول فرآیند جداسازی حذف شده است. در نتیجه می توان ادعا کرد که تفاوت در ویژگی های عملکردی نشاسته تحت تاثیر ناخالصی ها قرار نگرفته است [۳۰].

جدول ۲ ترکیب شیمیایی نشاسته طبیعی گندم را نشان می دهد. سطوح بسیار پایین 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.

۳-۲- حلالیت

انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته های فسفریله شد. از طرف دیگر افزایش غلظت سبب افزایش میزان انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد گردید. در خصوص اثر متقابل pH-غلظت واکنشگر نیز اثر آنتاگونیستی مشاهده گردید؛ به طوری که در سطح پایین غلظت واکنشگر، با افزایش مقدار pH میزان انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته افزایش یافت درحالی که با افزایش غلظت واکنشگر، این اثر عکس گردید (شکل ۱). همچنین میزان انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد با میزان فسفریله شدن دارای همبستگی معنی دار معادل ۰/۷۲۰ بود ($p < 0.05$).

میزان انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته های گندم فسفریله شده در دامنه ۱۵/۲۸ - ۴/۱۹ درصد قرار داشت. این در حالی بود که این شاخص در نشاسته اولیه مورد استفاده معادل ۲/۰۰ درصد به دست آمد. مدل خطی با اثرات متقابل برای توصیف اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر انحلال در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد نشاسته فسفریله تولید شده معنی دار گردید ($p < 0.05$).

آنالیز واریانس نشان داد که اثر دما بی معنی ولی اثر pH و غلظت واکنشگر معنی دار بود ($p < 0.05$). در بین اثرات متقابل نیز تنها اثر pH-غلظت معنی دار بود ($p < 0.05$). همانطور که شکل ۱ نمایان است، افزایش pH موجب کاهش میزان

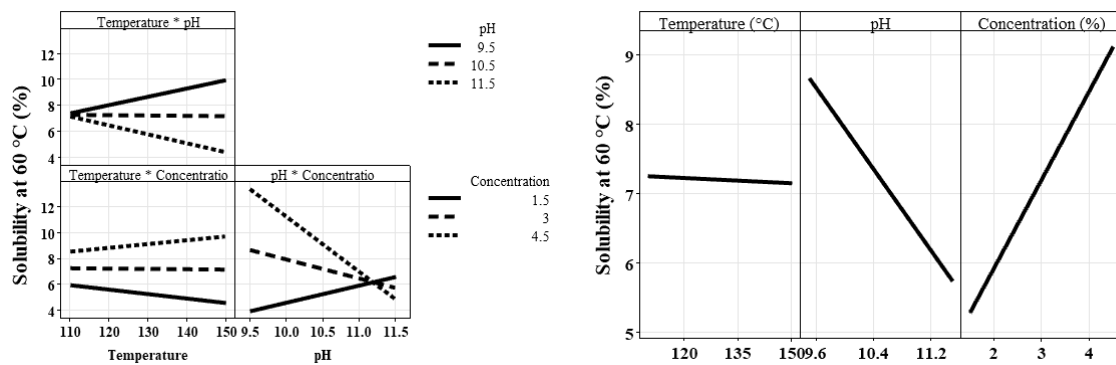


Fig 1. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate of phosphorylated wheat starch at 60°C.

انحلال نشاسته فسفریله در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد مدل خطی با اثرات متقابل معنی دار شد ($p < 0.05$).

از طرف دیگر حالاتیت نشاسته طبیعی در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد معادل ۳/۵۷ درصد برآورد گردید. این پارامتر در نشاسته های فسفریله شده، ۲۲/۷۵ - ۱/۳۹ درصد بود؛ همچنین به منظور توصیف اثر دما، pH و غلظت واکنشگر بر

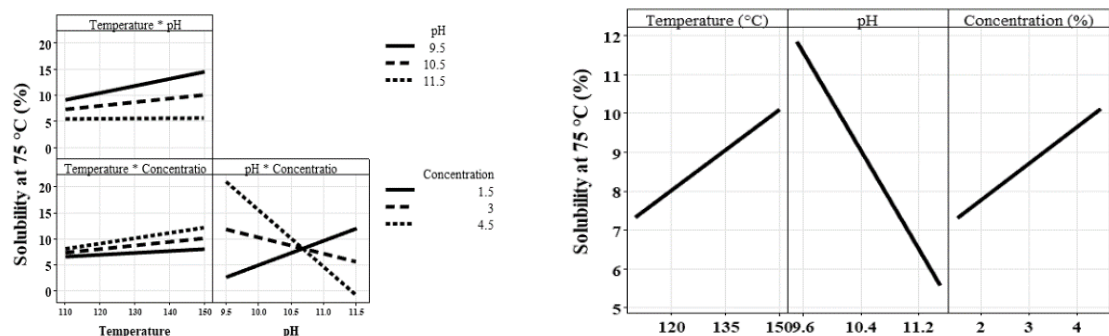


Fig 2. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate of phosphorylated wheat starch at 75°C.

معنی داری بین میزان انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد و میزان فسفریله شدن وجود نداشت.

$$\begin{aligned} \text{Solubility at } 75^{\circ}\text{C} (\%) = & -215.0 + 0.687 T + 21.00 \text{ pH} \\ & + 52.93 C - 0.0651 T * \text{pH} + 0.0221 T * C \\ & - 5.225 \text{ pH} * C \end{aligned}$$

از سوی دیگر دامنه تغییرات حالاتیت در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد نشاسته های فسفریله شده ۲۴/۶۰ - ۴/۱۳ درصد، بود؛ درحالی که این مقدار در نشاسته خام اولیه ۴/۹۸ درصد

طبق آنالیز واریانس داده ها، تنها اثر خطی pH و اثر متقابل pH - غلظت واکنشگر بر انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد نشاسته فسفریله شده معنی دار بود ($p < 0.05$). اثر خطی pH به طوری بود که افزایش pH موجب کاهش انحلال در دمای ۷۵ درجه سانتی گراد نشاسته فسفریله گردید. با توجه به شکل ۲ و نیز ضریب منفی معادله، اثر متقابل pH - غلظت واکنشگر می توان نتیجه گرفت که این اثر از نوع آنتاگونیستی است. نتایج نشان داد که همبستگی

در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشان داد که افزایش مقدار pH موجب کاهش میزان انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نشاسته‌های فسفریله شده گردید. ضریب منفی عبارت مقدار pH و غلظت واکنشگر در رابطه برازش شده نشان داد که این اثر متقابل از نوع آنتاگونیستی است (شکل ۳). ضریب همبستگی بین میزان فسفریله شدن نمونه‌ها و میزان انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد معنی‌دار ($p < 0.05$) و ۰/۵۰۳ بود.

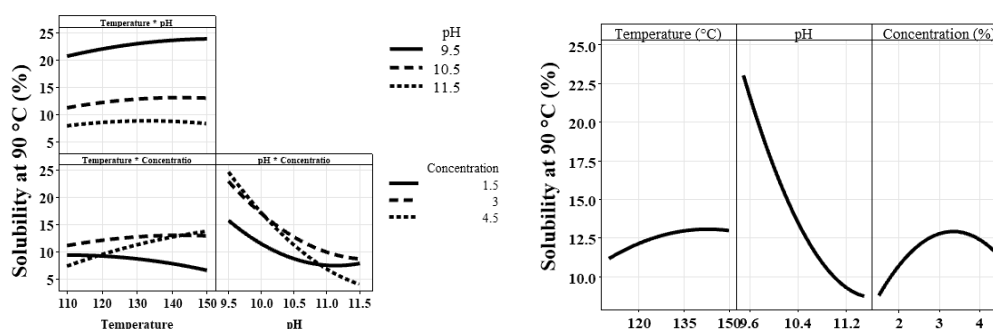


Fig 3. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the solubility rate at 90°C of phosphorylated wheat starch.

همکاران (۲۰۲۱) اثر ماده ایجاد کننده اتصال عرضی (هگزامتافسفات سدیم) را بر خصوصیات نشاسته موز بررسی کردند این محققین دریافتند که ایجاد اتصال عرضی به دلیل افزایش فضای بین زنجیره‌های نشاسته‌ای ناشی از ممانعت فضایی این ترکیب اضافه شده به مولکول نشاسته سبب افزایش ظرفیت جذب آب و ظرفیت جذب روغن شد [۳۲]. در مقابل رادی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که اتصال عرضی نشاسته سیب زمینی با POCl_3 ، به دلیل تشکیل پیوند کووالانسی و ایجاد مقاومت در برابر تحرک ناحیه آمورف گرانول نشاسته، ظرفیت جذب آب را به طور قابل توجهی نسبت به نشاسته طبیعی کاهش داد [۳۱].

بود. همچنین برای توصیف اثر متغیرهای مورد بررسی بر مقدار انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد نمونه‌های فسفریله شده مدل‌های خطی با اثرات متقابل و درجه دو معنی‌دار گردید ($p < 0.05$).

آنالیز واریانس نشان داد که اثر خطی مقدار pH، مربع مقدار pH و غلظت واکنشگر و نیز اثر متقابل مقدار pH و غلظت واکنشگر بر میزان انحلال در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد معنی‌دار بود ($p < 0.05$). نتایج اثر مقدار pH بر میزان انحلال

به طور کلی بررسی همبستگی بین میزان انحلال نمونه‌های نشاسته فسفریله شده و میزان فسفریله شدن نشاسته نشان داد که انحلال پذیری نشاسته فسفریله شده همبستگی مستقیم با میزان فسفریلاسیون دارند و با افزایش فسفریلاسیون، میزان انحلال پذیری افزایش می‌یابد (شکل ۴). محققان همچنین اظهار داشتند که وجود گروه فسفر آبدوست، مسئول افزایش ظرفیت نگهداری نشاسته اتصال عرضی STMP/STPP می‌باشند و همچنین قرار گرفتن این گروه‌ها بر مولکول نشاسته به دافعه الکترواستاتیکی بین زنجیره‌های نشاسته کمک می‌کند و در نتیجه جذب و تورم بیشتر آب را تسهیل می‌کنند و افزایش درصد حلالیت را به دنبال دارند [۳۱]. اولاووی و

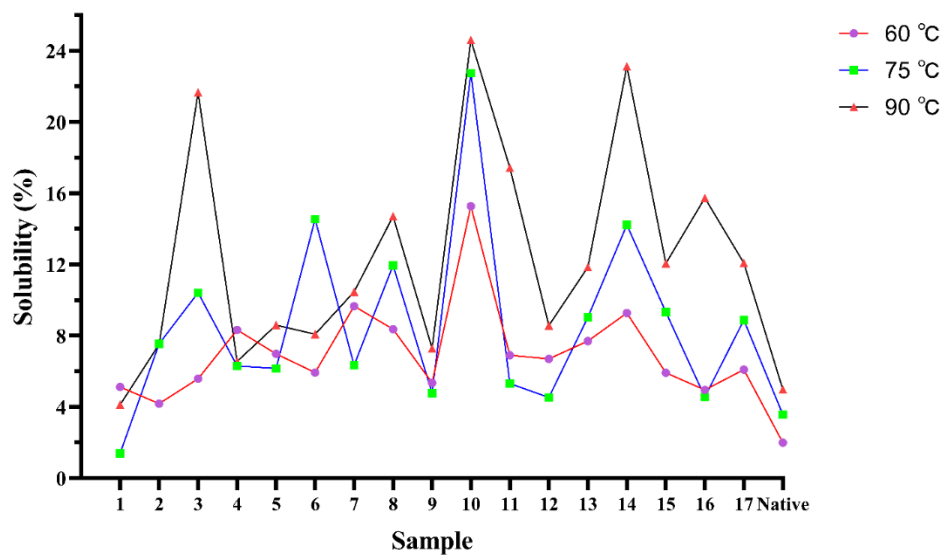


Fig 4. Solubility of native and crosslinked starch samples.

بود، درحالی که این مقدار برای نشاسته خام اولیه ۵/۵۴ g/g برآورد شد. در خصوص اثر تغییرات دما، pH و غلظت واکنشگر بر میزان قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد مدل خطی با اثرات متقابل معنی دار گردید ($p < 0.05$).

۳-۳- قدرت تورم

یافته‌ها نشان داد که قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد برای نشاسته‌های فسفریله از ۱۲/۷۹ g/g تا ۴/۸۵

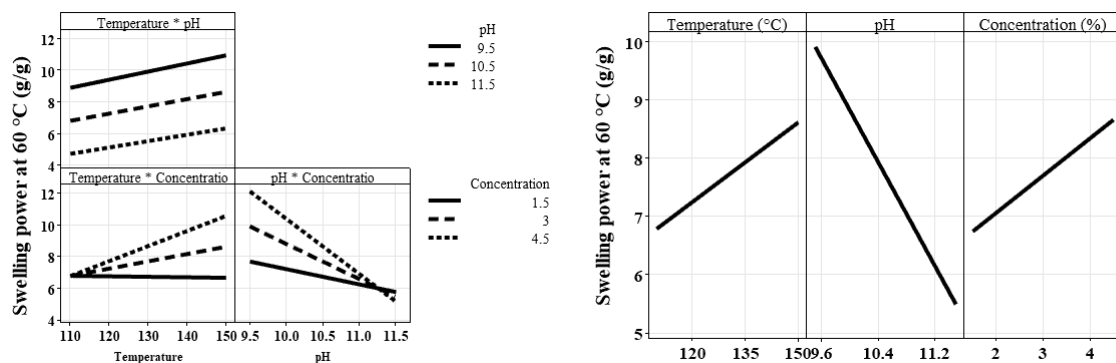


Fig 5. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on swelling power at 60°C temperature of phosphorylated wheat starch.

داشتند. اثر متقابل دما-غلظت واکنشگر از نوع سینرژیستی و اثر متقابل مقدار pH-غلظت واکنشگر از نوع آنتاگونیستی بود (شکل ۵). از طرف دیگر ضریب همبستگی بین قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و میزان فسفریلاسیون ۰/۷۲۰ به دست آمد.

نتایج حاصل از آنالیز واریانس نشان داد که، اثرات متقابل دما-غلظت واکنشگر و مقدار pH-غلظت واکنشگر معنی دار بود درحالی که اثر متقابل دما-مقدار pH نبود ($p < 0.05$). دما و غلظت واکنشگر اثر افزایشی و در مقابل، مقدار pH اثر کاهشی بر میزان قدرت تورم در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد

درجه سانتیگراد معنی دار گردید. همانطور که در شکل ۶ نمایان است با افزایش مقدار pH، قدرت تورم در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد کاهش یافت ($p < 0.05$). ضریب همبستگی بین قدرت تورم در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد و میزان فسفریلاسیون معادل ۰/۵۴۳ بود.

میزان قدرت تورم نشاسته طبیعی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد ۷/۵۹ درصد بود؛ درحالی که این شاخص برای نشاسته های فسفریله شده در دامنه $14/14 - 6/04$ g/g قرار داشت. از سوی دیگر مدل خطی به منظور توصیف اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر قدرت تورم در دمای ۷۵

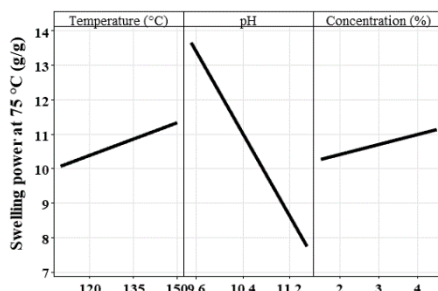


Fig 6. Simple effects of temperature, pH and reactant concentration on swelling power of phosphorylated wheat starch at 75°C.

نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر خطی و متقابل مقدار pH و غلظت واکنشگر بر قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد معنی دار بود. این دو عامل عکس یکدیگر عمل کردند به طوری که افزایش مقدار pH و غلظت واکنشگر به ترتیب موجب کاهش و افزایش قدرت تورم در این دما شدند (شکل ۷). به این ترتیب اثر آنتاگونیستی مشاهده شده بین این مقدار pH و غلظت واکنشگر قابل انتظار است. از سوی دیگر قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد با میزان فسفریله شدن نشاسته با ضریب ۰/۴۹۸ همبستگی نشان داد.

از طرف دیگر نتایج نشان داد که محدوده تغییرات قدرت تورم نشاسته های فسفریله در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد در دامنه $18/73 - 6/69$ g/g قرار داشت؛ درحالی که این میزان در نشاسته خام اولیه $9/81$ g/g بود. از طرف دیگر به منظور بررسی اثرات شرایط واکنش بر میزان قدرت تورم در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد مدل خطی با اثرات متقابل معنی دار گردید ($p < 0.05$).

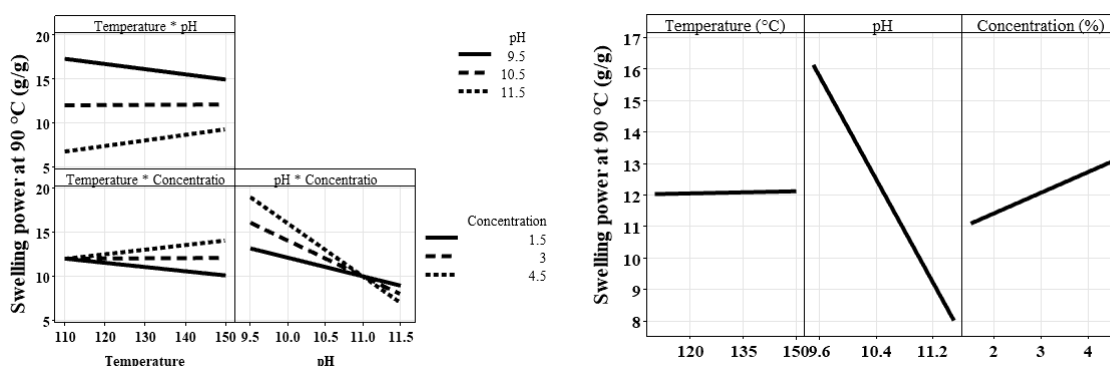


Fig 7. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on swelling power of phosphorylated wheat starch at 90°C.

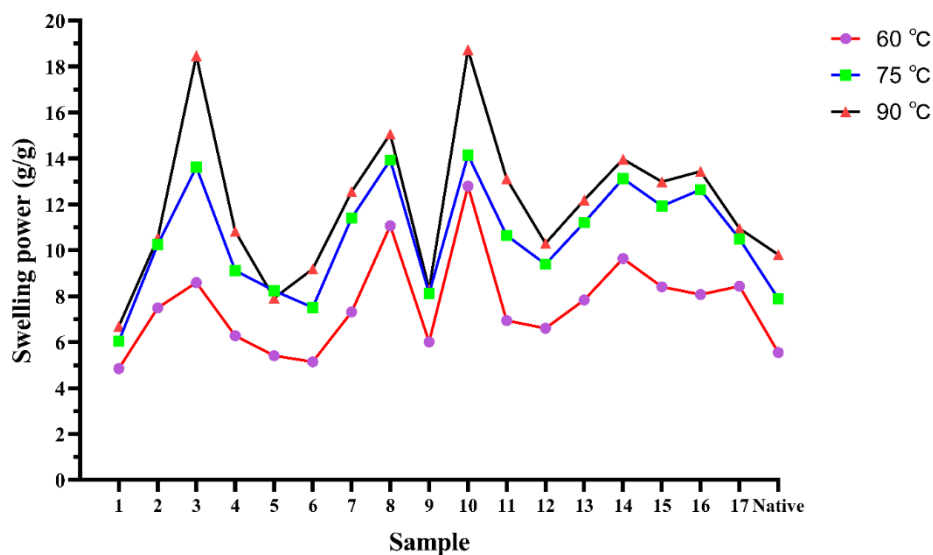


Fig 8. Swelling power of native and crosslinked starch samples.

تورم نسبت به نشاسته طبیعی شد [۳۴]. درحالی که سینگ و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که با افزایش درجه اتصال عرضی به دلیل تشکیل پل‌های بین مولکولی در زنجیره‌های نشاسته‌ای توسط معرف اتصال عرضی قدرت تورم نشاسته لوبیا پروانه ای^{۱۰} کاهش یافت [۳۵]. هیرش و همکاران (۲۰۰۲) با بررسی تاثیر نوع ترکیب ایجاد کننده اتصالات عرضی بر رفتار قدرت تورم نشاسته ذرت واکسی مشاهده کردند که هر دو ترکیب $POCl_3$ و STMP باعث کاهش میزان تورم گرانول‌های نشاسته گردیده‌اند و همبستگی معکوسی بین غلظت این ترکیبات با میزان تورم وجود داشته است اما میزان این همبستگی معکوس بین غلظت و میزان تورم در نشاسته‌های تیمار شده با $POCl_3$ بسیار قوی‌تر از STMP بوده است. محققان علت این امر را ناشی از تفاوت مکانیکی^{۱۱} در واکنش اتصال عرضی دانسته‌اند و بیان کرده‌اند که تاثیر اتصالات عرضی بر ساختار گرانول بوسیله $POCl_3$

در مجموع، نتایج تجزیه و تحلیل همبستگی بین قدرت تورم در دماهای مختلف و درجه فسفریلاسیون نشاسته تولید شده نشان دهنده همبستگی مثبت بود. مشخص شد که با افزایش درجه فسفریلاسیون، قدرت تورم نشاسته‌ها نیز افزایش می‌یابد (شکل ۸). بنابراین می‌توان اینگونه بیان کرد که رابطه مستقیمی بین مقدار فسفریلاسیون و قدرت تورم نشاسته‌ها وجود دارد. علاوه بر این، اعتقاد بر این است که معرفی گروه‌های فسفات به گرانول‌های نشاسته به افزایش قدرت تورم کمک می‌کند؛ چراکه دافعه میان مولکول‌های نشاسته مجاور که ناشی از گروه‌های فسفات با بار منفی می‌باشد، اتصالات درون زنجیره ای را کاهش داده و در نهایت منجر به افزایش قدرت تورم می‌گردد [۳۳].

بر اساس نظر ایویاجونوا و همکاران (۲۰۲۳)، ایجاد اتصال عرضی بر نشاسته استخراج شده از دو غده (ایکاسینا سنگالنسیس^۸ و سیرتوسپرما سنگال^۹) سبب افزایش قدرت

10. Moth bean Starch

11. Mechanistic difference

8. *Icacina senegalensis*

9. *Cyrtosperma senegalense*

که یک واکنشگر بسیار سریع است در مقایسه با STMP که واکنشگر آهسته تری است متفاوت می باشد. محققان همچنین بیان کرده اند که ظاهراً اتصالات عرضی حاصل از POCl_3 در مقایسه با STMP در جلوگیری از تورم نشاسته بسیار موثرتر عمل کرده اند. محققان مذکور در توضیح این پدیده ادعا کردند که غلظت بالایی از اتصالات عرضی حاصل از تیمار POCl_3 در سطح گرانول وجود دارد که منجر به ایجاد پوسته ای سخت در لایه های بیرونی گرانول می گردد اما STMP که یک واکنشگر کندتر می باشد به درون گرانول ها نفوذ کرده و از این رو اتصالات عرضی حاصل از این ماده تاثیر بسیار پراکنده تری دارند زیرا این اتصالات به طور یکنواخت در سراسر حجم گرانول توزیع می گردند [۳۶].

۳-۴- شفافیت

شفافیت خمیر نشاسته طبیعی گندم $3/79$ درصد تعیین گردید؛ درحالی که این مقدار برای نشاسته های فسفریله شده از $1/15$ تا $10/55$ متغیر بود. از طرف دیگر به منظور بررسی اثر متغیرهای واکنش (دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر) بر میزان شفافیت خمیرهای نشاسته فسفریله شده مدل خطی با اثرات متقابل معنی دار گردید. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنها اثر خطی مقدار pH و اثر متقابل مقدار pH-غلظت واکنشگر معنی دار بود ($p < 0.05$). به طوری که مقدار pH اثر کاهشی بر شفافیت نمونه ها نشان داد. شدت اثر مقدار pH تحت تاثیر غلظت واکنشگر قرار داشت و با افزایش غلظت واکنشگر شیب نمودار و در نتیجه اثر مقدار pH افزایش یافت (شکل ۹). باتوجه به ضریب همبستگی به دست آمده بین میزان فسفریله شدن و شفافیت ژل نشاسته ($0/562$)، با افزایش میزان فسفریلاسیون میزان شفافیت ژل افزایش یافت.

افزایش شفافیت ژل با افزایش میزان فسفریلاسیون را می توان به گروه های فسفات باردار نسبت داد که به هیدراسیون مولکول های نشاسته و کاهش سرعت تبلور مجدد آنها کمک می کند. علاوه بر این، این گروه های فسفات می توانند پیوندهای بین مولکول های نشاسته و آب را تقویت کرده و منجر به افزایش قدرت تورم و شفافیت خمیر شود [۳۷]. از سوی دیگر کائور و همکاران (2006)، کاهش شفافیت ژل نشاسته اتصال عرضی یافته را تا حدی ناشی از کاهش قدرت تورم دانسته اند [۲۴، ۳۳]. در این مطالعه افزایش میزان شفافیت ژل با افزایش میزان فسفریلاسیون را می توان مرتبط با افزایش قدرت تورم گرانول ها دانست. ضرایب همبستگی میزان شفافیت ژل و قدرت تورم نشاسته در دماهای 90 ، 75 و 60 به ترتیب برابر با $0/882$ ، $0/821$ و $0/864$ است ($p < 0.05$) که موید افزایش شفافیت ژل به دلیل افزایش قدرت تورم می باشد (همانطور که در بالا اشاره شد در میزان قدرت تورم با افزایش فسفریلاسیون افزایش یافت).

محموظ و همکاران (2020) گزارش کردند که نشاسته جو اتصال عرضی یافته با STMP/STPP نسبت به نشاسته طبیعی، به دلیل قدرت تورم بالاتر (گرانول های بسیار متورم اجازه عبور بهتر نور را می دهند) شفافیت ژل بیشتر و تمایل کمتر به رتروگراسیون نشان داد [۳۸]. به طور مشابه چنک و همکاران (2022) دریافتند که نشاسته دانه نیلوفر آبی اتصال عرضی یافته با غلظت های مختلف STMP، شفافیت ژل بیشتر و نرخ رتروگراسیون کمتری را نسبت به نشاسته طبیعی نشان داد [۳۹].

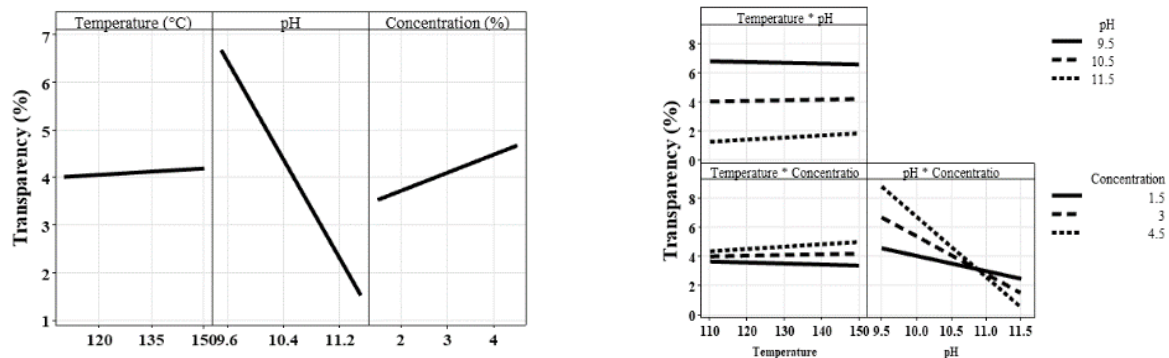


Fig 9. Simple and reciprocal effects of temperature, pH and reactant concentration on the transparency of phosphorylated wheat starch paste.

۳-۵- سینرسیس

سرپرابلوم و همکاران (۲۰۲۳) گزارش کردند که اتصال عرضی نشاسته کاساوا با غلظت کمتر STMP/STPP به طور قابل توجهی سرعت رتروگراداسیون و آب اندازی ژل نشاسته را کاهش داد. با این حال، غلظت بالاتر STMP/STPP تغییر قابل توجهی را نسبت به نشاسته طبیعی نشان نداد. اتصال عرضی با میزان کم، تحرک زنجیره‌های نشاسته را محدود می‌کند و می‌تواند رتروگراداسیون را به تأخیر بیندازد. با این حال، غلظت بالاتر ساختار بسته‌تری را به ارمغان می‌آورد که توانایی پیوند هیدروژنی بین زنجیره‌های نشاسته را افزایش می‌دهد و سرعت رتروگراداسیون را افزایش می‌دهد [۴۰].

همانطور که در شکل ۱۰ نمایان است، میزان آب اندازی نمونه نشاسته طبیعی گندم ۳۳/۶۴ درصد بود؛ اصلاح فسفریلاسیون با شرایط مختلف واکنش این مقدار را به محدوده ۷۱/۶۲ – ۲۹/۵۶ منتقل کرد. مدل درجه دوم نیز به منظور تفسیر تأثیر شرایط واکنش (اثر دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر) بر میزان آب اندازی نمونه‌های نشاسته فسفریله معنی‌دار شد ($p < 0.05$). از طرف دیگر نتایج تجزیه واریانس نشان داد که، تنها اثر خطی و مربع مقدار pH بر آب اندازی معنی‌دار بود ($p < 0.05$). به طوری که با افزایش مقدار pH، میزان آب اندازی نمونه‌ها افزایش یافت (شکل ۱۱).

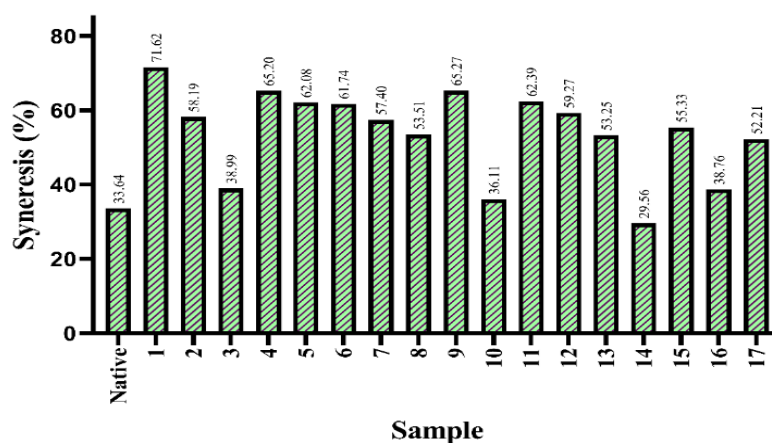
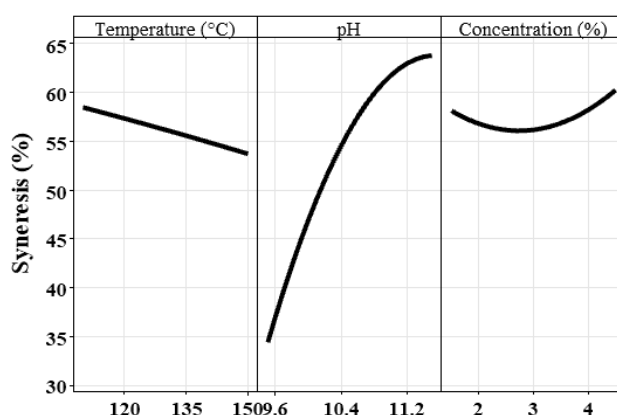


Fig 10. Syneresis of native and crosslinked starch samples.**Fig 11.** Effects of temperature, pH and reactant concentration on the syneresis of phosphorylated wheat starch.

افزایشی نشان داد. از طرف دیگر هیچ همبستگی بین میزان آب اندازی پس از انجماد-ذوب با میزان فسفریلاسیون وجود نداشت ($p < 0.05$).

شوفان و همکاران (۲۰۲۲) در یافتند که ورود گروه فسفات به مولکول نشاسته آجیل ببر^{۱۲} با تشکیل شبکه سه بعدی و ایجاد ممانعت فضایی موجب پایدارتر شدن سیستم شد [۴۲]. در مقابل، اوه و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند که اتصال عرضی نشاسته شاه بلوط با STMP/STPP باعث کاهش پایداری انجماد و ذوب آن شد. سینرسیس بیشتر نشاسته اتصال عرضی یافته می‌تواند به دلیل تورم محدود نشاسته اتصال عرضی یافته باشد که منجر به آزاد شدن مقدار نسبتاً زیادی آب می‌شود [۴۳].

ناکالا و همکاران (۲۰۲۲) گزارش کردند که نشاسته فسفریله شده زردچوبه پایداری انجماد و ذوب بالاتری نسبت به نشاسته طبیعی نشان داد زیرا گروه‌های فسفات دارای بار مثبت و آبدوست هستند و در نتیجه پس از ژلاتینه شدن و سپس انجماد، ژل سه بعدی را تشکیل می‌دهند [۴۴].

۳-۶- پایداری انجماد-ذوب

پایداری محصولات غذایی حاوی نشاسته در طول فرآیند انجماد و ذوب یک ویژگی مهم است که بر خواص بافتی آنها تأثیر می‌گذارد. در هنگام انجماد، آب موجود در نشاسته به یخ تبدیل می‌شود و در حین ذوب، آب حاصل به راحتی از ماتریکس خارج می‌شود که به عنوان سینرسیس شناخته می‌شود. جداسازی فاز منجر به پیوند مجدد و تبلور مجدد زنجیره‌های نشاسته می‌شود. از این رو، انجماد-ذوب مکرر باعث جدایی فاز و سینرسیس و پسرفت می‌شود [۴۱]. نتایج نشان داد که اصلاح فسفریلاسیون میزان آب اندازی پس از انجماد-ذوب را از ۳۱/۲۶ درصد برای نشاسته طبیعی به محدوده ۶۵/۷۶ - ۱۰/۰۵ تغییر داد. علاوه بر این به منظور تفسیر شرایط واکنش (دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر) بر میزان آب اندازی پس از طی شرایط انجماد و ذوب نمونه‌های نشاسته فسفریله مدل خطی معنی‌دار ($p < 0.05$) گردید. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تنها اثر مقدار pH بر آب اندازی پس از انجماد-ذوب معنی‌دار بود ($p < 0.05$) و همانطور که در شکل ۱۲ نمایان است اثر خود را به صورت

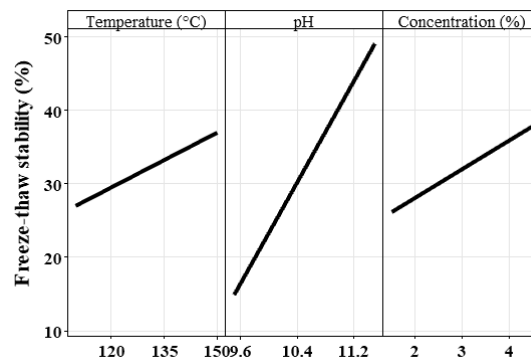


Fig 12. The effect of temperature, pH and reactant concentration on the Freeze-thaw stability of phosphorylated wheat starch.

۳-۷- محتوای فسفر

فسفریله شدن نشاسته گندم معنی دار گردید ($p < 0.05$). از سوی دیگر نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر هر سه عامل مورد بررسی معنی دار بود ($p < 0.05$) به طوری که مطابق شکل ۱۳ با افزایش دما و غلظت واکنشگر، میزان فسفریله شدن افزایش و با افزایش pH این میزان کاهش یافت.

کیم و همکاران (۱۹۹۹) تاثیر دما را بر فسفریلاسیون نشاسته برنج به روش اکستروژن مورد بررسی قرار داده و بیان کردند که با افزایش دمای اکستروژن از ۱۲۰ تا ۱۸۰ درجه سانتی گراد میزان فسفریلاسیون افزایش می یابد [۴۵]. محمد و همکاران (۲۰۰۰) تاثیر pH را بر فسفریلاسیون نشاسته ساگو با استفاده از STMP و STPP به صورت جداگانه و یا در ترکیب با یکدیگر مورد بررسی قرار دادند. این محققان بیان کردند که در زمان استفاده از STMP به تنهایی، افزایش pH از ۶ تا ۱۰ باعث افزایش میزان فسفریلاسیون شد اما استفاده از ترکیب STMP و STPP در همین دامنه pH، منجر به کاهش میزان فسفریلاسیون گردید [۴۶].

خواص نشاسته های اصلاح شده به طور قابل توجهی تحت تاثیر کمیت هر نوع جایگزینی شیمیایی اعمال شده قرار می گیرد و تنظیم درصد جایگزینی شیمیایی خاص بر روی یک نوع خاص از نشاسته می تواند منجر به ایجاد خواص مختلف شود [۸]. کارایی واکنش ایجاد اتصالات عرضی با درجه جایگزینی نشان داده می شود، که نشان دهنده مقدار مول های فسفات اتصال عرضی یافته موجود در گلوکز بدون آب (انیدرید گلوکز) است. درجه جایگزینی نشاسته اصلاح شده با کم کردن درصد فسفر درونی از نشاسته طبیعی محاسبه می شود، زیرا نشاسته طبیعی حاوی مقادیر مشخصی مونو استر فسفات است. در این مطالعه، محدوده تغییرات مقدار فسفریلاسیون ۱/۳۴-۰/۲۷ درصد برآورد شد و میزان فسفر ذاتی موجود در نشاسته گندم مورد استفاده نیز ۰/۰۴۷ درصد بود (شکل ۱۳). نتایج آنالیز داده ها نشان داد که مدل خطی برای بررسی اثرات دما، مقدار pH و غلظت واکنشگر بر میزان

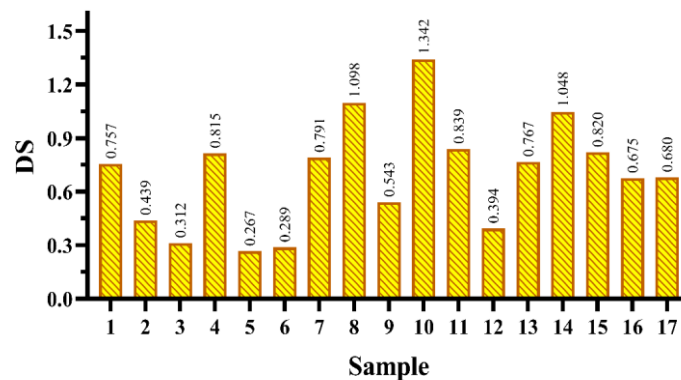


Fig 13. Degree of substitution of cross-linked starches

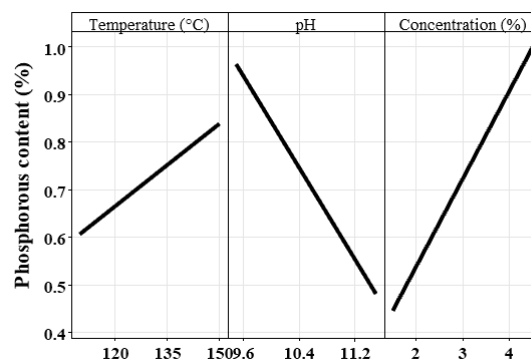


Fig 14. The effect of temperature, pH and reagent concentration on the degree of phosphorylation of wheat starch.

نتایج نشان داد که فسفریلاسیون نشاسته سبب کاهش مقدار محتوای آمیلوز نشاسته طبیعی از ۲۵/۷۸ درصد به ۲۲/۴۳ شد؛ چراکه وجود پیوندهای فسفودی استر در زنجیره‌های نشاسته سبب کاهش تشکیل کمپلکس‌های آمیلوز ید شد و در نتیجه محتوای آمیلوز را کاهش داد. علاوه بر این، کاهش محتوای آمیلوز را می‌توان به ایجاد پیوندهای متقابل بین زنجیره‌های آمیلوز و آمیلوپکتین نسبت داد که از تعامل ساختار با ید جلوگیری می‌کند [۴۷]. آکار و همکاران (۲۰۱۰) بیان کردند که میزان آمیلوز نشاسته گندم طبیعی گلوبیکا^{۱۳} ۲۰/۲۷ و نشاسته طبیعی سرپانجکا^{۱۴} ۲۲/۴۹

با توجه به نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، ویژگی‌های نشاسته مورد استفاده در فرمولاسیون سس به عنوان ملاک بهینه سازی قرار داده شد؛ نشاسته فسفریله شده با قدرت تورم بالاتر، شفافیت بیشتر خمیر، سینرسیس کمتر ژل و پایداری انجماد - ذوب بالاتر 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.

۳-۸- محتوای آمیلوز و سختی ژل

می‌باشد و این میزان برای ژنوتیپ‌های مختلف نشاسته گندم متغیر است [۴۸].

چندک و همکاران (۲۰۲۲) دریافتند که محتوای آمیلوز نشاسته لتوس با افزایش غلظت STMP از ۱ به ۵ درصد به طور قابل توجهی کاهش یافت و در محدوده بین ۱۳/۴۵ و ۲۵/۱۶ درصد قرار گرفت؛ این محققین بیان کردند که کاهش مقادیر محتوای آمیلوز نشاسته‌های اتصال عرضی یافته به دلیل برهمکنش‌های درون مولکولی و بین مولکولی در مولکول‌های آمیلوز یا بین مولکول‌های آمیلوز و آمیلوپکتین است [۳۹]. همچنین مطالعه شارما و همکاران (۲۰۲۰) نیز نشان داد که ایجاد اتصال عرضی (STMP) سبب کاهش محتوای آمیلوز نشاسته باقلا شد [۴۹].

مفهوم سفتی به توانایی مواد غذایی در مقاومت در برابر نیروی فشاری اشاره دارد. با افزایش استحکام ژل، مقدار نیروی لازم برای شکستن ساختار آن نیز افزایش می‌یابد [۵۰]. نتایج نشان داد که اصلاح اتصال عرضی سبب افزایش سفتی ژل نشاسته فسفریله (۰/۸۴ نیوتن) در مقایسه با نشاسته

طبیعی (۰/۲۱ نیوتن) شد (جدول ۳). افزایش سفتی ژل نشاسته فسفریله نسبت به نشاسته طبیعی را می‌توان به این دلیل دانست که کاهش مقدار آمیلوز محلول منجر به ژل نرم‌تر می‌شود، درحالی‌که آمیلوز بیشتری از گرانول‌های نشاسته به فضای بین گرانولی نشت می‌کند و شبکه ژل قوی‌تری را تشکیل می‌دهد و در نهایت منجر به ژل سفت‌تر از نشاسته طبیعی می‌شود.

از سوی دیگر سفتی ژل عمدتاً ناشی از رتروگراسیون ژل نشاسته است که با تبلور مجدد آمیلوپکتین همراه است و منجر به ژل‌های سخت‌تر می‌شود [۵۱]. بر اساس نظر موآ و جکسون (۱۹۹۷) نشاسته‌هایی که زنجیره‌های آمیلوپکتین طولانی‌تری دارند، ژل‌های سخت‌تری را تشکیل می‌دهند [۵۲]. سفتی ژل بالاتر نشاسته فسفریله در مقایسه با نشاسته طبیعی، افزایش تمایل این نشاسته به تشکیل ژل و همچنین مقادیر بالاتر ویسکوزیته نهایی و بازگشت ویسکوزیته را تایید می‌کند.

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 ^a	0.21 ± 0.41 ^b
Phosphorylated Starch	22.43 ± 0.72 ^b	0.84 ± 0.34 ^a

معمول در بخش‌های آمورف گرانول‌های نشاسته بدون تأثیر بر الگوی کریستالی رخ می‌دهد [۵۳].

یافته‌ها نشان داد که نشاسته‌های اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی، بلورینگی کمتری (RC) از خود نشان می‌دهند. این امر به کاهش پیوند هیدروژنی در ساختار کریستالی گرانول‌های نشاسته گندم نسبت داده شد (جدول ۴). مجذوبی و همکاران (۲۰۰۹) بیان کردند که عامل اتصال عرضی، که به عنوان یک پل عمل می‌کند، می‌تواند فاصله بین مولکول‌های نشاسته را بدون تغییر ساختار کریستالی نشاسته در داخل گرانول‌ها کاهش دهد. علاوه بر این، اتصال عرضی

۳-۹- پراش اشعه ایکس و درصد بلورینگی

الگوهای پراش نوع A با قله‌های ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۳ درجه برای نشاسته‌های طبیعی و اتصال عرضی یافته در شکل ۱۵ نشان داده شده است. الگوی پراش نشاسته‌های اتصال عرضی یافته مشابه نشاسته طبیعی بود. این نتایج نشان داد که ایجاد اتصالات عرضی، الگوی کریستالی نشاسته را تغییر نداد. بر اساس نظر چن و همکاران (۲۰۱۷) اتصال عرضی به طور

طول فرآیند پیوند متقابل ایجاد می‌شود، اندکی کاهش یافت [۳۹]. در مقابل مطالعه کامویه و همکاران (۲۰۱۸) نشان داد که نشاسته سورگوم اتصال عرضی یافته بلورینگی بالاتری نسبت به نشاسته طبیعی خود دارد. این محققین دلیل این افزایش را معرفی گروه عاملی پس از اصلاح شیمیایی دانستند که عمدتاً این اصلاح در ناحیه آمورف گرانول نشاسته رخ داده و سبب تخریب مولکول‌های نشاسته شد [۵۴].

ممکن است عمدتاً در مناطق آمورف گرانول‌های نشاسته اتفاق بیفتد چراکه این مناطق به آسانی برای معرف‌های اتصال عرضی در دسترس هستند [۲]. چندک و همکاران (۲۰۲۲) اثر غلظت‌های مختلف ماده ایجاد کننده اتصال عرضی را بر نشاسته لتوس بررسی کردند. این محققین دریافتند که مقادیر بلورینگی با افزایش سطح ماده ایجاد کننده اتصال عرضی، به دلیل اصلاح شیمیایی و تغییرات در ساختار کریستالی که در

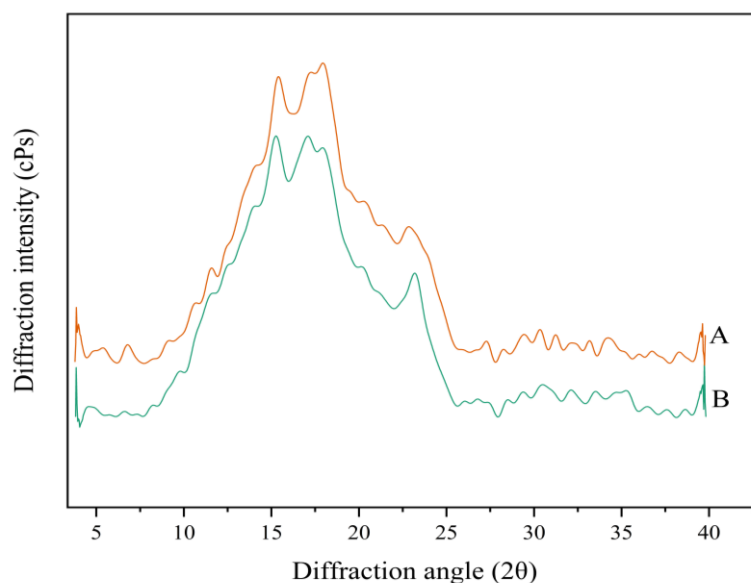


Fig 15. X-ray diffraction pattern of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

۱- طول موج 3427cm^{-1} ، ارتعاشات کششی گروه‌های هیدروکسیل درونی (O-H)؛ ۲- طول موج 2926cm^{-1} ، کشش نامتقارن پیوند کربن-هیدروژن (C-H)؛ ۳- طول موج 1640cm^{-1} ، ارتعاشات خمشی H-O-H در مناطق آمورف نشاسته (مربوط به آب جذب شده منطقه آمورف گرانول‌های نشاسته)؛ ۴- طول موج‌های 1363cm^{-1} و 1338cm^{-1} ، کشش C-H؛ ۵- 1242cm^{-1} ، کشش C-OH، CH₂OH؛ ۶- محدوده $1160-1100\text{cm}^{-1}$ کشش نامتقارن C-O-C؛ ۷- 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

۳-۱۰- FTIR

طیف FTIR نمونه‌ها برای بررسی تغییرات در ساختار مولکولی نشاسته اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی ارائه شده است. همان‌طور که در شکل ۱۶ نشان داده شده است طیف جذبی نشاسته طبیعی و فسفریله مشابه بود که این امر بیانگر این موضوع است که اصلاح اتصال عرضی گروه‌های شیمیایی جدیدی در ساختار نشاسته‌ای ایجاد نمی‌کند، بلکه فقط جذب پیک‌های خاصی را تشدید می‌کند. به منظور بررسی تغییرات شدت پیک‌ها، پیک‌های اصلی زیر در طیف FTIR نمونه‌های نشاسته گندم مورد توجه قرار گرفتند:

فسفریله وجود ندارد. این عدم تفاوت به عدم تغییر در ساختار شیمیایی مولکول ها در مقایسه با نشاسته طبیعی نسبت داده شد [۵۶]. اگر چه فسفریلاسیون سبب کاهش شدت پیک های 3264cm^{-1} ، 1640cm^{-1} و 994cm^{-1} نسبت به نشاسته طبیعی شد که دلیل این امر را می توان اختلال در پیوندهای هیدروژنی و معرفی گروه فسفات در بین گروه های هیدروکسیل نمونه های نشاسته دانست. به طور مشابه شالویری و همکاران (۲۰۱۰) کاهش شدت پیک در نشاسته اتصال عرضی یافته نسبت به نشاسته طبیعی را گزارش کردند [۵۷]. در مقابل جیوتی و همکاران (۲۰۰۶) مشاهده کردند که نوار کششی O-H در منطقه $3600 - 3700\text{cm}^{-1}$ در مقایسه با نشاسته طبیعی، در طیف نشاسته های اتصال عرضی یافته، گسترش یافته و تیزتر می باشد [۵۸].

از سوی دیگر شدت پیک های 997cm^{-1} و 1298cm^{-1} در نشاسته فسفریله نسبت به نشاسته طبیعی افزایش یافت، دلیل افزایش شدت این پیک ها در نشاسته اتصال عرضی یافته به دلیل پیوندهای ایجاد پیوند P-O-C می باشد. همچنین افزایش جزئی شدت پیک های نشاسته فسفریله در ناحیه $1300 - 1150\text{cm}^{-1}$ نسبت به نمونه نشاسته طبیعی به افزایش کشش متقارن پیوند فسفر-اکسیژن (P=O) نسبت داده شد؛ بنابراین کاهش شدت پیک در 3264cm^{-1} (ارتعاشات کششی -OH) و افزایش شدت پیک در $1300 - 1150\text{cm}^{-1}$ (کشش متقارن پیوند فسفر-اکسیژن (P=O)) نشان می دهد که نشاسته با STMP واکنش نشان داده است [۵۹].

از طرف دیگر شدت جذب پیک ها در 994cm^{-1} و 1082cm^{-1} را می توان به تغییرات در ساختار کریستالی و بلورینگی پلیمرهای نشاسته نسبت داد، درحالی که شدت جذب پیک در 1018cm^{-1} با ساختار مناطق آمورف گرانول های نشاسته مرتبط است [۶۰]. بنابراین، نسبت های جذب 1082cm^{-1} تا

1018cm^{-1} و 994cm^{-1} تا 1018cm^{-1} به ترتیب برای توصیف درجه نظم مناطق کریستالی گرانول های نشاسته (درجه نظم؛ DO) و محتوای ماریپیچ دوگانه (DD) استفاده می شوند. با این حال، نسبت جذب 1018cm^{-1} تا 994cm^{-1} با تغییرات داخلی در مناطق آمورف گرانول های نشاسته مرتبط است [۶۱].

شدت جذب پیک ها در 994cm^{-1} و 1082cm^{-1} با تغییرات در بلورینگی و کریستالی بودن پلیمرهای نشاسته مرتبط است، درحالی که شدت جذب پیک در 1018cm^{-1} به ساختار آمورف نواحی گرانول های نشاسته مرتبط است. در نتیجه، نسبت های جذب 1082cm^{-1} تا 1018cm^{-1} و 994cm^{-1} تا 1018cm^{-1} به ترتیب برای مشخص کردن درجه ترتیب نواحی کریستالی گرانول های نشاسته (درجه ترتیب؛ DO^{15}) و محتوای ماریپیچ دوگانه (DD^{16}) مورد استفاده قرار می گیرند. با این حال، نسبت جذب 1018cm^{-1} تا 994cm^{-1} با تغییرات داخلی در مناطق آمورف گرانول های نشاسته مرتبط است [۶۲].

پژوهش حاضر نسبت شدت پیک های نشاسته فسفریله شده را با نشاسته طبیعی مقایسه کرد و نشان داد که فسفریلاسیون با کاهش پیوندهای هیدروژنی در ساختار کریستالی گرانول های نشاسته گندم منجر به کاهش نسبت DO و DD با کاهش نشاسته شد. از سوی دیگر، فسفریلاسیون با کاهش نظم در ساختار کریستالی گرانول های نشاسته گندم منجر به افزایش نسبت 1018cm^{-1} تا 994cm^{-1} شد که توسط پراش اشعه ایکس و تجزیه و تحلیل درصد بلورینگی تأیید شد. درحالی که مطالعه ی شی و همکاران (۲۰۱۳) نشان داد که مناطق آمورف گرانول های نشاسته با ایجاد اتصال عرضی کاهش می یابد. این محققین دلیل کاهش این مناطق را به هم تراز و ارتباط آمیلوز-آمیلاز و یا آمیلوز-آمیلوپکتین در مناطق آمورف نشاسته نسبت دادند؛ چراکه اصلاح ایجاد

اتصال عرضی ساختار مولکول‌های نشاسته را با فشرده تر کردن آنها در مقایسه با مولکول‌های نشاسته طبیعی تغییر داد [۲].

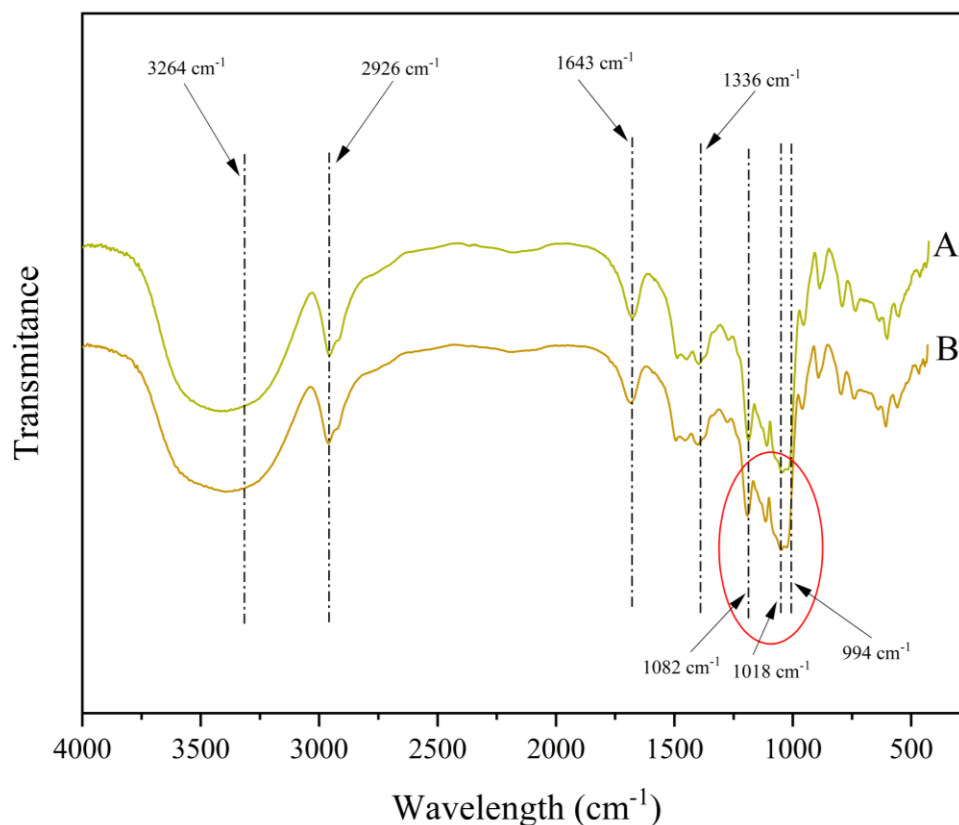


Fig 16. FT-IR spectra of native (A) and phosphorylated wheat starch (B).

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

Sampel	1082/1018 (DO)	994/1018 (DD)	1018/994 (Amorphous)	RC%
Native starch	1.38 ± 0.04^a	1.29 ± 0.02^a	0.83 ± 0.07^b	44.52 ± 0.57^a
Phosphorylated Starch	1.34 ± 0.09^b	1.20 ± 0.06^b	0.87 ± 0.08^a	41.22 ± 0.35^b

تفاضلی (DSC) مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۵). نتایج

نشان داد که اصلاح فسفریلاسیون نشاسته سبب افزایش

معنی‌دار T_o و T_p نسبت به نشاسته طبیعی شد که این امر را

می‌توان به معرفی گروه فسفات به مولکول‌های نشاسته و

تقویت برهمکنش بین مولکولی نسبت داد که این اصلاح

۳-۱۱- DSC

ویژگی‌های حرارتی دمای شروع (T_o)، اوج (T_p)، و نهایی (T_e) ژلاتیناسیون و آنتالپی ژلاتیناسیون (ΔH) نشاسته طبیعی و نشاسته اتصال عرضی یافته توسط کالری‌سنجی روبشی

سبب مهار ژلاتیناسیون نشاسته شد [۶۳]. در طی این عملیات اصلاحی، تقویت ساختار آمورف گرانول‌های نشاسته از طریق پیوند کووالانسی منجر به تشکیل یک ساختار داخلی بسیار آمورف و پیچیده شد. این امر کاهش دمای نهایی (T_c) و آنتالپی ژلاتینه شدن (ΔH) را به دنبال داشت. نتایج نسبت شدت پیک در تست طیف‌سنجی فوری و درصد بلورینگی این رابطه را تایید کرد و همبستگی مثبتی با نتایج آزمایش نشان داد [۵۳].

شارما و همکاران (۲۰۲۱) ویژگی‌های حرارتی نشاسته ارزن بارنارد^{۱۷} اتصال عرضی یافته با (STMP) در سطوح مختلف (۱، ۳ و ۵ درصد) را مورد مطالعه قرار دادند. این محققین دریافتند که ایجاد اتصال عرضی مقادیر T_o و T_p را افزایش داد، درحالی‌که مقادیر T_c و ΔH را کاهش داد. این محققین افزایش مقادیر T_o و T_p را به تقویت ارتباط مولکولی گرانول‌های نشاسته پس از اتصال عرضی نسبت دادند درحالی‌که این محققین دلیل کاهش T_c و ΔH را تشکیل ساختار داخلی بسیار آمورف و پیچیده دانستند [۶۴].

در مقابل، اولایمی و همکاران (۲۰۲۱)، دریافتند که با افزایش غلظت اسید سیتریک در نشاسته سیپروس^{۱۸}، مقادیر T_p ، T_o ،

T_c و ΔH افزایش می‌یابد. این امر نشان می‌دهد که اتصال عرضی توسط اسید سیتریک منجر به مقادیر بالاتری برای این پارامترها شده است. علاوه بر این، محققان خاطرنشان کردند که نشاسته‌های دارای پیوند متقابل دمای ژلاتینه شدن بالاتری را نشان می‌دهند که نشان‌دهنده توانایی پیوند بهتر در مقایسه با نشاسته طبیعی است [۶۵].

دونگ و واسانتان (۲۰۲۰) اثر اصلاح اتصال عرضی با $POCl_3$ و STMP در اشکال آبی و نیمه خشک را بر نشاسته ذرت، نخود و باقلا مورد مطالعه قرار دادند. این محققین گزارش کردند که نشاسته‌های اتصال عرضی یافته تغییرات بالقوه‌ای در ویژگی‌های ژلاتینه شدن خود نشان دادند. اتصال عرضی با $POCl_3$ پیک گرماگیر را برای هر سه نمونه نشاسته به دمای بالاتر منتقل کرد. به همین ترتیب، تیمار STMP در یک فرم نیمه خشک به طور قابل توجهی مقدار T_o را کاهش داد درحالی‌که مقدار T_p و T_c همه نشاسته‌ها را در مقایسه با نشاسته طبیعی خود افزایش داد. در نتیجه این مطالعه نشان داد که عوامل اتصال عرضی و روش‌های اتصال عرضی بر پیوندهای مولکول‌های نشاسته تأثیر متفاوتی دارند [۶۶].

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

Sampel	T_o	T_p	T_c	ΔH
Native starch	52.90±0.13 ^b	58.12±11 ^b	64.37±0.06 ^a	8.48±0.11 ^a
Phosphorylated Starch	53.40±0.16 ^a	58.20±0.24 ^a	62.58±0.11 ^b	5.47±0.10 ^b

تغییرات اساسی می‌شود. دمای خمیری شدن (PT) حداقل دمای مورد نیاز برای پختن نشاسته است. ویسکوزیته حداکثر (PV) نشان دهنده بالاترین ویسکوزیته نشاسته در نقطه تعادل بین تورم و نشت پلیمر به دلیل افزایش دما است، درحالی‌که شکست ویسکوزیته (BD) پایداری گرانول‌های نشاسته را در برابر افزایش دما و نیروهای برشی نشان می‌دهد. در هنگام

۳-۱۲- خمیری شدن

پارامترهای خمیری شدن نشاسته طبیعی و اتصال عرضی یافته در جدول شماره ۶ نشان داده شده است. در طول حرارت دهی و ژلاتینه شدن، آرایش مولکولی نشاسته

18. Cyperus

17. Barnyard millet

سرد شدن، تجمع مولکول‌های آمیلوز که منجر به افزایش ویسکوزیته می‌شود، با ویسکوزیته نهایی (FV) نشان داده می‌شود، درحالی‌که بازگشت ویسکوزیته (SB) توانایی ژل شدن یا رتروگراداسیون نشاسته را نشان می‌دهد [۶۷].

نتایج نشان داد که دمای خمیری شدن نشاسته اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی افزایش یافت؛ دلیل این افزایش را می‌توان جلوگیری از خروج آمیلوز از مولکول‌های نشاسته نسبت داد که منجر به تقویت مولکولی و تورم محدود در طول فرآیند ژلاتینه‌سازی می‌شود [۴۶]. به طور مشابه شارما همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که اصلاح اتصال عرضی سبب افزایش دمای خمیری شدن نشاسته هسته لیچی نسبت به نشاسته طبیعی شد [۶۸]. جیوتی و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که اصلاح اتصال عرضی از طریق ایجاد پیوند میان زنجیره‌های مولکولی نشاسته، سبب افزایش انرژی مورد نیاز به منظور تورم گرانول‌های نشاسته می‌گردد [۵۸].

از سوی دیگر نتایج نشان داد که ویسکوزیته حداکثر و ویسکوزیته شکست نشاسته‌های اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی افزایش یافت که این امر به دلیل افزایش برهمکنش درون و بین مولکولی گرانول‌های نشاسته دانست چراکه افزایش این برهمکنش‌ها سبب کاهش تخریب گرانول‌های نشاسته در طول حرارت دهی می‌شود و افزایش ویسکوزیته را به دنبال دارد [۶۹].

اصلاح اتصال عرضی از طریق تشکیل پیوند کووالانسی و اتصال متقابل بین آمیلوز و آمیلوپکتین سبب تقویت گرانول‌های نشاسته متورم شد و در نتیجه شکست ویسکوزیته و شکستگی خمیر نشاسته را تحت برش مکانیکی و حرارتی کاهش داد که این کاهش شکستگی با افزایش مقاومت گرانول‌های نشاسته در برابر برش مکانیکی و حرارتی متناسب می‌باشد [۳۳]. چندک و همکاران (۲۰۲۲) نیز گزارش کردند که اصلاح اتصال عرضی به دلیل سفت

شدن مولکول‌های نشاسته [۵۸] سبب کاهش شکست ویسکوزیته نشاسته کیتول نسبت به نشاسته طبیعی شد [۳۹]. از سوی دیگر ایجاد اتصال عرضی از طریق افزایش جذب آب گرانول‌های نشاسته منجر به بزرگ شدن گرانول‌های نشاسته نسبت به نشاسته طبیعی شد و در نتیجه این نشاسته اصلاح شده در طول خنک شدن ویسکوزیته نهایی بیشتری را ایجاد کرد [۷۰]. ویسکوزیته بازگشت (SB) نشان دهنده توانایی خمیر نشاسته برای تشکیل ژل یا رتروگراداسیون است [۷۱]. اصلاح اتصال عرضی سبب افزایش جزئی مقدار بازگشت ویسکوزیته نسبت به نشاسته طبیعی شد. بر اساس نظر سوده‌ش و همکاران (۲۰۲۰)، اصلاح فسفریلاسیون به دلیل افزایش بازآرایی مجدد زنجیره‌های نشاسته نشأت پیدا کرده به بیرون گرانول‌های نشاسته از طریق ایجاد آسیب‌های سطحی که در طول اصلاح پدید می‌آیند، سبب افزایش بازگشت ویسکوزیته می‌شود [۷۲].

نتایج مطالعه جیا و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که ماده ایجاد کننده اتصال عرضی STMP سبب کاهش دمای خمیری شدن (PT)، ویسکوزیته حداکثر (PV)، ویسکوزیته شکست (TV)، شکست ویسکوزیته (BV)، ویسکوزیته نهایی (FV)، و بازگشت ویسکوزیته نشاسته ذرت شد [۷۳]. به طور مشابه ماده ایجاد کننده اتصال عرضی هگزامتافسفات سدیم ویژگی‌های خمیری شدن نشاسته موز را کاهش داد [۳۲]. درحالی‌که در مطالعه سوده‌ش و همکاران (۲۰۲۱) ماده ایجاد کننده اتصال عرضی اکسی کلرید فسفر پارامترهای PV، TV، SB و FV نشاسته کیتول را افزایش داد [۷۲].

اصلاح اتصال عرضی نشاسته بسته به منبع نشاسته، فاکتور اتصال عرضی، غلظت آن و شرایط واکنش متفاوت است. غلظت کمتر معرف و درجه کمتر اتصال متقابل می‌تواند منجر به افزایش تورم و ویسکوزیته حداکثر در طول گرم کردن نشاسته با آب شود، درحالی‌که درجه بالاتر اتصال متقابل

استحکام گرانول را افزایش می دهد و منجر به ویسکوزیته حداکثر کمتر می شود [۷۴].

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

Sampel	PT (°C)	Viscosity (cP)				
		PV	TV	BD	FV	SB
Native starch	65.90±0.64 ^b	1774.00±19.50 ^b	1541±18.38 ^b	233.00±18.50 ^a	1869.00±11.46 ^b	464.00±17.10 ^b
Phosphorylated Starch	66.71±0.97 ^a	1902.00±17.41 ^a	1674±11.40 ^a	228.00±10.66 ^b	2487.00±12.45 ^a	813.00±22.50 ^a

۳-۱۳- بررسی مورفولوژی گرانول های نشاسته

تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) نشاسته طبیعی و اتصال عرضی یافته در شدت بزرگنمایی ۳۰۰۰ برابر در شکل ۱۷ نشان داده شده است. گرانول های نشاسته گندم دارای اشکال گرد، بیضی، دیسک مانند با اندازه و شکل از کوچک تا بزرگ می باشند.

نتایج نشان داد که اصلاح اتصال عرضی سبب ایجاد حفره ها و ترک هایی روی سطح گرانول های نشاسته شد. بر اساس نظر ون هانگ و موریتا (۲۰۰۵) گرانول های نشاسته تحت تأثیر فرسایش بیرونی ناشی از فرآیندهای اصلاح شیمیایی

قرار می گیرند [۷۵]. سیروها و ساندو (۲۰۱۸) و کو و همکاران (۲۰۱۰) تغییرات جزئی را در سطح گرانول نشاسته ارزن مروارید و نشاسته ذرت اتصال عرضی یافته در مقایسه با نشاسته طبیعی آنها مشاهده کردند. این محققین بیان کردند که اصلاح اتصال عرضی بر مورفولوژی گرانول نشاسته با توجه به اندازه گرانول تأثیر می گذارد. به طوری که گرانول های بزرگتر در مقایسه با گرانول های با اندازه کوچکتر تغییرات جزئی بیشتری را متحمل شده اند [۷۶، ۷۷].

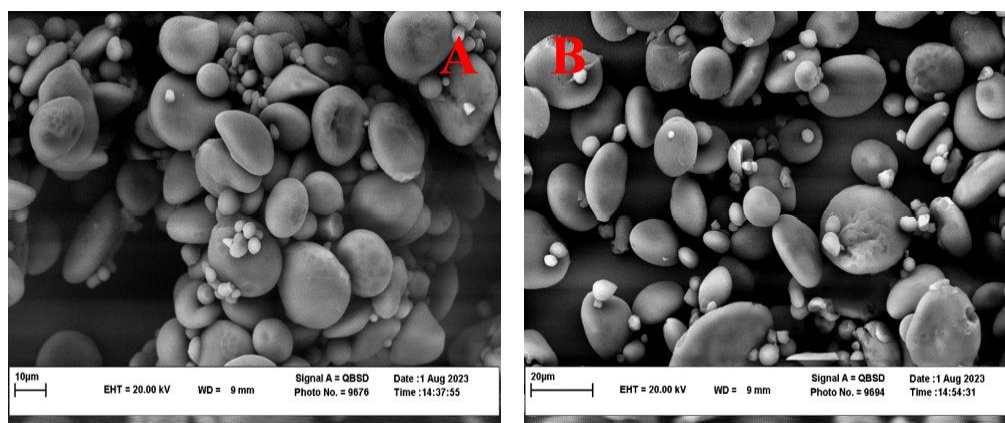


Fig 17. Scanning electron micrography of native (A) and phosphorylated wheat starch (b).

۴- نتیجه گیری

دهنده) توانست به طور موثری بر خواص نشاسته گندم تأثیر بگذارد. در این بین با توجه به ویژگی های مورد نیاز نشاسته مورد استفاده در فرمولاسیون انواع سس ها، نشاسته ای با

نتایج نشان داد که ۱۷ نوع تیمار انجام شده در این بررسی با توجه به شرایط واکنش متفاوت (pH، دما و غلظت واکنش

مقایسه رفتار حرارتی نشان داد که فسفریلاسیون از طریق معرفی گروه فسفات به مولکول‌های نشاسته و تقویت برهمکنش بین مولکولی سبب افزایش دماهای ژلاتیناسیون اولیه T_0 و اوج T_p نسبت به نمونه نشاسته طبیعی گردید؛ درحالی‌که همین تیمار کاهش دمای نهایی (T_e) و آنتالپی ژلاتینه شدن (ΔH) را به دنبال داشت. 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 پاستوریزاسیون و تنش بالا در حین هموژنیزاسیون مقاومت کند و این نوع نشاسته اصلاح شده را برای استفاده در فرمولاسیون سس‌ها مناسب سازد.

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 انجام شد و با نمونه نشاسته طبیعی مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌ها نشان داد که فسفریلاسیون نشاسته گندم منجر به کاهش بلورینگی نشاسته طبیعی از ۴۴/۵۲ درصد به ۴۱/۲۲ درصد شد. این کاهش، ارتباط مثبتی با محتوای ماریپیچ دوگانه و درجه نظم در نتایج آزمون FTIR نشان داد. از طرف دیگر این تیمار اصلاحی دمای خمیری شدن، ویسکوزیته حداکثر، ویسکوزیته شکست، ویسکوزیته نهایی و بازگشت ویسکوزیته را نسبت به نشاسته طبیعی افزایش داد درحالی که کاهش شکست ویسکوزیته را به دنبال داشت. نتایج

ه-منابع

- [1] Babić, J., et al., *Effects of pectin and carrageenan on thermophysical and rheological properties of tapioca starch*. Czech Journal of Food Sciences, 2006. **24**(6): p. 275.
- [2] Majzoubi, M., et al., *Physico-chemical properties of phosphoryl chloride cross-linked wheat starch*. 2009.
- [3] Tester, R.F., J. Karkalas, and X. Qi, *Starch—composition, fine structure and architecture*. Journal of cereal science, 2004. **39**(2): p. 151-165.
- [4] Guo, Z., et al., *Structural and physicochemical properties of lotus seed starch treated with ultra-high pressure*. Food chemistry, 2015. **186**: p. 223-230.
- [5] Man, J., et al., *Comparison of physicochemical properties of starches from seed and rhizome of lotus*. Carbohydrate Polymers, 2012. **88**(2): p. 676-683.
- [6] Guo, et al., *Effect of ultra high pressure processing on the particle characteristics of lotus-seed starch*. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2013(4): p. 525-532.
- [7] Copeland, L., et al., *Form and functionality of starch*. Food hydrocolloids, 2009. **23**(6): p. 1527-1534.
- [8] 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.
- [9] Kaur, B., et al., *Progress in starch modification in the last decade*. Food hydrocolloids, 2012. **26**(2): p. 398-404.
- [10] Jayakody, L. and R. Hoover, *The effect of lintnerization on cereal starch granules*. Food Research International, 2002. **35**(7): p. 665-680.
- [11] Heo, H., Y.-K. Lee, and Y.H. Chang, *Rheological, pasting, and structural properties of potato starch by cross-linking*. International journal of food properties, 2017. **20**(sup2): p. 2138-2150.
- [12] Wang, X., et al., *Research advances in chemical modifications of starch for hydrophobicity and its applications: A review*. Carbohydrate polymers, 2020. **240**: p. 116292.

- [13] Chung, H.-J., K.-S. Woo, and S.-T. Lim, *Glass transition and enthalpy relaxation of cross-linked corn starches*. Carbohydrate polymers, 2004. **55**(1): p. 9-15.
- [14] Gui-Jie, M., et al., *Crosslinking of corn starch with sodium trimetaphosphate in solid state by microwave irradiation*. Journal of applied polymer science, 2006. **102**(6): p. 5854-5860.
- [15] Chen, Y.-F., L. Kaur, and J. Singh, *Chemical modification of starch*, in *Starch in food*. 2018, Elsevier. p. 283-321.
- [16] Horwitz, W. and G.W. Latimer, *Official methods of analysis of AOAC International*. Vol. 1. 2000: AOAC international Gaithersburg.
- [17] Lim, S. and P. Seib, *Preparation and pasting properties of wheat and corn starch phosphates*. Cereal chemistry, 1993. **70**: p. 137-137.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] Leach, H.W., *Structure of starch granule I. Swelling and solubility patterns of various starches*. J. Cereal Chem., 1959. **36**: p. 534-544.
- [21] Mandala, I. and E. Bayas, *Xanthan effect on swelling, solubility and viscosity of wheat starch dispersions*. Food Hydrocolloids, 2004. **18**(2): p. 191-201.
- [22] Ehtiati, A., et al., *Pasting, rheological, and retrogradation properties of starches from dual-purpose sorghum lines*. Starch-Stärke, 2017. **69**(7-8): p. 1600262.
- [23] 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.
- [24] Reddy, I. and P.A. Seib, *Paste properties of modified starches from partial waxy wheats*. Cereal Chemistry, 1999. **76**(3): p. 341-349.
- [25] 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.
- [26] Pascoal, A.M., et al., *Extraction and chemical characterization of starch from S. lycocarpum fruits*. Carbohydrate polymers, 2013. **98**:(۲) p. 1304-1310.
- [27] 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.
- [28] 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.
- [29] Pons, M. and S. Fiszman, *Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled systems*. Journal of texture studies, 1996. **27**(6): p. 597-624.
- [30] Sasaki, T., et al., *Comparison of physical properties of wheat starch gels with different amylose content*. Cereal chemistry, 2002. **79**(6): p. 861-866.
- [31] Radi, M., et al., *The effect of freezing-assisted cross-linking on structural and rheological properties of potato starch*. International Journal of Biological Macromolecules, 2022. **222**: p. 2775-2784.
- [32] Olawoye, B., et al., *Understanding how different modification processes affect the physiochemical, functional, thermal, morphological structures and digestibility of cardaba banana starch*. International journal of biological macromolecules, 2022. **201**: p. 158-172.
- [33] 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.
- [34] Iweajunwa, S., O. Achugasim, and R. Ogali, *Effects of acetylation, carboxymethylation and crosslinking on some physicochemical properties of*

- starch from tubers of Icacina senegalensis and Cyrtosperma senegalense*. Scientia Africana, 2023. **22**(1): p. 75-84.
- [35] Singh, A. and L. Nath, *Evaluation of binder property of Moth bean starch in compressed solid dosage form*. International Journal of PharmTech Research, 2009. **1**(2): p. 365-368.
- [36] Hirsch, J.B. and J.L. Kokini, *Understanding the mechanism of cross-linking agents (POCl₃, STMP, and EPI) through swelling behavior and pasting properties of cross-linked waxy maize starches*. Cereal chemistry, 2002. **79**(1): p. 102-107.
- [37] Liu, C., et al., *Influence of phosphorylation and acetylation on structural, physicochemical and functional properties of chestnut starch*. Polymers, 2022. **14**(1): p. 172.
- [38] Mehfooz, T., et al., *Characterization of hydroxypropylated-distarch phosphate barley starch and its impact on rheological and sensory properties of soup*. International journal of biological macromolecules, 2020. **144**: p. 410-418.
- [39] Chandak, A., et al., *Effects of cross-linking on physicochemical and film properties of lotus (Nelumbo nucifera G.) Seed Starch*. Foods, 2022. **11**: p. 3069.
- [40] Sriprabhom, 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. **16**: p. 112304.
- [41] Luo, Y., et al., *Improvement in Freeze-Thaw Stability of Rice Starch by Soybean Protein Hydrolysates-Xanthan Gum Blends and its Mechanism*. Starch-Stärke, 2022. **74**(1-2): p. 2100193.
- [42] Xiaofan, L., Y. Chen, and W. Zhou, *Effect of cross-linking with sodium trimetaphosphate on structural and physicochemical properties of tigernut starch*. Food Science and Technology, 2022. **42**: p. e76422.
- [43] Oh, S.-M., et al., *Physicochemical and retrogradation properties of modified chestnut starches*. Food science and biotechnology, 2019. **28**: p. 1723-1731.
- [44] Nakkala, K., et al., *Chemical modifications of turmeric starch by oxidation, phosphorylation, and succinylation*. Starch-Stärke, 2022. **74**(9-10): p. 2200053.
- [45] Kim, C.T., et al., *Effects of phosphorylating salts and temperature on the preparation of rice starch phosphates by extrusion*. Starch-Stärke, 1999. **51**(8-9): p. 280-286.
- [46] Muhammad, K., et al., *Effect of pH on phosphorylation of sago starch*. Carbohydrate Polymers, 2000. **42**(1): p. 85-90.
- [47] 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.
- [48] Ačkar, Đ., et al., *Isolation of starch from two wheat varieties and their modification with epichlorohydrin*. Carbohydrate polymers, 2010. **81**(1): p. 76-82.
- [49] Sharma, V., et al., *Effect of cross-linking on physico-chemical, thermal, pasting, in vitro digestibility and film forming properties of Faba bean (Vicia faba L.) starch*. International journal of biological macromolecules, 2020. **159**: p. 243-249.
- [50] Majzoobi, M., et al., *Physicochemical properties of cross-linked wheat starch affected by L-ascorbic acid*. Journal of Agricultural Science and Technology, 2014. **16**: p. 355-364.
- [51] Miles, M.J., et al., *The roles of amylose and amylopectin in the gelation and retrogradation of starch*. Carbohydrate research, 1985. **135**(2): p. 271-281.
- [52] Mua, J. and D. Jackson, *Relationships between functional attributes and molecular structures of amylose and amylopectin fractions from corn starch*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997. **45**(10): p. 3848-3854.
- [53] 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.

- [54] Karmvir, G., et al., *Physico-chemical, textural and crystallinity properties of oxidized, cross-linked and dual-modified white sorghum starch*. International Food Research Journal, 2018 : (۵) ۲۰ .p. 2104-2111.
- [55] Peng, H., et al., *Soluble starch-based biodegradable and microporous microspheres as potential adsorbent for stabilization and controlled release of coix seed oil*. European Food Research and Technology, 2011. **232**: p. 693-702.
- [56] Gao, F., et al., *Preparation and characterization of starch crosslinked with sodium trimetaphosphate and hydrolyzed by enzymes*. Carbohydrate polymers, 2014. **103**: p. 310-318.
- [57] 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.
- [58] 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.
- [59] Sang, Y., O. Prakash, and P.A. Seib, *Characterization of phosphorylated cross-linked resistant starch by 31P nuclear magnetic resonance (31P NMR) spectroscopy*. Carbohydrate Polymers, 2007. **67**(2): p. 20۱۱۲-۱
- [60] 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.
- [61] 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.
- [62] Ahmad, M., et al., *Production and characterization of starch nanoparticles by mild alkali hydrolysis and ultra-sonication process*. Scientific Reports, 2020. **10**(1): p. 3533.
- [63] Carmona-Garcia, R., et al., *Effect of the cross-linked reagent type on some morphological, physicochemical and functional characteristics of banana starch (Musa paradisiaca)*. Carbohydrate Polymers, 20 : (۱) ۷۶ .۰۹p. 117-122.
- [64] 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, 202 : ۲ .۱p. 100161.
- [65] Olayemi, B., et al., *Green preparation of citric acid crosslinked starch for improvement of physicochemical properties of Cyperus starch*. Turkish journal of pharmaceutical sciences, 2021. **18**(1): p. 34.
- [66] Dong, H. and T. Vasanthan, *Amylase resistance of corn, faba bean, and field pea starches as influenced by three different phosphorylation (cross-linking) techniques*. Food Hydrocolloids, 2020. **101**: p. 105506.
- [67] Punia, S., et al., *Pearl millet grain as an emerging source of starch :A review on its structure, physicochemical properties, functionalization, and industrial applications*. Carbohydrate polymers, 2021. **260**: p. 117776.
- [68] Sharma, V., et al., *Physicochemical and Rheological Properties of Cross-Linked Litchi Kernel Starch and Its Application in Development of Bio-Films*. Starch-Stärke, 2021. **73**(7-8): p. 2100049.
- [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. 1943-1955.
- [70] 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.
- [71] Luo, F.-x., et al., *Preparation and characterisation of crosslinked waxy potato starch*. Food Chemistry, 2009. **115**(2): p. 563-568.
- [72] 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.

[73] Jia, S., et al., *Physicochemical Properties and In Vitro Digestibility of Dual-Modified Starch by Cross-Linking and Annealing*. Starch-Stärke, 2022. **74**(1-2): p. 2100102.

[74] 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.

[75] Van Hung, P. and N. Morita, *Physicochemical properties of hydroxypropylated and cross-linked starches from A-type and B-type wheat starch granules*. Carbohydrate polymers, 2005. **59**(2): p. 239-246.

[76] Siroha, A.K. and K.S. Sandhu, *Physicochemical, rheological, morphological, and in vitro digestibility properties of cross-linked starch from pearl millet cultivars*. International Journal of Food Properties, 2018. **21**(1): p. 1371-1385.

[77] 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.



Scientific Research

Optimizing reaction conditions for the production of phosphorylated wheat starch by sodium trimetaphosphate (STMP) in order to be used in the formulation of sauces

Mohammadkazem Heydarian¹, Majid Hashemi^{2*}, Shahram Beiraghi-Toosi², gholamali Goli-Movahhed³, Elnaz Milani⁴

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), Mashhad, Iran.

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

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

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/4/10

Accepted: 2024/7/29

Keywords:

wheat starch,
phosphorylation,
pasting,
sauce

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.92.

*Corresponding Author E-
majid_hashemi1@yahoo.com

Wheat starch is the most common type of starch in many countries and can be modified to produce a variety of starches. The widespread use of starch offers many opportunities in various industries due to its affordability, high safety and biodegradability. However, characteristics such as insolubility in cold water, heat intolerance, low resistance to applied stresses, and low freeze-thaw stability limit the use of natural starch for various industrial uses. One of the most efficient techniques for starch modification is chemical modification, but it raises concerns about environmental pollution and high chemical costs. For this reason, in this study, in order to reduce the consumption of chemicals, the reaction conditions for the production of phosphorylated starch with sodium trimetaphosphate (STMP) using three independent variables: pH (9.5, 10.5 and 11.5), temperature (110, 130 and 150 degrees Celsius) and reactant concentration (1.5, 3 and 4.5%) were optimized. According to the results of the physicochemical tests, the optimization criteria of starch used in all kinds of sauces with higher swelling and solubility index, higher dough transparency, less gel syneresis and higher freeze-thaw stability were selected. Then, in order to check the structural, thermal and pasting properties, additional tests were performed on selected and natural starch samples; The results showed that the starch produced under optimal conditions is suitable for use in the formulation of all kinds of sauces due to improved textural properties, higher viscosity and increased heat tolerance.



تأثیر غنی‌سازی پودر شکلات داغ با میوه‌ی عناب بر ویژگی‌های کیفی آن

هانیه چوکری دستجرد^۱، عباس جلیل‌زاده^{۲*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران

۲- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ماکو، دانشگاه آزاد اسلامی، ماکو، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۸/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۴

کلمات کلیدی:

عناب، شکلات داغ،

ترکیبات فنولی،

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی،

پودر کاکائو،

فراسودمند

شکلات داغ (یک نوشیدنی بر پایه کاکائو) به دلیل فواید سلامتی فراوانی که دارد در دهه‌های اخیر محبوبیت پیدا کرده است؛ اما در طی فرآوری پودر پایه‌ی این محصول، مقداری از مواد مغذی این محصول از بین می‌رود؛ بنابراین، غنی‌سازی یک روش مؤثر برای افزایش محتوای کلی مواد مغذی شکلات داغ است. پودر میوه‌ی عناب، حاوی اسید اسکوربیک، اسیدهای تری‌ترپنیک، اسیدهای فنولیک، اسیدهای آمینه، ساپونین‌ها، سربروزیدها، فلاونوئیدها، پلی‌ساکاریدها و مواد معدنی است. در این تحقیق پودر میوه عناب به میزان ۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی-وزنی به فرمولاسیون شکلات داغ افزوده شد و خصوصیات فیزیکی، شیمیایی، حسی و میکروبی؛ میزان ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که افزودن پودر عناب توانست سبب افزایش معنی‌دار ترکیبات فنلی کل، ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پودر شکلات داغ شود. پودر عناب، سبب کاهش میزان قند کل، چربی و pH محصول و سبب افزایش خاکستر کل و خاکستر محلول در اسید گردید. افزودن پودر عناب تا سطح ۲۰ درصد وزنی خواص حسی محصول را بهبود داد ولی افزودن ۳۰ درصد پودر عناب امتیاز پذیرش کلی محصول را از دیدگاه ارزیابان حسی کاهش داد؛ بنابراین افزودن پودر عناب به میزان ۲۰ درصد به فرمولاسیون پودر شکلات داغ می‌تواند موردپذیرش قرار گیرد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.122.

* مسئول مکاتبات:

۱-مقدمه

تشخیص می‌شوند [۵]. برای جبران این تلفات زیاد مواد مغذی، غنی‌سازی یکی از راه‌های مؤثر است و غنی‌سازی محصولات بر پایه کاکائو در سال‌های اخیر توجه زیادی را به خود جلب کرده است.

میوه عنب منبع خوبی برای اجزای فعال زیستی ازجمله پلی‌فنل‌ها، اسیدهای تری‌ترپنیک، پلی‌ساکاریدها، نوکلئوزیدها و نوکلئوبازها محسوب می‌شود؛ بنابراین عنب به‌عنوان یکی از منابع غنی غذای کاربردی شناخته می‌شود. به‌عنوان مثال در یک مطالعه مشخص گردید که در پالپ میوه عنب، ترکیبات فنلی کل از ۱.۱ تا ۲.۴ گرم و محتوای فلاونوئیدها از ۰.۷ تا ۱.۸ گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. علاوه بر این، میوه‌های عنب حاوی چندین ترکیب فلاونوئیدی مانند پروسیانیدین B2، اپی‌کاتچین، کوئرستین-۳-O روتینوزید، کوئرستین-۳-O گالاتوزید، کامفرول-گلوکوزیل-رامنوزید بود. Wojdyło و همکاران (۲۰۱۶) وجود ۲۵ ترکیب پلی فنلی در چهار رقم عنب اسپانیایی را گزارش دادند و محتوای کل پلی‌فنل‌ها بین ۱۴۴۲ تا ۳۴۳۲ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم ماده خشک بود. بر اساس مطالعه آن‌ها، در کل ۱۰ فلاوان-۳-اول، ۱۳ فلاونول، ۱ فلاوانون و ۱ دی‌هیدروکالکون در عنب اسپانیایی شناسایی شد. فلاوان-۳-اول‌ها، حدود ۹۲ درصد از کل محتوای پلی‌فنول‌ها را تشکیل می‌دهند، درحالی‌که فلاونول‌ها تنها ۸٪ را تشکیل می‌دهد [۶]. عنب همچنین حاوی مقدار کمی اسیدهای تری‌ترپنیک، نوکلئوزیدها و نوکلئوبازها است [۷].

بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که تاکنون از پودر میوه‌ی عنب برای غنی‌سازی پودر شکلات داغ استفاده نشده است. هدف از این تحقیق اضافه کردن پودر میوه عنب در مقادیر ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد به فرمولاسیون پودر شکلات داغ و بررسی خواص، فیزیکی، شیمیایی، میکروبی و خواص حسی محصول هست.

شکلات داغ یکی از نوشیدنی‌های بر پایه پودر کاکائو است که از دیرباز مورد مصرف بوده است. نوشیدنی‌های شکلات داغ به‌طور سنتی در آمریکای جنوبی و مرکزی و در اروپا توسط افراد در هر سنی و بدون زمان مصرف مشخص مصرف می‌شد [۱]؛ ولی امروزه بازار این محصول در سراسر جهان به‌سرعت در حال گسترش است. آن‌ها معمولاً یا از مخلوط پودر کاکائو، تکه‌های شکلات یا از شکلات بلوکی با پخش کردن آن‌ها در شیر یا در آب تهیه می‌شوند و با قیمت‌های بسیار متفاوتی به بازار عرضه می‌شوند. رنگ، ظاهر، بو، طعم و بافت به پذیرش نوشیدنی کمک می‌کند و برای ترجیح مصرف‌کننده، عامل تعیین‌کننده است. کاکائوی موجود در فرمولاسیون نوشیدنی نقش برجسته‌ای در ایجاد حس عمومی دارد. نوع کاکائو به‌شدت، ویژگی‌های حسی مانند رنگ، طعم، قوام دهان و تلخی را تعیین می‌کند [۲].

تولید پودر پایه‌ی شکلات داغ یک فرآیند چندمرحله‌ای است که شامل تخمیر، خشک‌کردن، برشته کردن، آسیاب کردن و تصفیه کردن دانه‌های کاکائو، کانچینگ و تمپر کردن دانه‌های کاکائو و فرمولاسیون آن است. در طول این فرآوری طولانی، افت مواد مغذی قابل توجه است. محتوای پلی‌فنول تقریباً ۱۰ برابر افت می‌یابد. برخی از فلاونوئیدها در زمان تشکیل محصولات واکنش میلارد کاملاً کاهش می‌یابد. به همین دلیل، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مواد خام تا محصولات نهایی متفاوت است [۳]. تقریباً ۵۰٪ اپی‌کاتچین در طول خشک شدن از بین می‌رود. سرعت خشک شدن بیشتر، منجر به تولید اسید استیک می‌شود که طعم‌های نامطلوب می‌دهد و خشک شدن خیلی آهسته، باعث رشد کپک زیاد و عدم وجود رنگ مطلوب در شکلات می‌شود [۴]. تخریب آنتوسیانین در طی تخمیر به دلیل هیدرولیز و پلیمریزاسیون تانن‌های متراکم رخ می‌دهد [۳]. در طول زمان تخمیر، محتوای اپی‌کاتچین، پلی‌فنل و پروسیانیدین به‌شدت کاهش می‌یابد. حتی، آنتوسیانیدین‌ها پس از تخمیر غیرقابل

۲-مواد و روش‌ها

۱-۲- مواد

پودر شکلات داغ برند ماگوش (حاوی پودر کاکائو، پودر پایه‌ی شکلات، شکر، پودر خامه‌ای کننده‌ی غیر لبنی، شیر خشک و پایدارکننده E410) از شرکت آیناز ماکو، پودر عنباب از عطاری‌های محلی، تمامی مواد شیمیایی و معرف‌ها از شرکت مرک آلمان و حلال‌ها با بالاترین خلوص تهیه شدند.

۲-۲- روش آماده‌سازی تیمارها

ابتدا محصول شکلات داغ مطابق فرمولاسیون شرکت آیناز ماکو در واحد تحقیق و توسعه شرکت آیناز ماکو (کارخانه قهوه ماگوش) فرموله شده و پودر میوه عنباب به میزان ۰ (نمونه کنترل)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد وزنی -وزنی به فرمولاسیون پودر شکلات داغ اضافه شد. سپس در یک مخلوط‌کن، مخلوط شده و در پاکت‌های متالایز به‌منظور جلوگیری از نفوذ رطوبت بسته‌بندی شدند.

۲-۳- اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، حسی و میکروبی

ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، حسی و میکروبی شکلات داغ مطابق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۶۸۸۴ (۱۳۹۹) انجام شد [۸].

۲-۴- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی

لندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنولی کل با روش Singleton-Rossi تعیین شد. به‌این ترتیب که ۰.۲ میلی‌لیتر از یک نمونه با ۱ میلی‌لیتر معرف FolinCiocalteu که قبلاً در آب مقطر رقیق‌شده بود (۱:۱۰) و ۰.۸ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷.۵ درصد (w/v) مخلوط شد [۱۳]. جذب، پس از ۳۰ دقیقه در ۷۶۵ نانومتر بر روی اسپکتروفتومتر قرائت شد. نتایج به‌صورت میلی‌گرم اسید گالیک (GAE) بر صد گرم نمونه بیان شد [۹].

۲-۵- اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بر اساس فعالیت ضدرادیکالی نمونه‌ها با استفاده از روش DPPH و طبق روش ساویز و همکاران (۲۰۱۵) انجام گرفت. بدین ترتیب که ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌ها به ۱۰ میلی‌لیتر محلول DPPH با غلظت (۱۰۰ میکرومولار) در متانول اضافه گردید و به‌شدت تکان داده شد. بعد از ۳۰ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد، جذب نوری نمونه‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر مقابل عصاره شاهد خوانده شد. در این آزمایش از TBHQ با غلظت 100ppm به‌عنوان نمونه شاهد استفاده شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه شد [۱۰]:

$$I\% = (A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{blank}}) \times 100$$

۲-۶- اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فلاونوئیدی

اندازه‌گیری محتوای فلاونوئید کل، با روش Udayaprakash و همکاران (۲۰۱۵) تعیین شد. به این ترتیب که ۵ میلی‌لیتر از کلرید آلومینیوم ۰.۱ مولار با ۲۰۰ میکرولیتر عصاره مخلوط شد. مقدار جذب پس از انکوباسیون به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق در ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای کل فلاونوئید به‌صورت میلی‌گرم معادل کوئرستین در هر گرم وزن خشک (mg QE/g DW) نمونه با استفاده از منحنی استاندارد کوئرستین بیان شد [۱۱].

۲-۷- روش آزمون ویژگی‌های میکروبیولوژی

آماده‌سازی نمونه‌ها

برای آماده‌سازی نمونه‌ها از استاندارد ملی ایران به شماره ۸۹۲۳-۴ استفاده شد. به‌این ترتیب که در شرایط اسپتیک، فرآورده پودری را به‌طور کامل در ظرف اولیه با استفاده از کاردک یا قاشق سترون مخلوط شده و سپس توزین شدند. برای کاهش شوک اسمزی به میکروفلور فرآورده، به حجمی از رقیق‌کننده (آب پیتونه بافری) که از قبل در ظروف سترون توزیع شده بود، با دقت اضافه گردید [۱۲].

شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها و کپک و مخمر

برای شمارش کلی میکروارگانیزم‌ها از استاندارد ملی ایران به شماره ۵۲۷۲-۱ و برای شمارش کپک و مخمر از استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۸۹۹-۳ استفاده شد [۱۳].

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تأثیر افزودن پودر میوه‌ی عنب بر خصوصیات

فیزیکی و شیمیایی پودر شکلات داغ

پودر شکلات داغ یک نوشیدنی فوری است که بر پایه پودر کاکائو با افزودن مقادیر متفاوتی از پودر خامه‌ای کننده غیر لبنی (کرمر)، شکر، شیر خشک، امولسیفایر و پایدارکننده تهیه و در اختیار مصرف‌کنندگان قرار می‌گیرد. وجود مقدار قابل توجهی شکر و کرمر می‌تواند ارزش تغذیه‌ای آن را به منفی تحت تأثیر قرار دهد. از این رو افزودن پودر میوه‌ی عنب می‌تواند خواص تغذیه‌ای محصول را تقویت نموده و محصولی فراسودمند عرضه نماید. میوه عنب منبع غنی از ترکیبات غذایی و ویتامین‌ها است و به همین دلیل به عنوان سلطان ویتامین‌ها شناخته می‌شود. علاوه بر این، یک مکمل

غذایی با محتوای بالای ترکیبات زیست فعال است و به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه، می‌توان از آن به عنوان یک عنصر آنتی‌اکسیدانی طبیعی در غذاها و داروها استفاده کرد. مطالعات نشان داده‌اند که عنب دارای خواص ضد سرطانی، ضد التهابی، ضد دیابت و محافظت از قلب، همچنین دارای خواص محافظتی، آنتی‌اکسیدانی و ضد بی‌خوابی از کبد است. عنب همچنین هضم غذا را تسهیل و سیستم عصبی و ایمنی را تحریک می‌کند. عنب حاوی مقادیر قابل توجهی کربوهیدرات، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیبرها، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب و ترکیبات فنلی مانند اسیدهای گالیک، کلروژنیک و کافئیک است که از اجزای اصلی سلامت انسان محسوب می‌شوند. میوه‌ی عنب به دلیل فواید سلامتی که دارد، می‌تواند خطر ابتلا به بیماری‌های مزمن خاص را کاهش دهد و همچنین بر عملکردهای هدف فراتر از عملکردهای اصلی تغذیه‌ای آن تأثیر بگذارد، به عنوان یک «غذای کاربردی» طبقه‌بندی می‌شود [۱۴].

تأثیر افزودن پودر میوه‌ی عنب بر خصوصیات پودر شکلات داغ در جدول ۱ خلاصه شده است.

Table 1 Effect of jujube on the physicochemical properties of hot chocolate powder

Treatment	Appearance	pH	Moisture	Acid-soluble ash	Ash	Fat	Total sugar
control	Acceptable	7.55±0.01 ^d	1.6 ± 0.3 ^a	0.1 ± 0.01 ^a	2.2±0.3 ^a	7.1 ± 0.2 ^b	58.1 ± 0.1 ^c
10%	Acceptable	7.46±0.02 ^c	1.8 ± 0.3 ^a	0.15± 0.03 ^b	2.8±0.2 ^b	6.5 ± 0.3	55.7 ± 0.95 ^c
20%	Acceptable	7.34±0.01 ^b	2.46 ± 0.3 ^b	0.018± 0.04 ^c	3.3±0.1 ^c	6.2 ± 0.2 ^b	52.1 ± 1.2 ^b
30%	Acceptable	7.32±0.03 ^a	3.06 ± 0.3 ^c	0.22 ± 0.01 ^c	3.6±0.2 ^d	5.8±0.1 ^a	50.5 ± 0.98 ^a

Different letter between columns indicates significant statistical difference at level 5%

نمونه‌ی ۳۰ درصد عنب مشاهده شد. با توجه بالا بودن رطوبت اولیه میوه خشک عنب نسبت به سایر مواد تشکیل‌دهنده محصول، افزایش رطوبت محصول منطقی به نظر می‌رسد. نتایج مشابهی توسط کومار جاتاوا و کومار باهات (۲۰۱۹) [۱۵] و بهراسمانی کوهستانی و همکاران (۲۰۱۹) [۱۶] و شهبازی و همکاران (۲۰۲۲) [۱۷] که به ترتیب پودر عنب را به فرمولاسیون تافی و شکلات تلخ اضافه کردند گزارش شده است.

نتایج نشان داد که افزودن، پودر میوه‌ی عنب تأثیر معنی‌داری بر روی ظاهر پودر شکلات داغ نداشت ($P > 0.05$) و تمامی تیمارها از لحاظ خواص ظاهری مطابق با استاندارد بودند و هیچ‌گونه مواد خارجی در نمونه‌ها مشاهده نشد. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش سطح پودر میوه‌ی عنب در فرمولاسیون محصول، رطوبت به طور معناداری افزایش یافت ($P < 0.05$). کمترین مقدار رطوبت مربوط به نمونه کنترل و بیشترین مقدار رطوبت مربوط به

نمونه کنترل و کمترین مقدار pH مربوط به تیمار ۳۰ درصد پودر عناب مشاهده شد.

۳-۲- تأثیر عناب بر میزان ترکیبات فنلی کل، فلاونوئیدی و ظرفیت آنتی اکسیدانی پودر شکلات داغ

میوهی عناب منبع خوبی برای اجزای زیست فعال از جمله پلی فنولها، اسیدهای تری ترپنیک، پلی ساکاریدها، نوکلئوزیدها و نوکلئوبازها در نظر گرفته می شود؛ بنابراین عناب به عنوان یکی از منابع غنی غذای کاربردی شناخته می شود. به عنوان متابولیت های ثانویه، ترکیبات فنلی گروه مهمی از ترکیبات گیاهی هستند که در پاسخ به تنش های محیطی تشکیل می شوند. این ترکیبات به دلیل داشتن گروه های هیدروکسیل خود می توانند با رادیکال های آزاد مقابله کنند و به عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن عمل کنند. این ترکیبات همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی را با مهار تجزیه هیدروپراکسیدها به رادیکال های آزاد نشان می دهند [۱۴].

نتایج تأثیر پودر میوهی عناب بر میزان ترکیبات فنلی کل و فلاونوئیدی در شکل های ۱ و ۲ آورده شده است. نتایج پژوهش نشان داد که با افزایش سطح پودر میوه عناب میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی محصول به طور معنی داری افزایش می یابد ($P < 0.05$).

همچنین نتایج نشان داد که با افزایش سطح پودر میوهی عناب در فرمولاسیون محصول، قند کل به طور معناداری ($P < 0.05$) کاهش یافت. با توجه به اینکه با افزایش سطح پودر عناب در محصول نهایی سبب کاهش میزان شکر در فرمولاسیون می شود، بنابراین کاهش میزان قند کل محصول امری طبیعی است. با این حال درصد قند تمامی تیمارها در محدوده استاندارد بود. نتایج مشابهی توسط شهبازی و همکاران (۲۰۲۲) گزارش شده است [۱۴].

نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش سطح پودر میوهی عناب، میزان چربی کاهش و خاکستر کل و خاکستر محلول در اسید افزایش می یابد. با عنایت به اینکه تیمارهای حاوی پودر میوه چربی کمتری نسبت به تیمار کنترل دارند (به دلیل کاهش سطح کرم) این نتایج کاملاً منطقی به نظر می رسد. از طرفی با توجه به اینکه میوه عناب نسبت به سایر اجزای شکلات داغ مواد معدنی بیشتری دارد، خاکستر کل و خاکستر محلول در اسید محصول نیز بالاتر خواهد بود. نتایج این پژوهش با مطالعات آریو امامی فر و همکاران (۱۳۹۹) که پودر میوهی عناب را به فرمولاسیون کیک [۱۷] و همچنین با یافته های گو و همکاران (۲۰۱۶) که میوه عناب را به فرمولاسیون سس اضافه کردند [۱۸] مطابقت دارد.

نتایج جدول ۱ نشان می دهد که با افزایش مقدار پودر میوهی عناب مقدار pH کاهش یافت. بیشترین مقدار مربوط به

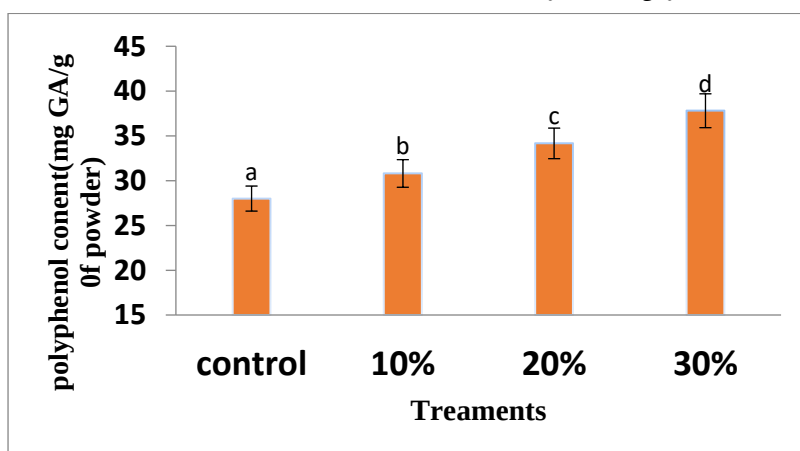


Fig 1 The effect of jujube fruit powder on the phenolic content of hot chocolate

Values with different letters represents the significant difference. ($P < 0.05$)

بیشترین مقدار ترکیبات فنلی کل مربوط به نمونه ۳۰ درصد پودر عناب (37.8 ± 1.5) و کمترین مقدار مربوط به نمونه کنترل (28 ± 1.6) بود.

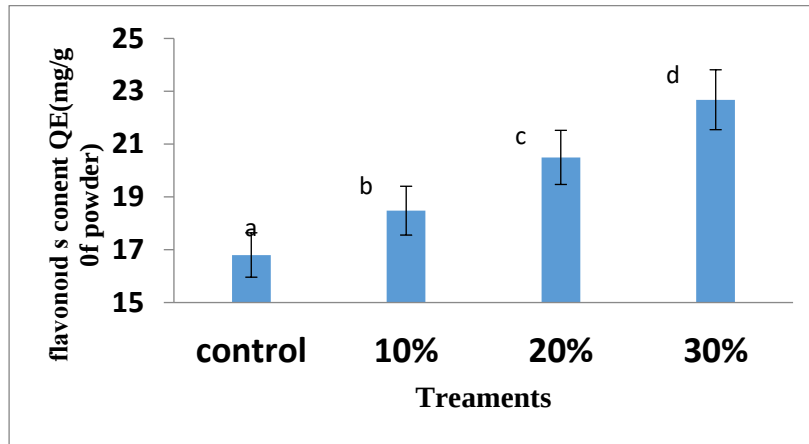


Fig 2 The effect of jujube fruit powder on the Flavonoid compounds of hot chocolate

Values with different letters represents the significant difference. ($P < 0.05$)

سنجش آنتی اکسیدانی DPPH به طور گسترده برای ارزیابی توانایی مهار یا خنثی کردن رادیکال DPPH توسط آنتی اکسیدانها استفاده می شود. رادیکال DPPH پایدارتر از رادیکالهای آنیون هیدروکسیل و سوپراکسید است و این، یکی از مزایای آن است [۲۱]. اسانسها و عصاره های گیاهان دارویی مانند عناب نیز به دلیل سطوح بالای ترکیبات فنولی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل، پتانسیل بالایی برای خنثی کردن رادیکالهای DPPH دارند [۲۲].

نتایج نشان می دهد که با افزایش درصد پودر میوه عناب میزان ترکیبات فلاونوئیدی افزایش می یابد. نتایج این پژوهش با یافته های نججا و همکاران (۲۰۲۰)، که پودر عناب را به فرمولاسیون کیک فراسودمند اضافه کردند [۱۹] و همچنین شهبازی و همکاران (۲۰۲۰) [۱۴] که شکلات تلخ را با پودر میوه عناب غنی سازی کردند مطابقت دارد. همچنین یافته های این پژوهش با گزارش راشوان و همکاران (۲۰۲۲) همخوانی دارد [۲۰].

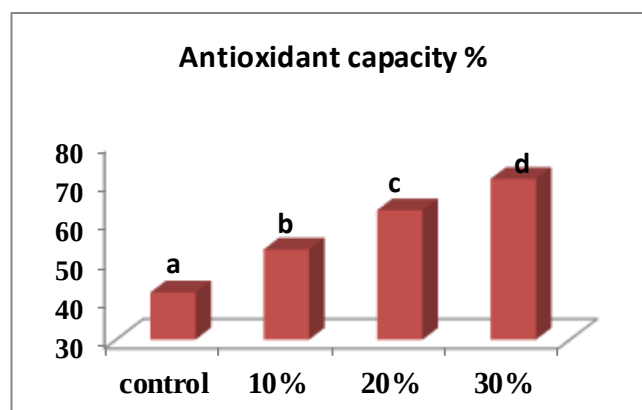


Fig 3 Inhibition of DPPH radicals by samples at different concentrations.

Values with different letters represents the significant difference. ($P < 0.05$)

۳-۳- تأثیر پودر میوهی عناب بر میزان شمارش کلی میکروبی

تأثیر پودر میوهی عناب بر میزان بار میکروبی پودر شکلات داغ در جدول 2 آمده است. مقادیر بار میکروبی تیمارهای مختلف برحسب (انحراف معیار $\pm$ میانگین) در جدول نمایش داده شده است.

نتایج نشان داد که پودر شکلات داغ (نمونه کنترل) به علت دارا بودن مقدار زیادی پودر کاکائو در فرمولاسیون خود، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی (42.32 ± 0.2) بود که با افزودن درصدهای مختلف عناب به طور معنی داری فعالیت آنتی اکسیدانی آن افزایش یافت ($P < 0.05$). بیشترین فعالیت بازدارندگی شکلات داغ برای تیمار حاوی ۳۰ درصد پودر عناب (71.58 ± 1.00 درصد) مشاهده شد (شکل ۳).

Table 2 Effect of jujube powder on the total microbial count of the product

Treatment	Microbial load (logcfu/g)
Control	2.47 ± 0.01^a
10%	2.54 ± 0.05^b
20%	2.81 ± 0.03^c
30%	2.85 ± 0.05^c

Values with different letters in the same column represents the difference significant

۳-۵- تأثیر پودر میوهی عناب بر خواص حسی محصول

محصولات مبتنی بر کاکائو به دلیل طعم، عطر و رنگ متمایز در بین گروه های مختلف مردم بسیار محبوب هستند. امروزه مصرف کنندگان مواد غذایی و نوشیدنی های شکلاتی نه تنها گروه های خاصی، بلکه تمامی سطوح جامعه مصرف می کنند. این نشان دهنده توسعه دلگرم کننده در چشم انداز بازار غذا و نوشیدنی شکلات است. با این وجود، مصرف کنندگان بر تأثیر مثبت غذا و نوشیدنی بر سلامتی نیز متمرکز شده اند. یکی از محبوب ترین محصولات غذایی نوشیدنی های شکلاتی است که به محصولی ساده مانند «شکلات داغ فوری» و «شکلات آماده برای نوشیدن» تبدیل شده است. مقدار کمی از چندین ترکیب فعال در نوشیدنی های شکلاتی از جمله کاتچین ها، پروسیانیدین B1 و پروسیانیدین B2 در غلظت ۰.۰۱ تا ۰.۱۲٪ (وزنی/وزنی) وجود دارد. دانه های کاکائو حاوی ترکیبات پلی فنلی هستند به همین دلیل محصولات کاکائو دارای خواص

مطابق با جدول فوق بار میکروبی بین تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۰.۵٪ معنی دار می باشد. بالاترین میزان بار میکروبی در تیمار ۳۰ و کمترین میزان آن در تیمار کنترل مشاهده گردید. مقایسه نتایج آزمایش نشان داد با افزایش درصد پودر عناب، میزان بار میکروبی افزایش یافت بالاتر بودن بار میکروبی با افزایش درصد پودر عناب احتمالاً در نتیجه بار میکروبی بالای عناب افزوده شده به محصول هست.

۳-۴- تأثیر پودر میوهی عناب بر میزان کپک و مخمر پودر شکلات داغ

تأثیر پودر میوهی عناب بر میزان کپک و مخمر پودر شکلات داغ نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش درصد پودر عناب در هیچ یک از تیمارها (شامل نمونه کنترل) و تیمارهای حاوی پودر میوهی عناب کپک و مخمر مشاهده نگردید.

آنتی اکسیدانی هستند که آن‌ها را برای تبدیل شدن به محصولات نوشیدنی سالم بالقوه تبدیل می‌کند [۲۳].

در این پژوهش از ۱۰ نفر ارزیاب حسی آموزش دیده برای ارزیابی خواص حسی محصول استفاده شد و ارزیابان حسی به تیمارها امتیاز ۰ - ۵ را دادند. نتایج این ارزیابی در جدول ۴ خلاصه شده است.

Table 4 Effect of jujube powder on the sensory properties of Hotchocolate

Treatment	Appearance color	Taste	Aroma	Consistency	Overall acceptance
Control	4.56 ± 0.6 ^b	4.5 ± 0.3 ^a	4.75 ± 0.3 ^a	4.6 ± 0.7 ^b	4.40 ± 0.3 ^b
10%	4.77 ± 0.5 ^b	4.65 ± 0.4 ^a	4.75 ± 0.4 ^a	4.57 ± 0.5 ^b	4.65 ± 0.2 ^b
20%	4.87 ± 0.3 ^b	4.79 ± 0.6 ^a	4.79 ± 0.6 ^a	4.67 ± 0.2 ^b	4.83 ± 0.7 ^b
30%	3.85 ± 0.5 ^a	4.85 ± 0.2 ^b	4.85 ± 0.2 ^a	3.32 ± 0.3 ^a	3.28 ± 0.3 ^a

Different letter between columns indicates significant statistical difference at level 5%

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان مقبولیت رنگ تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۵٪ معنی دار است ($P < 0.05$). بالاترین امتیاز رنگ به تیمارهای ۰، ۱۰٪ و ۲۰٪ و کمترین میزان آن به تیمارهای ۳۰٪ پودر عناب داده شده است. مقایسه نتایج آزمایش نشان داد افزایش درصد پودر عناب تا سطح ۲۰٪، تأثیری در مقبولیت رنگ تیمارهای مختلف نداشته است ولی افزودن ۳۰ درصد پودر عناب امتیاز رنگ را کاهش داد که این امر به دلیل رنگ و حالیت کمتر پودر عناب می‌باشد. همچنین یافته‌های این پژوهش نشان داد که میزان مقبولیت طعم و مزه تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۵٪ معنی دار می‌باشد ($P < 0.05$). بالاترین امتیاز طعم و مزه به تیمار ۳۰٪ و کمترین میزان آن به تیمار کنترل داده شده است. مقایسه نتایج آزمایش نشان داد با افزایش درصد پودر عناب، امتیاز طعم و مزه افزایش یافت بالاتر بودن امتیاز طعم و مزه با افزایش درصد پودر عناب احتمالاً در نتیجه طعم و مزه پودر عناب افزوده شده به محصول به دلیل میزان فروکتوز بالای آن می‌باشد.

تجزیه واریانس نشان داد که امتیاز عطر و بوی تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۵٪ معنی دار نبوده است. به عبارت دیگر افزایش پودر عناب تأثیری در طعم و بوی محصول نداشت. نتایج تجزیه تحلیل واریانس

نشان داد که بافت یا قوام تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۵٪ از دیدگاه ارزیابان حسی معنی دار می‌باشد. بالاترین امتیاز ارزیابی بافت به تیمارهای ۰، ۱۰ و ۲۰ درصد کمترین میزان آن به تیمار ۳۰٪ داده شده است. مقایسه نتایج آزمایش نشان داد با افزایش درصد پودر عناب، میزان مقبولیت بافت تا سطح ۲۰ درصد افزایش یافت ولی افزودن ۳۰ درصد پودر عناب به دلیل غلظت بالای محصول تأثیر منفی بر قوام محصول داشت. یافته‌های این پژوهش نشان داد که مقبولیت کلی تیمارهای مختلف آزمایش در سطح خطای ۵٪ معنی دار می‌باشد. بالاترین امتیاز مقبولیت کلی به تیمار ۲۰ درصد و کمترین میزان آن به تیمار ۳۰ درصد داده شده است.

۴- نتیجه‌گیری کلی

پودر شکلات داغ یک نوشیدنی فوری بر پایه پودر کاکائو است که در فرمولاسیون‌های مختلف تولید و بازار آن روزبه‌روز در حال گسترش است. طی فرآوری پودر پایه شکلات داغ، برخی از ترکیبات مغذی آن از بین می‌رود. از طرفی تمایل به مصرف محصولات فراسودمند و حاوی ترکیبات زیست فعال نیز مورد تقاضای مصرف‌کنندگان می‌باشد. در این پژوهش تأثیر افزودن پودر میوه فراسودمند عناب در مقادیر صفر (نمونه کنترل)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ درصد به فرمولاسیون پودر شکلات داغ اضافه شده و خواص

فلانونوئیدی محصول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوری‌که تیمار حاوی ۳۰ درصد پودر عناب به ترتیب ۳۵ و ۳۸ درصد ترکیبات فنلی و فلانونوئیدی بیشتری نسبت به نمونه کنترل داشت. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های غنی‌سازی شده با پودر عناب بیشتر از نمونه کنترل بود و تیمار حاوی ۳۰ درصد پودر عناب نسبت به نمونه کنترل، ۲۹ درصد خواص مهار رادیکال‌های آزاد DPPH بیشتری داشت. افزودن پودر عناب تا سطح ۲۰ درصد تأثیر منفی بر روی خواص حسی محصول نداشت ولی نمونه‌های حاوی ۳۰ درصد پودر عناب امتیاز کمتری نسبت به نمونه کنترل کسب نمودند. بهترین تیمار برای غنی‌سازی پودر شکلات داغ با عناب، تیمار ۲۰ درصد انتخاب شد.

ظاهری، فیزیکی و شیمیایی، خواص حسی و میکروبی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. علاوه بر این در کلیه تیمارها مقادیر ترکیبات فنلی کل، ترکیبات فلانونوئیدی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پودر میوه‌ی عناب تأثیر معنی‌داری بر روی ظاهر پودر شکلات داغ نداشت و تمامی تیمارها از لحاظ خواص ظاهری مطابق با استاندارد بودند. با افزایش سطح پودر میوه‌ی عناب در فرمولاسیون محصول، رطوبت، خاکستر کل و خاکستر محلول در اسید و pH افزایش، ولی قند کل و چربی کاهش یافت. با این حال تمامی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی محصول در محدوده استاندارد و قابل قبول بودند. با افزایش سطح پودر میوه عناب میزان ترکیبات فنلی و

ه-منابع

- [1] Beckett, S. T. (2009). *Chocolate flow properties. Industrial Chocolate: Manufacture and use*. UK: Wiley-Blackwell.
- [2] Dogan M, Aktar T, Toker OS, Tatlisu NB (2015) Combination of the simple additive (SAW) approach and mixture design to determine optimum cocoa combination of the hot chocolate beverage. *Int J Food Prop* 18:1677–1692.
- [3] Di Mattia, C. D., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Serafini, M. (2017). From cocoa to chocolate: The impact of processing on in vitro antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers in vivo. *Frontiers in Immunology*, 8, 1207.
- [4] Cheng, H., Wei, K., & Wang, L. (2015). The impact of variety, environment and agricultural practices on catechins and caffeine in plucked tea leaves. In *Processing and Impact on Active Components in Food* (pp. 597-603). Academic Press.
- [5] Zugravu, C., & Otelea, M. R. (2019). Dark chocolate: To eat or not to eat? A review. *Journal of AOAC International*, 102(5), 1388-1396.
- [6] Wojdyło, A., Figiel, A., Legua, P., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Hernández, F. (2016). Chemical composition, antioxidant capacity, and sensory quality of dried jujube fruits as affected by cultivar and drying method. *Food Chemistry*, 207, 170–179.
- [7] Guo, S., Duan, J.-A., Zhang, Y., Qian, D., Tang, Y., Zhu, Z., & Wang, H. (2015). Contents Changes of Triterpenic Acids, Nucleosides, Nucleobases, and Saccharides in Jujube (*Ziziphus jujuba*) Fruit During the Drying and Steaming Process. *Molecules*, 20, 22329–22340.
- [8] Iranian National Standard No. 16884. First revision. (2010). *Hot chocolate powder – characteristics and test methods*.
- [9] Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- [10] Saviz, A., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Khalilzadeh Kelagar, M. A. (2015). Investigation of cultivate zone and ultrasound on antioxidant activity of Fenugreek leaf extract. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences*, 4(11S), 174-181.
- [11] Udayaprakash, N. K., Ranjithkumar, M., Deepa, S., Sripriya, N., Al-Arfaj, A. A., & Bhuvaneswari, S. (2015). Antioxidant, free radical scavenging and GC–

MS composition of *Cinnamomum iners* Reinw. ex Blume. *Industrial Crops and Products*, 69, 175-179.

[12] Iranian National Standard No. 4-8923. Second revision. (2018). Microbiology of food and animal feed. Preparation of test samples, initial suspensions and decimal dilutions for microbiological testing. Part 4: Special provisions for the preparation of miscellaneous products.

[13] Iranian National Standard No. ۵۲۷۲-۱. 1st.Edition. ۲۰۱۵. Microbiology of the food chain Horizontal method for the enumeration of microorganisms.

[14] Shahbazi, S., Didar, Z., Vazifedoost, M., & Naji-Tabasi, S. (2022). Enrichment of dark chocolate with free and microencapsulated white tea and jujube extracts: Impacts on antioxidant, physicochemical, and textural properties. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 14(4), 188-201.

[15] kumar Jatav, A., & kumar Bhatt, D. (2019). SENSORY AND TEXTURAL EVALUATION OF TOFFEE WITH INCORPORATION OF INDIAN JUJUBE POWDER (*Zizyphus mauritiana*).

[16] Bahrasemani Koohestani, M., Sahari, M. A., & Barzegar, M. (2019). The effect of jujube powder incorporation on the chemical, rheological, and sensory properties of toffee. *Food science & nutrition*, 7(2), 678-688.

[17] Emamifar Ario, Zanganeh Z., Latifian, M., Arbab, Z., (2019). Physicochemical, textural and sensory properties of jujube-containing cake, *Food Science and Technology*, No. 103, Volume 07, September 13.

[18] Go, A. R., Kim, K. H., & Chin, K. B. (2016). Effect of Jujube powder on Quality and Shelf-life of Low-fat Sausage. *Trends in Agriculture & Life Sciences*, 53, 29-38.

[19] Najjaa, H., Ben Arfa, A., Elfalleh, W., Zouari, N., & Neffati, M. (2020). Jujube (*Zizyphus lotus* L.): Benefits and its effects on functional and sensory properties of sponge cake. *PloS one*, 15, Article e0227996.

[20] Rashwan, A. K., Karim, N., Shishir, M. R. I., Bao, T., Lu, Y., & Chen, W. (2020). Jujube fruit: A potential nutritious fruit for the development of functional food products. *Journal of Functional Foods*, 75, 104205.

[21] Zokti, J., Badlishah, A., Baharin, S., Abdulkarim, S., & Abas, F. (2016). Microencapsulation of green tea extracts and its effects on the physico-chemical and functional properties of mango drinks. *International Journal of Basic & Applied Sciences, IJBAS-IJENS*, 16, 16-32.

[22] Liczbiński, P., & Bukowska, B. (2022). Tea and coffee polyphenols and their biological properties based on the latest in vitro investigations. *Industrial Crops and Products*, 175, 114265.

[23] Dogan, M., Aslan, D., Aktar, T., & Goksel Sarac, M. (2016). A methodology to evaluate the sensory properties of instant hot chocolate beverage with different fat contents: multi-criteria decision-making techniques approach. *European Food Research and Technology*, 242, 953-966.



Scientific Research

The Effect of Hot Chocolate Powder Fortification with Jujube Fruit on Its Quality Characteristics

Hanieh Choukari Dastjerd¹, Abbas Jalilzadeh^{*2}

1 -Msc student food science, Department of Food Science and Technology, MAKU Branch, Islamic Azad University, MAKU, Iran.

2-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, MAKU Branch, Islamic Azad University, MAKU, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/11/10 Accepted:2025/1/13	Hot chocolate (a cocoa-based beverage) has gained popularity in recent decades due to its many health benefits. However, during the processing of the base powder, some of the nutrients in the product are lost. Therefore, fortification is an effective method to increase the overall nutrient content of hot chocolate. Jujube fruit powder contains ascorbic acid, triterpenic acids, phenolic acids, amino acids, saponins, cerebrosides, flavonoids, polysaccharides, and minerals. In this study, jujube fruit powder was added to hot chocolate powder formulations at 0 (control), 10, 20, and 30%, and the physical, chemical, sensory, and microbial properties; phenolic and flavonoid content, and antioxidant capacity of the product were evaluated. The results showed that the addition of jujube powder significantly increased the total phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activity of the hot chocolate powder. Jujube powder reduced the sugar, fat and pH of the product and increased the total ash and acid-soluble ash. Adding jujube powder up to 20% improved the sensory properties of the product, but adding 30% jujube powder reduced the overall acceptance score of the product from the sensory evaluators' perspective. Therefore, adding 20% jujube powder to the hot chocolate powder formulation can be acceptable.
Keywords: Jujube, hot chocolate, phenolic compounds, antioxidant capacity, cocoa powder, functional food.	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.122. *Corresponding Author E-	



تاثیر استفاده از خمیرترش سنتی بر ویژگی‌های کیفی نان حجیم حاوی گندم جوانه‌زده و عصاره سیر

سارا صفری، علیرضا صادقی*، علی مؤیدی، حسین پورعبدالله، علیرضا صادقی ماهونک

گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

عصاره سیر،

گندم جوانه‌زده تخمیر شده،

خمیرترش سنتی،

سفتی بافت،

کپک‌زدگی.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.133.

* مسئول مکاتبات:

sadeghi.gau@gmail.com

استفاده از عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون خمیرترش می‌تواند سبب بهبود ویژگی‌های حسی و زمان ماندگاری نان تولیدی گردد. در پژوهش حاضر، تاثیر استفاده توام از گندم جوانه‌زده تخمیر شده و عصاره سیر در فرمولاسیون خمیرترش سنتی حاوی ماست و سرکه بر ویژگی‌های کیفی نان گندم حجیم مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بافت‌سنجی از بین نمونه‌های تولیدی، کمترین سفتی بافت در نان حاوی گندم جوانه‌زده تخمیر شده و عصاره سیر (۲/۹۴ نیوتن) مشاهده شد که به شکل معنی‌داری ($p < 0.05$) از سفتی بافت نمونه شاهد کمتر بود. استفاده توام از تخمیر و جوانه‌زنی نیز سبب افزایش حجم مخصوص و کاهش چسبندگی بافت نان تولیدی گردید. علاوه بر این، اگر چه کمترین توسعه سطحی قارچ *Aspergillus flavus* در نان‌های حاوی ماست و سرکه و همچنین عصاره سیر به تنهایی مشاهده شد اما تفاوت معنی‌داری بین میزان توسعه سطحی قارچ در نمونه حاوی گندم جوانه‌زده تخمیر شده و عصاره سیر با نان حاوی پروپیونات کلسیم وجود نداشت. همچنین نمونه حاوی گندم جوانه‌زده تخمیر شده با نمونه شاهد به لحاظ پذیرش کلی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بر این اساس، خمیرترش گندم جوانه‌زده حاوی عصاره سیر به عنوان یک نگهدارنده زیستی می‌تواند جهت بهبود ویژگی‌های کیفی و زمان ماندگاری نان گندم مورد استفاده قرار گیرد.

۱-مقدمه

تولید نان یکی از قدیمی‌ترین فناوری‌هایی است که توسط بشر شناخته شده است. بسته به عادات فرهنگی، نان در انواع و اشکال مختلفی در نقاط مختلف دنیا به عنوان قوت غالب مصرف می‌شود. فساد نان گندم می‌تواند از طریق عوامل مختلفی از جمله فساد باکتریایی و قارچی رخ دهد که فساد عمده نان، فساد قارچی است [۲۱]. یکی از راهکارهای کنترل فساد نان، استفاده از مواد نگهدارنده شیمیایی مانند اسیدهای پروپیونیک، سوربیک، استیک و نمک‌های آنها است که می‌توانند باعث کندتر شدن روند فساد قارچی نان شوند. اگرچه این ترکیبات به عنوان ترکیبات بی‌خطر طبقه‌بندی می‌شوند اما استفاده از آنها به دلیل مقاومت ایجاد شده توسط برخی از قارچ‌ها باعث ایجاد نارضایتی مصرف‌کنندگان شده است [۳ و ۴]. راهکار جایگزین برای نگهدارنده‌های شیمیایی، استفاده از ترکیبات طبیعی است که می‌توانند برای کاهش یا از بین بردن جمعیت میکروبی و در عین حال بهبود کیفیت فراورده تولیدی مورد استفاده قرار گیرند. این ترکیبات همچنین می‌توانند به عنوان افزودنی‌های طبیعی ضدقارچ برای جلوگیری از رشد قارچ‌ها و افزایش زمان ماندگاری نان استفاده شوند و خطرات مرتبط با سلامت عمومی را کاهش دهند. از مهمترین نگهدارنده‌های زیستی در فرآوری نان می‌توان به غلات تخمیر شده و عصاره‌های گیاهی اشاره کرد. مطالعات متعددی نشان داده است که عصاره‌های گیاهی دارای اجزای مختلف زیست‌فعال هستند که می‌توانند رشد قارچ‌ها را به واسطه حضور ترکیبات فنلی کنترل کنند [۵ و ۶]. در خصوص استفاده از تخمیرهای کنترل شده به عنوان نگهدارنده‌های زیستی در نان، مطالعاتی صورت گرفته است. به عنوان مثال، اثر تخمیر کنترل شده جو دوسر حاوی کشت آغازگر *Pediococcus pentosaceus* بر تاخیر رشد قارچ، ویژگی‌های بافتی و پذیرش کلی نان گندم تولیدی ارزیابی شده و نتایج نشان داد که تخمیر کنترل شده می‌تواند ویژگی‌های مذکور را بهبود دهد [۷]. در پژوهش دیگری نیز تاثیر تخمیر کنترل شده بلوط با استفاده از باکتری *Pediococcus acidilactici* بر بافت و فعالیت ضد قارچی در نان گندم مورد

بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این باکتری بر روی بافت، اثر مثبتی داشته و باعث کاهش رشد *Aspergillus flavus* بر روی سطح نان تولیدی شد [۸]. علاوه بر این، تاثیر تخمیر کنترل شده خمیر ترش‌های جو جوانه‌زده [۹]، آمارانت [۱۰]، ماش جوانه‌زده حاوی عصاره زنجبیل [۱۱]، شبدر جوانه‌زده [۱۲]، ماش جوانه‌زده [۱۳]، کینوا [۱۴]، سبوس غلات [۱۵]، جوانه گندم [۱۶]، سبوس برنج [۱۷] و آرد کامل گندم [۱۸] بر ویژگی‌های فناوری-عملکردی، تغذیه‌ای و ماندگاری نان تولیدی مورد تایید قرار گرفته است.

در خصوص استفاده از اسانس و عصاره‌های گیاهی به عنوان نگهدارنده زیستی در تولید نان نیز گزارش‌هایی وجود دارد. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای اثر ضدقارچی اسانس روغنی آویشن بر روی *Penicillium paneum* در نان نیمه پخته شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که استفاده از این اسانس توانست به مدت ۴۵ روز از رشد قارچ در نان ممانعت نماید [۱]. پژوهشگران دیگری نیز ترکیبی از تخمیر باکتری‌های اسید لاکتیک و عصاره رازک را با هدف بهبود خاصیت ضدقارچی و به منظور تهیه نگهدارنده طبیعی در نان مورد استفاده قرار دادند. این تحقیقات، اثر ضدقارچی قابل توجهی را در مورد عصاره رازک نشان داد. بر این اساس، استفاده از عصاره رازک در خمیر ترش می‌تواند تا ۱۴ روز، رشد قارچ را به تاخیر اندازد [۱۹]. همچنین فعالیت ضدقارچی اسانس‌های روغنی دارچین، میخک، فلفل، کافور، بادیان‌رومی، لیمو و نعناع فلفلی بر روی سه قارچ شاخص مورد بررسی قرار گرفته و از بین اسانس‌های روغنی مذکور، اسانس دارچین دارای اثر بیشتری بر روی تمام قارچ‌های مورد مطالعه بود [۲۰].

با توجه به بررسی منابع صورت گرفته، تاکنون گزارشی برای استفاده توأم از عصاره سیر و گندم جوانه‌زده در نان گندم خمیرترشی ارائه نشده است. لذا هدف از پژوهش حاضر، ارزیابی تاثیر خمیر ترش سنتی حاوی گندم جوانه‌زده و عصاره سیر بر ویژگی‌های بافتی، ماندگاری و پذیرش کلی نان گندم تولیدی بود.

تعیین مقدار بهینه عصاره سیر در فرمولاسیون نان تولیدی در محدوده ۵ تا ۲۰٪ از امتیاز پذیرش کلی ارزیابان استفاده شد.

۲-۴- تولید نان گندم حجیم

نمونه شاهد (حاوی آرد گندم، آب و مخمر *Saccharomyces cerevisiae* پس از طی تخمیر دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در فر الکتریکی (Feller, آلمان) در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه پخته شد. سپس نان‌های گندم حاوی پروپینونات کلسیم (۳٪ وزنی)، گندم جوانه‌زده، عصاره سیر، مخلوط ماست و سرکه، نان خمیرترشی (مخلوط گندم جوانه‌زده، ماست و سرکه) و نان خمیرترشی حاوی عصاره سیر به روش مشابه با نمونه شاهد فرآوری شدند. به منظور تعیین مقدار بهینه خمیرترش در فرمولاسیون نان گندم، مقادیر ۵ تا ۲۰٪ از خمیرترش مورد استفاده قرار گرفت و سپس مقدار بهینه بر اساس نتایج آزمون‌های پذیرش کلی و بافت‌سنجی تعیین شد [۲۵].

۲-۵- بررسی ویژگی‌های کیفی نان تولیدی

۲-۵-۱- ارزیابی سفتی بافت و حجم مخصوص نان

برای تعیین سفتی بافت مغز نان از دستگاه بافت‌سنج (Stable Micro System، انگلستان) با پروب استوانه‌ای با سرعت ۵۰ میلی‌متر در دقیقه و نیروی ۵۰۰ نیوتون جهت ایجاد ۵۰٪ فشردگی از ارتفاع اولیه نمونه استفاده شد. سفتی بافت مغز نان‌های تولیدی یک ساعت پس از پخت با آنالیز الگوی بافت تعیین گردید [۲۵]. برای اندازه‌گیری حجم مخصوص نان نیز از روش جایگزینی دانه کلزا استفاده شد [۱۷].

۲-۵-۲- بررسی میزان توسعه سطحی قارچ

برای تعیین میزان توسعه قارچ شاخص *A. flavus* در سطح نمونه‌های تولیدی، ۳ میکرولیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ (۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر) بر روی دیسک کاغذی استریل در مرکز نان، تلقیح و به مدت یک هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. میزان توسعه سطحی قارچ در نان‌های تولیدی در مقایسه با نمونه شاهد در طی مدت نگهداری به صورت روزانه با عکس‌برداری و آنالیز توسط نرم افزار Image J مقایسه گردید [۲۶].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه مواد خام و ارزیابی ویژگی‌های آن‌ها

خصوصیات آرد گندم شامل درصد رطوبت، خاکستر، پروتئین و چربی بر اساس روش‌های استاندارد AAC [۲۱] تعیین شد. درصد کربوهیدرات نیز با استفاده از فرمول (چربی + پروتئین + خاکستر + رطوبت) - ۱۰۰ مشخص گردید. بر این اساس، آرد گندم مورد استفاده در این پژوهش دارای ۱۲/۴٪ پروتئین، ۰/۴٪ خاکستر، ۱۴/۳٪ رطوبت، ۱/۱٪ چربی و ۷۱/۸٪ کربوهیدرات بود. محیط‌های کشت میکروبی و محلول‌های شیمیایی مورد استفاده نیز با کاربرد آزمایشگاهی از برندهای تجاری معتبر تهیه شدند.

۲-۲- تهیه آرد گندم جوانه‌زده

برای جوانه‌زنی دانه‌های گندم با توجه به دستورالعمل ارائه شده ابتدا جهت ضدعفونی کردن دانه‌ها از هیپوکلریت سدیم ۱٪/۲۵ استفاده شد و پس از ۳۰ دقیقه شستشوی دانه‌ها انجام گرفت [۲۲]. در ادامه، دانه‌های ضدعفونی شده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در محیط تاریک و در فواصل زمانی ۱۲ ساعته رطوبت‌دهی شدند. سپس دانه‌های جوانه‌زده به مدت ۲۵ ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد در آون (Binder، آلمان) خشک شده و پس از آسیاب دانه‌های جوانه‌زده، آرد گندم جوانه‌زده تهیه شد.

۲-۳- تخمیر با استفاده از خمیرترش سنتی

خمیرترش مورد استفاده در این پژوهش از مخلوط آرد گندم جوانه‌زده (۶۸٪)، ماست (۳/۵٪)، سرکه (۱/۵٪) و آب (۲۷٪)، مطابق استاندارد ملی ایران [۲۳] با اندکی تغییرات تهیه شد. مخلوط مذکور پس از ۲۴ ساعت تخمیر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مخلوط آب و آرد گندم (جذب آب ۶۰٪) و مخمر نانویی (۲ W/W) افزوده شد و پس از ۲ ساعت تخمیر در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد برای پخت استفاده گردید. خمیرترش حاوی عصاره آبی سیر تهیه شده به روش Irakli و همکاران [۲۴] نیز پس از تعیین مقدار بهینه عصاره سیر جهت تخمیر مورد استفاده قرار گرفت. برای

۳-۵-۲- پذیرش کلی نان‌های تولیدی

ارزیابی حسی نمونه‌های تولیدی توسط چند ارزیاب آموزش دیده و با روش هدونیک ۵ نقطه‌ای انجام شد. این ارزیابی شامل بررسی رنگ پوسته، طعم، قابلیت جویدن، بوی نان و احساس دهانی نمونه‌های تولیدی بود و امتیاز نمونه‌ها از بسیار نامطلوب (۱) تا بسیار مطلوب (۵) گزارش گردید. پذیرش کلی نان‌های تولیدی نیز به صورت میانگین امتیاز ویژگی‌های مذکور محاسبه شد [۲۷].

۳-۶-۲- آنالیز آماری نتایج

نتایج حاصل از این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی‌داری (LSD) در سطح $p < 0.05$ تعیین شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام گردید و برای آنالیز داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۶) و برای ترسیم نمودارها، نرم‌افزار Microsoft Office Excel ۲۰۱۳ مورد استفاده قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- انتخاب فرمولاسیون بهینه خمیرترش

Table 1. Textural and sensorial properties of the produced breads containing different amounts of sprouted wheat sourdough. The different letters in each column show significant difference at $p < 0.05$.

Overall acceptability	Gumminess	Crumb hardness (N)	Bread sample
2.92 ± 0.16 a	1934.20 ± 77.35 a	4.00 ± 0.37 a	۵٪ خمیرترش
			5% Sourdough
2.48 ± 0.43 a,b	842.59 ± 128.53 b	1.93 ± 0.33 b	۱۰٪ خمیرترش
			10% Sourdough
2.16 ± 0.29 b	1474.60 ± 288.50 a,b	3.43 ± 0.19 a	۱۵٪ خمیرترش
			15% Sourdough

مخصوصاً را کاهش داد. با افزودن خمیرترش، کاهش معنی‌داری در سفتی بافت مشاهده نشد اما حجم مخصوص به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرد. همچنین افزودن عصاره سیر به نان، سفتی بافت و حجم مخصوص را به شکل معنی‌داری افزایش داد اما استفاده از عصاره سیر در فرمولاسیون خمیرترش به شکل معنی‌داری باعث کاهش

۳-۲- ویژگی‌های بافتی نان‌های تولیدی

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود افزودن ماست و سرکه به نان به شکل معنی‌داری ($p < 0.05$) باعث سفت شدن بافت نان و افزایش حجم مخصوص آن شد. همچنین جوانه‌زنی به شکل معنی‌داری، سفتی بافت و حجم

نان حاوی عصاره سیر (E)، نان شاهد به همراه پروپیونات کلسیم (CP)، نان حاوی ماست و سرکه (YV) و نان خمیرترشی گندم جوانه زده به همراه عصاره سیر (FS+E). حروف متفاوت در هر ستون، نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p < 0.05$ می باشند.

سفتی بافت و کاهش حجم مخصوص نان تولیدی شد.

جدول ۲- پذیرش کلی، pH، حجم مخصوص و سفتی بافت نمونه های نان تولیدی شامل نمونه شاهد (C)، نان حاوی گندم جوانه زده (SW)، نان خمیرترشی گندم جوانه زده (FS)،

Table 2. Overall acceptability, pH, specific volume and crumb hardness of the produced bread samples including control bread (C), bread containing sprouted wheat (SW), fermented sprouted wheat (FS), garlic extract (E), calcium propionate (CP), yoghurt and vinegar (YV) and fermented sprouted wheat containing garlic extract (FS+E). The different letters in each column indicate significant difference at $p < 0.05$.

Overall acceptability	pH	Specific volume (cm^3/g)	Crumb hardness (N)	Bread sample
4.40 ± 0.21 a	6.15 ± 0.02 a	2.42 ± 0.02 d	3.83 ± 0.02 d	C
3.68 ± 0.34 b	6.13 ± 0.01 a	1.72 ± 0.06 e	2.92 ± 0.04 e	SW
4.20 ± 0.17 a	5.93 ± 0.03 c	3.56 ± 0.03 b	3.55 ± 0.20 d	FS
4.22 ± 0.43 a	6.04 ± 0.01 b	2.94 ± 0.09 c	6.45 ± 0.12 b	E
4.14 ± 0.21 a	6.13 ± 0.02 a	2.52 ± 0.02 d	4.70 ± 0.16 c	CP
4.14 ± 0.21 a	6.00 ± 0.00 b	3.86 ± 0.16 a	7.63 ± 0.16 c	YV
3.52 ± 0.24 b	5.94 ± 0.01 c	1.93 ± 0.03 e	2.94 ± 0.24 e	FS+E

شکل گیری حباب های مستحکم تری می شود که با وجود حجم بیشتر دارای بافت سفت تری نیز خواهد بود. انواع خمیرترش با توجه به ماهیت و نوع کشت آغازگر، متفاوت بوده و همچنین pH خمیرترش می تواند اثرات متفاوتی بر ویژگی های نان تولیدی داشته باشد. در تخمیر، متابولیت هایی نظیر اسیدهای آلی، اگزوپلی ساکاریدها و آنزیم هایی تولید می شوند که تأثیر مثبتی بر بافت نان دارند [۳]. در مجموع، نمونه حاوی گندم جوانه زده که دارای سفتی بافت کمتر و حجم مخصوص کمتری بود، نمونه مناسبی به لحاظ ویژگی های بافتی محسوب نمی شود اما در نمونه حاوی خمیرترش که دارای سفتی بافت کمتر و حجم مخصوص بیشتری بوده به لحاظ بافتی، نمونه مطلوب تری به شمار می آید.

۳-۳- پذیرش کلی نان های تولیدی

کمترین پذیرش کلی در نمونه حاوی گندم جوانه زده مشاهده شد که دارای اختلاف معنی داری ($p < 0.05$) با نمونه شاهد بود. همچنین بهترین نمونه از نظر قابلیت جویدن و احساس دهانی، نمونه حاوی عصاره سیر بود که تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشت. نمونه های نان از نظر طعم و رنگ نیز با یکدیگر اختلاف معنی داری نداشتند

در مطالعه Nionelli و همکاران (۲۰۱۸) میزان حجم مخصوص نان شاهد، نان حاوی عصاره رازک و نان خمیرترشی حاوی عصاره به ترتیب 2.71 ، 2.69 و cm^3/gr گزارش شد که حجم مخصوص نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک به شکل معنی داری از نمونه شاهد بیشتر بود. همچنین میزان سفتی بافت در این نمونه ها به ترتیب 2819 ، 2826 و 2706 gr گزارش شد که نشان داد سفتی بافت نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک به شکل معنی داری از نمونه شاهد کمتر بود. علاوه بر این، استفاده از عصاره رازک به تنهایی باعث افزایش سفتی بافت و کاهش حجم مخصوص نان تولیدی شد [۱۹]. در پژوهش Irakli و همکاران (۲۰۱۹) حجم مخصوص در نان شاهد $3/8$ ، نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک $3/1$ و نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک و سبوس برنج نیز $3/4 \text{ cm}^3/\text{gr}$ گزارش شد که با یکدیگر اختلاف معنی داری داشتند [۲۴]. عموماً در نمونه حاوی سوبسترای جوانه زده، تشدید فعالیت آنزیمی و تخریب ساختار گلوتن و نشاسته که در نهایت منجر به عدم نگهداری گاز می شود، سبب کاهش حجم مخصوص می گردد. احتمالاً در نمونه حاوی عصاره سیر، دانسیته بیشتر مخلوط سبب

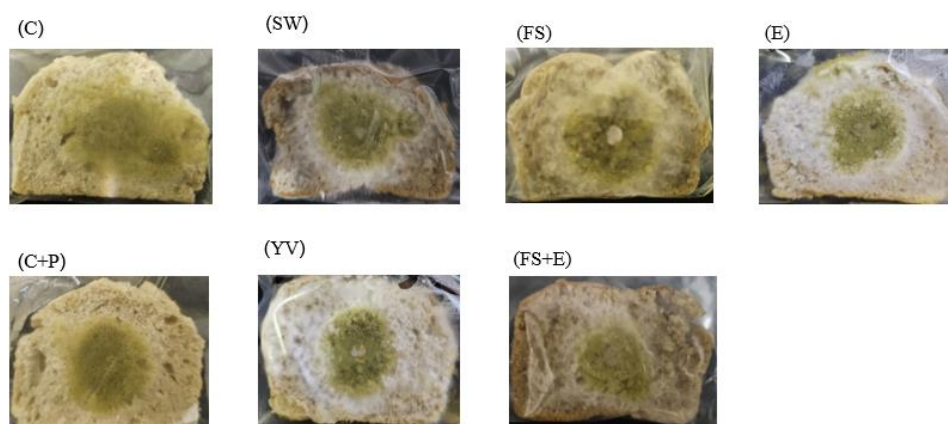
می‌تواند تاثیر بسیار زیادی بر هر یک از این عوامل بگذارد [۳].

۴-۳- بازدارندگی از رشد سطحی قارچ شاخص

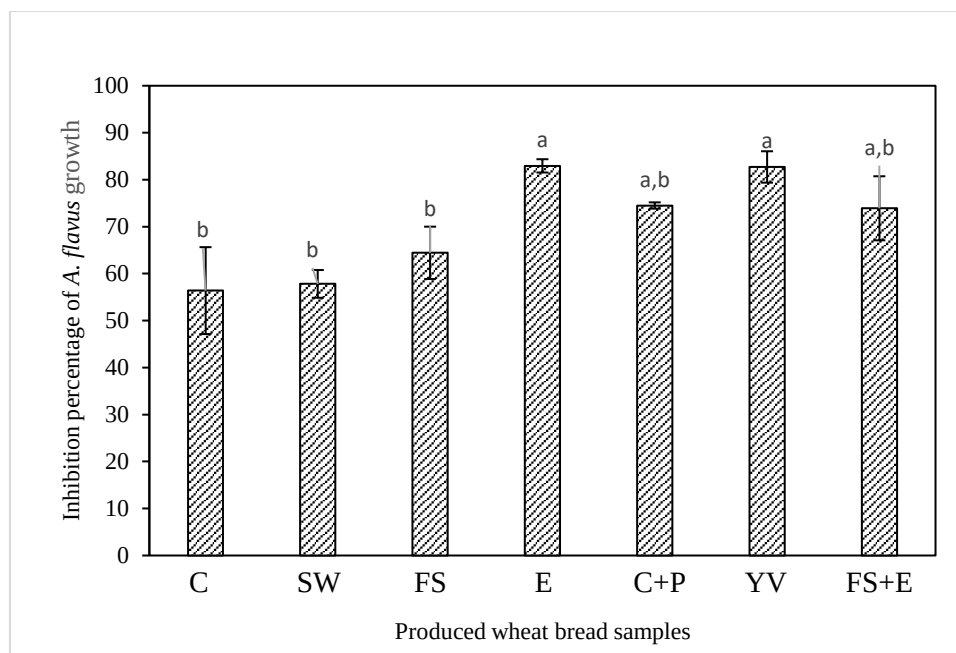
همان طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود بیشترین اثر ضدقارچی در نمونه حاوی ماست و سرکه و همچنین نمونه حاوی عصاره سیر به تنهایی مشاهده شد اما بین اثر بازدارنده نمونه‌های مذکور در مقایسه با نان حاوی پروپیونات کلسیم و همچنین خمیرترش گندم جوانه‌زده حاوی عصاره سیر، تفاوت معنی‌داری ($p > 0.05$) وجود نداشت. علاوه بر این، بیشترین رشد قارچ از بین نان‌های تولیدی نیز به ترتیب در نمونه‌های شاهد و نان حاوی گندم جوانه‌زده مشاهده گردید. با توجه به نتایج به دست آمده، تخمیر و استفاده از عصاره سیر، سبب کاهش رشد قارچ شدند و تاثیر بازدارنده استفاده از عصاره سیر نسبت به تخمیر بیشتر بود. همچنین خمیرترش گندم جوانه‌زده حاوی عصاره سیر، اثر ضدقارچی مناسبی در مقایسه با پروپیونات کلسیم داشت. بنابر این، می‌توان از آن به عنوان یک نگهدارنده زیستی در فرآوری نان گندم استفاده نمود.

و از نظر بو، نمونه حاوی ماست و سرکه با بقیه نمونه‌ها متفاوت بود. علاوه بر این، تخمیر تاثیر معنی‌داری بر پذیرش کلی نان تولیدی نداشت اما افزودن عصاره سیر به فرمولاسیون خمیرترش سبب کاهش پذیرش کلی محصول گردید.

Nionelli و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که نمونه‌های نان حاوی عصاره رازک در مقایسه با نمونه شاهد، طعم تلخ و علفی داشتند. با این حال، نمونه‌های مذکور توسط ارزیابان، قابل قبول ارزیابی شدند [۱۹]. طبق گزارش Irakli و همکاران (۲۰۱۹) نیز نمونه خمیرترشی حاوی عصاره رازک، تفاوت معنی‌داری با نان شاهد نداشت. همچنین نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک و سبوس برنج، بیشترین میزان پذیرش کلی را در بین نمونه‌های مورد بررسی به دست آورد و تفاوت معنی‌داری با نان شاهد نشان نداد. میزان پذیرش در نان شاهد، نان خمیرترشی حاوی عصاره رازک و نان خمیرترشی عصاره رازک حاوی سبوس برنج به ترتیب ۳/۸، ۳/۳ و ۴/۲ گزارش شد [۲۴]. مزه، طعم و بو هر کدام عوامل مهمی در پذیرش نان هستند. به طور کلی مشخص شده است که متابولیت‌های تولید شده در تخمیر می‌توانند اثرات مثبتی بر این عوامل داشته باشند و باعث افزایش پذیرش شوند. استفاده از عصاره‌های گیاهی نیز



(الف)



(ب)

شکل ۱- الف: میزان رشد سطحی *A. flavus* پس از ۵ روز نگهداری در نان‌های تولیدی. ب: درصد بازدارندگی از رشد *A. flavus* در نمونه‌های تولیدی شامل نان شاهد (C)، نان حاوی گندم جوانه‌زده (SW)، نان خمیرترشی گندم جوانه‌زده (FS)، نان حاوی عصاره سیر (E)، نان شاهد به همراه پروپیونات کلسیم (C+P)، نان حاوی ماست و سرکه (YV) و نان خمیرترشی گندم جوانه‌زده به همراه عصاره سیر (FS+E). حروف متفاوت، نشان دهنده تفاوت معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد.

Fig. 1. A: surface expansion of *A. flavus* after five days of storage on the produced bread samples. **B:** inhibition percentage of *A. flavus* growth on the produced bread samples including control wheat bread (C), bread containing sprouted wheat (SW), fermented sprouted wheat (FS), garlic extract (E), calcium propionate (CP), yoghurt and vinegar (YV) and fermented sprouted wheat containing garlic extract (FS+E). The different letters indicate significant difference at $p < 0.05$.

می‌توانند اسیدهای آلی متفاوتی تولید کنند که بیشتر آنها

دارای خواص ضدقارچی هستند اما مکانیسم اثر برخی از آن‌ها هنوز به درستی مشخص نشده است. البته مطالعات نشان دادند که اثر ضدقارچی اسید استیک به عنوان یکی از موثرترین اسیدهای آلی می‌تواند به علت pKa پایین آن باشد [۲۸]. با توجه به قابلیت‌های ضد میکروبی میکروارگانیسم‌های ذاتی خمیرترش [۲۹-۳۲]، استفاده از خمیرترش به عنوان یک نگهدارنده زیستی در صنایع نانوايي می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای نگهدارنده‌های سنتزی رایج به شمار آید و ترکیب عصاره‌های گیاهی ضد قارچ ضمن تعدیل طعم ترش نان تولیدی اثر قابل توجهی بر کنترل کپک‌زدگی در نان‌های فراسودمند خمیرترشی دارد [۳۳-۳۵].

Nionelli و همکاران (۲۰۱۸) مشاهده کردند که نان گندم حاوی عصاره رازک به شکل ضعیفی مانع رشد قارچ در نان تولیدی شد اما به طور کلی افزودن عصاره رازک به نان، رشد *Penicillium roqueforti* را حداقل ۱۴ روز به تعویق انداخت که مشابه نان مخمری حاوی ۳/۰٪ پروپیونات کلسیم بود. این پژوهشگران عنوان نمودند که علت مهار رشد قارچ در نمونه مذکور به حضور اسیدهای ضعیف عصاره رازک بستگی داشت. با این وجود، افزودن خمیرترش حاوی عصاره رازک عمدتاً به دلیل اسیدی شدن توسط باکتری‌های اسید لاکتیک و ستنز طیف وسیعی از ترکیبات با وزن مولکولی پایین همچون پپتیدهای ضدقارچ نتایج بهتری را به همراه داشت [۱۹]. Jin و همکاران (۲۰۲۱) نیز عنوان کردند که باکتری‌های اسید لاکتیک

۴- نتیجه گیری

گندم جوانه زده تخمیر شده حاوی عصاره سیر بر سفتی بافت، پذیرش کلی و تعویق کپک زدگی نان گندم تولیدی موثر بود به نحوی که کمترین سفتی بافت در نمونه حاوی گندم جوانه زده تخمیر شده حاوی عصاره سیر مشاهده شد. این خمیر ترش همچنین در جلوگیری از کپک زدگی نان تولیدی موثر بود و تاثیر بازدارنده آن بر رشد قارچ، اختلاف معنی داری با نمونه حاوی پروپیونات کلسیم نداشت. با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، استفاده از عصاره سیر به تنهایی و استفاده از گندم جوانه زده به تنهایی تاثیر مناسبی بر بافت نمونه های تولیدی نداشت اما استفاده توأم از آنها در فرمولاسیون خمیر ترش به عنوان یک راهکار ساده و ارزان توانست سبب بهبود ویژگی های کیفی نان گندم حجیم شود.

استفاده از خمیر ترش غلات جوانه زده در فرآوری نان گندم از دیدگاه فناوری حائز اهمیت است. استفاده از این ترکیبات ضمن تاثیر بر ویژگی های بافتی و حسی محصول می تواند به عنوان یک افزودنی طبیعی به همراه عصاره های گیاهی سبب بهبود ویژگی های تغذیه ای و ماندگاری نان تولیدی گردد. علاوه بر این، فعالیت آنزیمی در طی جوانه زنی، امکان تجزیه اجزای پیچیده تر سوبسترا را به ترکیبات ساده تری فراهم می کند که این ترکیبات نیز می توانند توسط میکروارگانیسم ها طی تخمیر مورد استفاده قرار گیرند. بر این اساس، غلات جوانه زده، سوبستراهای مناسبی برای تخمیر خمیر ترش محسوب می شوند. در پژوهش حاضر،

۵- منابع

- [1] Debonne, E., Vermeulen, A., Van Bockstaele, F., Soljic, I., Eeckhout, M., & Devlieghere, F. (2019). Growth/no-growth models of in-vitro growth of *Penicillium paneum* as a function of thyme essential oil, pH, aw, temperature. *Food Microbiology*, 83, 9-17.
- [2] Ryan, L. A. M., Dal Bello, F., & Arendt, E. K. (2008). The use of sourdough fermented by antifungal LAB to reduce the amount of calcium propionate in bread. *International Journal of Food Microbiology*, 125(3), 274-278.
- [3] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Hajinia, F., Kharazmi, M. S., & Jafari, S. M. (2023). FoodOmics as a promising strategy to study the effects of sourdough on human health and nutrition, as well as product quality and safety; back to the future. *Trends in Food Science & Technology*. 136, 24-47.
- [4] Garcia, M. V., Bernardi, A. O., & Copetti, M. V. (2019). The fungal problem in bread production: Insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29, 1-6.
- [5] Russo, P., Fares, C., Longo, A., Spano, G., & Capozzi, V. (2017). *Lactobacillus plantarum* with broad antifungal activity as a protective starter culture for bread production. *Foods*, 6(12), 110.
- [6] Ávila Sosa Sánchez, R., Portillo-Ruiz, M. C., Viramontes-Ramos, S., Muñoz-Castellanos, L. N., & Nevárez-Moorillón, G. V. (2015). Effect of Mexican oregano (*Lippia berlandieri schauer*) essential oil fractions on the growth of *Aspergillus* spp. in a bread model system. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 776-783.
- [7] Hajinia, F., Sadeghi, A., & Sadeghi Mahoonak, A. (2021). The use of antifungal oat-sourdough lactic acid bacteria to improve safety and technological functionalities of the supplemented wheat bread. *Journal of Food Safety*, 41(1), e12873.
- [8] Purabdollah, H., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., Shahiri Tabarestani, H., & Mohamadzadeh, J. (2020). Techno-functional properties of the selected antifungal predominant LAB isolated from fermented acorn (*Quercus persica*). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 1754-1764.
- [9] Pahlavani, M., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., & Moayedi, A. (2024). Application of the selected yeast isolate in type IV sourdough to produce enriched clean-label wheat bread supplemented with fermented sprouted barley. *Journal of Agriculture and Food Research*, 15, 101010.
- [10] Kia, P. S., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., Zarali, M., & Khomeiri, M. (2024). Application of controlled fermented amaranth supplemented with purslane (*Portulaca oleracea*) powder to improve technological functionalities of wheat bread. *Applied Food Research*, 4(1), 100395.

- [11] Ziaee rizi, A., Sadeghi, A., Jafari, S. M., Feizi, H., & Purabdollah, H. (2024). Controlled fermented sprouted mung bean containing ginger extract as a novel bakery bio-preservative for clean-label enriched wheat bread. *Journal of Agriculture and Food Research*, 16, 101218.
- [12] Zarali, M., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Jafari, S. M., & Mahoonak, A. S. (2024). Techno-nutritional capabilities of sprouted clover seeds sourdough as a potent bio-preservative against sorbate-resistant fungus in fortified clean-label wheat bread. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1-13.
- [13] Aryashad, M., Sadeghi, A., Nouri, M., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., & Aalami, M. (2023). Use of fermented sprouted mung bean (*Vigna radiata*) containing protective starter culture LAB to produce clean-label fortified wheat bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(6), 3310-3320.
- [14] Rouhi, E., Sadeghi, A., Jafari, S. M., Abdolhoseini, M., & Assadpour, E. (2023). Effect of the controlled fermented quinoa containing protective starter culture on technological characteristics of wheat bread supplemented with red lentil. *Journal of Food Science and Technology*, 60(8), 2193-2203.
- [15] Ebrahimi, M., Noori, S. M. A., Sadeghi, A., emir Coban, O., Zanganeh, J., Ghodsmofidi, S. M., ... & Raeisi, M. (2022). Application of cereal-bran sourdoughs to enhance technological functionality of white wheat bread supplemented with pumpkin (*Cucurbita pepo*) puree. *LWT*, 158, 113079.
- [16] Ebrahimi, M., Sadeghi, A., Sarani, A., & Purabdollah, H. (2021). Enhancement of technological functionality of white wheat bread using wheat germ sourdough along with dehydrated spinach puree. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 23(4), 839-851.
- [17] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Raeisi, M., & Ghods Mofidi, S. M. (2019). Improving the antioxidant capacity of bread rolls by controlled fermentation of rice bran and addition of pumpkin (*Cucurbita pepo*) puree. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 13, 2837-2845.
- [18] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Mortazavi, S. A., & Abedfar, A. (2019). Application of the selected antifungal LAB isolate as a protective starter culture in pan whole-wheat sourdough bread. *Food Control*, 95, 298-307.
- [19] Nionelli, L., Pontonio, E., Gobetti, M., & Rizzello, C. G. (2018). Use of hop extract as antifungal ingredient for bread making and selection of autochthonous resistant starters for sourdough fermentation. *International Journal of Food Microbiology*, 266, 173-182.
- [20] Hu, F., Tu, X. F., Thakur, K., Hu, F., Li, X. L., Zhang, Y. S., ... & Wei, Z. J. (2019). Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. *Food and Chemical Toxicology*, 134, 110821.
- [21] AACC International. (2010). Approved methods of the American association of cereal chemists.
- [22] Montemurro, M., Pontonio, E., Gobetti, M., & Rizzello, C. G. (2019). Investigation of the nutritional, functional and technological effects of the sourdough fermentation of sprouted flours. *International Journal of Food Microbiology*, 302, 47-58.
- [23] Cereal and cereal products, flat bread; Sangak (2000). Institute of standards and industrial research of Iran, ISIRI 6943.
- [24] Irakli, M., Mygdalia, A., Chatzopoulou, P., & Katsantonis, D. (2019). Impact of the combination of sourdough fermentation and hop extract addition on baking properties, antioxidant capacity and phenolics bioaccessibility of rice bran-enhanced bread. *Food Chemistry*, 285, 231-239.
- [25] Katina, K., Heinio, R. L., Autio, K., & Poutanen, K. (2006). Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread. *LWT*, 39(10), 1189-1202.
- [26] Gerez, C. L., Torino, M. I., Rollán, G., & de Valdez, G. F. (2009). Prevention of bread mould spoilage by using lactic acid bacteria with antifungal properties. *Food Control*, 20(2), 144-148.
- [27] Rizzello, C. G., Nionelli, L., Coda, R., Di Cagno, R., & Gobetti, M. (2010). Use of sourdough fermented wheat germ for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of the white bread. *European Food Research and Technology*, 230, 645-654.
- [28] Jin, J., Nguyen, T. T. H., Humayun, S., Park, S., Oh, H., Lim, S., ... & Kim, D. (2021). Characteristics of sourdough bread fermented with *Pediococcus pentosaceus* and *Saccharomyces cerevisiae* and its bio-preservative effect against *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 345, 128787.
- [29] Kia Daliri, F., Sadeghi, A., Khomeiri, M., Kashaninejad, M., & Aalami, M. (2016). Evaluating the antimicrobial properties of *Lactobacillus brevis* isolated from whole barley sourdough. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 15(75), 247-257.
- [30] Purabdollah, H., Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Kashaninejad, M., & Mohamadzadeh, J. (2022). Evaluation of probiotic and antifungal properties of the predominant LAB isolated from fermented

acorn (*Quercus persica*). *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(124), 171-183.

[31] Zarali, M., Sadeghi, A., Jafari, S. M., Sadeghi Mahoonak, A., & Ebrahimi, M. (2022). Evaluation of antimicrobial and probiotic properties of the predominant LAB isolated from fermented germinated clover seed. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(123), 299-315.

[32] Kia, S., Sadeghi, A., Kashaninejad, M., Khomeiri, M., & Zarali, M. (2023). Evaluation of probiotic properties of *Lactobacillus brevis* as the predominant LAB isolated from fermented amaranth. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(132), 65-76.

[33] Ebrahimi, M., Sadeghi, A., & Mortazavi, S. A. (2020). The use of cyclic dipeptide producing

LAB with potent anti-aflatoxigenic capability to improve techno-functional properties of clean-label bread. *Annals of microbiology*, 70, 1-12.

[34] Ziaee rizi, A., Sadeghi, A., Feizi, H., Jafari, S. M., & Purabdollah, H. (2024). Evaluation of textural, sensorial and shelf-life characteristics of bread produced with mung bean sourdough and saffron petal extract. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 21(148), 141-153.

[35] Sadeghi, A., Ebrahimi, M., Assadpour, E., & Jafari, S. M. (2023). Recent advances in probiotic breads; a market trend in the functional bakery products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-12.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of traditional sourdough on quality characteristics of loaf bread containing sprouted wheat and garlic extract

Sara Safari, Alireza Sadeghi*, Ali Moayedi, Hossein Purabdollah, Alireza Sadeghi Mahoonak

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

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/7/17 Accepted:2024/11/10 Keywords: garlic extract, fermented sprouted wheat, traditional sourdough, crumb hardness, moldiness. DOI: 10.22034/FSCT.22.159.133. *Corresponding Author E- sadeghi.gau@gmail.com	Application of plant extracts in the formulation of sourdough can improve sensory characteristics and shelf-life of the produced bread. In the present study, effects of combined application of fermented sprouted wheat and garlic extract in the formulation of traditional sourdough containing yoghurt and vinegar were investigated on the quality characteristics of loaf wheat bread. Based on the results of texture analysis, among the produced breads the lowest crumb hardness was observed in the sample containing fermented sprouted wheat along with garlic extract (2.94 N), which was significantly ($p<0.05$) lower than those of the control sample. In addition, combined application of fermentation and sprouting increased the specific volume and reduced the gumminess of the product. Moreover, although the lowest surface growth of <i>Aspergillus flavus</i> was observed on breads containing yoghurt-vinegar and also garlic extract alone, there was no significant difference between the fungal growth rate on the sample containing fermented sprouted wheat along with garlic extract and bread containing calcium propionate. Bread containing fermented sprouted wheat and control sample had no significant difference in terms of overall acceptability. Accordingly, sprouted wheat sourdough containing garlic extract can be used as a biological preservative to improve the quality characteristics and shelf-life of wheat bread.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

ریزپوشانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 در بستر آلژینات سدیم و کازئینات سدیم و قابلیت زنده‌مانی آن در شرایط شبیه‌سازی شده گوارشی

فاطمه حسینی طباطبائی^۱، امیرحسین الهامی‌راد^{۲*}، رضا کاراژیان^۳، حجت کاراژیان^۴، محمد آرمین^۵

^۱ - دانشجوی دکتری تخصصی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

^۲ - گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

^۳ - جهاد دانشگاهی مشهد، پژوهشکده بیوتکنولوژی صنعتی، گروه پژوهشی بیوتکنولوژی صنعتی میکروارگانیسم‌ها، مشهد، ایران.

^۴ - گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تربت حیدریه، دانشگاه آزاد اسلامی، تربت حیدریه، ایران.

^۵ - گروه کشاورزی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۳۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۱

کلمات کلیدی:

ریزپوشانی

پروبیوتیک،

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس،

آلژینات سدیم،

کازئینات سدیم

DOI:10.22034/FSCT.22.159.144.

* مسئول مکاتبات:

ahelhamirad@yahoo.com

زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در محیط‌های حساس به‌خصوص شرایط گوارشی اهمیت زیادی دارد. در این تحقیق از تکنیک ریزپوشانی به‌عنوان روشی برای افزایش امکان زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها (لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5) در شرایط شبیه‌سازی شده گوارشی استفاده گردید. باکتری‌های مذکور به روش امولسیون‌سازی در بستر آلژینات سدیم و کازئینات سدیم در پنج سطح غلظتی به‌صورت تک غلظتی و ترکیب دو ماده میکروانکپسوله شدند و از نظر تعداد سلول زنده مانده، بازده انکپسولاسیون، زنده‌مانی در برابر نمک صفرا، زنده‌مانی در برابر اسید معده و مایع روده‌ای با و بدون نمک صفرا مورد بررسی قرار گرفتند. با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها در تمامی آزمون‌ها بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری وجود داشت ($p < 0/05$)؛ به‌طوری که زنده‌مانی سلول‌های آزاد در شرایط گوارشی به شدت کاهش بود اما میکروانکپسولاسیون به‌عنوان یک عامل محافظتی عمل نموده و زنده‌مانی سویه‌های میکروانکپسوله بیشتر از سلول‌های آزاد بود. از طرفی ترکیب آلژینات سدیم و کازئینات سدیم به‌عنوان پوشش توانست مقاومت باکتری را در برابر شرایط گوارشی به‌طور معناداری افزایش دهد ($p < 0/05$). در بین تیمارها، سلول‌های آزاد (L-FC) کمترین زنده‌مانی در برابر محیط گوارشی را از خود نشان داد به‌طوری که در آزمون زنده‌مانی در محیط روده با نمک صفرا پس از ۳۰۰ دقیقه سلول زنده‌ای وجود نداشت اما تیمار با پوشش ۷۵٪ آلژینات سدیم و ۲۵٪ کازئینات سدیم (L-SA₃SC₁) بالاترین بازده را در فرآیند میکروانکپسولاسیون داشته و بهترین اثر محافظتی در برابر نمک صفرا، اسید معده و مایع روده‌ای را از خود نشان داد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت میکروانکپسولاسیون به روش امولسیون‌سازی با استفاده از ترکیب آلژینات سدیم و کازئینات سدیم می‌تواند در افزایش زنده ماندن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موثر باشد.

۱-مقدمه

در برابر باکتری‌هایی مانند سالمونلا تیفی‌موریوم^۶، لیستریا مونوسیژنوز^۷، اشرشیاکلی انتروپاتوزن^۸ و هلیکوباکتر پیلوری^۹ دارند [۷].

پروبیوتیک‌ها در دستگاه گوارش تحت تأثیر عواملی از جمله pH، اسیدی شدن بعد از تخمیر محصولات، تولید هیدروژن پراکسید و شرایط نگهداری غذا خصوصاً دما قرار می‌گیرند [۳]؛ در این راستا استفاده از تکنیک ریزپوشانی^{۱۰} و قرار دادن پروبیوتیک‌ها در یک کپسول حامل، منجر به بهبود بقای این باکتری‌ها در مواد غذایی، محافظت در برابر شرایط معده، رهاسازی کنترل‌شده آن‌ها در بخش‌های بعدی دستگاه گوارش و نقطه هدف و افزایش عملکرد آن‌ها می‌شود [۳]. از طرفی رهاسازی کنترل شده ترکیبات زیست فعال، راندمان آن‌ها را افزایش می‌دهد و امکان تعیین دوز بهینه آن را فراهم می‌کند [۸]. بر این اساس ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها به عنوان فرآیند به دام انداختن/محصور کردن میکروارگانیسم‌ها در پلیمر مناسب برای جداسازی آن‌ها از محیط اطراف و محافظت از ترکیبات فعال ناپایدار (مواد هسته) در ماتریکس‌های مختلف پلیمری دیواره برای انتقال آن‌ها به نقطه هدف و بهبود ماندگاری محصول تعریف می‌شود [۹، ۱۰].

تکنیک‌های مختلفی برای ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال در صنایع غذایی به کار می‌روند که به روش‌های شیمیایی شامل امولسیون‌سازی^{۱۱} و به دام افتادن لیپوزوم^{۱۲}، روش‌های فیزیکی از قبیل خشک کردن پاششی^{۱۳}، سردکردن پاششی^{۱۴}،

پروبیوتیک‌ها مهم‌ترین مکمل‌های میکروبی مفید زنده هستند که از طریق همکاری با پری‌بیوتیک‌ها^۱، اگر به مقدار مناسب در حدود 10^8 – 10^9 CFU/g در ماده غذایی مصرفی وجود داشته باشند، عملکرد روده‌ها را در انسان بهبود می‌بخشند [۱، ۲]. پروبیوتیک‌ها در تولید محصولات غذایی پروبیوتیک تخمیری و غیر تخمیری لبنی و غیرلبنی، محصولات دارویی پروبیوتیک، مکمل‌های غذایی و غذای حیوانات کاربرد دارند [۳، ۴]. یک ماده غذایی حاوی مقدار کافی از باکتری‌های زنده پروبیوتیک، فلور میکروبی روده را تغییر داده و نقش آنتی‌اکسیدانی در سلامت مغز و سیستم عصبی دارد، بیماری‌های گوارشی از قبیل سندرم روده تحریک پذیر، بیماری التهابی روده، دیابت و اسهال را از طریق رقابت با عوامل بیماری‌زا برای اتصال به مخاط روده و افزایش تولید باکتریوسین و اسیدهای آلی برای کاهش pH درمان می‌کند [۵]، اشتها را تحریک کرده و تغذیه میزبان را از طریق تولید ویتامین‌ها، حذف سموم در رژیم غذایی و تجزیه ذرات قابل هضم بهبود می‌بخشد [۶]. اغلب پروبیوتیک‌های مورد استفاده در غذا و مکمل‌های غذایی و دارویی جزو باکتری‌های اسید لاکتیک^۲ هستند و عمدتاً به دو جنس لاکتوباسیلوس^۳ و بیفیدوباکتریوم^۴ تعلق دارند [۶]. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5)^۵ یکی از گونه‌های تجاری مورد استفاده در محصولات لبنی، غذای نوزاد و مکمل‌های غذایی با اثرات پروبیوتیک است، فعالیتی مشابه آنتی‌بیوتیک-ها دارد و همچنین مولکول‌های ترشح شده در محیط لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس فعالیت کشندگی وابسته به زمان

8 Enteropathogenic Escherichia coli

9 Helicobacter pylori

10 Encapsulation

11 Emulsification

12 Liposomes entrapment

13 Spray-drying

14 Spray- chilling

1 Prebiotics

2 Lactic acid bacteria (LAB)

3 Lactobacillus

4 Bifidobacterium

5 Lactobacillus acidophilus

6 Salmonella Typhimurium

7 Listeria monocytogenes

تشکیل فیلم، پروتئین‌ها را به ماده پوشش‌دهنده عالی تبدیل کرده است که کاربردهای زیادی در صنایع غذایی دارد [۱۴]. کازئینات سدیم در سیستم تحویل، بهبود تشکیل امولسیون و پایداری آن توسط کاهش کشش سطحی و تشکیل لایه محافظتی در اطراف قطرات روغن کاربرد دارد، همچنین دارای خواص عملکردی برجسته‌ای مانند تغلیظ‌کنندگی، امولسیون‌کنندگی، تشکیل کف و پایداری حرارتی می‌باشد. با توجه به pH اسیدی معده و خنثی در روده، رفتار وابسته به pH کازئین می‌تواند برای رهایی کنترل‌شده مواد مفید باشد. علاوه بر این، کازئین می‌تواند در روشی مستقل از انرژی به غشای پلاسمایی نفوذ کند و جذب سلولی را افزایش دهد. همچنین ساختار پیچ‌خورده^{۲۲} کازئین، آن را به راحتی در دسترس پروتئولیز قرار داده و رهاسازی خوبی توسط آنزیم‌های پروتئولیتیک در دستگاه گوارش را فراهم می‌کند [۱۹]. به دلیل حساسیت کازئینات سدیم به pH نزدیک به نقطه ایزوالکتریک آن، ممکن است به تنهایی قادر به فراهم نمودن شرایط ریزپوشانی ترکیبات زیست فعال نباشد که این مسئله اثر منفی بر پایداری امولسیون دارد؛ بنابراین محققین ترکیب دو ماده به عنوان مواد دیواره را پیشنهاد می‌کنند [۲۰].

تأثیر آلزینات سدیم و کازئینات سدیم به عنوان عامل پوشش‌دهی بر روی افزایش زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک از جمله سویه لاکتوباسیلوس در شرایط گوارشی، در تحقیقات مشابه گزارش شده است. کی و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر پوشش‌دهی دوگانه لاکتوباسیلوس رامنوسوس توسط آلزینات سدیم و متوکسیل پکتین با چگالی کم یا K- کاراگینان در شرایط شبیه‌سازی شده گوارشی را بررسی نموده و دریافتند فرآیند پوشش‌دهی تأثیر مثبتی بر افزایش زنده‌مانی پروبیوتیک دارد [۱۶]. مطلبی و همکاران (۲۰۲۱)

اکستروژن^{۱۵}، پوشش بستر سیال^{۱۶} و الکتروریسی^{۱۷} و روش‌های فیزیکوشیمیایی شامل فرآیند کواسرواسیون^{۱۸} و انکپسولاسیون سل-ژل^{۱۹} تقسیم‌بندی می‌شوند [۳، ۱۰]. رایج‌ترین روش‌های ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها اکستروژن، خشک‌کردن پاششی و امولسیون‌سازی هستند. اکستروژن و خشک‌کردن پاششی به علت حساسیت پروبیوتیک به دماهای اعمال شده و اندازه ذرات بزرگ، کمتر کاربرد دارند؛ بنابراین روش امولسیون‌سازی بهترین روش ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها می‌باشد [۳، ۱۱، ۱۲]. امولسیون‌سازی روش جاگذاری شیمیایی است که مواد هسته و دیواره (فاز پراکنده) به روغن گیاهی (فاز پیوسته) افزوده شده، سپس امولسیفایر برای تشکیل امولسیون پایدار اضافه شده و ریزپوشانی در مقیاس میکرو^{۲۰} تحت فعالیت عامل اتصال عرضی انجام می‌شود [۱۳].

از بین مواد کاربردی برای ریزپوشانی، تعداد محدودی به عنوان عوامل پوشش‌دهنده^{۲۱} ایمن تأیید شده‌اند که عوامل بیوپلمری از قبیل کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، صمغ‌ها، لیپیدها یا مشتقات آن‌ها می‌باشند [۱۴]. با توجه به پژوهش‌های پیشین، آلزینات سدیم ترکیب اصلی مورد استفاده در ریزپوشانی پروبیوتیک‌ها است که به دلیل ایمنی بالا، غیر سمی بودن، سازگاری زیستی، خواص ژل‌کنندگی بالا (وابسته به دما و pH)، سهولت در تشکیل دانک‌ها و قابلیت هضم آن می‌باشد [۱۷-۱۵]، همچنین آلزینات سدیم در pH پایین تجزیه می‌شود تا پروبیوتیک‌ها در شرایط گوارشی آزاد شوند [۱۸]. بنابراین آلزینات سدیم یکی از بهترین بیوپلمرها برای استفاده در میکروکپسول‌ها برای محافظت و تحویل کنترل‌شده پروبیوتیک‌ها در محیط روده می‌باشد [۱۵]. خصوصیات فیزیکوشیمیایی و عملکردی بالا از جمله ظرفیت امولسیفایری، توانایی تشکیل ژل و ظرفیت

19 Sol-Gel encapsulation

20 Microencapsulation

21 Encapsulants

22 Enfold structure

15 Extrusion

16 Fluidized bed coating

17 Electrospinning

18 Coacervation process

۳۰۰۰rpm در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه جداسازی و برای فرآیند انکپسولاسیون آماده شدند [۲۴].

۲-۲- ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک:

ریزپوشانی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5) با استفاده از تکنیک امولسیون‌سازی در بستر آلزینات سدیم (Sigma- Aldrich, CAS NO.: 90005-38-3) و کازئینات سدیم (Sigma- Aldrich, CAS NO.: 90005-) (3-46) در پنج سطح غلظتی به صورت تک غلظتی و ترکیب دو ماده شامل ۲۵ درصد آلزینات سدیم و ۷۵ درصد کازئینات سدیم، ۵۰ درصد آلزینات سدیم و ۵۰ درصد کازئینات سدیم و ۷۵ درصد آلزینات سدیم و ۲۵ درصد کازئینات سدیم انجام شد. بدین منظور یک قسمت از سوسپانسیون باکتریایی حاوی 10^9 - 10^{10} CFU/g با ۴ قسمت آلزینات سدیم و کازئینات سدیم با ویسکوزیته متوسط توسط همزن مغناطیسی مخلوط و به مخلوط روغن گیاهی (کانولا) که در حال هم خوردن بود، به صورت قطره قطره اضافه و جهت تشکیل امولسیون آلزینات سدیم و کازئینات سدیم و روغن گیاهی به مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۹۰۰ توسط سانتریفیوژ با هم مخلوط شدند. برای شکستن امولسیون و تشکیل میکروانکپسول‌های آلزینات سدیم و کازئینات سدیم از روش ژلاتیناسیون خارجی استفاده شد؛ بدین منظور ۲۰۰ ml محلول کلرور کلسیم ۰/۱M به صورت قطره قطره به داخل امولسیون آلزینات سدیم/ سلول باکتری و همچنین کازئینات سدیم/ سلول باکتری و روغن گیاهی در حال هم زدن به مدت ۲۰ دقیقه با دور rpm ۱۰۰ اضافه شد و برای تکمیل عمل ژلاتیناسیون و تشکیل میکروانکپسول‌ها به مدت ۳۰ دقیقه به حالت سکون باقی ماند. مخلوط به دست آمده شامل دو فاز روغنی در بالا و فاز پایینی شامل میکروانکپسول‌های ته‌نشین شده در بستر بود. فاز روغنی تخلیه شده و جهت جداسازی میکروانکپسول‌ها، فاز پایینی با دور rpm ۶۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس عمل شستشوی

نیز گزارش کردند ترکیب پکتین با آلزینات سدیم در افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 تأثیر بسزایی داشت [۲۱]. در پژوهش شاه‌مرادی و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شد پوشش‌دهی دوگانه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La5 و سلنیوم با کازئینات سدیم و موسیلاژ دانه ریحان، زنده‌مانی این باکتری پروبیوتیک را در شرایط اسیدی آزمایشگاهی افزایش داد [۲۲]. در تحقیق اُبروی و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر پوشش‌دهی لاکتوباسیلوس رامنوسوس با آلزینات سدیم و ترکیب آن با کازئینات سدیم نیز بررسی شد و گزارش شد فرآیند پوشش‌دهی باعث افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک شد [۲۳].

هدف از ریزپوشانی باکتری‌های پروبیوتیک تثبیت و حفظ قابلیت حیات در طول فرآیند، استفاده در فرمولاسیون‌های غذایی و قرارگیری در شرایط گوارشی بدن انسان است؛ این مطالعه به منظور بررسی تأثیر فرآیند ریزپوشانی بر تغییرات میزان بقای لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5) ریزپوشانی شده در بستر ترکیبی کربوهیدرات- پروتئین (آلزینات سدیم- کازئینات سدیم) در شرایط شبیه‌سازی شده دستگاه گوارش انسان انجام شد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- فعال‌سازی باکتری‌های پروبیوتیک:

در این تحقیق از کشت خالص لیوفلیزه باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5) (Pro-Gen- Batch NO.: R LAA5-165) استفاده شد. به منظور فعال‌سازی باکتری‌ها و تهیه سوسپانسیون باکتریایی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در ۱۰ml محیط کشت MRS برات ۳۳ تحت شرایط هوازی تلقیح، و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه (انکوباتور یخچال‌دار Binder- KB 400) شد. ایجاد کدورت در محیط نشان‌دهنده رشد کلنی باکتری‌ها بود. سپس سلول‌ها توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار (HERMLE- Z 326 K- آلمان) با دور

میکروانکپسول‌ها با محلول پپتون واتر انجام گردید. در نهایت کپسول‌های به‌دست آمده تا زمان استفاده در محلول کلرور کلسیم پراکنده شده و در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد [۲۵، ۲۶].

۲-۳- شمارش تعداد سلول زنده پس از ریزپوشانی:

بلافاصله پس از ریزپوشانی، یک گرم از سلول‌های ریزپوشانی‌شده در ۹۹ml محلول سدیم سیترات ($\frac{W}{V}$) ۱٪ استریل با pH معادل ۶ به‌صورت محلول درآمد و به‌مدت ۱ دقیقه در دمای محیط تکان داده شد. پس از ۱۰ دقیقه سکون به‌منظور حل شدن، در محیط کشت MRS آگار تحت شرایط هوازی در ۳۷ درجه سانتیگراد به‌مدت ۷۲ ساعت انکوبه و سپس شمارش شد [۲۴].

۲-۴- بازده فرآیند ریزپوشانی:

به منظور محاسبه بازده فرآیند ریزپوشانی، میکروکپسول‌ها به محلول پپتون نمکی (۱ g/L پپتون و ۸/۵ g/L سدیم کلراید) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه برای ترکیب شدن کامل، تکان داده شدند و نتایج بازده ریزپوشانی با استفاده از معادله ۱ محاسبه و به صورت تعداد واحد تشکیل کلنی (CFU/g) بیان شد [۲۷، ۲۸].

معادله ۱:

$$EY = \frac{N}{N_0} \times 100$$

در رابطه فوق، N تعداد سلول‌های

زنده مانده آزاد شده از کپسول و N_0 تعداد سلول‌های اولیه در فرآیند ریزپوشانی می‌باشند.

۲-۵- تعداد سلول‌های ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر نمک صفراوی:

یک گرم از سلول‌های ریزپوشانی شده در لوله آزمایش حاوی ۱۰ml محلول استریل صفرا ۰/۶٪ در pH معادل ۸/۲۵ قرار گرفت و در ۳۷ درجه سانتیگراد به‌مدت ۲ ساعت انکوبه شد. در زمان‌های ۶۰، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ دقیقه شستشو و جداسازی دانه‌ها توسط پپتون واتر ۰/۱٪ صورت گرفت و شمارش باکتری‌های زنده مانده بر اساس روش بیان شده در قسمت ۲-۳ انجام شد [۲۴].

۲-۶- تعداد سلول‌های ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر محیط شبیه‌سازی شده اسید معده و روده، با و بدون نمک صفراوی:

یک گرم از سلول‌های ریزپوشانی شده در لوله آزمایش حاوی ۱۰ml محلول استریل شبیه‌سازی شده اسید معده بدون پپسین (۰/۰۸M HCl حاوی ۰/۰۲% NaCl با pH معادل ۱/۵۵) قرار گرفتند و در زمان‌های ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه تحت دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شدند. سپس در معرض ۹ ml مایع روده‌ای (۰/۰۵M KH_2PO_4 با pH معادل ۷/۴۳) با و بدون نمک صفرا استریل قرار گرفت و به مدت ۳۰۰، ۲۴۰، ۲۱۰، ۱۸۰، ۱۵۰ دقیقه تحت دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. ۱ml از دانک‌های حل شده برداشته شد و شمارش باکتری‌های زنده مانده بر اساس روش بیان شده در قسمت ۲-۳ انجام گرفت [۲۴].

۲-۶- روش تجزیه و تحلیل اطلاعات:

به منظور آنالیز داده‌ها از آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار استفاده گردید که در آن باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La_5) با عوامل ریزپوشانی در ۵ سطح غلظتی توضیح داده شده در بخش ۲-۲ پوشش‌دهی شد و با نمونه شاهد (L-FC) شامل باکتری‌های آزاد و پوشش‌دهی نشده مقایسه شدند، سپس با استفاده از روش برش‌دهی مناسب‌ترین تیمار انتخاب گردید. تجزیه و تحلیل اطلاعات با استفاده از نرم افزار SPSS (ورژن ۲۱) صورت گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از روش دانکن در سطح ۰/۰۵ استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شمارش تعداد میکروارگانیسم‌های زنده مانده پس

از ریزپوشانی و بررسی کارایی ریزپوشانی:

نتایج حاصل از تعداد سلول‌های زنده مانده پس از ریزپوشانی در مقیاس میکرو (log CFU/g) و بازده ریزپوشانی بر حسب درصد در جدول (۱) نشان داده شده است.

Table 1- Number (log CFU/g) of surviving cells after microencapsulation and microencapsulation efficiency at different treatments

TREATMENT	SURVIVAL CELLS	MICROENCAPSULATION EFFICIENCY (PERCENTAGE)
L-FC	10.056 ± 0.123 ^a	0.000 ^e
L-SA	9.336 ± 0.06 ^b	92.847 ± 0.805 ^{ab}
L-SC	8.436 ± 0.289 ^e	83.881 ± 2.146 ^d
L-SA ₁ SC ₃	8.703 ± 0.070 ^{cd}	86.551 ± 1.198 ^{cd}
L-SA ₂ SC ₂	9.160 ± 0.141 ^{bc}	91.096 ± 1.197 ^{bc}
L-SA ₃ SC ₁	9.673 ± 0.047 ^{ab}	96.197 ± 1.093 ^a

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference at the level ($p < 0.05$). The numbers in the table are the mean of three replicates ± standard deviation. L-FC: Free cells, L-SA: Sodium alginate, L-SC: Sodium caseinate, L-SA₁SC₃: 25% Sodium alginate+75% Sodium caseinate, L-SA₂SC₂: 50% Sodium alginate+50% Sodium caseinate, L-SA₃SC₁: 75% Sodium alginate+25% Sodium caseinate.

باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس را با هم مقایسه نموده و بیان کردند که راندمان روش امولسیون سازی در حدود ۹۳/۸۶ درصد است که نشان دهنده هم راستا بودن نتایج این تحقیق با پژوهش مذکور می باشد [۳۰].

بارگذاری بالای سلولی در محدوده 4.36×10^6 - 6.73×10^6 log CFU/g و بالا بودن راندمان ریزپوشانی بین ۸۳/۸۸ - ۹۶/۱۹ درصد در باکتری های ریزپوشانی شده به دست آمده، اختلاف معناداری با یکدیگر داشتند ($p < 0.05$). روش های ملایم مورد استفاده در طی ریزپوشانی و دقت عمل مناسب، دلیل تعداد کم از دست رفتن باکتری ها در این مرحله می باشد که با نتایج Krasaekoopt و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی تأثیر ریزپوشانی با آلژینات سدیم بر زنده ماندن پروبیوتیک ها نیز مطابقت داشت [۲۴]. همچنین Zhang و همکاران (۲۰۱۵) راندمان مناسب روش امولسیون سازی تک مرحله ای و دو مرحله ای را تأیید کردند [۲۸]. به طور کلی، نتایج به دست آمده نشان داد که آسیب های باکتریایی در طی فرآیند ریزپوشانی به روش امولسیون کم است؛ بنابراین روشی کاربردی و مناسب به نظر می رسد.

۲-۳- تعداد میکروارگانیسم های میکروانکپسوله شده

زنده مانده در برابر نمک صفراوی:

تعداد میکروارگانیسم های آزاد و ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر نمک صفراوی در زمان های صفر، ۱۲۰، ۱۸۰ و ۲۴۰ دقیقه در جدول (۲) گزارش شده است. قابلیت زیستی باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس براساس زمان لازم

نتایج مقایسه میانگین داده ها در آزمون تعیین تعداد سلول های زنده مانده پس از ریزپوشانی و کارآیی ریزپوشانی نشان داد بین تیمارهای مختلف اختلاف معناداری وجود دارد ($p < 0.05$). تعداد اولیه سلول های زنده قبل از فرآیند ریزپوشانی در سوسپانسیون باکتریایی 1.0×10^6 CFU/g شمارش شد. طبق داده ها، تعداد سلول به دام افتاده در کپسول ها در تیمارهای مختلف نشان دهنده تعداد کم سلول های باکتری از دست رفته در مرحله ریزپوشانی است. با توجه به درصد بازده ریزپوشانی، تیمار L-SA₃SC₁ با ۹۶/۱۹ بیشترین و تیمار L-SC با ۸۳/۸۸ کمترین میزان به دام افتادن تعداد سلول های زنده در درون میکروکپسول ها را نشان دادند که با تحقیق Motalebi و همکاران (۲۰۲۱) در مورد ریزپوشانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (La5) و بیفیدوباکتریوم انیمالیس (BB-12) در بستر پکتین و آلژینات سدیم مطابقت دارد [۲۱]. راندمان ریزپوشانی بر خصوصیات فیزیکی مانند پایداری فیزیکی، مورفولوژی و رهاسازی موثر است؛ راندمان بالا باعث فراهمی زیستی^{۲۴} و اثربخشی بهتر می شود در حالی که نشست مواد فعال در اثر اضافه بار یا تخریب کپسول باعث کاهش راندمان می شود که ممکن است به دلیل همگن سازی طولانی مدت باشد [۲۹]. با توجه به جدول (۱)، راندمان در سطوح غلظتی در فرآیند پوشش دهی، بیشتر از ۸۳ درصد می باشد که مناسب بودن پوشش ها برای انکپسولاسیون پروبیوتیک ها را نشان داد. Lieu و همکاران (۲۰۲۰) دو روش ریزپوشانی اکستروژن و امولسیون سازی

برای کاهش یک پایه لگاریتمی (D-value) از جمعیت اولیه آن‌ها محاسبه شد [۲۴].

Table 2 – Number (log CFU/g) of encapsulated cells surviving against bile salt at different times

TREATMENT	TIME(MIN)					D-VALUE
	0	60	120	180	240	
L-FC	10.820±0.145 ^a	8.270±0.130 ^c	6.940±0.098 ^c	5.506±0.251 ^c	4.846±0.119 ^d	40.209±1.353 ^b
L-SA	10.140±0.220 ^b	9.266±0.128 ^a	8.646±0.120 ^a	7.303±0.112 ^a	6.630±0.190 ^{ab}	68.985±7.927 ^a
L-SC	9.137±0.122 ^d	8.210±0.147 ^c	7.556±0.920 ^b	6.710±0.292 ^b	5.953±0.140 ^c	75.720±6.142 ^a
L-SA ₁ SC ₃	9.816±0.196 ^{bc}	8.616±0.137 ^{bc}	7.660±0.111 ^b	6.820±0.155 ^b	6.350±0.088 ^{bc}	69.361±3.645 ^a
L-SA ₂ SC ₂	9.416±0.116 ^{cd}	8.273±0.085 ^c	7.490±0.790 ^b	6.733±0.087 ^b	6.093±0.179 ^c	72.572±6.179 ^a
L-SA ₃ SC ₁	10.010±0.138 ^b	8.886±0.270 ^{ab}	7.753±0.145 ^b	7.213±0.080 ^a	6.903±0.086 ^a	77.503±5.288 ^a

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference at the level ($p<0.05$). The numbers in the table are the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. L-Fc: Free cells, L-SA: Sodium alginate, L-SC: Sodium caseinate, L-SA₁SC₃: 25% Sodium alginate+75% Sodium caseinate, L-SA₂SC₂: 50% Sodium alginate+50% Sodium caseinate, L-SA₃SC₁: 75% Sodium alginate+25% Sodium caseinate.

در اثر جذب نمک صفراوی توسط پروبیوتیک‌ها، واکنش تبادل یونی صورت می‌گیرد. در غشای آلژینات سدیم-کازئینات سدیم یک کمپلکس نامحلول بین آلژینات سدیم-کازئینات سدیم و نمک صفراوی تشکیل می‌گردد و باعث محدودیت انتشار نمک به داخل میکروکپسول می‌شود که از سلول‌های ریزپوشانی شده در برابر نمک صفراوی محافظت می‌کند. نقطه ایزوالکتریک^{۲۵} کازئینات سدیم $6/4$ است؛ مولکول‌های کازئینات سدیم در معرض محیط گوارشی، بارهای مثبت خالص حمل می‌کنند بنابراین به دفع یکدیگر تمایل دارند در نتیجه میکروکپسول‌ها حل شده و محافظت از باکتری‌ها را از دست می‌دهند. در مقابل، گروه‌های کربوکسیل آلژینات سدیم پیوندهای هیدروژنی قوی با گروه‌های آمیدی و کربوکسیل مولکول‌های کازئینات سدیم تشکیل می‌دهند که آلژینات سدیم استحکام شبکه پلیمری را افزایش داده، از انحلال میکروکپسول‌ها جلوگیری می‌کند و از سلول‌های درون ماتریکس پلیمری محافظت می‌کند [۳۱]. Kim و همکاران (۲۰۰۸) در بررسی تأثیر ریزپوشانی بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (ATCC43121) گزارش دادند ریزپوشانی روش موثری در افزایش تحمل نمک‌های صفراوی توسط باکتری است که با نتایج این تحقیق هم‌راستا است [۳۲]. در مطالعات Kailasapathy (۲۰۰۶) و

تحمل صفرا به عنوان معیاری برای انتخاب سویه پروبیوتیک می‌باشد. در این تحقیق نیز محلول نمک صفراوی برای تعیین اینکه آیا پوشش آلژینات سدیم و کازئینات سدیم بقای سلول‌ها را در این محیط که شبیه به سیستم گوارشی است، افزایش می‌دهد، استفاده شد. با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها در جدول (۲)، بین سلول‌های آزاد و تیمارهای مختلف اختلاف معناداری مشاهده گردید ($p<0/05$) و تعداد سلول با گذشت زمان کاهش یافت ولی این کاهش در تیمارهای ریزپوشانی شده نسبت به سلول‌های آزاد کمتر است. در مورد باکتری‌های آزاد، بیشترین زنده‌مانی در برابر نمک صفراوی در زمان اولیه قرار گیری در محیط صفرا و کمترین میزان زنده‌مانی در دقیقه ۲۴۰ بود و روند کاهشی با D-value معادل $40/209$ برای نمونه شاهد مشاهده شد. بین تیمارهای ریزپوشانی شده، بیشترین زنده‌مانی با گذشت زمان‌های تعیین شده برای تیمار L-SA₃SC₁ با D-value معادل $77/503$ و کمترین زنده‌مانی مربوط به تیمار L-SA با D-value معادل $68/985$ می‌باشد؛ بنابراین ریزپوشانی تأثیر مناسبی در افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در برابر نمک صفراوی در زمان‌های تعیین شده دارد.

مدت زمان انکوباسیون ۱۲۰-۰ دقیقه در محلول شبیه سازی شده معده و مدت زمان ۳۰۰-۱۵۰ دقیقه در محلول شبیه سازی شده روده در دو حالت با و بدون نمک صفراوی آزمایش شد [۲۴].

۳-۳-۱- تعداد میکروارگانیسم های ریزپوشانی شده زنده

مانده در برابر اسید معده:

تعداد میکروارگانیسم های آزاد و ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر محیط شبیه سازی شده معده در زمان های صفر، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه در جدول (۳) گزارش شده است. قابلیت زیستی باکتری های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس براساس زمان لازم برای کاهش یک پایه لگاریتمی (D-value) از جمعیت اولیه آن ها محاسبه شد [۲۴].

Chandramouli و همکاران (۲۰۰۴) در زمینه تأثیر ریزپوشانی بر زنده ماندن پروبیوتیک ها با استفاده از غلظت های بین ۱ تا ۳ درصد نمک های صفراوی گزارش شد که زنده ماندن پروبیوتیک های ریزپوشانی شده بیشتر از سلول های پروبیوتیک آزاد می باشد [۳۳، ۳۴].

۳-۳-۲- تعداد میکروارگانیسم های ریزپوشانی شده زنده

مانده در برابر اسید معده و محیط روده شبیه سازی شده با و بدون نمک صفراوی:

قبل از اینکه لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بتواند به عنوان یک محصول عملگرا استفاده شود و اثرات مثبتی بر سلامتی داشته باشد، باید در طول عبور از محیط معده تا زمانی که به تعداد کافی برای تکثیر در روده بزرگ نیاز است^{۲۶}، زنده بماند. در این تحقیق زنده ماندن باکتری های آزاد و ریزپوشانی شده در

Table 3 - Number (log CFU/g) of microencapsulated cells surviving against gastric acid

TREATMENT	TIME(MIN)					D-VALUE
	0	30	60	90	120	
L-FC	10.486±0.170 ^a	7.933± 0.061 ^b	5.870±0.140 ^c	4.893±0.257 ^c	2.976±0.180 ^d	16.001±0.744 ^c
L-SA	9.956±0.061 ^{bc}	8.863±0.145 ^a	7.173±0.085 ^b	6.336±0.132 ^a	5.176±0.115 ^{ab}	25.120±0.764 ^a
L-SC	9.333±0.182 ^d	8.543±0.462 ^{ab}	6.846±0.070 ^b	5.541±0.120 ^{bc}	4.076±0.159 ^c	22.831±0.352 ^b
L-SA ₁ SC ₃	9.990±0.125 ^b	9.106±0.142 ^a	8.036±0.015 ^a	6.103±0.159 ^a	5.273±0.092 ^a	25.445±0.384 ^a
L-SA ₂ SC ₂	9.543±0.070 ^{cd}	8.810±0.174 ^a	7.136±0.055 ^b	6.266±0.128 ^a	5.036±0.140 ^{ab}	26.712±0.536 ^a
L-SA ₃ SC ₁	9.323±0.085 ^d	8.470±0.045 ^{ab}	7.070±0.121 ^b	5.846±0.081 ^{ab}	4.863±0.095 ^b	26.912±0.514 ^a

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference at the level ($p < 0.05$). The numbers in the table are the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. L-FC: Free cells, L-SA: Sodium alginate, L-SC: Sodium caseinate, L-SA₁SC₃: 25% Sodium alginate+75% Sodium caseinate, L-SA₂SC₂: 50% Sodium alginate+50% Sodium caseinate, L-SA₃SC₁: 75% Sodium alginate+25% Sodium caseinate.

با توجه به نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده ها در آزمون تعداد میکروارگانیسم های ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر اسید معده، بین سلول های آزاد و تیمارهای مختلف اختلاف معناداری وجود دارد ($p < 0/05$). پس از گذشت ۱۲۰ دقیقه در تمامی تیمارها زنده ماندن کاهش یافت اما در نمونه های ریزپوشانی شده، زنده ماندن نسبت به نمونه شاهد به طور قابل توجهی بیشتر حفظ شده است ($p < 0/05$). به دلیل مقاومت کم نسبت به شرایط اسیدی، بقای سلول های آزاد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در حضور شیر معده وجود نداشت و تعداد سلول های آزاد در عرض ۱۲۰ دقیقه به

۲/۹۷۶ CFU/g کاهش یافت که در مقابل در شرایط و زمان مشابه در تیمارهای ریزپوشانی شده بین ۶/۳۳۶ CFU/g - ۴/۰۷۶ به دست آمد. با توجه به نتایج، بیشترین اثر زنده ماندن در تیمارها مربوط به تیمار L-SA₃SC₁ با D-value معادل ۲۶/۹۱۲ می باشد و در مقابل سلول های آزاد (L-FC) با D-value معادل ۱۶/۰۰۱ کمترین زنده ماندن را داشتند. روند بقای بهتر میکروکپسول ها به دلیل عدم تماس مستقیم سلول ها با محیط اسیدی و تأخیر در نفوذ شیر معده می باشد؛ در نتیجه منجر به افزایش زنده ماندن و افزایش قابلیت زیستی پروبیوتیک ها می شود که هدف ریزپوشانی است. در این

پروبیوتیک‌ها در شرایط اسیدی گوارشی موثر است [۲۳].

۳-۲-۳- تعداد میکروارگانیسم‌های ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر محیط روده شبیه‌سازی شده با و بدون نمک صفراوی: تعداد میکروارگانیسم‌های آزاد و ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر محیط شبیه‌سازی شده روده در حضور نمک صفراوی در زمان‌های ۱۵۰، ۱۸۰، ۲۱۰، ۲۴۰ و ۳۰۰ دقیقه در جدول (۴) گزارش شده است. قابلیت زیستی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس براساس زمان لازم برای کاهش یک پایه لگاریتمی (D-value) از جمعیت اولیه آن‌ها محاسبه شد [۲۴].

مطالعه، زنده‌مانی بهتر سلول‌های ریزپوشانی شده در محیط شبیه‌سازی شده معده احتمالاً با اثر هم‌افزایی آلژینات سدیم و کازئینات سدیم و همچنین با پیش‌سازگاری سلول‌های باکتریایی در ژل‌های کازئینات با pH پایین توجیه می‌شود [۳۵].

نتایج مشابهی در تحقیق Shamoradi و همکاران (۲۰۲۳) در مورد تأثیر ریزپوشانی با کازئینات سدیم در افزایش زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ریزپوشانی شده نسبت به سلول‌های آزاد وجود دارد [۲۲]. همچنین Oberoi و همکاران (۲۰۲۱) و Holkem و همکاران (۲۰۱۷) نیز گزارش کردند که ریزپوشانی با آلژینات سدیم بر زنده‌مانی

Table 4- Number (log CFU/g) of microencapsulated cells surviving against the simulated intestinal environment with bile salt

TREATMENT	TIME(MIN)					D-VALUE
	150	180	210	240	300	
L-FC	2.603±0.165 ^d	1.43±0.160 ^d	0.923±0.188 ^d	0.566±0.073 ^d	0 ^d	46.220±2.974 ^b
L-SA	4.813±0.045 ^a	4.043±0.065 ^b	3.523±0.090 ^b	3.556±0.187 ^{ab}	3.036±0.060 ^{ab}	67.573±1.775 ^{ab}
L-SC	3.580±0.105 ^c	3.246±0.060 ^c	2.826±0.145 ^c	2.426±0.135 ^c	2.156±0.176 ^c	86.024±14.200 ^a
L-SA ₁ SC ₃	5.046±0.065 ^a	4.573±0.140 ^a	4.256±0.068 ^a	3.826±0.040 ^a	3.426±0.173 ^a	74.629±7.690 ^{ab}
L-SA ₂ SC ₂	4.423±0.450 ^b	3.973±0.073 ^b	3.653±0.132 ^b	3.280±0.110 ^b	2.866±0.135 ^b	84.146±8.964 ^a
L-SA ₃ SC ₁	4.750±0.140 ^{ab}	4.550±0.079 ^a	4.116±0.090 ^a	3.833±0.102 ^a	3.383±0.030 ^a	88.184±7.078 ^a

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference at the level ($p < 0.05$). The numbers in the table are the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. L-Fc: Free cells, L-SA: Sodium alginate, L-SC: Sodium caseinate, L-SA₁SC₃: 25% Sodium alginate+75% Sodium caseinate, L-SA₂SC₂: 50% Sodium alginate+50% Sodium caseinate, L-SA₃SC₁: 75% Sodium alginate+25% Sodium caseinate.

تعداد میکروارگانیسم‌های آزاد و ریزپوشانی شده زنده مانده در برابر محیط شبیه‌سازی شده روده بدون نمک صفراوی با شرایط مشابه با نمک صفراوی در جدول (۵) گزارش شده‌اند. قابلیت زیستی باکتری‌های لاکتوباسیلوس

Table 5- Number (log CFU/g) of microencapsulated cells surviving against the simulated intestinal environment without bile salt

TREATMENT	TIME(MIN)					D-VALUE
	150	180	210	240	300	
L-FC	2.850±0.069 ^d	2.430±0.070 ^e	2.120±0.124 ^d	0.920±0.600 ^c	0.296±0.145 ^d	47.037±1.678 ^d
L-SA	4.956±0.037 ^a	4.436±0.075 ^b	3.753±0.135 ^b	3.326±0.136 ^b	3.123±0.04 ^b	65.508±2.339 ^c
L-SC	3.830±0.110 ^c	3.573±0.097 ^d	3.153±0.106 ^c	2.900±0.045 ^b	2.090±0.953 ^c	69.618±8.337 ^{bc}
L-SA ₁ SC ₃	4.863±0.080 ^a	4.526±0.085 ^b	3.986±0.055 ^b	3.636±0.125 ^{ab}	3.243±0.08 ^b	74.419±6.066 ^{bc}
L-SA ₂ SC ₂	4.606±0.015 ^b	4.153±0.060 ^c	3.750±0.090 ^b	3.433±0.115 ^{ab}	3.146±0.102 ^b	82.995±5.339 ^b
L-SA ₃ SC ₁	4.916±0.051 ^a	4.780±0.026 ^a	4.593±0.083 ^a	4.263±0.104 ^a	4.006±0.05 ^a	131.941±3.783 ^a

Different lowercase letters in each column indicate a significant difference at the level ($p < 0.05$). The numbers in the table are the mean of three replicates $\pm$ standard deviation. L-Fc: Free cells, L-SA: Sodium alginate, L-SC: Sodium caseinate, L-SA₁SC₃: 25% Sodium alginate+75% Sodium caseinate, L-SA₂SC₂: 50% Sodium alginate+50% Sodium caseinate, L-SA₃SC₁: 75% Sodium alginate+25% Sodium caseinate.

با توجه به نتایج به دست آمده در جداول (۴) و (۵) از مقایسه میانگین داده‌ها در آزمون تعداد میکروارگانیسم‌های ریزپوشانی شده زنده‌مانده در محیط روده با و بدون نمک صفراوی، بین سلول‌های آزاد و تیمارها اختلاف معناداری وجود دارد ($p < 0/05$) و با گذشت زمان در همه تیمارها زنده‌مانی کاهش یافت. بیشترین زنده‌مانی در تیمارها، مربوط به تیمار $L-SA_3SC_1$ با D-value معادل $131/941$ در محیط روده بدون نمک صفراوی و $88/184$ در حضور نمک صفراوی است و کمترین زنده‌مانی مربوط به سلول‌های آزاد با D-value معادل $47/037$ در محیط روده بدون نمک صفراوی و $46/220$ در حضور نمک صفراوی است؛ بنابراین میکروانکپسولاسیون در شرایط روده می‌تواند سبب افزایش زنده‌مانی باکتری‌ها شود. همچنین بین شرایط با و بدون نمک صفراوی، تیمارها در محیط روده بدون نمک صفراوی زنده‌مانی بیشتری نسبت به وجود نمک صفراوی نشان دادند. در پژوهش Zeashan و همکاران (۲۰۱۹) در بررسی ریزپوشانی بر زنده‌مانی پروبیوتیک، سلول‌های آزاد در مقایسه با سلول‌های ریزپوشانی شده روند کاهشی سریعی را نشان دادند؛ در این تحقیق از آلزینات سدیم نیز استفاده شد که بقای پروبیوتیک را در شرایط شبیه‌سازی شده روده بهبود بخشید [۳۶]. Oberoi و همکاران (۲۰۲۱) بر روی بررسی اثر ریزپوشانی لاکتوباسیلوس رامنوسوس اعلام کردند استفاده از آلزینات سدیم در ترکیب با صمغ زانتان می‌تواند اثر محافظت کنندگی در محیط روده داشته باشد [۲۳]. از طرفی در تحقیقی Mokarram و همکاران (۲۰۰۹) پس از انکوباسیون گونه‌های ریزپوشانی شده، D-value لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس رامنوسوس با آلزینات سدیم در محیط شبیه‌سازی شده معده (۶۰ دقیقه) و سپس محلول روده‌ای (pH ۷.۲۵، ۲ ساعت)، را به ترتیب $30/84$ CFU/g و $26/43$ CFU/g اعلام کردند در حالی که برای سلول‌های آزاد به ترتیب $16/19$ CFU/g و $15/13$ CFU/g به دست آمد [۳۷]. در تحقیق Krasaekoopt و همکاران (۲۰۰۴) نیز

سلول‌های ریزپوشانی شده لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در کپسولی از آلزینات سدیم پس از انکوباسیون متوالی در شیرهای شبیه‌سازی شده معده و روده، با و بدون نمک صفراوی، بهتر از سلول‌های آزاد زنده ماندند و پوشش کیتوزان بقای سلول‌ها را بیش از سایر مواد پوشش افزایش داد [۲۴]. نتایج تحقیق حاضر با تمامی تحقیقات ذکر شده هم‌راستا می‌باشد.

۴- نتیجه‌گیری

در مورد مصرف مواد غذایی پروبیوتیک، علاوه بر تعداد استاندارد باکتری پروبیوتیکی که باید به روده برسد، شرط اصلی ایجاد اثرات فراسودمند مورد نظر و قابلیت زنده ماندن باکتری‌های پروبیوتیک تا رسیدن به انتهای دستگاه گوارش است، به صورتی که سویه میکروبی باید در مقابل شرایط اسیدی معده و نمک‌های صفراوی موجود در روده کوچک در طول هضم و فرآوری مقاوم بوده و از بین نرود. اهمیت و تنوع فرآورده‌های پروبیوتیک و موفقیت روش ریزپوشانی برای بهبود قابلیت زیستی پروبیوتیک‌ها، باعث افزایش توجه به این روش شده است. نتایج به دست آمده از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس La_5 در دو حالت آزاد و ریزپوشانی شده با آلزینات سدیم و کازئینات سدیم به روش امولسیون‌سازی در این تحقیق نشان می‌دهد که استفاده از این روش انکپسوله کردن باعث افزایش زنده‌مانی این پروبیوتیک نسبت به نمونه آزاد شده است؛ به‌طوری که اختلاف معناداری بین افزایش زنده‌مانی سویه‌های میکروانکپسوله نسبت به باکتری‌های آزاد در تمامی آزمون‌ها مشاهده شد. از طرفی استفاده از ترکیب آلزینات سدیم و کازئینات سدیم به عنوان عامل پوشش دهنده در موفقیت‌آمیز بودن میکروانکپسولاسیون نقش به سزایی داشت. طبق نتایج به دست آمده، می‌توان گفت که ریزپوشانی باکتری اثر مثبتی بر زنده‌مانی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی قرار گرفتن در معرض شبیه‌سازی محیط دستگاه گوارش دارد.

ه-منابع

- [1] Rahmati, F., (2018). Identification and characterisation of Lactococcus starter strains in milk-based traditional fermented products in the region of Iran. *AIMS Agriculture & Food*, 3(1).
- [2] Sohrabpour, S., M. Rezazadeh Bari, M. Alizadeh, and S. Amiri, (2021). Investigation of the rheological, microbial, and physicochemical properties of developed synbiotic yoghurt containing Lactobacillus acidophilus LA-5, honey, and cinnamon extract. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(4), p: e15323.
- [3] Rashidinejad, A., A. Bahrami, A. Rehman, A. Rezaei, A. Babazadeh, H. Singh, and S.M. Jafari, (2022). Co-encapsulation of probiotics with prebiotics and their application in functional/synbiotic dairy products. *Critical reviews in food science and nutrition*, 62(9), p: 2470-2494.
- [4] Gao, J., X. Li, G. Zhang, F.A. Sadiq, J. Simal-Gandara, J. Xiao, and Y. Sang, (2021). Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(4), p: 3937-3982.
- [5] Mofid, V., A. Izadi, S.Y. Mojtahedi, and L. Khedmat, (2020). Therapeutic and nutritional effects of synbiotic yoghurts in children and adults: a clinical review. *Probiotics and antimicrobial proteins*, 12, p: 851-859.
- [6] Homayouni, A., A. Azizi, M. Ehsani, M. Yarmand, and S. Razavi, (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111(1), p: 50-55.
- [7] María Remes-Troche, J., E. Coss-Adame, M. Ángel Valdovinos-Díaz, O. Gómez-Escudero, M. Eugenia Icaza-Chávez, J. Antonio Chávez-Barrera, . . . M. Antonio Lira-Pedrin, (2020). Lactobacillus acidophilus LB: A useful pharmabiotic for the treatment of digestive disorders. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 13, p: 1756284820971201.
- [8] Amiri, S., Z.M. Moghanjoughi, M.R. Bari, and A.M. Khaneghah, (2021). Natural protective agents and their applications as bio-preservatives in the food industry: An overview of current and future applications. *Italian Journal of Food Science*, 33(SP1), p: 55-68.
- [9] Afzaal, M., A.U. Khan, F. Saeed, M.S. Arshad, M.A. Khan, M. Saeed, A. Ahmed, (2020). Survival and stability of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated gastrointestinal conditions and in ice cream. *Food Science & Nutrition*, 8(3), p: 1649-1656.
- [10] Coelho, S.C., B.N. Estevinho, and F. Rocha, (2021). Encapsulation in food industry with emerging electrohydrodynamic techniques: Electrospinning and electrospraying—A review. *Food Chemistry*, 339, p: 127850.
- [11] Saini, A., D. Panwar, P.S. Panesar, and M.B. Bera, (2021). Encapsulation of functional ingredients in lipidic nanocarriers and antimicrobial applications: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, p: 1107-1134.
- [12] Dos Santos, D.X., A.A. Casazza, B. Aliakbarian, R. Bedani, S.M.I. Saad, and P. Perego, (2019). Improved probiotic survival to in vitro gastrointestinal stress in a mousse containing Lactobacillus acidophilus La-5 microencapsulated with inulin by spray drying. *Lwt*, 99, p: 404-410.
- [13] Yang, M., Z. Liang, L. Wang, M. Qi, Z. Luo, and L. Li, (2020). Microencapsulation delivery system in food industry—Challenge and the way forward. *Advances in polymer technology*, 2020(1), p: 7531810.
- [14] Timilsena, Y.P., M.A. Haque, and B. Adhikari, (2020). Encapsulation in the food industry: A brief historical overview to recent developments. *Food and Nutrition Sciences*, 11(6), p: 481-508.
- [15] Sánchez-Portilla, Z., L.M. Melgoza-Contreras, R. Reynoso-Camacho, J.I. Pérez-Carreón, and A. Gutiérrez-Nava, (2020). Incorporation of Bifidobacterium sp. into powder products through a fluidized bed process for enteric targeted release. *Journal of dairy science*, 103(12), p: 11129-11137.
- [16] Qi, X., S. Simsek, B. Chen, and J. Rao, (2020). Alginate-based double-network hydrogel improves the viability of encapsulated probiotics during simulated sequential gastrointestinal digestion: Effect of biopolymer type and concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 165, p: 1675-1685.
- [17] Amine, K.M., C.P. Champagne, Y. Raymond, D. St-Gelais, M. Britten, P. Fustier, . . . M. Lacroix, (2014). Survival of microencapsulated Bifidobacterium longum in Cheddar cheese during production and storage. *Food Control*, 37, p: 193-199.
- [18] Martin, M., F. Lara-Villoslada, M. Ruiz, and M. Morales, (2013). Effect of unmodified starch on viability of alginate-encapsulated Lactobacillus fermentum CECT5716. *LWT-Food Science and Technology*, 53(2), p: 480-486.
- [19] Głąb, T.K. and J. Boratynski, (2017). Potential of casein as a carrier for biologically active agents. *Topics in Current Chemistry*, 375, p: 1-20.
- [20] Lu, Y., B. Zhang, H. Shen, X. Ge, X. Sun, Q. Zhang, W. Li, (2021). Sodium caseinate and acetylated mung bean starch for the encapsulation of lutein: Enhanced solubility and stability of lutein. *Foods*, 11(1), p: 65.
- [21] Motalebi Moghanjoughi, Z., M. Rezazadeh Bari, M. Alizadeh Khaledabad, S. Amiri, and H. Almasi, (2021). Microencapsulation of Lactobacillus acidophilus LA-5 and

- Bifidobacterium animalis BB-12 in pectin and sodium alginate: A comparative study on viability, stability, and structure. *Food Science & Nutrition*, 9(9), p: 5103-5111.
- [22] Shahmoradi, Z., M.A. Khaledabad, and S. Amiri, (2023). Effect of co-encapsulation of Lactobacillus acidophilus LA5 and selenium in hydrogelated matrix of basil seed mucilage/sodium caseinate on properties of set yogurt. *Food Bioscience*, 55, p: 103039.
- [23] Oberoi, K., A. Tolun, Z. Altintas, and S. Sharma, (2021). Effect of alginate-microencapsulated hydrogels on the survival of lactobacillus rhamnosus under simulated gastrointestinal conditions. *Foods*, 10(9), p: 1999.
- [24] Krasaekoopt, W., B. Bhandari, and H. Deeth, (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International dairy journal*, 14(8), p: 737-743.
- [25] Sheu, T. and R. Marshall, (1993). Microentrapment of lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*, 58(3), p: 557-561.
- [26] Holkem, A.T., G.C. Raddatz, J.S. Barin, É.M.M. Flores, E.I. Muller, C.F. Codevilla, C.R. de Menezes, (2017). Production of microcapsules containing Bifidobacterium BB-12 by emulsification/internal gelation. *LWT-Food Science and Technology*, 76, p: 216-221.
- [27] Santacruz, S. and M. Castro, (2018). Viability of free and encapsulated Lactobacillus acidophilus incorporated to cassava starch edible films and its application to Manaba fresh white cheese. *LWT*, 93, p: 570-572.
- [28] Zhang, Y., J. Lin, and Q. Zhong, (2015). The increased viability of probiotic Lactobacillus salivarius NRRL B-30514 encapsulated in emulsions with multiple lipid-protein-pectin layers. *Food Research International*, 71, p: 9-15.
- [29] Auwal, S.M., M. Zarei, C.P. Tan, and N. Saari, (2018). Comparative physicochemical stability and efficacy study of lipoid S75-biopeptides nanoliposome composite produced by conventional and direct heating methods. *International Journal of Food Properties*, 21(1), p: 1646-1660.
- [30] My Dong, L., T.H. Le Quyen, T. Duc Thang, and D. Thi Kim Thuy, (2020). The Effects of Extrusion and Internal Emulsion Microencapsulation Methods on the Viability of Lactobacillus acidophilus. *Journal of Human Environment and Health Promotion*, 6(1), p: 1-5.
- [31] Liu, H., J. Gong, D. Chabot, S.S. Miller, S.W. Cui, J. Ma, . . . Q. Wang, (2016). Incorporation of polysaccharides into sodium caseinate-low melting point fat microparticles improves probiotic bacterial survival during simulated gastrointestinal digestion and storage. *Food hydrocolloids*, 54, p: 328-337.
- [32] Kim, S.-J., S.Y. Cho, S.H. Kim, O.-J. Song, I.-S. Shin, D.S. Cha, and H.J. Park, (2008). Effect of microencapsulation on viability and other characteristics in Lactobacillus acidophilus ATCC 43121. *LWT-Food Science and Technology*, 41(3), p: 493-500.
- [33] Kailasapathy, K., (2002). Microencapsulation of probiotic bacteria: technology and potential applications. *Current issues in intestinal microbiology*, 3(2), p: 39-48.
- [34] Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris, and M. Jones, (2004). An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect Lactobacillus spp. in simulated gastric conditions. *Journal of microbiological methods*, 56(1), p: 27-35.
- [35] Nag, A., K.-S. Han, and H. Singh, (2011). Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. *International Dairy Journal*, 21(4), p: 247-253.
- [36] Zeashan, M., M. Afzaal, F. Saeed, A. Ahmed, T. Tufail, A. Ahmed, and F.M. Anjum, (2020). Survival and behaviour of free and encapsulated probiotic bacteria under simulated human gastrointestinal and technological conditions. *Food Science & Nutrition*, 8(5), p: 2419-2426.
- [37] Mokarram, R., S. Mortazavi, M.H. Najafi, and F. Shahidi, (2009). The influence of multi-stage alginate coating on survivability of potential probiotic bacteria in simulated gastric and intestinal juice. *Food Research International*, 42(8), p: 1040-1045.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La₅ at Sodium Alginate and Sodium Caseinate Matrix and its viability under Simulated Gastrointestinal Conditions

Fatemeh Hosseini Tabatabaei¹, Amir Hossein Elhamirad^{2*}, Reza Karazhiyan³, Hojjat Karazhiyan⁴, Mohammad Armin⁵.

1- Ph.D. student, Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

2- Department of Food Science and Technology, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran.

3- Research Institute for Industrial Biotechnology, Department of Industrial Microbial Biotechnology, ACECR, Mashhad, Iran.

4- Department of Food Science and Technology, Torbat-e Heydariyeh Branch, Islamic Azad University, Torbat-e Heydariyeh, Iran.

5- Department of Agriculture, Sabzevar Branch, Islamic Azad University, Sabzevar, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/7/21

Accepted: 2024/9/11

Keywords:

Microencapsulation,

Probiotic,

Lactobacillus acidophilus,

Sodium alginate,

Sodium caseinate

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.144.

*Corresponding Author E-

ahelhamirad@yahoo.com

The viability of probiotics in sensitive environments, particularly gastrointestinal conditions, is of significant importance. In this study, we used microencapsulation to increase the viability of probiotics *Lactobacillus acidophilus* La₅ under simulated gastrointestinal conditions. These bacteria were microencapsulated using the emulsification method in a matrix of Sodium alginate and Sodium caseinate at five concentration levels, individually and in combination. Then it was examined for viable cell count, encapsulation yield, survival against bile salts, and viability against gastric acid and intestinal fluid with and without bile salts. Our results showed significant differences between the treatments in all tests when comparing the average data ($p < 0.05$). The survival of free cells in digestive conditions decreased sharply; however, microencapsulation acted as a protective role, and the survival of microencapsulated strains was higher than that of free cells. The results showed that microencapsulation acts as a protective mechanism for improving the viability of microencapsulated strains compared to free cells. On the other hand, the combination of Sodium alginate and Sodium caseinate as an encapsulant can significantly increase the bacteria's resistance to digestive conditions ($p < 0.05$). Among the treatments, the free cells (L-FC) treatment showed the lowest survival against the simulated digestive environment. In the viability test in the intestinal environment with bile salt, no live cells were present after 300 minutes. However, in contrast, the treatment 75% Sodium alginate + 25% Sodium caseinate (L-SA₃SC₁), had the highest encapsulation yield and exhibited the best protective effect against bile salts, gastric acid, and intestinal fluid. In conclusion, microencapsulation using the emulsification method with a combination of Sodium alginate and Sodium caseinate effectively enhances the survival of *Lactobacillus acidophilus*, thus having potential beneficial effects on human health, particularly in reducing gastrointestinal diseases.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

ارزیابی اثر حلال‌ها و روش‌های استخراج بر بازدهی استخراج، تعیین مقدار مواد معدنی و فعالیت آنتی باکتری عصاره‌ی گل گیاه اویار سلام (*Cyperus Rotundus L.*)

آسانا احمدی^{۱*}، رضا نقی‌ها^۲، ابوالفضل احمدی^۳

۱- کارشناسی ارشد فیتوشیمی دانشگاه یاسوج

۲- دکتری تخصصی میکروپ شناسی دانشگاه شهید چمران اهواز.

۳- مهندسی شیمی دانشگاه آزاد ماهشهر.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

اویار سلام،

گل،

عصاره،

بازدهی استخراج،

مواد معدنی،

فعالیت آنتی باکتری

گیاه اویارسلام (*Cyperus Rotundus L.*) از تیره‌ی جگن (*Cyperaceae*) و یک علف هرز تک لپه‌ای می‌باشد. غده گیاه اویارسلام دارویی خانگی برای سوء هاضمه، استفراغ، اسهال، تلخ، قابض، آرام بخش، بادشکن، مدر، کرم کش، قاعده‌آور و مقوی اعصاب است. در این مطالعه برای اولین بار از گل گیاه اویار سلام به دو روش ماسراسیون و فراصوت با حلال‌های آب مقطر و اتانول و در زمان‌های ۱۵ و ۳۰ دقیقه عصاره گیری شد. هم چنین فعالیت آنتی باکتری با روش تعیین قطر هاله‌ی عدم رشد، حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) و مقدار مواد معدنی موجود در عصاره‌ی گل مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج بدین صورت گزارش شد که تفاوت بین بازدهی استخراج هر دو روش ناچیز است ولی روش فراصوت به دلیل کاهش بازه‌ی زمانی عصاره گیری نسبت به ماسراسیون بهینه‌تر می‌باشد. در بین مقادیر مواد معدنی بیش‌ترین مقدار برای پتاسیم و کم‌ترین مقدار برای مس، مولیبدن و سلنیوم حاصل شد. نتایج حاصل از بررسی خاصیت آنتی باکتری عصاره‌ی گل نسبت به آنتی بیوتیک نشان دهنده‌ی این است که اثر مهارکنندگی آنتی بیوتیک‌ها روی باکتری اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس بیش‌تر است.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.157.

* مسئول مکاتبات:

asana.ahmadi1399@gmail.com

۱-مقدمه

از سال‌های پیش تا کنون استفاده از طب سنتی برای پیشگیری و درمان بیماری‌ها مورد تایید سازمان بهداشت جهانی قرار گرفته است. چنانچه در سال ۱۹۷۸ بیانیه‌ای از طرف سازمان بهداشت جهانی در حوزه‌ی طب سنتی صادر شد که در سال ۲۰۰۲ بدین صورت تغییر یافت به طب سنتی واره‌ای کلی است که هم به سیستم‌های طب سنتی مانند طب سنتی چین، آیورودای هند و طب سنتی یونانی - عربی و هم به اشکال مختلف بومی اطلاق می‌گردد. درمان‌های طب سنتی شامل دارو درمانی (استفاده از گیاهان دارویی، اجزای حیوانی و معدنی) و روش‌های غیر دارویی (مانند طب سوزنی، ماساژ و درمان‌های روحی روانی) است [۱،۲]. گیاه اویار سلام (*Cyperus Rotundus L*) از تیره جگن (*Cyperaceae*) و یک علف هرز تک لپه‌ای می‌باشد. یکی از گیاهان دارویی مهم، اویار سلام (*Cyperus Rotundus L*) است که معمولاً در هند ناگرموتا (*Nagar Motha*) یا موستا (*Musta*) نامیده می‌شود و در سطح جهانی به نام سُد کوفی یا جگن ارغوانی (*Nutsedge*) شناخته می‌شود. متعلق به خانواده‌ی *Cyperaceae* است [۳،۴،۵]. بخش‌های مورد استفاده، غده یا ریشه‌های پیازچه دار آن است. غده‌ی اویارسلام دارویی خانگی برای سوء هاضمه، اسهال، اسهال و دیگر مشکلات روده‌ای کودکان، سبک، تلخ، قابض، بادشکن، مدر، ضد کرم، معرق و شیرافزا است. دم کرده یا سوپ غده‌ی اویارسلام برای اسهال، اسهال خونی، سوء هاضمه، استفراغ، وبا و تب مفید است [۶]. حلال‌ها بخش مهمی از عملکرد زیست محیطی فرایندها در صنایع شیمیایی را شامل می‌شوند. به منظور کاهش آلاینده‌ی در محیط زیست، کاهش ضایعات حاصل از واکنش‌های شیمیایی، حلال‌های سمی، خطرناک و اشتعال پذیر، ایده حلال سبز با به حداقل رساندن اثرات زیست محیطی ناشی از استفاده از حلال و جایگزینی برای حلال‌های آلی در تولید مواد شیمیایی مد نظر قرار می‌گیرد. به طور کلی مشکلات ناشی از جداسازی حلال‌ها از

محصولات، بازیافت کامل این حلال‌ها و مخاطرات زیست محیطی از جمله عواملی هستند که توجه محققان را به سمت استفاده از حلال‌های سبز معطوف می‌کند. نتایج نشان می‌دهد که الکل‌های ساده (متانول، اتانول) و یا آلکان‌ها (هپتان و هگزان) سازگار با محیط زیست هستند [۷]. ماسراسیون به طور گسترده در تحقیق‌ها گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. از این روش بر پایه‌ی شکستن دیواره‌ی سلولی و جدا کردن ترکیب‌های فیتوشیمیایی گیاه است. با توجه به این که ترکیب‌های فیتوشیمیایی برخی گیاهان نسبت به گرما حساس هستند، این روش عصاره گیری گزینه‌ای مناسب برای چنین مواردی می‌باشد [۸]. استخراج به کمک موج‌های فراصوت از جمله مهم‌ترین روش‌های استحصال ترکیب‌های ارزشمند از منبع‌های گیاهی است که در مقیاس بزرگ و کوچک قابل اجرا است. فراصوت موج‌هایی مکانیکی است که برای پراکندگی، به محیط الاستیک و صداهایی با بسامد موجی متفاوت نیاز دارد. صداها در بسامد شنوایی انسان (۲۰ هرتز تا ۲۰ کیلو هرتز) هستند، حال آنکه فراصوت بسامدهایی بالاتر از محدوده‌ی شنوایی انسان دارد [۹]. علم تغذیه یکی از علوم پایه در زندگی بشری است به نحوی که با آگاهی از این علم نه چندان مشکل می‌توان در جهت داشتن زندگی سالم، پیشگیری از بسیاری بیماری‌ها و هم چنین درمان آن‌ها گامی اساسی برداشته شود. ماده‌های معدنی (مینرال‌ها) هم چون سایر مواد غذایی بر زندگی، سلامت و بهبودی برخی بیماری‌ها تأثیر گذار است. این گروه در دسته ریزمغذی‌ها قرار می‌گیرند، بدن حاوی مقدار کمی از آن‌ها بوده است و به مقدار جزئی از آن‌ها نیاز دارد و لازم است از طریق غذا به بدن برسند [۱۰،۱۱]. ICP از سایر منبع‌های موجود برای طیف‌سنجی جرمی مواد معدنی مزیت‌های زیادی دارد که تجزیه‌ی سریع نمونه‌ها تنها یکی از آن‌ها است. مهم‌ترین مزیت این جفت شدگی بالا رفتن حساسیت در تجزیه است که موجب شده تا ICP-MS مهم‌ترین روش

گل‌های گیاه اویار سلام از کشور ایران، استان خوزستان و شهر اهواز در مهر ماه جمع آوری شد و توسط مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان با کد هرباریومی ۱۱۱۲۷ شناسایی و تایید شد. گل‌ها در سایه و به دور از نور خورشید خشک و پس از آن با دستگاه آسیاب مدل ۱۰۴۸ و مش ۰۵ یا ۵۰۰ میکرو پودر شد.

۲-۲- تهیه‌ی عصاره‌ی آبی و الکلی ماسراسیون

برای تهیه‌ی عصاره با روش ماسراسیون، ۲۵ گرم از پودر گل در ۲۵۰ میلی لیتر حلال آب مقطر و ۲۵ گرم از پودر گل در ۲۵۰ میلی لیتر حلال اتانول مخلوط شدند و روی دستگاه شیکر و در محیط به دور از نور به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند. سپس عصاره‌های حاصل با استفاده از قیف بوخنر از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شدند. برای حذف حلال‌ها، عصاره‌های حاوی حلال در سطح پلیت‌های شیشه‌ای ریخته، به دستگاه آون در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۳ روز منتقل، در نهایت وزن عصاره‌های خشک با ترازوی دیجیتال اندازه گیری و در ظرف تیره در یخچال در دمای ۴ درجه‌ی سانتی گراد نگهداری شد.

۲-۳- تهیه‌ی عصاره‌ی آبی و الکلی اولتراسونیک

برای تهیه‌ی عصاره با روش اولتراسوند، از امواج مستقیم اولتراسونیک (پروپ اولتراسونیک) با فرکانس ۲۰ کیلوهرتز و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد استفاده شد. چهار عصاره به ترتیب ۲۵ گرم در حلال آب مقطر به مدت ۱۵ دقیقه، ۲۵ گرم در حلال اتانول به مدت ۱۵ دقیقه، ۲۵ گرم در حلال آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه و ۲۵ گرم در حلال اتانول به مدت ۳۰ دقیقه تهیه شد. عصاره‌های حاصل با استفاده از قیف بوخنر از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد. برای حذف حلال‌ها، عصاره‌های حاوی حلال در سطح پلیت‌های شیشه‌ای ریخته، به دستگاه آون در دمای ۵۰ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۳ روز منتقل، در نهایت وزن عصاره‌های خشک با ترازوی دیجیتال اندازه گیری و در

تجزیه‌ای در قرن ۲۱ شناخته شود. مهم‌ترین پیشرفت دستگاهی مورد نیاز برای راه اندازی این روش، جفت شدگی کافی و مناسب ICP در فشار اتمسفری با طیف‌سنج جرمی است [۱۲]. استافیلوکوکوس‌ها متعلق به خانواده میکروکوکاسه است و آن‌ها فاقد حرکت، بدون اسپور، هوازی و بی‌هوازی اختیاری می‌باشند [۱۳]. استافیلوکوک اورئوس، یک باکتری گرم مثبت و یک (عامل) بیماری زای مهم برای انسان است که در پوست کلونیزه می‌شود و در حدود ۲۵٪ تا ۳۰٪ افراد سالم حامل این ارگانیسم می‌باشند [۱۴، ۱۵]. اشیریشیا کلی باسیل گرم منفی و یکی از مهم‌ترین باکتری خانواده انتروباکتریاسه می‌باشد و یکی از اعضای فلور طبیعی روده است [۱۴، ۱۶]. تعیین MIC یا کم‌ترین غلظت مورد نیاز جهت مهار رشد میکروارگانیسم‌ها، روشی اصولی جهت اندازه گیری فعالیت ذاتی ماده‌های آنتی میکروب می‌باشد [۱۷]. نقطه پایانی باکتری کشی MBC، تعیین حداقل غلظت باکتری کشی یا کم‌ترین غلظت که در آن ۹۹/۹٪ از باکتری‌ها کشته شده‌اند، تعریف می‌شود [۱۱]. در این مطالعه اثر حلال آب و اتانول و روش‌های استخراج بر بازدهی استخراج، مقدار مواد معدنی موجود در عصاره‌ی گل و فعالیت آنتی باکتری عصاره با روش تعیین قطر هاله‌ی عدم رشد، MIC و MBC مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس با کد PTCC25923 و اشیریشیا کلی با کد PTCC25922 از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران، محیط کشت مولر هیتون آگار و مولر هیتون برات از شرکت مرک (آلمان)، دیسک‌های آنتی بیوتیک تری متوپریم (TMP)، سیپروفلوکساسین (CP)، جنتامایسین (GM) و پنی سیلین (P)، از شرکت ایرانی پادتن طب و پودر آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین از شرکت کانادایی بیوبیسیک (Bio – basics) تهیه شد.

۲-۱- تهیه و آماده‌سازی نمونه گیاهی

ظرف تیره در یخچال در دمای ۴ درجه‌ی سانتی گراد نگهداری شد.

۲-۴- اندازه‌گیری بازدهی استخراج

بازدهی استخراج دو روش خیساندن و فراصوت با حلال‌های آب و اتانول از طریق معادله‌ی زیر محاسبه گردید [۱۲].

$$\text{درصد بازدهی استخراج} = M_2/M_1 \times 100$$

که در آن M_1 وزن نمونه‌ی آسیاب شده‌ی مورد استفاده جهت استخراج و M_2 وزن عصاره‌ی خشک استخراج شده می‌باشد.

۲-۵- اندازه‌گیری مقدار مواد معدنی

از عصاره‌ی تهیه شده با روش ماسراسیون، از ۲۵ گرم پودر گل در ۲۵۰ میلی لیتر حلال آب مقطر و دستگاه ICP-MS مدل ELAN6100 DRC-e ساخت شرکت Perkin Elmer جهت آنالیز مقدار مواد معدنی با روش طیف‌سنجی جرمی - پلاسمای جفت شده‌ی القایی استفاده شد. در عصاره‌ی تهیه شده، مقدار پتاسیم (K)، کلسیم (Ca)، منیزیم (Mg)، سولفور (S)، فسفر (P)، آهن (Fe)، بور (B)، منگنز (Mn)، روی (Zn)، مس (Cu)، مولیبدن (Mo) و سلنیوم (Se) مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۵-۱- آماده‌سازی عصاره‌ی گیاه اویارسلام

آماده‌سازی پودر عصاره‌ی گیاه با روش هضم نمونه‌ی جامد انجام شد. به همین جهت ۰/۲۵ گرم از پودر عصاره در ظروف میکروویو توزین شد و به آن اسید نیتریک و آب اکسیژنه به نسبت (۱:۳) اضافه گردید. سپس طبق برنامه ریزی دستگاه در ظروف میکروویو حرارت داده و محلول حاصل در بالن‌های حجمی به حجم رسانده شد. به علت بسته بودن

سیستم میکروویو عناصر فراری مثل آرسنیک و جیوه، امکان خروج نداشته است، لذا یافته‌ها با اطمینان گزارش داده شد.

۲-۶- فعالیت آنتی باکتری

۲-۶-۱- روش انتشار در حفره آگار^۱

از عصاره‌ی آبی ماسراسیون حاصل غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر تهیه شد. برای سنجش حساسیت باکتری‌ها نسبت به غلظت‌های مختلف عصاره به روش انتشار در حفره‌ی آگار، از باکتری‌های مورد مطالعه در لوله‌ی حاوی سرم فیزیولوژی سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) تهیه گردید، سپس بر روی پلیت مولر هیتون آگار کشت داده شد. به وسیله‌ی دستگاه پانچ استریل بر روی سطح پلیت چاهک‌هایی به قطر ۶ میلی متر و حجم ۱۰۰ میکرولیتر ایجاد و ۱۰۰ میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده در داخل چاهک‌ها ریخته شد. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و بعد از گذشت این مدت قطر هاله‌های عدم رشد به وسیله‌ی خط کش کولیس بر حسب میلی متر اندازه‌گیری و ثبت گردید. لازم به ذکر است در صورت عدم مشاهده‌ی، هاله‌ی عدم رشد اندازه با عدد ۶ برابر با حجم چاهک‌ها نشان داده شده است.

۲-۶-۲- روش انتشار دیسک در آگار^۲

سنجش حساسیت باکتری نسبت به دیسک‌های آنتی بیوتیکی به روش آگار دیسک دیفوژن انجام گردید. بدین منظور ابتدا از باکتری‌های مورد مطالعه در لوله‌ی حاوی سرم فیزیولوژی سوسپانسیون معادل نیم مک فارلند ($10^8 \times 1/5$) تهیه نموده، سپس بر روی پلیت مولر هیتون آگار کشت و دیسک‌ها بر روی سطح آگار قرار داده شد. در انتها پلیت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه و بعد از گذشت این مدت قطر هاله‌های عدم رشد به وسیله‌ی خط کش کولیس بر حسب میلی متر اندازه‌گیری و ثبت گردید. لازم به ذکر است، از آنتی بیوتیک جنتامایسین برای

استافیلوکوکوس اورئوس و از پنی سیلین برای اشریشیاکلی استفاده نگردیده است.

۲-۶-۳- روش میکرودیولوشن براث^۳

تعیین MIC به روش میکرودیولوشن براث و با استفاده از پلیت ۹۶ خانه انجام شد. در شروع آزمایش، به تمامی چاهک‌های پلیت، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت مولر هیتون براث اضافه گردید. غلظت‌های مختلف (۲۰۰ تا ۰/۰۹ میلی گرم بر میلی لیتر) از عصاره و آنتی بیوتیک سیپروفلوکساسین (CP) (۱۲۸ تا ۰/۰۰۳۹ میکروگرم بر میلی لیتر) در چاهک‌ها به روش سریال دایلوژن تهیه شده است. در انتها به چاهک‌ها ۱۰۰ میکرولیتر سوسپانسیون باکتری با غلظت 10^6 اضافه گردیده است. برای اطمینان از صحت آزمون، چاهک‌های کنترل مثبت (محیط کشت و حلال) و کنترل منفی (محیط کشت، حلال و باکتری) در نظر گرفته و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. بعد از گذشت این مدت چاهک‌ها از نظر رشد و عدم رشد باکتری مورد بررسی قرار گرفت. کم‌ترین غلظت از ماده که مانع رشد

میکروارگانسم بود، به عنوان غلظت MIC گزارش شد. برای تعیین MBC، بعد از مشاهده چاهک‌های پلیت برای بررسی غلظت MIC، ۱۰۰ میکرولیتر از چاهک‌هایی که باکتری در آن‌ها رشد نداشت، به پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هیتون آگار انتقال و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. بعد از گذشت این مدت کم‌ترین غلظتی که باکتری در آن رشد (زنده مانی) نداشته است، به عنوان غلظت MBC گزارش شد.

۳- نتایج

۳-۱- بازدهی استخراج در روش خیساندن

در روش ماسراسیون، عصاره گیری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با دو حلال آب مقطر و اتانول انجام شد و مقایسه‌ی درصد بازدهی استخراج بین این دو عصاره نشان داده که تفاوت بین دو گروه ناچیز و قابل چشم پوشی بوده است (جدول ۱).

Table 1 Extraction result with distilled water and ethanol solvent by Maceration method

Types of extracts		Amount of powder(gr)	Extraction yield(%)
Maceration	Water extract	25	$2/960 \pm 0.008$
	Ethanol extract	25	$2/956 \pm 0.008$

زمان ۱۵ و ۳۰ دقیقه از نظر درصد بازدهی استخراج نشان داده است که بین بازدهی استخراج عصاره‌ها تفاوت ناچیز و قابل چشم پوشی بوده است (جدول ۲).

۳-۲- بازدهی استخراج در روش امواج فراصوت

در روش اولتراسوند (فراصوت) عصاره گیری در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد با دو حلال آب مقطر و اتانول و در دو

Table 2 The result of extracting with distilled water and ethanol solvent by ultrasonic method

Types of extracts	Amount of powder(gr)	Extraction yield(%)
-------------------	----------------------	---------------------

Prop Ultrasonic (ultrasound)	Water extract (15 minutes)	25	$2/957 \pm 0.008$
	Ethanol extract (15 minutes)	25	$2/958 \pm 0.008$
	Water extract (30 minutes)	25	$2/959 \pm 0.008$
	Ethanol extract (30 minutes)	25	$2/960 \pm 0.008$

در نتایج حاصل از سنجش مقادیر مواد معدنی موجود در
عصاره‌ی آبی حاصل از روش ماسراسیون، بیش‌ترین مقدار
را پتاسیم (> 100000) و کم‌ترین مقدار را مس، مولیبدن و
سلنیوم ($< 0/1$) داشته است (جدول ۳).

۳-۳- مقدار مواد معدنی

Table 3 The result of the analysis of the amount of minerals with the ICP-MS device

minerals	The amount of minerals (ppm)
Potassium	> 100000
Calcium	28631/07
Magnesium	16121/36
Sulfur	15885/44
Phosphorus	8348/84
Iron	499/22
Boron	353/88
Manganese	186/01
Zinc	135/43
Copper, Molybdenum, Selenium	$< 0/1$

نتایج حاصل از سنجش انتشار در حفره‌ی آگار عصاره‌ی گل
گیاه اویارسلام بر روی باکتری‌ها نشان داده است که عصاره
در غلظت‌های مختلف، فاقد هاله‌ی عدم رشد و اثر آنتی
باکتری می‌باشد (جدول ۴).

۳-۴- فعالیت آنتی باکتری

۳-۴-۱- انتشار در حفره‌ی آگار

Table 4 The results of measuring the diameter of the growth inhibition zone in different concentrations of the extract

diameter of growth inhibition zone (mm)				
Bacteria	25 ($\frac{mg}{ml}$)	50 ($\frac{mg}{ml}$)	150 ($\frac{mg}{ml}$)	200 ($\frac{mg}{ml}$)
Staphylococcus aureus	6	6	6	6
E. coli	6	6	6	6

باکتری‌های گرم مثبت (استافیلوکوکوس اورئوس) و گرم منفی (اشریشیاکلی) نشان داده است که آنتی بیوتیک‌ها با دارا بودن قطر هاله‌ی عدم رشد بین ۲۵ تا ۴۴ اثر مهارکنندگی قابل ملاحظه‌ای داشته است (جدول ۵).

۳-۴-۲- انتشار دیسک در آگار

نتایج حاصل از سنجش میزان اثرات آنتی باکتری دیسک‌های آنتی بیوتیک به روش انتشار دیسک در آگار بر روی

Table 5 The results of measuring the diameter of the growth inhibition zone in different antibiotic discs

diameter of growth inhibition zone (mm)				
Bacteria	Ciprofloxacin (5µg)	Trimethoprim (5µg)	Penicillin (10µg)	Gentamicin (10µg)
Staphylococcus aureus	25	26	44	—
E. coli	35	27	—	25

۳-۴-۳- میکرودیلوژن برات

نتایج حاصل از سنجش میزان اثر عصاره نسبت به آنتی بیوتیک شاهد سیپروفلوکساسین (CP) در تعیین حداقل غلظت بازدارندگی رشد باکتری (MIC) و تعیین حداقل غلظت کشندگی باکتری (MBC) نشان داده است که آنتی بیوتیک اثر بازدارندگی و کشندگی بیشتری نسبت به عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و باکتری گرم منفی اشریشیا کلی داشته است (جدول ۶).

Table 6 Antibacterial activity of extract by MIC and MBC determination method

Bacteria	MIC		MBC	
	Extract	Ciprofloxacin	Extract	Ciprofloxacin
Staphylococcus aureus	25 ($\frac{mg}{ml}$)	0/5 ($\frac{ug}{ml}$)	> 200 ($\frac{mg}{ml}$)	1 ($\frac{ug}{ml}$)
E. coli	100 ($\frac{mg}{ml}$)	0/0039 ($\frac{ug}{ml}$)	> 200 ($\frac{mg}{ml}$)	0/125 ($\frac{ug}{ml}$)

۴- بحث

موج‌های فراصوت قرار می‌گیرد که سبب کاهش بازه‌ی زمانی عصاره‌گیری نسبت به روش حمام اولتراسونیک می‌شود و زمان عصاره‌گیری با این روش کمتر است [۱۸]. روش عصاره‌گیری اولتراسوند (فراصوت) به دلیل کاهش استفاده

درپروب اولتراسونیک نمونه‌ی گیاهی به طور مداوم در تماس مستقیم با پروب است و به صورت مستقیم تحت تأثیر

از حلال، مصرف انرژی و انتشار گاز کربن دی‌اکسید (CO_2) به جو در مقیاس آزمایشگاهی و صنعتی به عنوان یک روش استخراج دوست دار محیط زیست محسوب می‌شود [۱۹]. در مطالعه‌ای اثرات حلال‌های مختلف بر بازدهی استخراج عصاره‌های حاصل از غده‌ی گیاه اویارسلام مورد ارزیابی قرار گرفت و نتیجه بدین صورت ارائه شد که در عصاره‌های حاصل از روش عصاره‌گیری با حمام اولتراسونیک و حلال‌های مختلف به ترتیب عصاره‌ی اتانول ۷۰ درصد، عصاره‌ی اتانول ۵۰ درصد، عصاره‌ی استون، عصاره‌ی دی کلرومتان، عصاره‌ی اتانول ۹۵ درصد و عصاره‌ی آبی بیش‌ترین تا کم‌ترین درصد بازدهی استخراج را داشته است [۲۰]. در مقایسه بین دو روش قدیمی ماسراسیون و جدید اولتراسونیک با توجه به بیش‌ترین بازدهی استخراج در هر دو که به ترتیب مربوط به عصاره‌ی آبی ماسراسیون ($0/008 \pm 2/960\%$) و عصاره‌ی اتانولی ۳۰ دقیقه ($0/008 \pm 2/960\%$) می‌باشد. در مقایسه‌ی بین دو روش خیساندن و فراصوت درصد بازده‌های استخراج تفاوت ناچیزی با هم داشته و قابل چشم پوشی است. اما با توجه به اینکه زمان در استخراج یک عامل مهم محسوب می‌شود، در نتیجه کاهش زمان عصاره‌گیری از ۴۸ ساعت در روش خیساندن به ۳۰ دقیقه در روش فراصوت با نتیجه‌های تقریباً مشابه نشان دهنده‌ی این است که روش نوین فراصوت با دستگاه پروب اولتراسونیک از روش قدیمی خیساندن بهینه‌تر است. تاکنون بر روی عصاره‌ی گل گیاه اویارسلام در زمینه‌ی عصاره‌گیری، مطالعه‌ی پژوهشی صورت نگرفته است و در مطالعه‌ی ذکر شده بر روی عصاره‌ی غده‌ی گیاه اویارسلام عصاره‌گیری با روش فراصوت و حلال اتانول نسبت به حلال آبی بازدهی استخراج بیش‌تری داشته است اما در پژوهش حاضر نیز در بخش عصاره‌گیری با روش فراصوت بین درصد بازده‌های استخراج دو حلال اختلاف بسیار کمی وجود داشت. در مطالعه‌ای مواد معدنی عصاره‌ی برگ گیاه اویارسلام با روش استخراج هضم مرطوب مورد ارزیابی قرار گرفت و نتیجه بدین صورت ارائه شد که در عصاره‌ی برگ سدیم ۶/۴، پتاسیم ۵۶۱/۵، کلسیم ۲۲/۷۸، منیزیم ۱۰۲/۷،

آهن ۱۰/۱۲، روی ۱/۲۲، مس ۰/۴۶، فسفر ۲۳۴/۶ میلی گرم در ۱۰۰ گرم وجود داشته است [۲۱]. کلسیم در رشد و توسعه‌ی استخوان‌ها و دندان‌ها، فعالیت نرمال عضله‌های بدن، تنظیم ضربان قلب، پروسه‌ی انعقاد خون، مصرف مؤثر فسفر، کاهش بی‌خوابی، کمک به متابولیسم آهن در بدن و درمان افسردگی نقش دارد [۱۰، ۲۲]. پتاسیم در عملکرد صحیح تمام سلول‌ها، بافت‌ها و اندام‌های بدن، عملکرد قلب، انقباض عضلات اسکلتی و صاف، عملکرد طبیعی گوارش، سنتز پروتئین از اسیدهای آمینه، متابولیسم کربوهیدرات‌ها، عملکرد سیستم عصبی و تنظیم تعادل آب بدن نقش کلیدی دارد [۱۱، ۲۳]. منیزیم در درمان افسردگی و عملکرد صحیح اعصاب، سالم نگه داشتن جریان‌های خونی و دندان‌ها، پیشگیری از بیماری‌های قلبی، هضم بهتر غذا، جلوگیری از رسوب کلسیم در کلیه و کیسه‌ی صفرا، سنتز پروتئین و اسید نوکلئیک، جذب کلسیم، ویتامین C، سدیم، پتاسیم، ویتامین E و ویتامین‌های گروه B و یکپارچگی اسکلت سلولی نقش دارد [۱۰، ۱۱، ۲۴]. فسفر در تمام فعل و انفعالات شیمیایی بدن، جذب نایسین، تنظیم عملکرد قلب، فعالیت نرمال کلیه‌ها، رشد استخوان‌ها، سوخت و ساز چربی و نشاسته، کاهش دردهای استخوانی، ساختن لستین و سفالین و در متابولیسم سلولی برای انرژی نقش دارد [۱۰، ۲۲، ۲۵]. سولفور در رفع بیماری‌های پوستی، مهار رادیکال‌های آزاد، تنظیم بیان ژن، سنتز پروتئین، یکپارچگی و حفاظت بافت، متابولیسم لیپید، سم‌زدایی در کبد نقش دارد و عملکرد تاندون‌ها و رباط‌ها به آن متکی است، گوگرد هم چنین جزئی از گلوکوتایون، ویتامین B۱، بیوتین و پنتوتنیک اسید می‌باشد [۱۰، ۲۶، ۲۷، ۲۸]. آهن در حمل اکسیژن به بافت‌ها توسط هموگلوبین گلبول قرمز، واسطه‌ی انتقال الکترون‌ها در سلول‌ها، بخشی از سیستم‌های آنزیمی در بافت‌های مختلف، سنتز دئوکسی ریبونوکلئیک اسید، رشد بدن، رفع خستگی و مقاومت در برابر بیماری‌ها نقش دارد [۲۲، ۲۹، ۳۰]. روی در واکنش‌های اکسیدانی به عنوان آنتی اکسیدان، رشد عضلات، رشد طبیعی در کودکان، تقسیم سلولی، سنتز دئوکسی ریبونوکلئیک اسید، سنتز پروتئین،

متابولیسم کربوهیدرات‌ها و درمان افسردگی نقش دارد [۱۱،۳۱،۳۲]. منگنز در رشد، هضم، تولید مثل، دفاع آنتی اکسیدانی، پاسخ ایمنی، تنظیم فعالیت‌های عصبی، رفع خستگی، جلوگیری از پوکی استخوان، تقویت حافظه، استخوان بندی، تولید تیروکسین و درمان افسردگی نقش دارد [۲۲،۳۳]. بور در دفاع آنتی اکسیدانی، جلوگیری از تصلب شرایین، رشد گیاهان و حیوانات و انسان، اثر ضد التهابی، بهبود عملکرد سیستم عصبی مرکزی و بهبود تراکم استخوان نقش دارد [۳۴،۳۵،۳۶]. مس، مولیبدن و سلنیوم نقش‌های مهمی در بدن دارند اما در پژوهش حاضر مقدار ناچیزی داشته است. مقدار مورد نیاز پتاسیم در بدن از ۰/۹ تا ۵/۵ گرم، کلسیم ۴۰۰ تا ۶۰۰ میلی گرم، منیزیم ۱۵۰ تا ۳۵۰ میلی گرم، سولفور ۱۴۰ تا ۸۵۰ میلی گرم، فسفر ۴۴۰ تا ۸۰۰ میلی گرم، آهن ۲۶ تا ۴۰ میلی گرم، بور ۲ میلی گرم، منگنز ۱/۶ تا ۳ میلی گرم و روی ۳ تا ۱۵ میلی گرم می‌باشد [۱۰]. با توجه به مقدارهای مورد نیاز و نقش‌های کلیدی و حیاتی مواد معدنی در بدن، گمان می‌رود که گل گیاه اویار سلام و گیاهان دارویی به عنوان مکملی جهت تامین مواد معدنی در نظر گرفته شود اما برای بررسی میزان جذب آن‌ها توسط بدن نیازمند تحقیق‌های بیش‌تری می‌باشد. در مطالعه‌ای اثرات آنتی میکروبی غلظت‌های مختلف عصاره‌ی متانولی ریزوم‌های گیاه اویار سلام به روش انتشار دیسک بر روی باکتری‌های ذکر شده نشان داده است که غلظت‌های مختلف عصاره اثر آنتی باکتری بر روی سالمونلا، اشیریشیا کلی، آسپرژیلوس نایجر و کلادوسپوریوم هرباسیوم نداشت و تنها بر روی باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس و میکروکوکوس لوتئوس مؤثر می‌باشد [۳۷]. در مطالعه‌ای اثرات آنتی میکروبی عصاره‌ی آبی و اتانولی برگ و غده‌ی گیاه اویار سلام بومی نیجریه مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه بدین صورت گزارش شد که عصاره‌های این گیاه بر روی باکتری‌های گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی اشیریشیا کلی با قطر هاله‌ی به ترتیب (۱۰، ۱۳ میلی متر) و (۱۲، ۱۴ میلی متر) اثر آنتی باکتری داشته است. در این آزمایش هم چنین اثبات شد که سیپروفلوکساسین با قطر هاله

ی عدم رشد به ترتیب ۱۷ و ۲۳ میلی متر، اثر آنتی باکتری بیش‌تری نسبت به عصاره‌ی آبی و اتانولی برگ و غده داشت [۳۸]. در مطالعه‌ای اثرات آنتی باکتری عصاره‌ها و روش‌های مختلف غده‌ی گیاه اویار سلام مورد بررسی قرار گرفت و نتیجه بدین صورت گزارش شد که حداقل غلظت مهار کنندگی رشد (MIC) عصاره‌ها بر روی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس با غلظت‌های ۰/۵، ۵ و بیش‌تر از ۵ میلی گرم بر میلی لیتر، بر روی باکتری سالمونلا تیفی موریوم با غلظت‌های ۱، ۵ و بیش‌تر از ۵ میلی گرم بر میلی لیتر، بر روی باکتری سالمونلا انتریتیدیس با غلظت‌های ۰/۵، ۲/۵ و ۵ میلی گرم بر میلی لیتر، بر روی باکتری اشیریشیا کلی با غلظت‌های ۵ و بیش‌تر از ۵، بر روی باکتری انتروکوکوس فکالیز با غلظت‌های ۰/۵، ۲/۵ و ۵ اثر آنتی باکتری داشته است و آنتی بیوتیک شاهد آمپی سیلین که با غلظت بین ۰/۰۱۵ تا ۰/۰۰۶ میلی گرم بر میلی لیتر بر روی باکتری‌های مورد نظر اثر مهار کنندگی رشد را نشان داده است. در مقایسه بین عصاره‌ها و آنتی بیوتیک مشخص شد که آنتی بیوتیک در غلظت‌های خیلی کم تری نسبت به عصاره‌ها اثر مهار کنندگی رشد بر روی باکتری‌ها داشته است [۳۹]. تاکنون بر روی عصاره‌ی گل گیاه اویار سلام از نظر بررسی فعالیت آنتی باکتری، پژوهشی صورت نگرفته است. مقایسه بین مطالعه‌های ذکر شده با پژوهش حاضر نشان داده است که عصاره‌ی برگ و ریزوم گیاه اویار سلام نسبت به گل گیاه اثر آنتی باکتری بیش‌تری داشته است. در بررسی خاصیت آنتی باکتری بر روی باکتری‌های مورد نظر با در نظر گرفتن سنجش قطر هاله‌ی عدم رشد، حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و حداقل غلظت باکتری کشی (MBC) مشخص شد که عصاره‌ی گل گیاه اویار سلام نسبت به آنتی بیوتیک‌ها بر روی باکتری‌ها اثر آنتی باکتری قابل ملاحظه‌ای ندارد.

۵- نتیجه گیری نهایی

با توجه به اینکه گیاه اویار سلام (*Cyperus Rotundus L.*) جز علف‌های هرز و مقاوم، در برابر روش‌های از بین رفتن

اولین بار بر روی کیفیت و کمیت روش عصاره گیری گل گیاه با دو روش قدیمی و جدید به منظور یافتن روش اقتصادی‌تر و آنالیز مقدار مواد معدنی موجود در عصاره برای جبران کمبود مواد مغذی مورد نیاز بدن انجام شد.

۶- سپاسگذاری

از همکاری مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان جهت شناسایی و تایید هویت گیاه صمیمانه تشکر می‌کنم.

علف‌های هرز در کشاورزی است لذا به مطالعه بر روی کشت و پرورش این گیاه نیازی نیست و به مقدار فراوانی در دسترس می‌باشد. به همین جهت پژوهش بر روی خواص دارویی این گیاه ارزش سرمایه‌گذاری دارد. بر روی بخش‌های مختلف گیاه اویار سلام از جهت‌های مختلف شیمی، زیستی و دارویی آنالیزهای فراوانی انجام شده است و هم چنین گل گیاه اویار سلام در پژوهش‌های دیگر از نظر خواص آنتی اکسیدانی و آنتی سرطان مورد ارزیابی قرار گرفت. این پژوهش با در نظر گرفتن خواص ذکر شده برای

۷- منابع

- [1] Ahmadi, A. (2020). Pharmacological Probable effects of Cinnamon (Cinnamomum) on the treatment of people with Coronavirus 2019 (Covid-19). th 5 International Conference On Food Industry Sciences, Organic Farming and Food Security.
- [2] Ghafari, F., Naseri, M., and Khodadoost, M. (2010). Iranian traditional medicine and the reasons for its revival and development. Medicine and Tezkieh Journal, 3: 63-71.
- [3] Mozaffarian, V., and Ramezani, A. (2021). Identification of Iranian weeds. Tehran: Shahrab and Ayandesazan.
- [4] Imam, H., Sofi, G., Aziz, S., and Lone, A. (2014). The incredible benefits of Nagarmotha (Cyperus rotundus). Int J Nutr Pharmacol Neurol Dis, 4: 23-27.
- [5] Kumar, M., Rani, M., and Meher, B. (2017). Review on Pharmacology and Phytochemistry of Cyperus rotundus L. Current Research in Pharmaceutical Sciences, 7: 11-15.
- [6] Mozaffarian, V. (2017). Knowing the medicinal and aromatic plants of Iran. Tehran: Farhang Moaser.
- [7] Azimi, B., and Montazemi, SH. (2016). Evaluation of the effects of green solvents on the environment. Journal of the Environment, 57: 27-33.
- [8] Etemadi, M., Sadeghi, A., and Hosseini, M. (2017). An overview of the most important extraction methods from medicinal plants, the 4th National Conference on Separation Science and Engineering.
- [9] Abo Najami, M., Ghorbani, M., and Ghorbani Javid, M. (2015). Ultrasonic waves are a new method of extracting herbal compounds. Journal of Sound and Vibration, 8: 85-99.
- [10] Hoshmand, S. (2014). Man, nutrition, health Volume II Minerals. Tehran: Education and promotion of agriculture.
- [11] Ahmadi, A. (2023). Principles and basics of phytochemistry. Tehran: Elm and Danesh.
- [12] Tahernezhad, M., and Salahinezhad, M. (2014). John R. Dean Practical Inductively Coupled Plasma Spectroscopy. Tehran: Research Institute of Nuclear Sciences and Technologies.
- [13] Asgarpour, D., and Zeighami, H. (2015). The role of Staphylococcus aureus enterotoxins (SEs) in staphylococcal food poisoning: a systematic review article. Journal of laboratory and diagnosis, 28: 63-73.
- [14] Bahador, A., Pourhajibagher, M., and Alikhani, M. Y. (2019). Javatz's Medical Microbiology Volume I Bacteriology. Tehran: Heidari.
- [15] Gomarian, Z., Shahhosseini, M. H., Bayat, M., Mahmodi, M. A., Nefrieh, T., and Rahbar M. (2015). Investigation of frequency of methicillin-resistant Staphylococcus aureus strains isolated from Moheb and Milad Hospital by phenotypic and molecular methods. Scientific Research Journal of Shahid Sadougi University of Medical Sciences Yazd, 23: 2096-2108.
- [16] Molahosseini, A., Gorgipour, M., Namrodi, J., and Moghateli, M. (2015). A study of the resistance of antibiotics used in Escherichia coli blood culture samples of patients of Shahid Sadougi Hospital, Yazd in 2015. scientific research journal of the student research committee of Mashhad University of Medical Sciences, 18: 42-48.
- [17] Mortazavi, S. M., and Gandomkarzade, M. (2017). A review of pharmaceuticals. Tehran: Etminan Rad.

- [18] Ahmadi, A. (2022). A review of the most important old and modern extraction methods and the effect of ultrasonic waves on the extraction of medicinal plants. International th 5Conference On Agricultural Sciences, Medicinal Plants and Traditional Medicine.
- [19] Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano Tixier, A. S., and Abert Vian, M. (2016). Ultrasound-assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrason Sonochem*, 34: 540-560.
- [20] Dirar, A. L., Alsaadi, D. H. M., Wada, M., Mohamed, M. A., Watanabe, T., and Devkota, H. P. (2018). Effects of extraction solvents on total phenolic and flavonoid contents and biological activities of extracts from Sudanese medicinal plants. *South African Journal of Botany*, xxx: xxx.
- [21] Grace Michael, I., Ubong Ekerenam, E., Etima Micah, U., and Ifunanya Promise. O. (2020). Evaluation of Phytochemical Contents, Proximate Nutritional Composition and Antimicrobial Activity of the Leaves and Rhizome Extracts of *Cyperus rotundus* Linn. in Uyo, Akwa Ibom State, Nigeria. *J. Research in Microbiology*, 7: 58042.
- [22] Otemeishi, Y. (2008). The effective role of vitamins and minerals in the prevention and treatment of diseases Earl Mendel. Tehran: Nasl Noandish.
- [23] Pohl, H. R., Wheeler, J. S., and Murray, H. E. (2013). Sodium and Potassium in Health and Disease in Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases. USA: US Department of Health and Human Services.
- [24] Saris, N. E. L., Mervaala, E., Karppanen, H., Khawaja, J. A., and Lewenstam, A. (2000). Magnesium: An update on physiological, clinical and analytical aspects. *Clin Chim Acta*, 294: 1.
- [25] Bird, R. P., and Eskin, N. A. M. (2021). The emerging role of phosphorus in human health in *Advances in Food and Nutrition Research*. Amsterdam: Elsevier.
- [26] Flagg, E. W., Coates, R. J., Eley, J. W., Jones, D. P., Gunter, E. W., Byers, T. E., Block, G. S., and Greenberg, R. S. (1994). Dietary glutathione intake in humans and the relationship between intake and plasma total glutathione level. *Nutrition and Cancer*, 21: 33-46.
- [27] Palego, L., Bett, L., and Giannaccini, G. (2015). Sulfur Metabolism and Sulfur-Containing Amino Acids: I- Molecular Effectors. *Biochem Pharmacol*, 4: 1-8.
- [28] Nimni, M. E., Han, B., and Cordoba, F. (2007). Are we getting enough sulfur in our diet? *Nutrition & Metabolism*, 24: 1-12.
- [29] Gupta, C. P. (2014). Role of Iron (Fe) in Body. *Journal of Applied Chemistry*, 7 38-46.
- [30] Abbaspour, N., Hurrell, R., and Kelishadi, R. (2014). Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci*, 19: 164-174.
- [31] Aliasgharpour, M., and Rahnamaye Farzami, M. (2013). Trace Elements in Human Nutrition: A Review. *Int j med invest*, 2: 115-128.
- [32] Bhowmik, D., Chiranjib, and K. P. Sampath Kumar, K. P. (2010). A potential medicinal importance of zinc in human health and chronic Disease. *Int J Pharm Biomed Sci*, 1: 05-11.
- [33] Chen, P., Bornhorst, J., and Aschner, M. A. (2018). Manganese metabolism in humans. *Frontiers In Bioscience*, 23: 1655-1679.
- [34] Lee, I. P., Sherins, R. J., and Dixon, R. L. (1978). Evidence for induction of germinal aplasia in male rats by environmental exposure to boron. *Tox Appl Pharmacol*. 45: 577-590.
- [35] Sutherland, B., Strong, P., and King, J. C. (1998). Determining human dietary requirements for boron. *Biol Tr Elem Res*, 66: 193-204.
- [36] Khaliq, H., Juming, Z., and P. Ke Mei, P. Ke. (2018). The Physiological Role of Boron on Health. *Biol Trace Elem Res*, 186: 31-51.
- [37] Mojab, F., Vahidi, H., Nikavar, B., and Kamalinezhad, M. (2009). Investigating the constituents of essential oil and the antimicrobial effects of the rhizome of *Cyperus Royundus* L plant. *Journal of medicinal plants*, 14: 91-97.
- [38] Grace Michael, I., Ubong Ekerenam, E., Etima Micah, U., and Ifunanya Promise, O. (2020). Evaluation of Phytochemical Contents, Proximate Nutritional Composition and Antimicrobial Activity of the Leaves and Rhizome Extracts of *Cyperus rotundus* Linn. in Uyo, Akwa Ibom State. Nigeria. *J. Research in Microbiology*, 7: 1-11.
- [39] Kilani, S., Ben Sghaier, M., Limem, I., Bouhlef, I., Boubaker, J., Bhouri, W., Skandrani, I., Neffatti, A., Ben Ammarb, R., Dijoux Franca, M. G., Ghedira, K., and Chekir Ghedira, L. (2008). In vitro evaluation of antibacterial, antioxidant, cytotoxic and apoptotic activities of the tubers infusion and extracts of *Cyperus rotundus*. *Bioresource Technology*, 99: 9004-9008.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Evaluating the effect of solvents and extraction methods on extraction yield, determining the amount of minerals and antibacterial activity of *Cyperus Rotundus* L flower extract

Asana Ahmadi^{*1}, Reza Naghiha², Abolfazl Ahmadi³

1-Master of Phytochemistry, Yasouj University.

2- Ph.D in Microbiology, Shahid Chamran University of Ahvaz .

3- Chemical Engineering, Mahshahr Azad University.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/8/2 Accepted:2024/11/10 Keywords: Cyperus Rotundus L, Flower, Extract, Extraction yield, Minerals, Antibacterial activity DOI: 10.22034/FSCT.22.159.157. *Corresponding Author E- asana.ahmadi1399@gmail.com	<i>Cyperus Rotundus</i> L plant is a monocotyledonous weed from the Cyperaceae family. <i>Cyperus Rotundus</i> L of tuber is a home remedy for indigestion, vomiting, diarrhea, bitter, astringent, sedative, carminative, diuretic, anthelmintic, menstruate and nerve tonic. In this study, for the first time, the flower of the <i>Cyperus Rotundus</i> L plant was extracted by two methods of maceration and ultrasound with distilled water and ethanol solvents at times of 15 and 30 minutes. Also, the antibacterial activity was evaluated by determining the diameter of the growth inhibition zone, the minimum inhibitory concentration (MIC), the minimum bactericidal concentration (MBC) and the amount of minerals in the flower extract. The results reported that the difference between the extraction yield of both methods is insignificant, but the ultrasonic method is more optimal than maceration due to the reduction of the extraction time. Among the amounts of minerals, the highest amount was obtained for potassium and the lowest amount for copper, molybdenum and selenium. The results of investigating the antibacterial properties of flower extract compared to antibiotics show that the inhibitory effect of antibiotics on <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i> bacteria is greater.



بررسی عملکرد فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج به منظور پایش فساد

ماهی شیر (*Siganus commersonnii*)

صدیقه یزدان پناه^{۱*}، اکبر رستمی فرد^۲

۱-دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

۲-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲

کلمات کلیدی:

پایش فاسدشدن،

فیلم خوراکی،

نشانگر رنگی

تولید فیلم های هوشمند شامل استفاده از شاخص های رنگ پاسخگو به pH است که از منابع طبیعی به دست می آیند. در راستای این روند، هدف در این پژوهش طراحی یک حسگر حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج به منظور تعیین کیفیت ماهی شیر (*Siganus commersonnii*) نگهداری شده به مدت ۱ تا ۳۰ روز در دمای یخچال است. در این مطالعه از یک طرح فاکتوریل برای ارزیابی اثرات تیمارهای کنترل، ۲۰۰ پی پی ام، ۴۰۰ پی پی ام و ۶۰۰ پی پی ام استفاده شد. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی نشان داد که عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان باعث تغییرات در زنجیره های پلیمری و کاهش تخلخل ماتریس فیلم می شود. آنتوسیانین با بسیاری از گروه های هیدروکسی به عنوان پلاستی سایزر، حجم آزاد و تحرک ماکرومولکولی بین پلیمری به دلیل کاهش نیروهای بین مولکولی و چگالی کمتر افزایش داد و در نتیجه قابلیت کشش و انعطاف پذیری لایه ها را بهبود بخشید. علاوه بر این، خواص شیمیایی (pH، تیوباریتوریک اسید و ترکیبات نیتروژن) برای همه نمونه ها با افزایش زمان نگهداری تا روز ۳۰ روند افزایشی داشت. در طیف سنجی FTIR، مشاهده شد که در روز صفر حذف کربنیل در عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان باعث بزرگ شدن باند هیدروکسیل و اسیدی شدن محیط شده است. خواص آنتی اکسیدانی عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در حضور ترکیبات فنلی از شروع واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد جلوگیری کرده است و باعث کاهش آن شد. فیلم حاوی نشانگر رنگی عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج، پتانسیل افزایش کیفیت و ماندگاری فیلدهای ماهی شیر را دارد. عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان و فیبر سبوس برنج می تواند به عنوان یک شاخص مناسب برای بررسی تغییرات فساد در محصولات غذایی بسته بندی شده باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.169.

* مسئول مکاتبات:

yazdanpanah2004@gmail.com

۱-مقدمه

استفاده از پوشش غذایی باعث حفاظت محصول غذایی در برابر صدمات فیزیکی، شیمیایی یا بیولوژیکی می‌شود. همچنین مطالعات و بررسی‌ها نشان می‌دهد که افزودن ترکیبات آنتوسیانین به عنوان یک ابزار قدرتمند، آسان و دارای مزایای بالقوه بی‌شماری از جمله طبیعی بودن، سهولت دسترسی، توزیع گسترده در طبیعت، حساسیت بالا، ارزان بودن، عدم سمیت و قابلیت رنگ‌دهی بالا بر روی pH می‌باشد. تغییر، آنها جایگزین خوبی برای رنگ‌های مصنوعی در توسعه بسته‌بندی‌های هوشمند برای نظارت بر تازگی محصولات غذایی هستند. اما علیرغم مزایای بی‌شماری که دارند، استفاده از آنها در صنعت به دلیل پایداری کم در شرایط سخت مانند نور، دما، اکسیژن و آنزیم‌ها با مشکل مواجه می‌شود. ماهی شیر (*Siganus commersonnii*) نوعی ماهی آب شور است و در آب‌های جنوب شرقی آسیا، به سمت غرب در امتداد نواحی ساحلی شمالی تا سواحل شرقی آفریقا، خاورمیانه، خلیج فارس، یافت می‌شود. و از نظر اقتصادی بسیار ارزشمند است و تغذیه آن، از ماهی‌های کوچک و به میزان کمتر، از میگو و ماهی مرکب تشکیل می‌شود [۱]. ماهی شیر به عنوان یک منبع غنی از پروتئین و اسیدهای چرب امگا-۳ شناخته می‌شود و به همین دلیل در تغذیه انسان اهمیت دارد. این نوع ماهی در بسیاری از مناطق، به ویژه در بازارهای محلی و صادراتی، محبوبیت دارد. بررسی کیفیت آن می‌تواند تأثیر زیادی بر فروش و رضایت مصرف‌کنندگان داشته باشد. ماهی شیر به سرعت در برابر عوامل فساد زیستی و شیمیایی آسیب‌پذیر است. این ویژگی باعث می‌شود که پایش کیفیت و فساد آن اهمیت ویژه‌ای داشته باشد. ماهی یکی از منابع ارزشمند پروتئین، چربی و انرژی، است، و به عنوان یک فرآورده غذایی، محیط ایده‌آل برای رشد گروه‌های مختلف باکتری‌های پاتوژن است و امکان آلودگی و فساد توسط آنها وجود دارد. بدلیل حضور مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب غیراشباع با پیوندهای دوگانه و ترکیبات امگا-۳، به ویژه دوکوزاهگزانوئیک اسید و ایکوزاپنتانوئیک اسید در بافت ماهی، اکسیداسیون آنها بعد

از مرگ سریعتر اتفاق می‌افتد و به فساد آن منجر می‌شود [۲]. لیپوکسیدازهای موجود در بعضی از میکروارگانیسم‌ها واکنش بین اسیدهای چرب و اکسیژن را فعال می‌سازند و طعم تندی چربی‌ها به دلیل حضور آلدئیدها و کتون‌ها ناشی از این واکنش‌ها ایجاد می‌کند [۳]. جهت جلوگیری از فساد ماهی، می‌توان به کنترل درجه حرارت و کاهش آن، بسته‌بندی تحت خلاء و افزودن آنتی‌اکسیدان اشاره کرد. استفاده از بسته‌بندی مناسب و بهره‌گیری از شناساگرهای مناسب، که بتوانند در خصوص کیفیت محصول اطلاعات لازم را به مصرف‌کننده ارائه دهند، می‌تواند به توسعه صادرات این محصولات کمک کند [۴ و ۵]. آنتوسیانین‌ها، که به عنوان رنگدانه‌های فلاونوئیدی در آب حل شده‌اند، در طبیعت پراکنده و با سیستم‌های بیولوژیکی سازگار هستند، ویژگی تغییر رنگ حساس به pH آنتوسیانین‌ها، و عملکردی مانند فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی، قابلیت بالایی برای طراحی فیلم‌های بسته‌بندی هوشمند با نشانگر رنگ طبیعی بسیار مفید است و می‌توانند در نگهداری ماهی به عنوان مواد طبیعی و نگهدارنده مورد استفاده قرار بگیرند و به دلیل، قدرت ضد اکسیداسیون بالا، از فرایند اکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها در ماهی جلوگیری کنند [۶ و ۷]. همچنین، آنتوسیانین‌ها می‌توانند در بهبود ویژگی‌های غذایی ماهی نیز نقش داشته باشند. و به عنوان عوامل مفیدی در افزایش میزان ویتامین C و اسید چرب امگا-۳ در ماهی عمل کنند. این ویژگی‌ها باعث می‌شود تا ماهی تا زمان مصرف، کیفیت و ارزش غذایی خود را حفظ کند [۸].

امروزه بازیافت و استفاده از ضایعات مواد غذایی و صنایع کشاورزی به عنوان یک استراتژی جدید برای بهره‌برداری شناخته شده است. این استراتژی، به علاوه از سودآوری، با مقررات و کمترین هزینه، به رابطه مفید و سازگاری با محیط زیست نیز دست یافته است. حفاظت از محصولات غذایی در برابر تأثیرات محیطی مانند اکسیژن، آب، نور و آفات شیمیایی از ابتدای تولید تا رسیدن به دست مصرف‌کننده، یکی از نگرانی‌های اصلی صنعت بسته‌بندی صنایع غذایی

طعمی و بدرنگی در مواد غذایی و مقاومت بیشتر در برابر پدیده تفکیک گرانشی و تجمع قطرات برخوردارند [۱۵] و [۱۶].

محققان با مطالعه فیلم شناساگر pH از نشاسته ذرت و گلیسرول، با افزودن یک رنگ طبیعی (آنتوسیانین) استخراج شده از گیاه *Hibiscus sabdariffa* گزارش کردند فیلم نشانگر در تماس با گوشت فاسد به ترتیب صورتی و سبز شد که ویژگی های اسیدی و اساسی مواد غذایی فاسد را ثابت کرد. در مطالعه دیگر یک شاخص هوشمند حساس به pH بر اساس رنگ طبیعی استخراج شده از گل *Echium amoenum* به صورت بصری فساد میگو را با تغییر رنگ شناسایی، و مناسب بودن آنتوسیانین *E. amoenum* را به عنوان یک رنگ حساس به pH برای بسته بندی هوشمند مواد غذایی غنی از پروتئین نشان داد. نتایج، فیلم های بسته بندی ساخته شده از ضایعات چای CMC (کربوکسیل متیل سلولز) و فورساران نشان داد، فیلم های بسته بندی از رشد میکروارگانیسم ها و تجمع آمین های بیوژنیک جلوگیری می کنند و در نتیجه ماندگاری فیلدهای ماهی سالمون را افزایش می دهند [۱۷، ۱۸، ۱۹ و ۲۰].

بنابراین فیلم نشانگر pH می تواند به عنوان یک سنسور برای اطلاع از کیفیت غذا استفاده شود. با توجه به مطالعات صورت گرفته، ارزش تغذیه ای بالای سبوس برنج و گیاه ریحان و اثرات مثبت آن در سلامت انسان و علاقه به بسته بندی های هوشمند زیست تخریب پذیر در پژوهش حاضر بر اساس تغییر رنگ عصاره استخراجی از ساقه ریحان با تغییر pH و همچنین در حضور آمین های بیوژنیک نانو حسگر زیست تخریب پذیر بر پایه فیبر سبوس برنج استخراجی به روش آنزیمی طراحی و ساخته شد و برای پایش تازگی گوشت ماهی شیر مورد مطالعه قرار گرفت.

بررسی و توسعه فیلم های خوراکی حاوی نشانگر رنگی از ساقه ریحان به عنوان یک ابزار طبیعی برای پایش کیفیت و فساد ماهی، همچنین ارزیابی عملکرد این فیلم ها در تشخیص و پایش فساد ماهی شیر با استفاده از خاصیت تغییر رنگ نشانگر، به طوری که با تغییر کیفیت ماهی، رنگ فیلم نیز تغییر

است. نوع بسته بندی که منجر به کاهش تخریب کیفیت محصولات غذایی می شود، از لحاظ کارایی در توزیع و بازاریابی اهمیت بالایی دارد. استفاده از بسترهای زیستی که با رنگدانه های طبیعی و حساس به فساد اصلاح شده اند، به طور موثری به کاهش فساد محصولات غذایی کمک می کند [۹ و ۱۰].

ریحان (*Ocimum basilicum*) گیاهی علفی است که در خانواده نعنا قرار دارد و به عنوان یکی از مهمترین سبزی های برگی شناخته می شود، دارای خواص بیولوژیکی مانند فعالیت آنتی اکسیدانی مانند فلاونوئیدها و فنول ها و اثر ضد میکروبی است و به عنوان یک گیاه دارویی نیز مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین دارای نسبت مناسبی از امگا ۳ به امگا ۶ است. علاوه بر این، ساقه ریحان حاوی مقادیر قابل توجهی ویتامین های C، K، مواد معدنی کلسیم، آهن و فیبر است و می تواند برای درمان برخی بیماری های سیستم عصبی مرکزی و همچنین در کنترل برخی عفونت های معده مانند زخم معده و عفونت هلیکوباکتر پیلوری موثر است [۱۱ و ۱۲].

سبوس برنج که محصول جانبی از آسیاب برنج است، و درصد قابل توجهی پروتئین را نیز دارد. به عنوان یک منبع مهم فیبر، غنی از ویتامین های گروه B و منبع مناسبی از مواد معدنی مانند کلسیم، منیزیم، روی، فسفر و منگنز است [۱۳]. فیبرها ترکیبی از کربوهیدرات های غیرقابل هضم هستند، و حجم غذا را افزایش می دهند و احساس سیری را تقویت می کنند، در حالی که کالری مصرفی را کاهش می دهند. این امر می تواند در کنترل وزن مؤثر باشد. مصرف فیبرها می تواند ریسک ابتلا به برخی از سرطان ها، به ویژه سرطان روده بزرگ، و دیابت نوع ۲ را کاهش دهد [۱۴].

نانو امولسیون ها به علت پایداری سینتیکی، حلالیت بالا در محیط آبی، شفافیت، حفاظت در برابر اکسیداسیون، نور و حرارت، و کنترل رهایش و حفاظت از ویتامین ها در مواد غذایی و بدن، به عنوان یک روش نگهداری مورد توجه در صنایع مختلف محسوب می شوند. همچنین، با داشتن قطرات نانومتری در محدوده ی (۲۰ تا ۱۰۰ نانومتر) قرار می گیرند، این سیستم ها از مزایایی مانند جلوگیری از بد-

به مدت ۶۰ دقیقه، اجازه داده شد تا رسوب تشکیل شود. سپس با انجام فیلتراسیون، مابقی مواد را با استفاده از محلول‌های ۷۸ درصد، ۹۵ درصد اتانول و استون شستشو داده شد. در نهایت، فیبر استخراج شده پس از بسته‌بندی در جای خشک و خنک جهت آزمایشات بعدی نگهداری شد [۲۲].

۲-۳- استخراج عصاره آنتو سیانین ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*)

جهت استخراج آنتوسیانین از ساقه ریحان، ابتدا لایه‌های موردنظر از ساقه جدا شد. سپس ۵۰ گرم از این لایه‌ها خشک‌شده را به همراه ۲۵۰ میلی‌لیتر محلول ۸۰ درصد اتانول و ۱ درصد کلریدریک اسید در دمای ۴ درجه سانتی-گراد به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد. سپس محلول عصاره‌ای که به دست آمد را با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (Germany, RPM/mi 500)، و لایه رویی محلول جدا شد. سپس مقدار آنتوسیانین در عصاره با استفاده از روش اختلاف جذب در pHهای (۲ تا ۱۲) مختلف اندازه‌گیری شد [۲۳].

۲-۴- اندازه‌گیری محتوای تام فنلی ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*)

مقدار کل ترکیبات فنلی آنتوسیانین تولیدی به روش فولین سیوکالتو انجام شد. مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره با ۵/۲ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد فولین سیوکالتو مخلوط شد و بعد از ۳ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر محلول ۷/۵ درصد کربنات سدیم به آن اضافه، سپس جذب نمونه در ۷۶۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتومتر (Schimadzu UV/Vis-240 IPC، ژاپن) قرائت شد. نتایج برحسب اسیدگالیک موجود در ۱۰۰ میلی-لیتر آنتوسیانین استخراجی گزارش شد. جهت رسم منحنی استاندارد از رقت‌های ۱۰۰ تا ۷۰۰ اسیدگالیک استاندارد استفاده شد [۲۴].

۲-۵- بررسی ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*)

کند اهمیت دارد. ترویج استفاده از فیبر سبوس برنج و ساقه ریحان به عنوان منابع طبیعی و پایدار در تولید مواد بسته‌بندی و فیلم‌های خوراکی و بررسی تأثیر این فیلم‌ها در کاهش ضایعات غذایی و افزایش ماندگاری ماهی از طریق پایش دقیق و به موقع فساد، تحلیل خواص فیزیکی و شیمیایی فیلم‌های تولید شده و تأثیر آن‌ها بر کیفیت و ایمنی ماهی از اهداف مهم پژوهش حاضر می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

گیاه ریحان (*Ocimum basilicum*)، ماهی شیر (*Siganus commersonnii*)، سبوس برنج از شهرستان بوشهر (بوشهر، جنوب ایران) خریداری شد. روغن آفتابگردان غنی از ویتامین E سالماتور غیر اشباع با چربی کل ۱۵ گرم (شیراز، ایران)، خریداری شد. پترولیوم اتر (۱۰۱۷۶۹)، اسید کلریدریک (HCL37%) (Germany, Merc)، استون گرید Extra Pure، اتانول (۹۶ درصد حجمی/حجمی)، آمونیاک از آزمایشگاه شیمیایی (دکتر مجللی تهران، ایران)، آنزیم‌های آلفا آمیلاز، α -گلوکوزیداز (G5003-100UN)، پروتئاز (Sigma Chemical, USA)، توئین-۸۰ (Merc, Germany)، محیط کشت (کانت آگار) (Germany, Merc)، آب مقطر (DDW) دو بار تصفیه شده با خلوص (۱۸ مگاهرتز/سانتی‌متر) از سیستم تصفیه آب (Nanopure Infinity, Barnstaeas International, Dubuque, IA, USA)، تهیه و خریداری شدند.

۲-۲- استخراج آنزیمی فیبر سبوس برنج

ابتدا از سیستم سوکسله برای استخراج چربی از سبوس برنج استفاده شد [۲۱]. سپس سبوس بدون چربی در حضور آمیلاز پایدار و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت، ژلاتینه شد. در مرحله بعد، با استفاده از پروتئاز، در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت، سبوس برنج هضم شده، و جهت جداسازی پروتئین و نشاسته، با استفاده از آنزیم آمیلوگلوکوزیداز انکوباسیون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد بعد از گذشت ۱ ساعت، ۴ حجم اتانول ۹۵ درصد به محلول اضافه شد و در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد

به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰ دور در دقیقه همزده و جهت هیدراته شدن به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی-گراد قرار گرفت. تهیه فیلم خوراکی با استفاده از محلول استوک فیبر ۱۰ درصد و نانوکپسوله عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*) و محلول استوک کربوکسیل متیل سلولز (۰/۲ درصد حجمی/وزنی) با افزودن ۰/۲ گرم پودر کربوکسیل متیل سلولز در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر دوبار تقطیر مخلوط شد و سپس گلیسرول به مقدار ۰/۷۵ درصد وزنی/وزنی به عنوان پلاستی سایزر اضافه شد و عمل هم زدن با سرعت ۱۲۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد انجام شد [۲۷]. سپس بعد از سرد شدن دمای محلول به ۳۷ درجه سانتی گراد مطابق (جدول ۱). از نانوکپسوله عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان مخلوط با محلول استوک فیبر سبوس برنج به محلول کربوکسیل متیل سلولز هیدراته شده اضافه شد و جهت همگن سازی محلول در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ درجه سانتی گراد در شرایط ۵۰۰ دور در دقیقه توسط یک غلطک میکسر (Movil-Rod - JP SELECTA Spain) همزده شد. محلول تشکیل دهنده فیلم با استفاده از پمپ خلا در شرایط محیطی به مدت ۵ دقیقه هواگیری شد. سپس ۱۰۰ میلی لیتر از هر محلول تشکیل دهنده فیلم در سطح صاف پلیت های آزمایشگاهی قالب ریزی و تا زمان خشک شدن در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد نمونه فاقد نانوکپسوله آنتوسیانین به عنوان شاهد تهیه شد [۲۸].

اثر مهار رادیکال آزاد به کمک DPPH(diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical) ۴ میلی لیتر از عصاره آنتوسیانین استخراجی از ساقه ریحان میلی لیتر ۱۰۰ محلول متانول در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱ ساعت قرار داده تا واکنش دهد. میزان جذب محلول واکنش داده شده در ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه (Schimadzu UV/Vis-240 IPC، ژاپن) اندازه گیری شد، و توان آنتی-اکسیدانی از رابطه زیر محاسبه (۱) شد [۲۵].

۱. DPPH radical scavenging activity (%)
 $A0 = A0 - A1 / A0$ میزان جذب نمونه و A1: میزان جذب شاهد

۲-۶- آماده سازی نانوکپسوله کردن عصاره انتو سیانین (*Ocimum basilicum*)

در این پژوهش، نانوامولسیون های روغن در آب با استفاده از بهینه سازی شرایط اولتراسونیک تهیه شدند. فاز آبی حاوی عصاره آنتوسیانین در غلظت ۵ درصد وزنی/وزنی و سورفاکتانت هیدروفلیک توپین- ۸۰ در غلظت ۲ درصد وزنی/وزنی و فاز روغنی حاوی امولسیفایر در غلظت ۳ درصد وزنی/وزنی استفاده شد. تهیه نانوامولسیون با استفاده از دستگاه اولتراسونیک فراصوت پروپ دار از جنس تیتانیوم (HD3200, Berlin, Germany) با توان ۳۰۰ وات، فرکانس ۲۴ کیلوهرتز به مدت ۵ دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد انجام شد [۲۶].

۲-۷- تولید فیلم خوراکی

تهیه محلول استوک ۱۰ درصد حجمی/وزنی فیبر سبوس برنج، ۱۰ گرم فیبر سبوس و ۹۰ گرم آب وزن شد. و سپس

Table 1. Treatments produced from basil stem color marker and cmc based on rice bran fiber.

Name	Sample(film)	CMC(g)	Glycerol %	10Stock cmc (g)%souton	(g) DDW
Film C	-	0.2	0.75	-	75
Film 1	Fiber 100ppm+200ppm En anto	0.2	0.75	5	75
Film 2	Fiber 100ppm+400ppm En anto	0.2	0.75	5	75
Film 3	Fiber 100ppm+600ppm En anto	0.2	0.75	5	75

نمونه های فیلم تهیه شده در ابعاد ۲×۲ سانتی متر برش داده شد در این آزمایش، ۰/۵ میلی لیتر گاز آمونیاک بر روی فیلم

۱-۲-۷- اثر گازهای بیوژنیک

۸-۲- پوشش دهی ماهی با نشانگر رنگی ساقه ریحان بر

پایه فیبر سبوس برنج

ماهی شیر با نام علمی (*Siganus commersonii*) با وزن حدود ۴۰۰ تا ۵۰۰ گرم بعد از خریداری از اسکله خلیج فارس شهر بوشهر با جعبه فیبری محتوای یخ به آزمایشگاه منتقل شد و پس از بعد از سر و دم زنی و جداسازی پوست و استخوان ماهی در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد جهت کاهش بار میکروبی فیلدهای آماده شده را با محلول سدیم کلراید ۹ درصد و سپس با آب مقطر دوبار تقطیر شستشو داده شد. به منظور پایش فساد در نمونه ماهی، ۲۰ گرم نمونه ماهی درون یک پلیت استریل شده منتقل شد و پس از قراردادن درب بالای پلیت که قبلاً بر روی آن فیلم حاوی غلظت‌های عصاره آنتوسیانین انکپسوله شده از ساقه ریحان چسبیده شده بود (جدول ۱) مورد ارزیابی قرار گرفت سپس به یخچال ۴ درجه سانتی گراد منتقل شدند [۳۴]. آزمایش‌های شیمیایی، و طیف‌سنجی FTIR در فواصل زمانی (صفر-۱۰-۲۰-۳۰) بر روی فیلدهای ماهی حاوی فیلم نشانگر رنگی انجام شد.

۸-۲-۱- اندازه‌گیری pH

۲ گرم نمونه گوشت ماهی از هر تیمار به ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و به مدت ۱ دقیقه توسط دستگاه هموژنایزر (Germany, HD3200 Bandelin)، هموژنیزه شد سپس pH نمونه‌ها با یک pH متر مدل (Metrohm 713) اندازه‌گیری شد [۳۵].

۸-۲-۲- اندازه‌گیری اسید چرب (FFA)

به منظور تعیین میزان شاخص اسیدهای چرب آزاد در نمونه گوشت ماهی، ۱۰ گرم نمونه گوشت ماهی همگن شده را با ۶۰ میلی‌لیتر متانول و ۶۰ میلی‌لیتر کلروفرم استخراج شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، ۴۸ میلی‌لیتر آب مقطر به محلول اضافه شد. ابتدا، ۵۰ میلی‌لیتر حلال (مخلوطی مساوی از اتانول ۹۶ درصد و دی‌اتیل‌اتر) به نمونه روغن اضافه، سپس ۱ تا ۲ قطره فنل‌فتالین به مخلوط اضافه شد. مخلوط با استفاده از تیترو سود ۰/۱ نرمال تیترو شد [۳۶].

چکانده شد و فیلم در یک ظرف با نشانگر برچسب‌زنی شده قرار گرفت. سپس پس از یک ساعت، تغییر رنگ ثبت شد [۲۹].

۷-۲-۲- رطوبت

برای اندازه‌گیری رطوبت، ابتدا نمونه‌ها وزن شد و سپس در آون در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۳ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت قرار گرفت و در نهایت رطوبت فیلم از رابطه (۲) به دست آمد [۳۰].

۲. اولیه نمونه M_2 : وزن نمونه پس از خشک شدن می باشد

$$M_1 - M_2 / M_1 (\%) = \text{وزن}$$

۷-۲-۳- اندازه‌گیری حلالیت در آب

حلالیت در آب به صورت درصد ماده خشک فیلم حل شده بعد از ۲۴ ساعت غوطه وری در آب بیان شد. فیلم‌های خشک‌شده در ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر غوطه ور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶ ساعت و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه همزده شد. سپس تکه‌های فیلم از آب جدا شد و پس از خشک‌شدن در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت وزن شد. درصد حلالیت فیلم‌ها از رابطه (۳) محاسبه شد [۳۱].

۳. خشک اولیه w_2 : وزن خشک نهایی

$$w_1 - w_2 / w_1 \times 100 = \text{Solubility } \%$$

۷-۲-۴- ضخامت

ضخامت فیلم‌ها توسط میکرومتر با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر تعیین شد. برای فیلم‌های آماده شده به منظور تعیین خواص مکانیکی ضخامت در ۸ نقطه در امتداد فیلم اندازه‌گیری شد [۳۲].

۷-۲-۵- کدورت (Opacity)

فیلم‌های تهیه‌شده به صورت قطعاتی کوچک بریده شد. سپس درون سل دستگاه اسپکتروفتومتر (Schimadzu UV/Vis-240 IPC) قرار داده شد و جذب آن‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد. از رابطه (۴) برای تعیین کدورت استفاده شد [۳۳].

۴. $\text{Opacity} = \text{Absorbance } 600 \text{ nm} / \text{Film thickness (mm)}$

$$As \quad TBARS \text{ content} = 50 \times (As - Ab) / \quad 5.$$

200: جذب نمونه و Ab: جذب شاهد

۵-۸-۲-آزمون طیف سنجی FTIR

برای انجام آزمون FTIR از دستگاه (Spectrum Two, FTIR Perkin Elemer, USA) استفاده شد. قرص‌های نازکی از نمونه‌های ماهی پودر شده حاوی پوشش عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان غنی از فیبر سیوس برنج با ضخامت کمتر از ۱ میلی‌متر از اختلاط آب و نمونه‌ها و پوشش دادن با برومید پتاسیم و توسط خشک‌کن انجمادی (operon, Korea) در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد خشک و سپس به نسبت ۱:۲۰ و اعمال فشار حدود ۶۰ کیلوپاسکال به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه پرس قرص به دست آمد و طیف عبور نمونه‌ها در محدوده عدد موجی ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی‌متر و با قدرت تفکیک ۵ بر سانتی‌متر مورد آنالیز قرار گرفت [۳۹].

۹-۲-آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها برای خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی تیمارها توسط روش آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) در قالب طرح کاملاً تصادفی و سه تکرار انجام شد. مقایسه بین میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و رسم منحنی با استفاده از نرم‌افزار EXCEL انجام شد.

۳-بحث و نتایج

۱-۳-اثر pH در آنتو سیانین استخراجی از ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*)

آنتوسیانین‌ها در محیط‌های اسیدی و قلیایی رنگ‌های مختلفی از خود نشان می‌دهند. این تغییر رنگ به عنوان اثر pH یا تغییر pH شناخته می‌شود. این تغییرات رنگ مربوط به تغییر در حالت اکسایش و اختلاف بار الکترونی در ساختار آنتوسیانین‌ها است. pH تأثیر مستقیم بر این متغیرها دارد و با تغییر pH، تعادل بین حالت‌های اکسیده و تخلیص شده در آنتوسیانین تغییر می‌کند. بنابراین، pH می‌تواند تأثیر قابل توجهی بر رنگ و خواص آنتوسیانین داشته باشد و این

۲-۸-۳-اندازه‌گیری مجموع بازهای نیتروژنی فرار (TVB-N)

برای تعیین مقدار مواد ازته فرار در گوشت ماهی ۱۰ گرم نمونه گوشت ماهی را در یک بالن تقطیر ۱۰۰۰ میلی‌لیتر منتقل شد، سپس به بالن، ۲ گرم اکسید منیزیم، ۳۰۰ میلی-لیتر آب مقطر، چند عدد سنگ جوش و کمی ضدکف اضافه شد، بالن را حرارت داده بعد از ۱۵ دقیقه به دمای جوش رسید. بخارهایی که از بالن تقطیر، مستقیماً در داخل ارلن مایری جمع شد. این ارلن مایر حاوی ۲۵ میلی‌لیتر محلول اسید بوریک ۲ درصد و چند قطره معرف متیل رد بود. جمعیت بخارها و محلول اسید بوریک در ارلن مایر به حجم ۱۵۰ میلی‌لیتر رسید. رنگ محلول اسید بوریک با معرف متیل رد که در ابتدا به دلیل خاصیت اسیدی قرمز بود، با تجمع بخارهای حاصل از تقطیر به تدریج قلیایی و سبز شد. در پایان، محلول حاصل از تجمع بخارهای تقطیر با استفاده از اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال تا رسیدن به رنگ پوست پیازی تیتیر شد، سپس مقدار مواد ازته فرار بر حسب میلی‌گرم در صد گرم نمونه محاسبه شد [۳۷].

$$BNV \text{ T in } mgN.100g = 14.(150 + A).V.F.N.100 / V a.P$$

۲-۸-۴-اندازه‌گیری اندیس تیوباریوتوریک اسید (TBARS)

یک نمونه گوشت ماهی به وزن ۱۰ گرم در بالن تقطیر ۱۰۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. ۹۷/۵ گرم آب مقطر به آن اضافه، و به مدت ۲ دقیقه هم‌زده شد. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر اسید کلریدریک ۴ مولار افزوده شد. بعد از افزودن چند قطره ضدکف، بالن حرارت داده در مدت ۱۰ دقیقه از زمان جوش، ۵۰ میلی‌لیتر مایع تقطیر به دست آمد. سپس ۵ میلی‌لیتر از مایع تقطیر با ۴ میلی‌لیتر معرف تیوباریوتوریک اسید مخلوط شد. لوله‌های آزمایشی به مدت ۳۵ دقیقه در بن‌ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس جذب آن‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Schimadzu UV/Vis-240 IPC) در طول موج ۵۳۸ نانومتر اندازه‌گیری شد (رابطه ۵) [۳۸].

یافت، رنگ‌ها از صورتی به قهوه‌ای تغییر کرد [۳۵]. همچنین کوشی و همکاران (۲۰۲۲) فیلم‌های حساس به pH هوشمند از پودر گل پیکان و پروتئین سویا ایزوله حاوی آنتوسیانین کلم قرمز تولید کردند و گزارش کردند که فیلم‌های ترکیب-شده با آنتوسیانین تغییرات رنگ قابل توجهی را در بافرهای مختلف pH و حساسیت خوبی برای تشخیص بخار آمونیاک نشان دادند [۴۲]. نتایج پژوهش حاضر با پژوهش‌های پیشین همخوانی دارد. تغییرات رنگ قابل مشاهده و قابل توجه در آنتوسیانین با تغییر pH رخ داده است.

ویژگی می‌تواند در کاربردهای مختلفی مانند صنایع غذایی، تحقیقات آزمایشگاهی و غیره مورد استفاده قرار گیرد [۴۰ و ۴۱]. در شکل ۱ تاثیرات pH (۲ تا ۱۲) نشان داده شده که آنتوسیانین در pH اسیدی به سمت رنگ صورتی و در pH قلیایی به سمت زرد تغییر رنگ می‌دهد. اکرامی و همکاران (۲۰۲۲) در تحقیقی به بررسی نشانگر رنگی پاسخگو به pH زعفران (*L. Crocus sativus*) فیلم خوراکی موسیلاژ سالپ فعال شده با آنتوسیانین پرداختند، بررسی حساسیت pH نشان داد که تغییر pH محلول، رنگ آنتوسیانین را تغییر می‌دهد. هنگامی که pH ۳ به ۱۱ افزایش

Table 2. Effects of pH (2-12) on anthocyanin extracted from basil stem (*Ocimum basilicum*).

pH	Absorption
control	0.295
7	0.2710
2	0.2369
4	0.3124
6	1.2188
8	0.1806
10	0.1782
12	0.2552

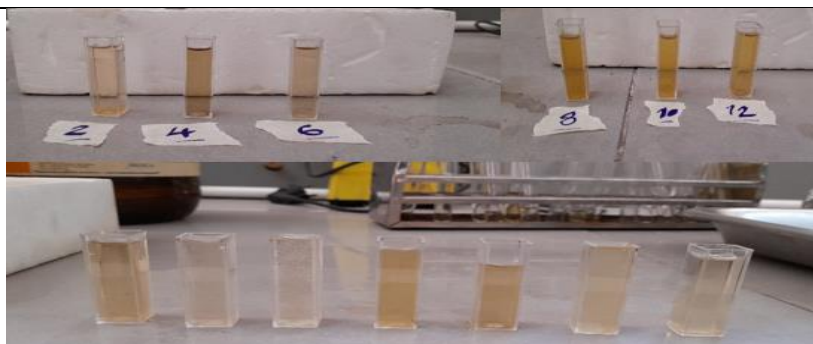


Figure 1. Examination of entocyanine extracted from basil stem (*Ocimum basilicum*) at pH (2-12)

اکسیداتیو در بدن محافظت کند و فرایند پیری سلول‌ها را کند کند، خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها باعث می‌شود تا در کاهش التهاب‌ها و حفظ سلامت قلب و عروق مؤثر باشند. در مورد ساقه ریحان، برخی تحقیقات نشان داده است که ساقه ریحان حاوی آنتوسیانین‌ها است و خواص آنتی‌اکسیدانی دارد [۴۳ و ۴۴].

۲-۳- بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی و فنل تام آنتوسیانین ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*)

آنتوسیانین‌ها یک نوع رنگدانه رنگی هستند که در گیاه ریحان، وجود دارند. این ترکیبات به دلیل وجود گروه‌های فنولیک در ساختارشان، خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی دارند. آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در مقابل آسیب‌های

Table 3. The amount of TFC, DPPH of anthocyanin extracted from basil stem (*Ocimum basilicum*)

Property	Amount	Unit
TFC	365.32	GAE/g
DPPH	82.25	%

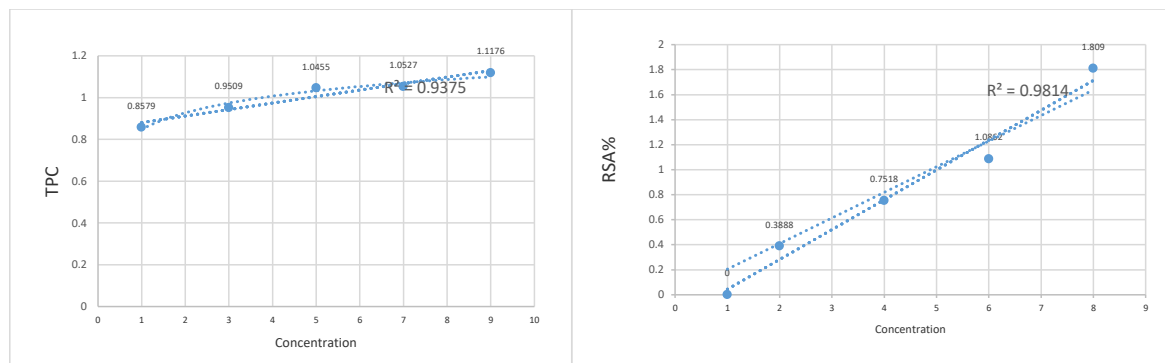


Figure 2. Calibration of TFC, DPPH of anthocyanin extracted from basil stem (*Ocimum basilicum*)

طیف‌های حاصل از طیف سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه مربوط به نمونه آنتوسیانین ساقه ریحان در شرایط بهینه در شکل ۳ نشان داده شده است. در شکل ۱، نواحی جذبی مختلف قابل تشخیص هستند. نوار قوی در بازه ۳۳۰۰ تا ۳۵۰۰ بر سانتی‌متر، مربوط به گروه‌های عاملی OH موجود در ساختار آنتوسیانین است. این گروه‌های عاملی OH معمولاً با ارتباطات هیدروژنی در تشکیل ساختار پلیمری نقش دارند [۵۲ و ۵۳]. همچنین، پیکی که در طول موج ۲۲۱۱/۷۵ و ۱۴۶۰/۸۸ بر سانتی‌متر ظاهر می‌شود، مربوط به ارتعاشات کششی آلیفاتیک H-C است. این ارتعاشات شامل ارتعاشات خمشی و کششی گروه‌های CH، CH₂ و CH₃ می‌باشد [۵۴ و ۵۵]. در پژوهشی از طیف‌سنجی FTIR برای تعیین کمیت محتوای آنتوسیانین کل در عصاره‌های اتانولی آلو مورد بررسی قرار داده شد و نشان‌دهنده پتانسیل گسترده طیف‌سنجی FTIR برای تضمین کیفیت نمونه‌های آلو بر اساس عصاره‌های حلال آن‌ها است [۳۹]. در پژوهشی دیگر استفاده از حلال‌های یوتکتیک عمیق به عنوان محیط سبز و زیست‌تخریب‌پذیر برای استخراج آنتوسیانین از هویج سیاه استفاده شد و نتایج FTIR نشان داد که کلرید کولین خالص چندین گروه عملکردی را نشان می‌دهد و بسیاری از این گروه‌های عاملی پس از تشکیل حلال‌های یوتکتیک عمیق در کنار هم بوده اند [۵۶]. با استفاده از تجزیه و تحلیل طول موج‌ها (نوارهای جذبی و شناسایی نوارهای) مختلف، می‌توان مشخصات ساختاری و گروه‌های موجود در عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان را تحلیل و شناسایی کرد.

برای بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه آنتوسیانین استخراجی از ساقه ریحان، از روش سنجش رنگ‌سنجی استفاده شد که بر اساس قابلیت نمونه به عنوان حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد و کاهش‌دهنده کاتیون‌های رادیکال انجام می‌شود. در جدول ۳، میزان فنل تام (۳۶۵/۳۲ GAE/g) و DPPH (۸۲٪/۲۵) نشان داده شده است. آنتوسیانین‌های استخراج‌شده از ساقه ریحان بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را داشتند. فنول‌ها مانند اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها، از جمله مشتقات گلیکوزیده و آسیله آن‌ها، در محاسبه فنل تام در نظر گرفته می‌شوند. با این حال، نتایج مطالعه حاضر کمتر از داده‌های گزارش شده توسط محققان پیشین بودند [۴۵ و ۴۶]. علاوه بر تکنیک استخراج، سیستم حلال نیز نقش مهمی در استخراج فنولی ایفا می‌کند. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که حلال اسیدی به ترتیب نسبت به بازیابی فنولیک و آنتوسیانین دارد [۴۷ و ۴۸]. در سنجش DPPH، حضور رادیکال‌های آزاد قابل توجه است و منطقی است که عملکرد این مطالعه بالاتر از نتایج گزارش شده قبلی باشد [۴۹، ۵۰ و ۵۱]. ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قادر به اهدای اتم هیدروژن به منظور خاموش کردن رادیکال‌ها هستند. به ویژه گیاهانی که حاوی آنتوسیانین‌ها هستند، ترکیبات فلاویلیوم (کاتیون‌های فلاونوئیدی) در حلقه C اسکلت فلاونوئیدی، انتقال اتم هیدروژن را برای مهار رادیکال تشویق می‌کنند [۵۱].

۳-۳-آزمون طیف‌سنجی FTIR آنتوسیانین ساقه ریحان

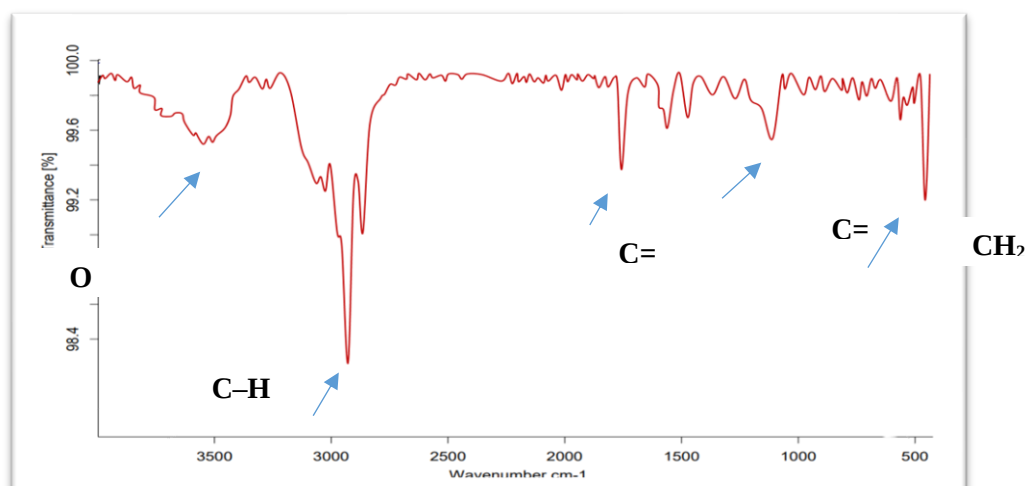


Figure 3. Fourier transform infrared spectroscopy in the identification of functional groups of anthocyanin extracted from basil stem from wavelength 400 to 4000 cm^{-1} (*Ocimum basilicum*)

۴-۳- اثر گازهای بیوژنیک

هنگام فساد مواد غذایی یا متابولیسم بافت درون از تولید می‌شوند. تیرامین، تریپتامین، پوتریسن، کاداورین، اسپرمیدین و هیستامین از جمله آمین‌های بیوژنیک هستند [۵۷ و ۵۸]. این نوع از آمین‌ها در مواد غذایی از جمله گوشت مختلف وجود دارند. آنتوسیانین با توجه به ساختار شیمیایی خود می‌تواند به این آمین‌ها متصل شود.

آمین‌های بیوژنیک به عنوان نشانگر زیستی مهمی برای کنترل کیفیت غذا و تشخیص تازگی محصولات پروتئینی در نظر گرفته می‌شوند. آمین‌های بیوژنیک بازهای آلی با وزن مولکولی پایین هستند که عمدتاً توسط میکروارگانیسم‌ها و از طریق دکربوکسیلاسیون آنزیمی اسیدهای آمینه خارجی در



Figure 4. Changes of biogenic gases on the film containing anthocyanin marker extracted from basil stem (*Ocimum basilicum*)

۴-۳-۵- بررسی مورفولوژی فیلم حاوی نشانگر

در تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی (شکل ۵) به دست آمده، ملاحظه شد که سازگاری و امتزاج‌پذیری خوبی بین اجزاء در ماتریس فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج وجود دارد. وجود سورفاکتانت هیدروفیلک توپین-۸۰ در غلظت ۲ درصد وزنی/وزنی و فاز روغنی حاوی امولسیفایر نانوامولسیون‌شده در ماتریس فیلم باعث ایجاد سطوح ناهموار به دلیل تجمع قطرات روغن شد. نانوامولسیون انکپسوله‌شده ممکن است در طی فرآیند قالب یا خشک‌کردن، دچار برخی از ناپایداری‌ها، جداسازی فاز ادغام شود. با این حال، با افزودن عصاره آنتوسیانین ساقه

شکل ۴: تغییرات رنگ نشانگر را در حضور گاز آمونیاک نشان می‌دهد. پس از یک ساعت قرار گرفتن در معرض گاز آمونیاک تغییر رنگ مشهودی در نشانگر مشاهده می‌شود. همچنین در پژوهشی برای توسعه حسگرهای ساده، برای ارزیابی تازگی گوشت و تشخیص آمین‌های بیوژنیک، یک آرایه حسگر رنگ سنجی با چاپ نه رنگدانه طبیعی بر روی یک فیلم نانومتخلخل آبریز ساخته شد. این تحقیق نشان داد که رنگدانه‌های حاوی آنتوسیانین ممکن است یک حسگر رنگ‌سنجی بسیار مفید برای ارزیابی کیفیت گوشت باشد [۵۹]. این تغییر رنگ بدلیل تغییرات ساختاری آنتوسیانین در مجاورت آمین است [۶۰].

ریحان در فیلم بر پایه سبوس برنج، تغییراتی در زنجیره‌های پلیمری رخ داد که منجر به کاهش تخلخل ماتریس فیلم شد. نتایج میکروسکوپ الکترونی روبشی تغییرات مشابهی در فیلم خوراکی آلژینات سدیم/ کیتوزان حاوی عصاره آنتوسیانین چغندر قرمز در مطالعه بسته بندی هوشمند نشان داد که عصاره باعث تغییرات در زنجیره‌های پلیمری و افزایش تخلخل ماتریس فیلم می‌شود [۶۱]. همچنین یافته های حاضر با یافته های گزارش شده، که تغییرات مشابهی را در ریزساختار یک فیلم مبتنی بر ژلاتین با ترکیب عصاره کورکومین مشاهده شد، مطابقت دارد [۶۲]. نمونه‌های فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*) بر پایه فیبر سبوس برنج دارای ساختاری متخلخل هستند و اکثراً دارای تخلخل‌هایی از نوع تخلخل‌های کوچک هستند با توجه به تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی، حفرات موجود در نمونه دارای ساختار کروی هستند و پیوستگی بین آن‌ها به وضوح قابل مشاهده است. تصاویر به وضوح یک ساختار ظریف از پخش یکنواخت و هماهنگ ذرات نانوامولسیون از آنتوسیانین ساقه‌ی ریحان در ابعاد نانومتری را در بین زنجیره‌های پلیمری یا ماتریس پلیمری نشان می‌دهند. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سطح مقطع تیمارها نشان می‌دهد فیلم‌های حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج زیست‌تخریب پذیر نانوامولسیون انکپسوله‌شده (Film 2) دارای تراکم بین

مولکولی بالایی بوده و میزان خلل و فرج در ساختار آن بسیار کم است. نقاط و برجستگی‌های موجود در بستر فیلم را می‌توان به فیبر سبوس برنج که باعث تشکیل ذرات نامحلول است نسبت داد [۶۳]. در پژوهشی مشابه سنتز و خصوصیات فیزیکوشیمیایی آنتوسیانین و نشاسته مبتنی بر فیلم پلیمری نشان داد فیلم توسعه‌یافته از نظر مورفولوژیکی ترکیب آنتوسیانین و نشاسته یک سطح صاف و همگن با پیوند هیدروژنی بین مولکولی ایجاد می‌کند که طول موج بیوپلیمر را افزایش می‌دهد [۶۴]. همچنین در پژوهش دیگر تاثیر عصاره تمشک قرمز غنی از آنتوسیانین بر ویژگی‌های فیلم‌های ایزوله پروتئین سویا خوراکی بررسی شد، هر دو فیلم سطح شکستگی همگن و صاف را داشتند و نشان داد سطح شکسته صاف از فیلم کنترل سویا توسط گلیسرول نازک‌شده و سطح شکسته فیلم ایزوله سویا با آنتوسیانین تمشک قرمز گنجانده‌شده، ساختار سطح شکسته صاف را نشان می‌دهد که نشان‌دهنده سازگاری بین ایزوله سویا و آنتوسیانین است. و ساختار نسبتاً همگن، پیوسته و بی‌شکلی را نشان داد و با تحقیق گزارش شده مطابقت مستقیم داشت [۶۵]. **یانگ و لیو (۲۰۲۰) و شیوانگ و همکاران (۲۰۲۱)** گزارش کردند مواد پلیمری زیستی مورد استفاده برای ساخت فیلم، منبع و مقدار رنگدانه اضافه شده، و روش‌های مورد استفاده برای ساخت فیلم بر ریزساختار فیلم‌های غنی از آنتوسیانین تأثیر می‌گذارد [۶۶ و ۶۷].

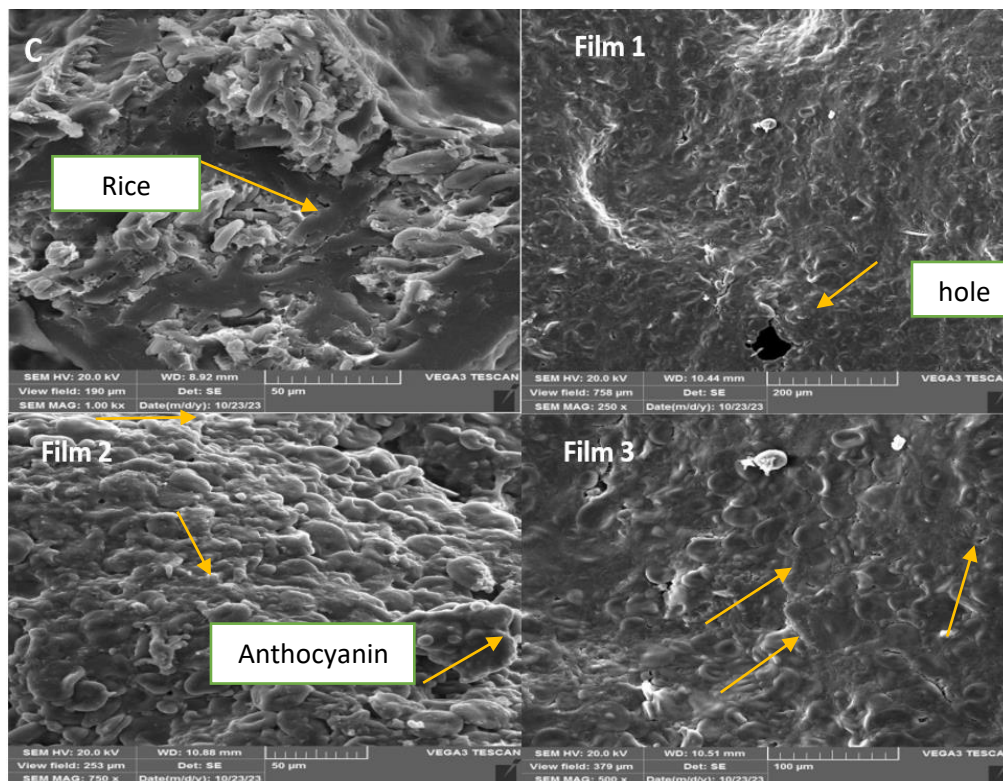


Figure 5. Morphology of the film containing endocyanine marker of basil stem (*Ocimum basilicum*). (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water)

۶۰۰ پی پی ام حاوی عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان مشاهده شد. در بررسی حالیت تفاوت معنی داری بین تیمارها مشاهده شد. بین تیمارهای حاوی ۲۰۰ پی پی ام و ۴۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان تفاوت معناداری وجود نداشت. بیشترین مقدار (67.53 ± 1.00 درصد) در تیمار ۶۰۰ پی پی ام حاوی عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان و کمترین مقدار (23.14 ± 1.00 درصد) در تیمار حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان مشاهده شد. نتایج نشان می دهد که تیمار حاوی ۴۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین، ضخامت کمتری نسبت به سایر تیمارها داشته است. این ممکن است به دلیل غلظت مناسب آنتوسیانین باشد که به بهبود خواص فیزیکی فیلم کمک کرده است. در غلظت های بالاتر (۶۰۰ پی پی ام)، ممکن است اثرات منفی بر روی ساختار فیلم ایجاد شده باشد که منجر به افزایش ضخامت

۳-۶- نتایج خصوصیات فیزیکی فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان (*Ocimum basilicum*) بر پایه فیبر سیبوس برنج

با افزایش مقدار آنتوسیانین ساقه ریحان، (جدول ۴) میزان دانسیته افزایش یافت. بین تیمار کنترل و تیمار حاوی ۲۰۰ پی پی ام آنتوسیانین ساقه ریحان تفاوت معناداری وجود نداشت. همچنین بین تیمارهای حاوی ۴۰۰ پی پی ام و ۶۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان تفاوت معناداری وجود نداشت. در بررسی ضخامت، بین تیمارهای کنترل و تیمارهای حاوی ۲۰۰ پی پی ام و ۶۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، اختلاف معناداری وجود نداشت. میزان ضخامت در تیمار حاوی ۴۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، به طور معنی داری کمتر از سایر تیمارها بود ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار (1.70 ± 0.05 میلی متر) در تیمار

هیدروکسی ممکن است به عنوان پلاستی‌سایزر عمل کند، حجم آزاد و تحرک ماکرومولکولی بین پلیمری را افزایش دهد و در نتیجه شبکه پلیمری به دلیل کاهش نیروهای بین مولکولی، چگالی کمتری پیدا می‌کند و در نتیجه قابلیت کشش و انعطاف پذیری لایه‌ها را بهبود می‌بخشد [۶۸، ۶۹ و ۷۰]. محتوای رطوبت مقدار (16.32 ± 0.05 درصد) درصد در تیمار ۲۰۰ پی‌پی‌ام نسبتاً محدود در فیلم‌های تولید شده با عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان ممکن است به دلیل برهم‌کنش بین گروه‌های آمین و OH فیبر سبوس برنج و آنتوسیانین‌ها باشد که ممکن است برهم‌کنش فیبر سبوس برنج آب را محدود کند ترکیب و کمیت آنتوسیانین‌ها از عوامل اصلی در میزان رطوبت فیلم‌ها هستند [۷۱، ۷۲ و ۷۳]. در پژوهشی سهانی (۲۰۲۱) خصوصیات نشاسته سیب‌زمینی شیرین بنفش مرتبط با آنتوسیانین و فیلم‌های شاخص pH مبتنی بر پوست بررسی شده گزارش شد که ضخامت، حلالیت در آب و درجه تورم فیلم‌ها با افزایش آنتوسیانین افزایش یافت [۷۴]. همچنین در پژوهش‌های پیشین بررسی شده که حضور آنتوسیانین تغییراتی در توانایی مکانیکی و اثرات رطوبت بر روی فیلم‌های تولید شده می‌گذارد که با پژوهش انجام شده مطابقت دارد [۷۵، ۷۶ و ۷۷].

شده است. در غلظت‌های بالاتر، ویسکوزیته ممکن است افزایش یابد و این امر می‌تواند منجر به کاهش ضخامت فیلم در هنگام خشک شدن شود، زیرا فیلم به طور یکنواخت و نازک‌تر پخش می‌شود. وجود آنتوسیانین‌ها ممکن است پیوندهای هیدروژنی و برهم‌کنش‌های بین مولکولی را تقویت کند که می‌تواند بر ضخامت تأثیر بگذارد. در غلظت‌های خاص، این پیوندها می‌توانند به ساختار محکم‌تری منجر شوند و در نتیجه ضخامت فیلم را کاهش دهند [۷۱]. در بررسی رطوبت تفاوت معناداری بین تیمارها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). با افزایش درصد عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، روند متغیری در میزان رطوبت مشاهده شد. بیشترین مقدار (46.1 ± 5.3 درصد) درصد در تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان و کمترین مقدار (16.0 ± 3.2 درصد) درصد در تیمار ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان مشاهده شد. در بررسی کدورت تفاوت معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد و با افزایش درصد عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، روند کاهشی در میزان کدورت مشاهده شد. بین تیمارهای حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام و ۴۰۰ پی‌پی‌ام حاوی عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان تفاوت معناداری وجود نداشت ($p \leq 0.05$). آنتوسیانین با گروه‌های

Table 4. The results of the physicochemical characteristics of the film containing the color indicator of basil stem based on rice bran fiber.

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
density(g/mm ³)	1.114 ± 0.01 ^B	1.116 ± 0.01 ^B	1.139 ± 0.01 ^A	1.149 ± 0.01 ^A
Thickness (mm)	1.62 ± 0.02 ^A	1.67 ± 0.05 ^A	1.10 ± 0.05 ^B	1.70 ± 0.05 ^A
solubility (%)	28.39 ± 1.00 ^A	23.14 ± 1.00 ^C	24.47 ± 1.00 ^C	46.53 ± 1.00 ^A
Moisture (%)	19.29 ± 0.5 ^C	16.32 ± 0.5 ^B	17.69 ± 0.5 ^C	22.53 ± 1.00 ^A
Opacity (mm ⁻¹)	43.26 ± 1.00 ^A	22.45 ± 1.00 ^B	20.92 ± 1.00 ^B	18.34 ± 0.5 ^B

Different alphabets a,b indicates significant difference between groups. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

در بررسی pH (جدول ۵) تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در طول دوره نگهداری مشاهده شد ($p \leq 0.05$). در طول مدت زمان نگهداری در تیمار کنترل و تیمار حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان روند pH افزایش داشت. مقدار این فاکتور در تیمارهای حاوی ۲۰۰

۳-۷- بررسی خصوصیات شیمیایی نمونه‌های ماهی پوشش داده‌شده با فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج

به دلیل دنا توره شدن پروتئین منجر به آزاد شدن ترکیبات آمینه مانند آمین‌ها، دی‌متیل‌آمین و تری‌متیل‌آمین در طی تجزیه اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها است همچنین وجود ترکیبات ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی در فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سیوس برنج بر رشد باکتری های فساد تأثیر گذاشت و در نتیجه pH کاهش یافت [۷۸ و ۷۹]. **یو و همکاران (۲۰۲۲)** یک فیلم بسته بندی ماهی، کامپوزیتی آنتی باکتریال آنتوسیانین کونیاک گلوکومانان/کربوکسی متیل سلولز/انگور سیاه بررسی کردند و به خواص آنتی اکسیدانی و ضد باکتریایی آنتوسیانین انگور سیاه پی بردند و اثر مهاری بر پاتوژن های منتقله از غذا دارد [۸۰].

پی‌پی‌ام و ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، در روز دهم کاهش و پس از آن افزایش یافته است. همچنین بین pH نمونه‌های تهیه شده در هر روز تفاوت معنی داری وجود داشت ($p \leq 0.05$). در طی دوره با افزایش مقدار عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار pH روند متغیر داشت. در روز تولید بیشترین مقدار pH مربوط به تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان بود. بیشترین مقدار (10.30 ± 0.05) در تیمار کنترل در روز سی‌ام و کمترین مقدار (9.70 ± 0.05) در تیمار حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در روز تولید مشاهده شد. افزایش pH در فیله‌های ماهی حاوی اندیکاتور به دلیل تولید دی اکسید کربنی از بافت ماهی در مقایسه با ماهی کنترل در شرایط معمولی کمتر بود افزایش pH در طول دوره نگهداری،

Table 5. Examining the pH of fish samples coated with a film containing basil stem color indicator based on rice bran fiber.

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
Film C	7.10 ± 0.05 Cd	8.30 ± 0.05 Ac	9.60 ± 0.05 Ab	10.30 ± 0.05 Aa
Film 1	7.40 ± 0.05 Bc	7.10 ± 0.05 Dd	8.30 ± 0.05 Cb	10.10 ± 0.05 Ba
Film 2	6.90 ± 0.05 Dd	7.80 ± 0.05 Bc	8.10 ± 0.05 Db	9.70 ± 0.05 Ca
Film 3	7.50 ± 0.05 Ac	7.20 ± 0.05 Cd	8.30 ± 0.05 Bb	8.70 ± 0.05 Da

The results are presented in the form of average standard deviation for each treatment, all experiments were done in three repetitions. In each column, the values with different uppercase letters and in each row the values with different lowercase letters have a significant difference at the 5% level. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

(۵/۲۷±۵ درصد) در تیمار کنترل در روز سی‌ام و کمترین مقدار (۰/۰۱±۰/۱۵ درصد) در تیمار کنترل در روز اول مشاهده شد. میزان اسیدهای چرب آزاد با افزایش زمان نگهداری تا روز ۳۰ روند صعودی داشت. کاهش نهایی چربی در نمونه‌های اندازه‌گیری شده احتمالاً به دلیل اکسیداسیون چربی و تأثیر موثر فساد هیدرولیتیکی چربی و تبدیل آن به اسید های چرب آزاد می‌باشد. در پژوهش‌های پیشین اشاره شده است که افزودن عصاره‌های گیاهی به ماهی می‌تواند باعث کنترل روند افزایشی اسیدهای چرب آزاد در ماهی شود [۸۱ و ۸۲]. در مطالعه پیشین گزارش شده توانایی مهار رادیکال‌های آزاد یا کلاته‌کردن یون‌های فلزی توسط

۳-۸- اسید چرب FFA

در بررسی اسید چرب (جدول ۶) تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در همه دوره‌ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). مقدار این فاکتور با گذشت زمان (۱ تا ۳۰ روز) در تمامی تیمارها روند افزایشی داشت. همچنین بین میزان اسید چرب نمونه‌های تهیه شده در هر روز تفاوت معنی داری وجود داشت ($p \leq 0.05$). در روز تولید با افزایش مقدار عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار اسید چرب افزایش یافت. در سایر روزها با افزایش مقدار عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار اسید چرب روند متغیر داشت. بیشترین مقدار

ترکیبات فنلی عصاره‌ها را دلیل اثربخشی آن‌ها در کنترل اسیدهای چرب آزاد در ماهی تیمارشده با عصاره‌ی فنلی جلبک دریایی اعلام کردند.

Table 6. Fatty acid results of fish coated with rice bran fiber-based basil stem color indicator.

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
Film C	0.015 ± 0.001 ^{Dd}	2.43 ± 0.05 ^{Ac}	3.87 ± 0.05 ^{Bb}	5.27 ± 0.5 ^{Aa}
Film 1	1.32 ± 0.05 ^{Cd}	1.82 ± 0.05 ^{Bc}	2.37 ± 0.05 ^{Db}	4.65 ± 0.5 ^{ABa}
Film 2	1.45 ± 0.05 ^{Bb}	1.78 ± 0.05 ^{Bb}	3.98 ± 0.05 ^{Aa}	4.21 ± 0.5 ^{Ba}
Film 3	1.72 ± 0.05 ^{Ac}	1.81 ± 0.05 ^{Bc}	3.65 ± 0.05 ^{Cb}	4.54 ± 0.5 ^{ABa}

The results are presented in the form of average standard deviation for each of the treatments, all the experiments were done in three repetitions. In each column, the values with different uppercase letters and in each row the values with different lowercase letters have a significant difference at the 5% level. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

۹-۳-تری‌متیل‌آمین، پروتئین، ازت فرار تام

در بررسی تری‌متیل‌آمین (جدول ۷) تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در همه دوره‌ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). مقدار این فاکتور با گذشت زمان (۱ تا ۳۰ روز) در تیمار کنترل روند متغیر داشت. اما در سایر تیمارها، میزان تری‌متیل‌آمین در روز دهم کاهش و پس از آن افزایش یافت. همچنین بین میزان تری‌متیل‌آمین نمونه‌های تهیه‌شده در هر روز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p \leq 0.05$). در روز تولید با افزایش مقدار عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، میزان تری‌متیل‌آمین به طور معنی‌داری افزایش یافته است ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار 3.31 ± 0.05 میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در تیمار حاوی ۴ درصد آنتوسیانین ساقه ریحان در روز سی‌ام و کمترین مقدار 0.03 ± 0.01 میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در تیمار حاوی ۶ درصد آنتوسیانین ساقه ریحان در روز دهم مشاهده شد.

بین مقدار پروتئین (جدول ۸) در تیمار کنترل و تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در طول مدت زمان نگهداری، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p \leq 0.05$). اما در تیمار حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار پروتئین در روز دهم به طور معنی‌داری کمتر از سایر روزها می‌باشد ($p \leq 0.05$). در تیمار حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار پروتئین

در روزهای اول و سی‌ام، به طور معنی‌داری کمتر از سایر روزها می‌باشد ($p \leq 0.05$). همچنین بین مقدار پروتئین نمونه‌های تهیه‌شده در روزهای اول، بیستم و سی‌ام تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار 19.15 ± 0.05 درصد) و کمترین مقدار 22.1 ± 0.05 درصد) در تیمار حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان به ترتیب در روزهای بیستم و سی‌ام مشاهده شد. در بررسی ازت فرار تام (جدول ۹) تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در همه دوره‌ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). مقدار این فاکتور با گذشت زمان (۱ تا ۳۰ روز) در تمامی تیمارها نسبت به روز تولید روند افزایشی داشت. در روز تولید با افزایش مقدار عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، مقدار ازت فرار تام کاهش یافت، ولی اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده نشد ($p \leq 0.05$). بین ازت فرار تام نمونه‌های تهیه‌شده در روزهای تولید، دهم و بیستم تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($p \leq 0.05$). در روز سی‌ام اختلاف معنی‌داری بین تیمارها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار 14.0 ± 0.05 میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در تیمار حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در روز سی‌ام و کمترین مقدار 11.04 ± 0.05 میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم) در تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در روز دهم مشاهده شد. و به طور موثری، تولید بازهای فرار

معنی دار عصاره های مختلف گیاهی در کنترل شاخص کل نیتروژن بازی فرار محصولات دریایی اشاره شده است این داده ها مشابه یافته های مطالعات قبلی است، به این معنی که آزمایش نتایج محکمی را نشان می دهد [۸۵، ۸۶ و ۸۷]. تری-متیل آمین بخش قابل توجهی از کل نیتروژن بازی فرار را تشکیل می دهد. تری-متیل آمین و اکسید تری متیل آمین با پاتوژن بیماری های غیرواگیر از جمله تصلب شرایین، سرطان ها و دیابت مرتبط هستند [۸۸].

نیتروژن را کنترل می کند دامنه وسیعی از ترکیبات پایه ای فرار از جمله آمونیاک، متیل آمین، دی-متیل آمین، تری-متیل آمین و دیگر ترکیبات مشابه که در اثر فعالیت های میکروبی و آنزیمی تولید می شوند، تحت عنوان کل نیتروژن بازی فرار جهت نشان دادن فساد گوشت مورد استفاده قرار می گیرد [۸۳ و ۸۴]. شکل ۶ روند کل نیتروژن بازی فرار و تغییر رنگ سنسورهای فیلم حاوی نشانگر آنتوسیانین ساقه ریحان را نشان می دهد. در پژوهش های دیگری نیز، به اثر مثبت و

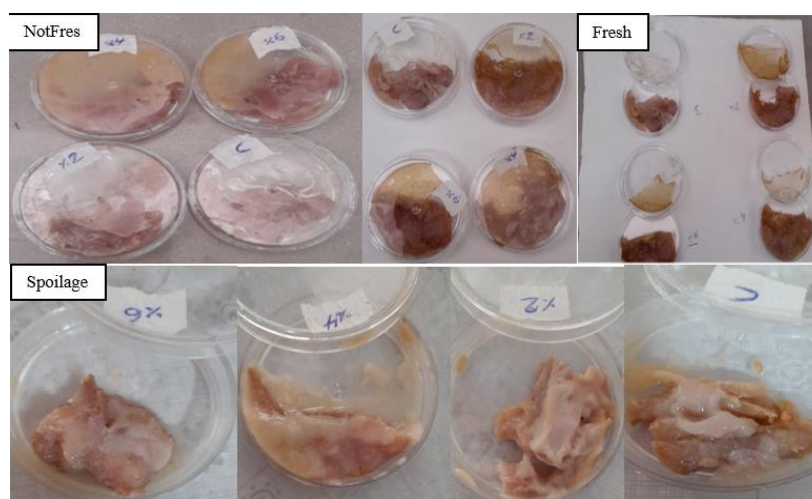


Figure 6. Color change of anthocyanin indicator extracted from basil stem on the freshness of lionfish (*Siganus commersonii*) at 4°C

کاداورین، اسپرمین، اسپرمیدین، تیرامین، تریپتامین) را در سطوح نسبتاً پایین محدود کرد [۸۹]. تغییرات شیمیایی مشابهی در ماهی ها پس از مرگ مشاهده شده است. تاخیر و همکاران (۲۰۲۲) در پژوهشی اثرات مثبت آنتوسیانین را بر روی گوشت و استفاده آنها به عنوان نشانگر و مهار اثرات منفی گزارش شده [۹۰]، که با مطالعات حاضر مطابقت دارد.

یافته های این مطالعه با نتایج هیو و همکاران (۲۰۲۳) که مهار اکسیداسیون لیپید، تخریب پروتئین و تجمع آمین بیوژنیک در ماهی پس از مرگ با لایه های لعاب عملکردی پلیمر زیستی اصلاح شده را مطالعه کردند، مشخص کرد که ذخیره سازی لعاب، تغییر درجه فساد منعکس شده پپتیدهای محلول و کل نیتروژن بازی فرار را مهار کرد. لعاب همچنین محتویات بیوژنیک آمین های اصلی (هیستامین، پوترسین،

Table 7. The results of trimethylamine changes of fish coated with a film containing basil stem color marker based on rice bran fiber

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
Control	0.59 ± 0.05 Cb	1.15 ± 0.02 Bc	0.71 ± 0.05 Da	0.06 ± 0.01 Dd
Film 1	2.43 ± 0.05 Bb	0.25 ± 0.02 Ad	1.65 ± 0.05 Cc	2.54 ± 0.05 Ca
Film2	2.34 ± 0.05 Bb	0.12 ± 0.02 Bd	2.24 ± 0.05 Bc	3.31 ± 0.05 Aa
Film3	2.56 ± 0.05 Ab	0.03 ± 0.01 Cc	2.54 ± 0.05 Ab	2.97 ± 0.05 Ba

The results are presented in the form of average standard deviation for each of the treatments, all the experiments were done in three repetitions. In each column, the values with different uppercase letters and in each row the values with different lowercase letters have a significant difference at the 5% level. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm

Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

Table 8. The results of protein changes of fish coated with a film containing basil stem color marker based on rice bran fiber

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
Film C	20.32 ± 1.00 ^{Aa}	21.34 ± 1.00 ^{ABa}	20.74 ± 1.00 ^{Aa}	20.54 ± 1.00 ^{Aa}
Film 1	21.32 ± 1.00 ^{Aa}	19.32 ± 1.00 ^{Cb}	21.47 ± 1.00 ^{Aa}	21.16 ± 1.00 ^{Aa}
Film 2	20.32 ± 1.00 ^{Ab}	22.34 ± 1.00 ^{Aa}	22.43 ± 1.00 ^{Aa}	19.15 ± 0.5 ^{Ab}
Film 3	20.16 ± 1.00 ^{Aa}	20.45 ± 1.00 ^{BCa}	21.27 ± 1.00 ^{Aa}	20.47 ± 1.00 ^{Aa}

The results are presented in the form of average standard deviation for each of the treatments, all the experiments were done in three repetitions. In each column, the values with different uppercase letters and in each row the values with different lowercase letters have a significant difference at the 5% level. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

Table 9. The results of changes in volatile nitrogen of whole fish coated with a film containing basil stem color marker based on rice bran fiber

Treatment	Day 1	Day10	Day20	Day30
Film C	11.01 ± 0.5	11.3 ± 0.5 ^{Ab}	14.45 ± 0.5 ^{Ab}	12.43 ± 0.5 ^{BCa}
Film 1	11.06 ± 0.5 ^{Ac}	11.2 ± 0.5 ^{Ac}	12.65 ± 0.5 ^{Ab}	14.81 ± 0.5 ^{Aa}
Film 2	11.06 ± 0.5 ^{Ac}	11.11 ± 0.5 ^{Ac}	12.24 ± 0.5 ^{Ab}	13.5 ± 0.5 ^{Ba}
Film 3	11.06 ± 0.5 ^{Ab}	11.04 ± 0.5 ^{Ab}	12.32 ± 0.5 ^{Aa}	13.09 ± 0.5 ^{Ca}

The results are presented in the form of average standard deviation for each of the treatments, all the experiments were done in three repetitions. In each column, the values with different uppercase letters and in each row the values with different lowercase letters have a significant difference at the 5% level. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

گروه فنیل در ساختارش به راحتی به صورت رادیکال درآمده

و در واقع منبع رادیکال آزاد می باشد [۹۱]. طبق شکل (۷)

در بررسی میزان آنتی اکسیدان تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در همه دوره ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). مقدار این فاکتور با گذشت زمان (۱ تا ۳۰ روز) در تیمار حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان روند متغیر داشت. اما در تیمار کنترل و تیمارهای حاوی ۲۰۰ پی پی ام عصاره و ۶۰۰ پی پی ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان، میزان آنتی اکسیدان در روز دهم افزایش و پس از آن کاهش یافته است. همچنین بین میزان آنتی اکسیدان نمونه های تهیه شده در هر روز تفاوت معنی داری وجود داشت ($p \leq 0.05$). در تمامی روزها با افزایش مقدار آنتوسیانین ساقه

۱۰-۳- بررسی نتایج خصوصیات آنتی اکسیدانی نمونه -

های ماهی

بررسی نتایج میزان آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی کامپوزیت های فیلم نقش مهمی در بسته بندی مواد غذایی ایفا می کند استفاده از ترکیبات آنتی - اکسیدانی طبیعی در خود ماده غذایی و همچنین در بسته بندی مواد غذایی موجب افزایش قابلیت نگهداری مواد غذایی می شود. در ادامه اثر آنتی اکسیدانی با استفاده از روش اندازه - گیری کاهش ظرفیت رادیکالی به کمک رادیکال ۲.۲ - دی فنیل - ۱ - پیکریل هیدرازیل DPPH مورد ارزیابی قرار گرفت. DPPH ترکیبی است بنفش رنگ که به دلیل حضور

بر پایه فیبر سبوس برنج بر حفظ مقدار بیشتری از ترکیبات نانومولسیون‌های آنتوسیانین ساقه ریحان نسبت به مقدار کمتر از ترکیبات نانومولسیون‌های آنتوسیانین ساقه ریحان طی دوره نگهداری نمونه مشاهده شد. نتایج نشان داد در شرایط آزمایشگاهی قدرت آنتی‌اکسیدانی با محتوای فنولیک کل رابطه مستقیم دارد [۹۲ و ۹۳].

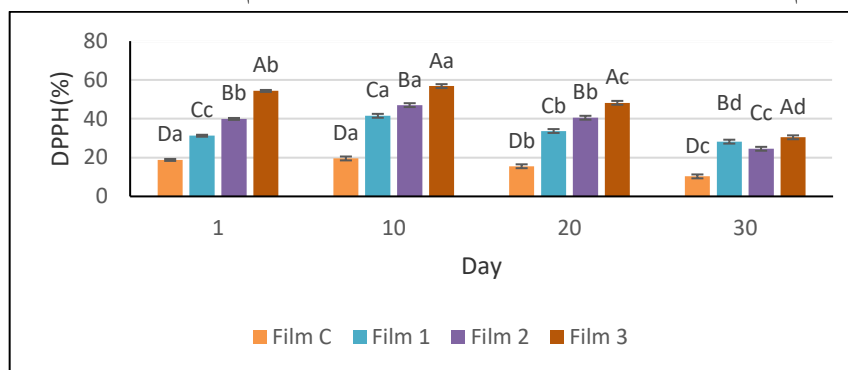


Figure 7. Comparison of antioxidant changes of fish coated with a film containing basil stem color marker based on rice bran fiber. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton %+ 75 g Double distilled water)

مقدار (0.74 ± 0.50) درصد) در تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در روز اول مشاهده شد. تیوباربیتوریک اسید به عنوان شاخص میزان اکسیداسیون ثانویه چربی مورد استفاده قرار می‌گیرد. که طی این مرحله، پراکسیدها به موادی مثل آلدئیدها و کتون‌ها اکسید می‌شوند. ترکیبات زیست فعال عصاره‌ی ساقه ریحان (مانند فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی و آنتوسیانین‌ها) به طور مؤثری می‌توانند اکسایش چربی در فیله‌ی ماهی را به تأخیر بیندازند [۹۵ و ۹۶]. مطالعه‌ی از بهرامی فریدونی و خادم شیرمستی (۲۰۲۰) تاثیر عصاره چای ترش نانوکپسوله‌شده (*L. Hibiscus sabdariffa*) با کربوکسی‌متیل سلولز بر کیفیت و ماندگاری ناگت مرغ سپس مقادیر نیتروژن کل فرار، اسید تیوباربیتوریک در تیمارهای نگهداری شده در یخچال به مدت ۹ روز مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که عصاره چای ترش خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و پوشش عصاره باعث افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی آن به عنوان قطعه حاوی ۱۰۰ پی‌پی‌ام عصاره چای ترش نانوکپسوله شده با

ریحان، میزان آنتی‌اکسیدان افزایش یافته است. بیشترین مقدار $(83/00 \pm 56/1)$ درصد) در تیمار حاوی ۶۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان در روز دهم و کمترین مقدار $(50/32 \pm 10/0)$ درصد) در تیمار کنترل در روز سی‌ام مشاهده شد. تفاوت معنی‌دار در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اثر مثبت پوشش‌دهی ماهی، از فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان

۱۱-۳- بررسی تغییرات تیوباربیتوریک اسید

مالون‌دی‌آلدئید به وجود آمده در اثر اکسیداسیون می‌تواند با سایر ترکیبات فیله ماهی نظیر نوکلوتیک اسید، فسفولپیدها، نوکلئوتیدها، پروتئین‌ها، آمینواسیدها و سایر ترکیبات آلدئیدی وارد واکنش گردد. افزایش شاخص تیوباربیتوریک اسید در طول ذخیره‌سازی به اکسیداسیون لیپید، تولید متابولیت‌های فرار و هیدروژناسیون بافت نسبت داده می‌شود [۶۱ و ۹۴]. در بررسی تیوباربیتوریک اسید در شکل ۸ تفاوت معناداری بین نتایج حاصل از تیمارها در همه دوره‌ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). مقدار این فاکتور با گذشت زمان (۱ تا ۳۰ روز) در تمامی تیمارها روند افزایشی داشت. همچنین بین تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های تهیه‌شده در هر روز تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($p \leq 0.05$). در روز تولید مقدار تیوباربیتوریک اسید در تیمارهای حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج، به طور معنی‌داری کمتر از تیمار کنترل می‌باشد ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار $(76/50 \pm 6/0)$ درصد) در تیمار کنترل در روز سی‌ام و کمترین

کربوکسی متیل سلولز می‌تواند به عنوان یک نگهدارنده طبیعی در گوشت و فرآورده‌های گوشتی و دریایی استفاده شود [۲۹].

کربوکسی متیل سلولز باعث تاخیر در فساد اکسیداتیو و تغییرات ارگانولپتیک ناگت مرغ شد. بنابراین به نظر می‌رسد که عصاره آنتوسیانین ساقه ریحان نانوکپسوله شده با

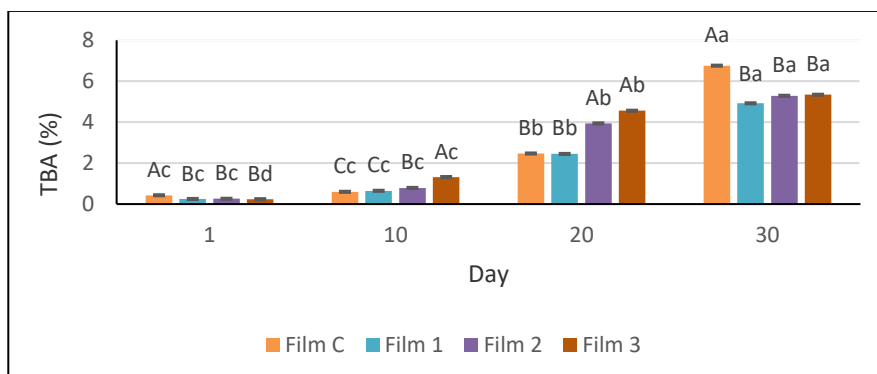


Figure 8. Comparison of changes in thiobarbitic acid of fish coated with a film containing basil stem color marker based on rice bran fiber. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol +10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water)

۱ تا ۳۰ روز است. پیک‌های مربوط به خمش‌های خارج

۱۲-۳-طیف‌سنجی FTIR

طیف‌سنجی FTIR ماهی پوشش داده شده حاوی اندیکاتور آنتوسیانین از فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج در محدوده ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ بر سانتی متر در شکل ۹ نشان داده شده است. پیک‌های در محدوده طول موج‌های ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ بر سانتی متر نشان دهنده پیوندهای OH در کربوکسیلیک اسید و پیوندهای کششی آزاد OH است. ارتعاشات کششی OH پیوندهای هیدروژنی بین یا درون مولکولی را نشان می‌دهد پیک‌های طول موج‌های ۲۸۰۰ تا ۳۰۰۰ بر سانتی متر مربوط به NCH- و CH_2- ارتعاشات خمشی و کششی آلکان‌ها و آلکن‌ها هستند. باندهای معمولی اختصاص داده شده به سلولز در ناحیه طول موج‌های ۹۰۰ تا ۱۶۳۰ بر سانتی متر قابل مشاهده است. باند جذبی در محدوده طول موج ۸۹۷ بر سانتی متر مربوط به پیوندهای اتری واحدهای گلوکز در سلولز است. پهنای باند در محدوده طول موج‌های ۳۰۰۰ تا ۳۵۰۰ بر سانتی متر به کشش ارتعاشی گروه‌های هیدروکسیل مربوط می‌شود که نشان‌دهنده احتباس آب و توانایی پیوند هیدروژنی در پلی-ساکاریدها است و مانع از افزایش فساد ماهی در طول دوره

صفحه‌ای پیوندهای H-C در حلقه‌های بنزنی در طول موج ۷۲۲ بر سانتی متر با ارتعاشات خارج از صفحه‌ای H-N نشان دهنده نانومولسیون ترکیبات فیبر سبوس برنج از آنتوسیانین ساقه ریحان است [۵ و ۹۷]. علاوه بر این، گزارش شده است که محدوده طول موج‌های ۱۶۰۰ تا ۱۷۰۰ بر سانتی متر به منطقه طیفی آمید و همچنین به ساختار ثانویه پروتئین‌ها اختصاص داده شده است که عمدتاً نتیجه کشش پیوندها در C=O ساختارهای پپتیدی است. پیک‌های دیگر در طول موج‌های ۱۰۲۰، ۱۲۳۸ و ۲۹۳۲ بر سانتی متر ممکن است به پیوندهای تک کربن-هیدروژن و کربن-اکسیژن نسبت داده شوند. پیک در محدوده در طول موج ۱۰۳۱ بر سانتی متر نیز به پیوند ارتعاشی کششی ساختار C-O-C نسبت داده می‌شود [۴۰]. طبق نمودارهای گروه‌های عاملی در ماهی‌های پوشش داده شده از اندیکاتور از فیلم حاوی نشانگر رنگی ساقه ریحان بر پایه فیبر سبوس برنج نشان می‌دهد که در روز صفر حذف کربنیل در آنتوسیانین ساقه ریحان و پهن شدن باند هیدروکسیل OH کمی اسیدی‌تر شدن محیط است اما در نواحی طول موج کم سیستم حالت اسیدی‌تر گرفته است. علاوه بر این، خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره آنتوسیانین ساقه

ریحان و ترکیبات فنلی مانند کارواکرول، تیمول و مشتقات متیل اتر، از شروع واکنش های زنجیره ای رادیکال های آزاد جلوگیری می کند و در نتیجه کاهش می یابد [۹۸ و ۹۹].

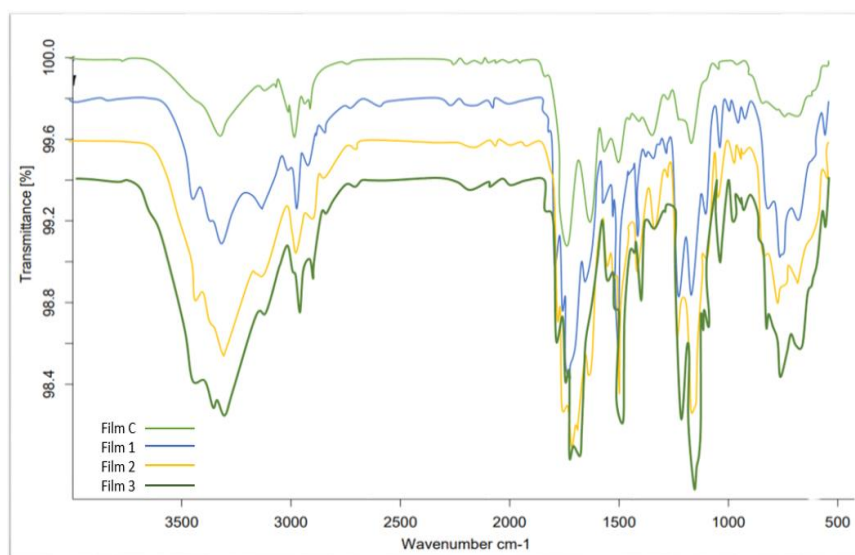


Figure 9. Spectrometry FTIR of coated fish containing anthocyanin indicator from the film containing basil stem color indicator based on rice bran fiber. (Film C (control): 0.2 gr of CMC + 0.75% Glycerol + 75 gr double distilled water, Film 1: Rice bran fiber 100ppm+ 200ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC + 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 2: Rice bran fiber 100ppm+ 400ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water, Film 3: Rice bran fiber 100ppm+ 600ppm Basil stem anthocyanin extract encapsulated+ 0.2 g CMC+ 0.75 % Glycerol+ 10 Stock cmc souton % + 75 g Double distilled water)

افزایش ماندگاری در بازه زمانی زیر ده روز تفاوت

چشمگیری با نمونه شاهد نداشت. فیلم خوراکی بر پایه فیبر سبوس گندم همراه با آنتوسیانین ساقه ریحان تهیه شده از نظر رنگ ظاهری شفاف و میزان قابل قبولی از استحکام کششی، میزان حلایت و رطوبت بالایی داشت. بنابراین می-تواند مواد غذایی را بپوشاند و ماندگاری آنها را افزایش دهد. فعالیت آنتی اکسیدانی فیلم با ترکیب آنتوسیانین ساقه ریحان به صورت معناداری نسبت به کنترل افزایش داشت. فیلم های زیست تخریب پذیر مبتنی بر ترکیب آنتوسیانین ساقه ریحان می توانند به عنوان یک ماده بسته بندی مطمئن با قابلیت مهار رادیکال آزاد در مواد غذایی مورد بهره برداری قرار گیرند. استفاده از بسته بندی های هوشمند که شامل نشانگرهای رنگی بر پایه عصاره های طبیعی (مانند آنتوسیانین ها از ساقه ریحان) هستند، می تواند یک راهکار مؤثر برای پایش کیفیت و فساد ماهی شیر باشد. این نشانگرها به طور دقیق و سریع تغییرات کیفیت را نشان می دهند و

۴- نتیجه گیری

عصاره آنتوسیانین از ساقه ریحان استخراج شده دارای مقادیر مناسبی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و آنتوسیانینی است و به همین دلیل دارای خاصیت ضد اکسایشی است. ضمن اینکه این ترکیبات فنلی می توانند خاصیت ضد میکروبی نیز از خود نشان دهند. استفاده از این عصاره موجب بهبود ماندگاری فیله های ماهی شیر شد. همانطور که مشخص است شاخص-های مختلف زمان ماندگاری متفاوتی را برای ماهی نشان می دهند. همین امر نشان می دهد تکیه بر یک شاخص کیفی برای تشخیص سلامت و کیفیت ماهی چندان نمی تواند اطمینان بخش باشد. اندازه گیری هم زمان شاخص شیمیایی (به ویژه تیوباریتوریک اسید و بازهای نیتروژنی فرار کل) در کنار برآورد کیفیت میکروبی می تواند دید تقریباً مناسبی از کیفیت و سلامت ماهی ارائه کند. در مجموع، اگرچه تیمار حاوی عصاره نانومولسیون عصاره آنتوسیانین بیشترین ماندگاری را برای فیله ماهی شیر به ارمغان آورد اما این

کنند. استفاده از عصاره‌های طبیعی در نشانگرها، ایمنی و سلامت مصرف‌کنندگان را تضمین می‌کند و به کاهش استفاده از مواد شیمیایی مضره کمک می‌کند. با به کارگیری این نوع بسته‌بندی، می‌توان عمر مفید محصولات دریایی را افزایش داد و ضایعات غذایی را کاهش داد.

می‌توانند به مصرف‌کنندگان و توزیع‌کنندگان کمک کنند تا از وضعیت تازه بودن محصول مطلع شوند. نشانگرهای رنگی می‌توانند به سرعت تغییر رنگ دهند و نشان‌دهنده فساد یا کاهش کیفیت ماهی باشند. این امر به مصرف‌کنندگان کمک می‌کند تا از خرید محصولات با کیفیت پایین جلوگیری

ه-منابع

- [1] Hoolihan, J.P., Anandh, P., Herwerden, L.V. (2006). Mitochondrial DNA analysis of narrow barred Spanish ackerel (*Scomberomorus commerson*) suggests a single genetic stock in the ROPME sea area (Arabian Gulf, Gulf of Oman and Arabian Sea). *ICES Journal of Marine Science.*, 63, 1066 - 1074.
- [2] Arora, M., Mangipudi, P., & Dutta, M. K. (2022). A low-cost imaging framework for freshness evaluation from multifocal fish tissues. *Journal of Food Engineering.*, 314, 110777.
- [3] Omwange, K. A., Saito, Y., Zichen, H., Khaliduzzaman, A., Kuramoto, M., Ogawa, Y., Kondo, N., & Suzuki, T. (2021). Evaluating Japanese dace (*Tribolodon hakonensis*) fish freshness during storage using multispectral images from visible and UV excited fluorescence. *LWT.*, 151, 112207.
- [4] Tongnuanchan, P., Benjakul, S., & Prodpran, T. (2014). Comparative studies on properties and antioxidative activity of fish skin gelatin films incorporated with essential oils from various sources. *International Aquatic Research.*, 6, 1-12.
- [5] Ghiasi, F., Golmakani, M.-T., Eskandari, M. H., & Hosseini, S. M. H. (2020). A new approach in the hydrophobic modification of polysaccharide-based edible films using structured oil nanoparticles. *Industrial Crops and Products.*, 154, 112679.
- [6] Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research.*
- [7] Chandrasekhar, J., Madhusudhan, M., & Raghavarao, K. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and bioproducts processing.*, 90(4), 615-623.
- [8] Andrade, J. K. S., Denadai, M., de Oliveira, C. S., Nunes, M. L., & Narain, N. (2017). Evaluation of bioactive compounds potential and antioxidant activity of brown, green and red propolis from Brazilian northeast region. *Food Research International.*, 101, 129-138.
- [9] Ravindran, R., & Jaiswal, A. K. (2016). Exploitation of food industry waste for high-value products. *Trends in biotechnology.*, 34(1), 58-69.
- [10] Despoudi, S., Bucatariu, C., Otles, S., & Kartal, C. (2021). Food waste management, valorization, and sustainability in the food industry. In *Food waste recovery* (pp. 3-19). Elsevier.
- [11] Fernandes, F., Pereira, E., Cirić, A., Soković, M., Calhelha, R. C., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2019). *Ocimum basilicum* var. *purpurascens* leaves (red rubin basil): A source of bioactive compounds and natural pigments for the food industry. *Food & Function.*, 10(6), 3161-3171.
- [12] Shahrajabian, M. H., Sun, W., & Cheng, Q. (2020). Chemical components and pharmacological benefits of Basil (*Ocimum basilicum*): A review. *International Journal of Food Properties.*, 23(1), 1961-1970.
- [13] Gul, K., Yousuf, B., Singh, A., Singh, P., & Wani, A. A. (2015). Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food—A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre.*, 6(1), 24-30.
- [14] Sharif, M. K., Butt, M. S., Anjum, F. M., & Khan, S. H. (2014). Rice bran: a novel functional ingredient. *Critical reviews in food science and nutrition.*, 54(6), 807-816.
- [15] Aswathanarayan, J. B., & Vittal, R. R. (2019). Nanoemulsions and their potential applications in food industry. *Frontiers in Sustainable Food Systems.*, 3, 95.
- [16] Ozogul, Y., Karsli, G. T., Durmuş, M., Yazgan, H., Oztop, H. M., McClements, D. J., & Ozogul, F. (2022). Recent developments in industrial applications of nanoemulsions. *Advances in Colloid and Interface Science.*, 304., 102685.
- [17] Musso, Y. S., Salgado, P. R., & Mauri, A. N. (2019). Smart gelatin films prepared using red cabbage (*Brassica oleracea* L.) extracts as solvent. *Food Hydrocolloids.*, 89, 674-681.
- [18] Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A.-M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate polymers.*, 238, 116178.
- [19] López-Torres, J., Hernández-Caba, K., Cervantes-Ganoza, L., Ladera-Castañeda, M., Martínez-Campos, R., Solís-Dante, F., Briceño-Vergel, G., & Cayo-Rojas, C. (2023). Microleakage of Class II Bulk-Fill Resin Composite Restorations Cured with Light-Emitting Diode versus Quartz Tungsten-Halogen Light: An In Vitro Study in Human Teeth. *Biomedicines*, 11(2), 556.
- [20] Jiang, G., Hou, X., Zeng, X., Zhang, C., Wu, H., Shen, G., Li, S., Luo, Q., Li, M., & Liu, X. (2020).

- Preparation and characterization of indicator films from carboxymethyl-cellulose/starch and purple sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) lam) anthocyanins for monitoring fish freshness. *International journal of biological macromolecules.*, 143, 359-372.
- [21] Wen, Y., Niu, M., Zhang, B., Zhao, S., & Xiong, S. (2017). Structural characteristics and functional properties of rice bran dietary fiber modified by enzymatic and enzyme-micronization treatments. *LWT.*, 75, 344-351.
- [22] Liu, Y., Zhang, H., Yi, C., Quan, K., & Lin, B. (2021). Chemical composition, structure, physicochemical and functional properties of rice bran dietary fiber modified by cellulase treatment. *Food Chemistry.*, 342, 128352.
- [23] Kim, J. E., Kim, S. M., Lee, K. Y., Kim, K. D., Lee, J. H., Jang, E. H., & Ham, J. G. (2022). Genetic Characteristics and Anthocyanin Content of Basil (*Ocimum basilicum* L.). *Proceedings of the Korean Society of Crop Science Conference*,
- [24] Ahmed, A. F., Attia, F. A., Liu, Z., Li, C., Wei, J., & Kang, W. (2019). Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Food Science and Human Wellness*, 8(3), 299-305.
- [25] Teofilović, B., Grujić-Letić, N., Goločorbin-Kon, S., Stojanović, S., Vastag, G., & Gadžurić, S. (2017). Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. *Industrial Crops and Products*, 100, 176-182.
- [26] Guan, Q., & Wang, M. (2021). Core-shell structured theranostics. *Nano Life*, 11(04), 214100. 4.
- [27] Yang, Y., Yu, X., Zhu, Y., Zeng, Y., Fang, C., Liu, Y., Hu, S., Ge, Y., & Jiang, W. (2022). Preparation and application of a colorimetric film based on sodium alginate/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with rose anthocyanins. *Food Chemistry.*, 393, 133342.
- [28] Liu, D., Cui, Z., Shang, M., & Zhong, Y. (2021). A colorimetric film based on polyvinyl alcohol/sodium carboxymethyl cellulose incorporated with red cabbage anthocyanin for monitoring pork freshness. *Food Packaging and Shelf Life.*, 28, 100641.
- [29] Bahrami Feridoni, S., & Khademi Shurmasti, D. (2020). Effect of the nanoencapsulated sour tea (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract with carboxymethylcellulose on quality and shelf life of chicken nugget. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3704-3715.
- [30] Tabari, M. (2018). Characterization of a new biodegradable edible film based on Sago Starch loaded with Carboxymethyl Cellulose nanoparticles. *Nanomedicine Research Journal.*, 3(1), 25-30.
- [31] Silva, O. A., Pellá, M. G., Pellá, M. G., Caetano, J., Simões, M. R., Bittencourt, P. R., & Dragunski, D. C. (2019). Synthesis and characterization of a low solubility edible film based on native cassava starch. *International journal of biological macromolecules.*, 128, 290-296.
- [32] Acevedo-Fani, A., Salvia-Trujillo, L., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2015). Modulating biopolymer electrical charge to optimize the assembly of edible multilayer nanofilms by the layer-by-layer technique. *Biomacromolecules*, 16(9), 2895-2903.
- [33] Zhao, R., Guan, W., Zhou, X., Lao, M., & Cai, L. (2022). The physiochemical and preservation properties of anthocyanidin/chitosan nanocomposite-based edible films containing cinnamon-perilla essential oil pickering nanoemulsions. *LWT.*, 153, 112506.
- [34] Umaraw, P., Munekata, P. E., Verma, A. K., Barba, F. J., Singh, V., Kumar, P., & Lorenzo, J. M. (2020). Edible films/coating with tailored properties for active packaging of meat, fish and derived products. *Trends in Food Science & Technology.*, 98, 10-24.
- [35] Ekrami, M., Roshani-Dehlaghi, N., Ekrami, A., Shakouri, M., & Emam-Djomeh, Z. (2022). pH-Responsive Color Indicator of Saffron (*Crocus sativus* L.) Anthocyanin-Activated Salep Mucilage Edible Film for Real-Time Monitoring of Fish Fillet Freshness. *Chemistry*, 4(4), 1360-1381.
- [36] Wang, P., Liu, J., Zhuang, Y., & Fei, P. (2022). Acylating blueberry anthocyanins with fatty acids: Improvement of their lipid solubility and antioxidant activities. *Food Chemistry: X.*, 100420, 15.
- [37] Homayounpour, P., Shariatifar, N., & Alizadeh-Sani, M. (2021). Development of nanochitosan-based active packaging films containing free and nanoliposome caraway (*Carum carvi* L.) seed extract. *Food Science & Nutrition*, 9(1), 553-563.
- [38] Pabast, M., Shariatifar, N., Beikzadeh, S., & Jahed, G. (2018). Effects of chitosan coatings incorporating with free or nano-encapsulated Satureja plant essential oil on quality characteristics of lamb meat. *Food Control.*, 91, 185-192.
- [39] Johnson, J. B., El Orche, A., & Naiker, M. (2022). Prediction of anthocyanin content and variety in plum extracts using ATR-FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vibrational Spectroscopy.*, 121, 103406.
- [40] Khezerlou, A., Alizadeh Sani, M., Tavassoli, M., Abedi-Firoozjah, R., Ehsani, A., & McClements, D. J. (2023). Halochromic (pH-Responsive) indicators based on natural anthocyanins for monitoring fish freshness/spoilage. *Journal of Composites Science.*, 143, (4), 7.
- [41] Nogueira, G. F., Meneghetti, B. B., Soares, I. H. B. T., Soares, C. T., Bevilacqua, G., Fakhouri, F. M., & de Oliveira, R. A. (2024). Multipurpose arrowroot starch films with anthocyanin-rich grape pomace extract: Color migration for food simulants and monitoring the freshness of fish meat. *International journal of biological macromolecules*, 265, 130934.
- [42] Koshy, R. R., Reghunadhan, A., Mary, S. K., Thomas, K., Ajish, K., Thomas, S., & Pothen, L. A.

- (2022). Intelligent pH-sensitive films from whole arrowroot powder and soy protein isolate incorporating red cabbage anthocyanin: Monitoring freshness of shrimps and ammonia in fish farming ponds. *New Journal of Chemistry*, 46(19), 9036-9047
- [43] Tena, N., Martín, J., & Asuero, A. G. (2020). State of the art of anthocyanins: Antioxidant activity, sources, bioavailability, and therapeutic effect in human health. *Antioxidants*, 9(5), 451.
- [44] Garcia, C., & Blesso, C. N. (2021). Antioxidant properties of anthocyanins and their mechanism of action in atherosclerosis. *Free Radical Biology and Medicine*, 172, 152-166.
- [45] Flanagan, P. M., & Niemeyer, E. D. (2014). Effect of cultivar on phenolic levels, anthocyanin composition, and antioxidant properties in purple basil (*Ocimum basilicum* L.). *Food Chemistry*, 164, 518-526.
- [46] Chua, L. S., Abd Wahab, N. S., & Soo, J. (2023). Water soluble phenolics, flavonoids and anthocyanins extracted from jaboticaba berries using maceration with ultrasonic pretreatment. *Food Chemistry Advances*, 3, 100387.
- [47] Boulekbache-Makhlouf, L., Medouni, L., Medouni-Adrar, S., Arkoub, L., & Madani, K. (2013). Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidant activity of the byproduct of eggplant. *Industrial Crops and Products*, 49, 668-674.
- [48] Peanparkdee, M., Patrawart, J., & Iwamoto, S. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity of bran extracts from Thai rice cultivars. *Journal of cereal science*, 86, 86-91.
- [49] Wang, W., Jung, J., Tomasino, E., & Zhao, Y. (2016). Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. *LWT-Food Science and Technology*, 72, 229-238.
- [50] Samad, M. A., Hashim, S. H., Simarani, K., & Yaacob, J. S. (2016). Antibacterial properties and effects of fruit chilling and extract storage on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of four date palm (*Phoenix dactylifera*) cultivars. *Molecules*, 21(4), 419.
- [51] Bendokas, V., Stanys, V., Mažeikienė, I., Trumbeckaitė, S., Baniene, R., & Liobikas, J. (2020). Anthocyanins: From the Field to the Antioxidants in the Body. *Antioxidants*, 9(9), 819.
- [52] Turturică, M., Oancea, A. M., Răpeanu, G., & Bahrim, G. (2015). Anthocyanins: Naturally occurring fruit pigments with functional properties. *The Annals of the University Dunarea De Jos of Galati. Fascicle VI-Food Technology*, 39(1), 9-24.
- [53] Gahrui, H. H., Mirzapour, A., Ghiasi, F., Eskandari, M. H., Moosavi-Nasab, M., & Hosseini, S. M. H. (2022). Development and characterization of gelatin and Persian gum composite edible films through complex coacervation. *LWT*, 153, 112422.
- [54] Farooq, S., Shah, M. A., Siddiqui, M. W., Dar, B., Mir, S. A., & Ali, A. (2020). Recent trends in extraction techniques of anthocyanins from plant materials. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 3508-3519.
- [55] Bhushan, B., Bibwe, B., Pal, A., Mahawar, M. K., Dagla, M. C., Yathish, K., Jat, B. S., Kumar, P., Aggarwal, S. K., & Singh, A. (2023). FTIR spectra, antioxidant capacity and degradation kinetics of maize anthocyanin extract under variable process conditions. *Applied Food Research*, 3(1), 100282.
- [56] Türker, D. A., & Doğan, M. (2021). Application of deep eutectic solvents as a green and biodegradable media for extraction of anthocyanin from black carrots. *LWT*, 138, 110775.
- [58] Shi, S., Xu, X., Feng, J., Ren, Y., Bai, X., & Xia, X. (2023). Preparation of NH₃-and H₂S-sensitive intelligent pH indicator film from sodium alginate/black soybean seed coat anthocyanins and its use in monitoring meat freshness. *Food Packaging and Shelf Life*, 35, 100994.
- [59] Zhang, H., Li, S., Zheng, H., Han, Z., Lin, B., Wang, Y., Guo, X., Zhou, T., Zhang, H., & Wu, J. (2022). A visual color response test paper for the detection of hydrogen sulfide gas in the air. *Molecules*, 28(13), 5044.
- [60] Ameri, M., Ajji, A., & Kessler, S. (2024). Characterization of a Food-Safe Colorimetric Indicator Based on Black Rice Anthocyanin/PET Films for Visual Analysis of Fish Spoilage. *Packaging Technology and Science*.
- [61] Ranjbar, M., Tabrizi, M. H. A., Asadi, G., & Ahari, H. (2023). Investigating the microbial properties of sodium alginate/chitosan edible film containing red beetroot anthocyanin extract for smart packaging in chicken fillet as a pH indicator. *Heliyon*, 9(8).
- [62] Bitencourt, C. M., Fávaro-Trindade, C. S., Sobral, P. J. d. A., & Carvalho, R. A. d. (2014). Gelatin-based films additivated with curcuma ethanol extract: Antioxidant activity and physical properties of films. *Food Hydrocolloids*, 40, 145-152.
- [63] Rawdkuen, S., Faseha, A., Benjakul, S., & Kaewprachu, P. (2020). Application of anthocyanin as a color indicator in gelatin films. *Food Bioscience*, 36, 100603.
- [64] Erna, K. H., Felicia, W. X. L., Vonnice, J. M., Rovina, K., Yin, K. W., & Nur'Aqilah, M. N. (2022). Synthesis and physicochemical characterization of polymer film-based anthocyanin and starch. *Biosensors*, 12(4), 211.
- [65] Wang, S., Marcone, M., Barbut, S., & Lim, L. T. (2012). The impact of anthocyanin-rich red raspberry extract (ARRE) on the properties of edible soy protein isolate (SPI) films. *Journal of Food Science*, 77(4), C497-C505.
- [66] Yong, H., & Liu, J. (2020). Recent advances in the preparation, physical and functional properties, and applications of anthocyanins-based active and

- intelligent packaging films. *Food Packaging and Shelf Life*, 26, 100550.
- [67] Shivangi, S., Dorairaj, D., Negi, P. S., & Shetty, N. P. (2021). Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocolloids*, 1107046, 21.
- [68] Stoll, L., Costa, T. M. H., Jablonski, A., Flôres, S. H., & de Oliveira Rios, A. (2016). Microencapsulation of anthocyanins with different wall materials and its application in active biodegradable films. *Food and Bioprocess Technology*, 9, 172-181.
- [69] Roy, S., Kim, H.-J., & Rhim, J.-W. (2021). Effect of blended colorants of anthocyanin and shikonin on carboxymethyl cellulose/agar-based smart packaging film. *International journal of biological macromolecules*, 183, 305-315.
- [70] Cheng, M., Yan, X., Cui, Y., Han, M., Wang, Y., Wang, J., Zhang, R., & Wang, X. (2022). Characterization and release kinetics study of active packaging films based on modified starch and red cabbage anthocyanin extract. *Polymers*, 14(6), 1214.
- [71] Zhang, X., Liu, Y., Yong, H., Qin, Y., Liu, J., & Liu, J. (2019). Development of multifunctional food packaging films based on chitosan, TiO₂ nanoparticles and anthocyanin-rich black plum peel extract. *Food Hydrocolloids*, 94, 80-92.
- [72] de Oliveira Filho, J. G., Braga, A. R. C., de Oliveira, B. R., Gomes, F. P., Moreira, V. L., Pereira, V. A. C., & Egea, M. B. (2021). The potential of anthocyanins in smart, active, and bioactive eco-friendly polymer-based films: A review. *Food Research International*, 142, 110202.
- [73] Yan, J., Zhang, H., Yuan, M., Qin, Y., & Chen, H. (2022). Effects of anthocyanin-rich *Kadsura coccinea* extract on the physical, antioxidant, and pH-sensitive properties of biodegradable film. *Food Biophysics*, 17(3), 375-385.
- [74] Sohany, M., Tawakkal, I. S. M. A., Ariffin, S. H., Shah, N. N. A. K., & Yusof, Y. A. (2021). Characterization of anthocyanin associated purple sweet potato starch and peel-based pH indicator films. *Foods*, 10(9), 2005.
- [75] Merz, B., Capello, C., Leandro, G. C., Moritz, D. E., Monteiro, A. R., & Valencia, G. A. (2020). A novel colorimetric indicator film based on chitosan, polyvinyl alcohol and anthocyanins from jambolan (*Syzygium cumini*) fruit for monitoring shrimp freshness. *International journal of biological macromolecules*, 153, 625-632.
- [76] Capello, C., Trevisol, T. C., Pelicoli, J., Terrazas, M. B., Monteiro, A. R., & Valencia, G. A. (2021). Preparation and characterization of colorimetric indicator films based on chitosan/polyvinyl alcohol and anthocyanins from agri-food wastes. *Journal of Polymers and the Environment*, 29, 1616-1629.
- [77] Etxabide, A., Maté, J. I., & Kilmartin, P. A. (2021). Effect of curcumin, betanin and anthocyanin containing colourants addition on gelatin films properties for intelligent films development. *Food Hydrocolloids*, 115, 106593.
- [78] Bojorges, H., Rios-Corripio, M., Hernández-Cázares, A. S., Hidalgo-Contreras, J. V., & Contreras-Oliva, A. (2020). Effect of the application of an edible film with turmeric (*Curcuma longa* L.) on the oxidative stability of meat. *Food Science & Nutrition*, 8(8), 4308-4319.
- [79] Marrone, R., Smaldone, G., Ambrosio, R. L., Festa, R., Ceruso, M., Chianese, A., & Anastasio, A. (2021). Effect of beetroot (*Beta vulgaris*) extract on Black Angus burgers shelf life. *Italian Journal of Food Safety*, 10(1).
- [80] You, P., Wang, L., Zhou, N., Yang, Y., & Pang, J. (2022). A pH-intelligent response fish packaging film: Konjac glucomannan/carboxymethyl cellulose/blackcurrant anthocyanin antibacterial composite film. *International journal of biological macromolecules*, 204, 386-396.
- [81] Ganiari, S., Choulitoudi, E., & Oreopoulou, V. (2017). Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. *Trends in Food Science & Technology*, 68, 70-82.
- [82] Vlčko, T., Rathod, N. B., Kulawik, P., Ozogul, Y., & Ozogul, F. (2022). The impact of aromatic plant-derived bioactive compounds on seafood quality and safety. In *Advances in food and nutrition research* (Vol. 102, pp. 275-339). Elsevier.
- [83] Huang, S., Xiong, Y., Zou, Y., Dong, Q., Ding, F., Liu, X., & Li, H. (2019). A novel colorimetric indicator based on agar incorporated with *Arnebia euchroma* root extracts for monitoring fish freshness. *Food Hydrocolloids*, 90, 198-205.
- [84] You, S., Zhang, X., Wang, Y., Jin, Y., Wei, M., & Wang, X. (2022). Development of highly stable color indicator films based on κ -carrageenan, silver nanoparticle and red grape skin anthocyanin for marine fish freshness assessment. *International journal of biological macromolecules*, 216, 655-669.
- [85] Ghorbani, M., Divsalar, E., Molaei, R., Ezati, P., Moradi, M., Tajik, H., & Abbaszadeh, M. (2021). A halochromic indicator based on polylactic acid and anthocyanins for visual freshness monitoring of minced meat, chicken fillet, shrimp, and fish roe. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 74, 102864.
- [86] Zhai, X., Zou, X., Shi, J., Huang, X., Sun, Z., Li, Z., Sun, Y., Li, Y., Wang, X., & Holmes, M. (2020). Amine-responsive bilayer films with improved illumination stability and electrochemical writing property for visual monitoring of meat spoilage. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 302, 127130.
- [87] Sun, Y., Wen, J., Chen, Z., Qiu, S., Wang, Y., Yin, E., Li, H., & Liu, X. (2022). Non-destructive and rapid method for monitoring fish freshness of grass

carp based on printable colorimetric paper sensor in modified atmosphere packaging. *Food Analytical Methods.*, 1-11.

[88] Bekhit, A. E. D. A., Giteru, S. G., Holman, B. W., & Hopkins, D. L. (2021). Total volatile basic nitrogen and trimethylamine in muscle foods: Potential formation pathways and effects on human health. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.*, 20(4), 3620-3666.

[89] Hui, X., Wan, Y., Dong, H., Peng, J., Wu, W., Yang, X., & He, Q. (2023). A promising insight into the inhibition of lipid oxidation, protein degradation and biogenic amine accumulation in postmortem fish: Functional glazing layers of modified bio-polymer. *LWT.*, 177, 114575.

[90] Tahir, H. E., Hashim, S. B., Mahunu, G. K., Arslan, M., Jiyong, S., Mariod, A. A., Zhang, J., El-Seedi, H. R., Zhai, X., & Musa, T. H. (2022). Smart films fabricated from natural pigments for measurement of total volatile basic nitrogen (TVB-N) content of meat for freshness evaluation: A systematic review. *Food Chemistry.*, 396, 133674.

[91] Arun, R., Shruthy, R., Preetha, R., & Sreejit, V. (2022). Biodegradable nano composite reinforced with cellulose nano fiber from coconut industry waste for replacing synthetic plastic food packaging. *Chemosphere.*, 291, 132786.

[92] Chaiyasut, C., Sivamaruthi, B. S., Pengkumsri, N., Sirilun, S., Peerajan, S., Chaiyasut, K., & Kesika, P. (2016). Anthocyanin profile and its antioxidant activity of widely used fruits, vegetables, and flowers in Thailand. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research.*, 9(6), 218-224.

[93] Mary, S. K., Koshy, R. R., Daniel, J., Koshy, J. T., Pothan, L. A., & Thomas, S. (2020). Development of starch based intelligent films by incorporating anthocyanins of butterfly pea flower and TiO₂ and their applicability as freshness sensors for prawns during storage. *RSC advances.*, 10(65), 39822-39830.

[94] Kanatt, S. R. (2020). Development of active/intelligent food packaging film containing Amaranthus leaf extract for shelf life extension of chicken/fish during chilled storage. *Food Packaging and Shelf Life.*, 24, 100506.

[95] Hosseini, S. F., Ghaderi, J., & Gómez-Guillén, M. C. (2022). Tailoring physico-mechanical and antimicrobial/antioxidant properties of biopolymeric films by cinnamaldehyde-loaded chitosan nanoparticles and their application in packaging of fresh rainbow trout fillets. *Food Hydrocolloids.*, 124, 107249.

[96] Yin, S., Zhang, Y., Zhang, X., Tao, K., & Li, G. (2023). High-strength collagen/delphinidin film incorporated with Vaccinium oxycoccus pigment for active and intelligent food packaging. *Collagen and Leather.*, 5(1), 11.

[97] Łupina, K., Kowalczyk, D., Zięba, E., Kazimierczak, W., Mężyńska, M., Basiura-Cembala, M., & Wiącek, A. E. (2019). Edible films made from

blends of gelatin and polysaccharide-based emulsifiers-A comparative study. *Food Hydrocolloids.*, 96, 555-567.

[98] Tavakoli, S., Mubango, E., Tian, L., Ndri, Y. B., Tan, Y., Hong, H., & Luo, Y. (2023). Novel intelligent films containing anthocyanin and phycocyanin for nondestructively tracing fish spoilage. *Food Chemistry.*, 402, 134203.

[99] Zeng, F., Ye, Y., Liu, J., & Fei, P. (2023). Intelligent pH indicator composite film based on pectin/chitosan incorporated with black rice anthocyanins for meat freshness monitoring. *Food Chemistry.*, X, 17, 100531.



Scientific Research

Investigating The Performance Of The Film Containing Basil Stem Color Indicator Based On Rice Bran Fiber To Monitor The Spoilage Of Lion Fish (*Siganus commersonnii*)

Sedigheh Yazdanpanah^{1*}, Akbar Rostamifard²

1- Associate Professor, Department of Food Science and Industry, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

2- Master's degree student in the Department of Food Sciences and Industries , Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/8/3 Accepted:2024/12/22 Keywords: Color marker, Edible film, Spoilage monitoring DOI: 10.22034/FSCT.22.159.169. *Corresponding Author E- yazdanpanah2004@gmail.com	The production this trend, the aim of this research is to design a sensor containing a basil stem color indicator based on rice bran fiber to determine the quality of lionfish (<i>Siganus commersonnii</i>) kept for 1-30 days at refrigerator temperature. In this study, a factorial design was used to evaluate the effects of control treatments, 200 ppm, 400 ppm and 600 ppm. The results of scanning electron microscopy showed that basil stem anthocyanin extract causes changes in polymer chains and reduces film matrix porosity. Anthocyanin with many hydroxy groups as a plasticizer increased the free volume and inter-polymeric macromolecular mobility due to the reduction of intermolecular forces and lower density, and as a result improved the stretchability and flexibility of the layers. In addition, the chemical properties (pH, thiobarbituric acid and nitrogen compounds) for all samples increased with increasing storage time up to 30 days. In FTIR spectroscopy, it was observed that on day zero, life of lionfish fillets. Basil stem anthocyanin extract and rice bran fiber can be used as a suitable indicator the removal of carbonyl in anthocyanin extract of basil stem increased the hydroxyl band and acidified the environment. Antioxidant properties of basil stem anthocyanin extract in the presence of phenolic compounds have prevented the initiation of free radical chain reactions and reduced it. The film containing the color indicator of anthocyanin extract of basil stem based on rice bran fiber has the potential to increase the quality and shelf to investigate changes in spoilage in packaged food products.



سم زدایی فلزات سنگین توسط باکتری‌های پروبیوتیک: بررسی تاثیر دما، زمان و نوع باکتری بر میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم با استفاده از روش سطح پاسخ

سید محمد باقر هاشمی^{۱*}، شیما کاوه^۲، علی پورکریمی^۳

۱-دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

۲-دانش آموخته‌ی دکتری شیمی مواد غذایی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.

۳-استادیار بخش مهندسی عمران، دانشکده مهندسی، دانشگاه فسا، فسا، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۶/۲۱

کلمات کلیدی:

باکتری‌های اسید لاکتیک،

سرب،

جذب زیستی،

فلزات سنگین،

کادمیوم

آلودگی در مناطق صنعتی به دلیل رهائش فلزات سنگین یکی از نگرانی‌های مهم زیست محیطی است. فلزات سنگین می‌توانند تأثیرات بسیار نامطلوبی بر سلامت انسان و حیوانات داشته باشند. در این راستا همچنین محصولات غذایی آلوده به فلزات سنگین حتی در غلظت‌های کم، می‌توانند اثرات مضر را بر سلامتی انسان داشته باشند. در این راستا استفاده از میکروارگانیسم‌ها به عنوان روشی جدید و کم هزینه جهت حذف بیولوژیکی فلزات شناخته شده است. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر نوع میکروارگانیسم (باکتری‌های *Lactobacillus*، *Lactiplantibacillus paraplantarum* و *paragasseri* و *Limosilactobacillus reuteri*) مورد استفاده، دما و زمان انکوباسیون بر میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم با استفاده از روش سطح پاسخ بود. نتایج نشان داد که میزان حذف فلز سرب با استفاده از میکروارگانیسم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از کادمیوم بود. و افزایش زمان از ۰ تا ۲۴ ساعت به طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلزات گشت. افزایش دما تا حدود ۳۸ درجه تأثیری مثبت بر میزان حذف فلزات داشت اما افزایش بیشتر دما از توانایی میکروارگانیسم‌ها جهت حذف فلزات کاست. به‌طور کلی نرم افزار شرایط بهینه جهت دستیابی به بیشترین میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به ترتیب به میزان ۴۵/۹ و ۳۹/۶۵ درصد را زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت و دمای ۳۳/۹۸ درجه سانتی گراد با استفاده از باکتری *Lactobacillus paragasseri* تعیین کرد. بنابراین با توجه به نتایج این پژوهش استفاده از میکروارگانیسم‌ها همچون *Lactobacillus paragasseri* راهکاری مفید جهت حذف فلزات سنگین از منابع مختلفی همچون پساب‌های صنعتی می‌باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.195.

* مسئول مکاتبات:

hasshemii@gmail.com

۱-مقدمه

توسعه سریع صنایع و شهرنشینی به ویژه در کشورهای در حال توسعه باعث افزایش چشمگیر میزان در معرض قرار گرفتن انسان‌ها به فلزات سنگین شده است. مطالعات نشان داده است که تماس با سطوح بالای فلزات سنگین اندام‌ها و سیستم‌های مختلف بدن از جمله کلیه‌ها، کبد، سیستم عصبی مرکزی و سیستم تولید مثل آسیب‌های شدیدی وارد می‌کند [۱]. تاکنون بیش از ۲۰ نوع فلزات سنگین شناسایی شده‌اند که در میان آنها کادمیوم (Cd)، سرب (Pb) و آرسنیک (As) به عنوان خطرناک‌ترین عناصر معرفی شده‌اند [۲]. بر اساس مدت زمان، در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین عمدتاً به سه گروه حاد (۱-۱۴ روز)، متوسط (۳۵۴-۱۵ روز) و مزمن (۳۶۵۴ روز) تقسیم بندی می‌شوند. در مقایسه با مسمومیت حاد با فلزات سنگین که معمولاً توسط تماس با پوست، استنشاق مقادیر زیادی بخار حاوی فلزات سنگین یا استفاده نادرست از دارو در مدت زمان کوتاه ایجاد می‌شود، مسمومیت مزمن با فلزات سنگین ناشی از در معرض قرار گرفتن فلزات سنگین به صورت نامحسوس روزانه از طریق غذا، آب، هوا یا پوست ایجاد می‌شود که یک تهدید جدی برای سلامت عمومی است [۳]. به‌طور کلی اثرات نامطلوب فلزات سنگین شامل سرکوب سیستم ایمنی، سرطان زایی، اختلال در سیستم عصبی به‌ویژه در کودکان و مهار فعالیت برخی از آنزیم‌های حیاتی مربوط به سنتز مولکول‌های زیستی می‌شود [۴]. به‌منظور حذف فلزات سنگین روش‌های مختلفی ارائه شده است از جمله فرآیند اکسیداسیون احیاء شیمیایی، فرآیند جذب، و بازیابی الکترولیتی، اما کاربرد گسترده این روش‌ها به‌دلیل هزینه‌های سنگین و یا عدم سازگاری با محیط زیست با محدودیت مواجه است [۵]. در دهه ۱۹۹۰، حوزه جدیدی جهت بازیابی و حذف فلزات سنگین با استفاده از روش‌های بیولوژیکی به‌عنوان روشی کم هزینه معرفی شد [۶]. در این روش از میکروارگانیسم‌ها یا زیست توده‌های آنها جهت جذب فلزات

سنگین استفاده می‌شود [۷]. جذب فلزات توسط میکروارگانیسم‌ها به‌دلیل وجود مولکول‌های حاوی گروه عاملی هیدروکسیل و کربوکسیلیک در سطوح باکتری‌ها می‌باشد که توانایی برقراری اتصال شیمیایی با فلزات سنگین را دارند که در نتیجه باعث جذب و ترسیب فلزات می‌شود [۸]. مطالعات نشان داده است که فلزات سنگین از طریق سه مکانیسم (۱) اتصال به پتیدوگلیکان‌ها و اسیدهای تیکوئیک با واکنش‌های تبادل یونی، (۲) ترسیب از طریق واکنش‌های هسته‌ای و (۳) تشکیل کمپلکس با لیگاندهای نیتروژن و اکسیژن [۹]. مطالعات نشان داده است که جذب کادمیوم و سرب از محلول‌های آبی بسیار سریع می‌باشد، بنابراین مکانیسم اتصال غیر فعال فلزات به سطح باکتری در مقایسه با تجمع داخل سلولی به‌عنوان مکانیسم اصلی پیشنهاد شده است [۱۰]. در بسیاری از مطالعات، کارایی مناسب برخی از پروبیوتیک‌ها مانند گونه‌های *Bifidobacterium*، *Lactiplantibacillus paraplantarum*، *Lactobacillus Limosilactobacillus reuteri* و *paragasseri* و برخی از مخمرها جهت سم زدایی و یا از بین بردن فلزات سنگین گزارش شده است [۱۱-۱۳]. در این راستا مطالعات زیادی جهت ارزیابی توانایی باکتری‌های اسید لاکتیک جهت حذف فلزات سنگین انجام شده است. به‌عنوان مثال Kirillova و همکاران (۲۰۱۷) با ارزیابی تاثیر نوع باکتری اسید لاکتیک جهت حذف کادمیوم گزارش دادند که *L. fermentum* 3-3 و *L. plantarum* B-578 به ترتیب قادر به حذف ۱۶ و ۱۲ درصد کادمیوم بودند درحالیکه باکتری‌های *L. brevis* 20054، *L. buchneri* 20057 و *L. rhamnosus* I2L قادر به حذف کادمیوم نبودند [۱۳]. در این راستا گزارش شده است که میزان حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها به عوامل مختلفی از جمله گونه‌ی مورد استفاده، دما و pH بستگی دارد [۱۴]. بنابراین تنظیم شرایط بهینه جهت دستیابی به حداکثر میزان بازدهی

از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا روش سطح پاسخ (RSM)، روشی مناسب برای بهینه سازی فرآیندهای پیچیده می‌باشد که به صورت موفقیت آمیزی برای بهینه‌سازی فرآیندهای صنایع غذایی استفاده می‌گردد. RSM شامل فرآیندهای آماری و ریاضی می‌باشد که می‌توان از آن برای بررسی یک یا چند متغیر وابسته و مستقل استفاده نمود، این روش اثر متغیرهای مستقل را به تنهایی و یا به صورت ترکیبی در فرآیند نشان می‌دهد و با ایجاد یک مدل ریاضی به صورت دقیق فرآیند را تفسیر می‌کند [۱۵].

بنابراین هدف از این پژوهش بررسی تاثیر نوع میکروارگانیسم مورد استفاده (باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum* PTCC 1965، *Lactobacillus paragasseri* PTCC 1897 و *Limosilactobacillus reuteri* PTCC 1655)، دما و زمان انکوباسیون بر میزان حذف فلزات کادمیوم و سرب به روش سطح پاسخ بود.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- سویه های میکروبی

باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum* PTCC 1965، *Lactobacillus paragasseri* PTCC 1897 و *Limosilactobacillus reuteri* PTCC 1655 از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی در شهر تهران (استان تهران، ایران) خریداری شدند. سویه های میکروبی در محیط کشت MRS طبق دستورالعمل مرکز فعال شدند. پس از فعال سازی، سلول های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ (Hettich، آلمان) در $3000 \times g$ و دمای ۴ درجه سانتی گراد و زمان ۱۰ دقیقه از محیط کشت جدا شدند. تعداد اولیه سلول ها در محلول نرمال سالین استریل شده رقیق شدند [۱۶].

۲-۲- تست جذب زیستی

محلول های استوک سرب و کادمیوم با حل کردن $Pb(NO_3)_2$ و $Cd(NO_3)_2$ در آب مقطر تهیه شد تا غلظت آن به ۱۰۰۰ میلی گرم در لیتر برسد و متعاقباً به غلظت های

هدف رقیق شد. pH در ۴/۵ توسط HCl (0.1 M) و $NaOH$ (0.1 M) تنظیم شد. سوسپانسیون باکتریایی ($\log$ ۷ CFU/mL) به طور جداگانه به ارلن های حاوی سرب و کادمیوم اضافه شد و پس از آن انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد، ۳۷ درجه سانتی گراد و ۴۴ درجه سانتی گراد در ۱۵۰ دور در دقیقه انجام شد. نمونه برداری هر ۴ ساعت انجام شد. نمونه های شاهد نمونه هایی بودند که فاقد باکتری بودند. در زمان نمونه برداری، سانتریفیوژ در $3000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و پس از جداسازی مایع رویی، فیلتر کردن با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴۲ انجام شد. غلظت باقیمانده فلزات با جذب اتمی (AA500؛ PG Instruments، انگلستان) تعیین شد [۱۷].

۳-۲- تجزیه و تحلیل آماری

بهینه سازی شرایط حذف فلزات سنگین کادمیوم و سرب در قالب طرح مرکب مرکزی و با استفاده از نرم افزار Design expert نسخه ۷ و روش سطح پاسخ انجام گرفت. متغیرهای دما، زمان و نوع باکتری مورد استفاده به عنوان متغیرهای مستقل و میزان حذف فلزات کادمیوم و سرب به عنوان متغیرهای وابسته در نظر گرفته شدند و اثر هر یک از این متغیرهای مستقل روی متغیرهای وابسته جهت تعیین شرایط جهت دستیابی به بیشینه مقدار حذف فلزات سنگین بررسی شد.

۳-نتایج و بحث

۳-۱- میزان حذف سرب

با توجه به جدول ۱ آنالیز سطح پاسخ نشان داد که اثر متغیرهای دما (A)، زمان (B)، نوع گونه باکتری (C)، A^2 ، B^2 ، C^2 ، AB و BC معنی دار و در این میان متغیرهای AB و BC تاثیر معنی داری کمتری نسبت به سایر متغیرها از خود نشان دادند ($p < 0.05$). ضریب رگرسیون معادله $R^2 = 0.97$ می باشد که نشان می دهد مدل توانسته ۹۷ درصد از کل تغییرات در دامنه مقادیر مورد مطالعه را پیش بینی کند

معادله ۲

$$\text{Pb removal by } Lactobacillus \text{ paragasseri} = (-14.87 + 0.65 B + 0.81 A - 0.0034 AB - 0.011 B^2 - 0.0106 A^2)^2 - 0.06$$

معادله ۳

$$\text{Pb removal by } Limosilatobacillus \text{ reuteri} = (-14.73 + 0.66 B + 0.81 A - 0.0034 AB - 0.011 B^2 - 0.0106 A^2)^2 - 0.06$$

و مدلی مناسب برای پیش بینی اثر متغیرهای فرآیند بر پاسخ مورد نظر است. رابطه‌ی میزان حذف سرب با پارامترهای واکنش از نوع درجه دوم می‌باشد که با توجه به نوع باکتری مورد استفاده از معادلات ۱-۳ تبعیت می‌کند.

معادله ۱

$$\text{Pb removal by } Lactiplantibacillus \text{ paraplantarum} = (-9.82 + 0.62 B + 0.68 A - 0.0034 AB - 0.0112 B^2 - 0.0106 A^2)^2 - 0.06$$

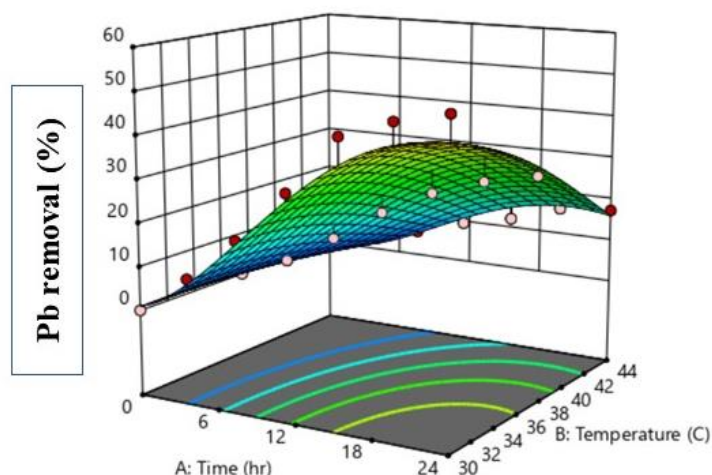
Table 1- Analysis of variance for Pb removal

	Sum of squares	df	F-value	p-value
Model	292.66	11	188.74	< 0.0001
A-Time	240.37	1	1705.16	< 0.0001
B-Temperature	7.63	1	54.12	< 0.0001
C-Strain	4.82	2	17.08	< 0.0001
AB	1.58	1	11.21	0.0015
AC	1.51	2	5.35	0.0078
BC	8.43	2	29.92	< 0.0001
A ²	24.53	1	174.04	< 0.0001
B ²	3.79	1	26.89	< 0.0001

انکوباسیون از ۰ تا ۲۴ ساعت به‌طور معنی‌داری باعث افزایش میزان حذف سرب شد. از طرف دیگر در زمان‌های ثابت، افزایش دمای انکوباسیون از ۳۰ تا حدود ۳۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تا ۴۴ درجه سانتی‌گراد تاثیر منفی داشت. به‌طور کلی بیشترین میزان حذف سرب (۴۴/۹ درصد) در دمای ۳۰/۱۴ درجه سانتی‌گراد و زمان ۲۳/۷۱ ساعت حاصل شد.

۳-۲- بررسی تاثیر زمان، دما، نوع باکتری بر میزان حذف سرب

همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است با *Lactiplantibacillus paraplantarum* باکتری در دماهای ثابت افزایش زمان

Figure 1- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum*

در شکل ۲ تاثیر زمان و دمای انکوباسیون با باکتری *Lactobacillus paragasseri* بر میزان حذف سرب نشان داده شده است. به طور کلی در دماهای ثابت انکوباسیون افزایش زمان از ۰ تا ۲۴ ساعت به طور قابل توجهی باعث افزایش میزان حذف سرب شد. به طور مثال در دمای ثابت ۳۷ درجه سانتی گراد، افزایش زمان از ۰ تا ۲۴ ساعت باعث افزایش میزان حذف سرب از ۰ تا ۴۵ درصد شد. از طرف

دیگر در زمانهای ثابت، افزای شدمای انکوباسیون تا ۳۸ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تاثیری منفی داشت. به طور کلی بیشترین میزان حذف سرب (۴۵/۹۲ درصد) در دمای ۳۴/۶۱ درجه سانتی گراد و زمان ۲۳/۵ ساعت حاصل شد.

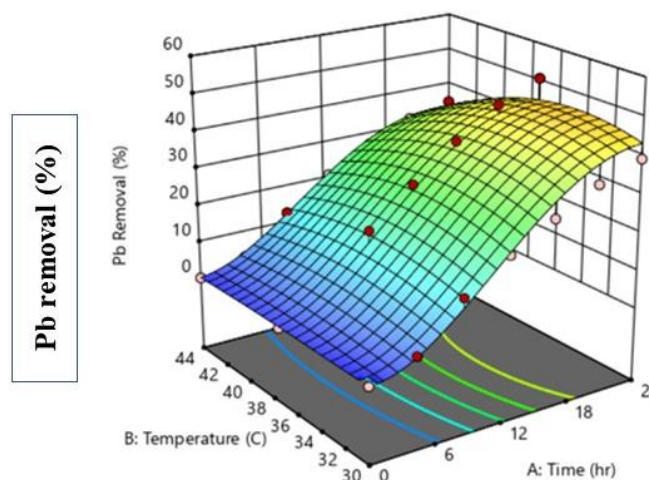


Figure 2- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Lactobacillus paragasseri*

در شکل ۳ تاثیر زمان و دمای انکوباسیون با باکتری *Limosilatobacillus reuteri* بر میزان حذف سرب نشان داده شده است. با توجه به شکل در زمانهای ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا ۳۷/۶ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف سرب شد اما افزایش بیشتر دما تاثیر

منفی داشت. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف سرب شد. بیشترین میزان حذف سرب (۵۱/۱ درصد) در زمان ۲۳/۹۵ ساعت و دمای ۳۴/۵۸ درجه سانتی گراد حاصل شد.

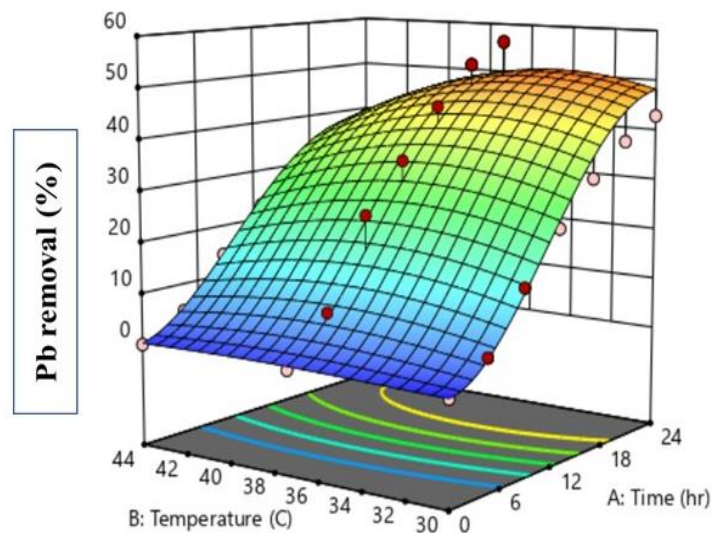


Figure 3- the effect of time and temperature on the Pb removal by *Limosilatobacillus reuteri*

۳-۳- میزان حذف کادمیوم

میزان حذف کادمیوم با پارامترهای واکنش از نوع درجه دوم می‌باشد که با توجه به نوع باکتری مورد استفاده از معادلات ۴-۶ تبعیت می‌کند.

معادله ۴

Cd removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum* = $(-7.99 + 0.5 B + 0.54 A - 0.002 AB - 0.008 B^2 - 0.008 A^2)^2 - 0.06$

معادله ۵

Cd removal by *Lactobacillus paragasseri* = $(-11.5 + 0.53 B + 0.63 A - 0.0028 AB - 0.008 B^2 - 0.008 A^2)^2 - 0.06$

معادله ۶

Cd removal by *Limosilatobacillus reuteri* = $(-11.84 + 0.51 B + 0.65 A - 0.0027 AB - 0.008 B^2 - 0.008 A^2)^2 - 0.06$

با توجه به جدول ۲ آنالیز سطح پاسخ نشان داد که اثر متغیرهای دما (A)، زمان (B)، نوع گونه باکتری (C)، A^2 ، B^2 ، C^2 ، AB و BC معنی‌دار و در این میان متغیرهای AB و C تاثیر معنی‌داری کمتری نسبت به سایر متغیرها از خود نشان دادند ($p < 0.05$). تاثیر متغیر AC بر میزان حذف کادمیوم معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). ضریب رگرسیون معادله $R^2 = 0.97$ بود که حاکی از این امر است که مدل توانسته ۹۷ درصد از کل تغییرات در دامنه متغیرهای مورد بررسی مورد را پیش بینی کند و مدلی مناسب برای پیش بینی اثر متغیرهای فرآیند بر پاسخ مورد نظر (حذف کادمیوم) است. رابطه‌ی

Table 2- Analysis of variance for Cd removal

	Sum of squares	df	F-value	p-value
Model	228.32	11	155.54	< 0.0001
A-Time	200.02	1	1498.86	< 0.0001
B-Temperature	5.21	1	39.02	< 0.0001
C-Strain	1.79	2	6.72	0.0026
AB	1.01	1	7.57	0.0082
AC	0.79	2	2.96	0.0606
BC	4.76	2	17.85	< 0.0001
A^2	12.34	1	92.43	< 0.0001
B^2	2.40	1	17.97	< 0.0001

۳-۴- بررسی تاثیر زمان، دما، نوع باکتری بر میزان حذف کادمیوم

در شکل ۴ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Lactiplantibacillus paraplantarum* بر میزان حذف کادمیوم نشان داده شده است. در زمان‌های کمتر از ۶ ساعت، افزایش دما تا ۳۴ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی داشت. در زمان‌های بیشتر از ۶ ساعت، افزایش دما تا حدود

۳۷ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد و افزایش بیشتر دما باعث کاهش درصد حذف کادمیوم توسط باکتری شد. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳۶/۵۱ درصد) در زمان ۲۳/۸۹ ساعت و دمای ۳۰/۱۴ درجه سانتی گراد حاصل شد.

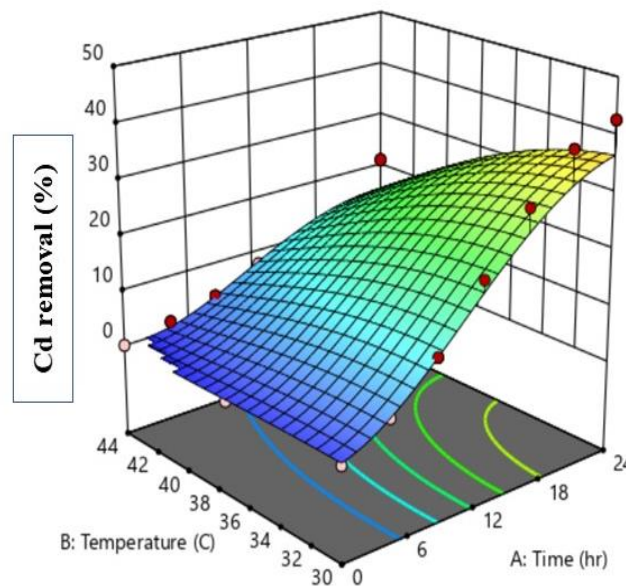


Figure 4- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Lactiplantibacillus paraplantarum*

شکل ۵ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Lactobacillus paragasseri* بر میزان حذف کادمیوم را نشان می‌دهد. در زمان‌های ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا ۳۹ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی داشت و از میزان حذف

کادمیوم کاست. از سوی دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳۹/۴۳ درصد) در زمان ۲۳/۷۱ ساعت و دمای ۳۳/۳۴ درجه سانتی گراد حاصل شد.

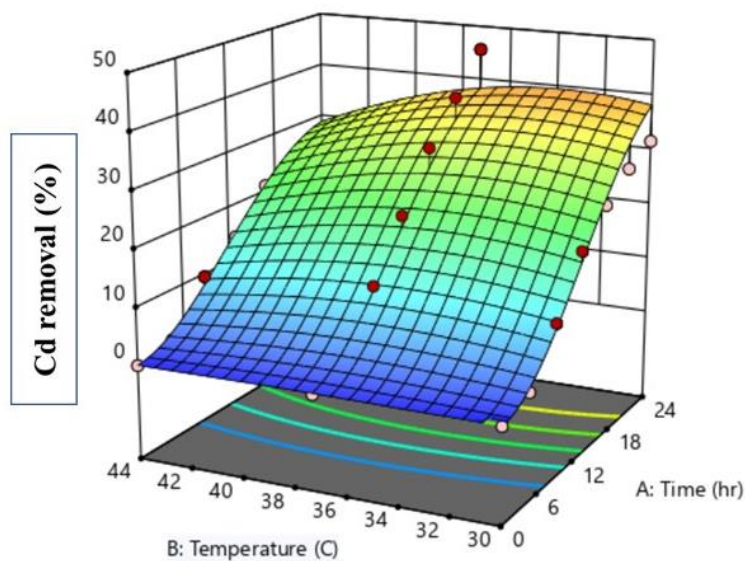


Figure 5- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Lactobacillus paragasseri*

داد و میزان حذف کادمیوم کاهش یافت. از طرف دیگر در دماهای ثابت انکوباسیون، افزایش زمان به طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد. بیشترین میزان حذف کادمیوم (۳۵/۳۵ درصد) در زمان ۲۳/۷۷ ساعت و دمای ۳۵/۴۴ درجه سانتی گراد حاصل شد.

شکل ۶ تاثیر همزمان دما و زمان انکوباسیون با باکتری *Limosilactobacillus reuteri* بر میزان حذف کادمیوم را نشان می‌دهد. در زمان‌های ثابت انکوباسیون، افزایش دما تا حدود ۴۰ درجه سانتی گراد باعث افزایش میزان حذف کادمیوم شد، اما افزایش بیشتر دما تاثیر منفی از خود نشان

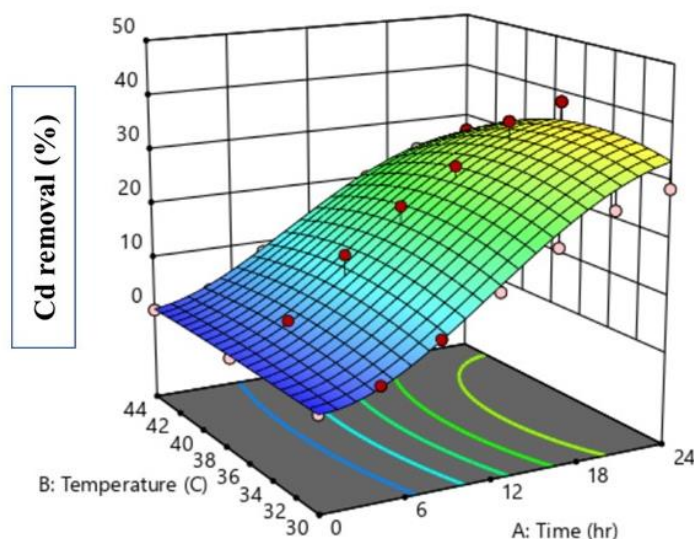


Figure 6- the effect of time and temperature on the Cd removal by *Limosilactobacillus reuteri*

زیستی که نوعی فرآیند وابسته به متابولیسم است که در آن یون‌های فلزی به غشای پلازما نفوذ کرده و در داخل سلول

به طور کلی در راستای حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها دو مکانیسم کلی بیان شده است: ۱) تجمع

تجمع می‌یابند و ۲) جذب زیستی که نوعی فرآیند مستقل از متابولیسم است که در آن یون‌های فلزی به سطح سلول متصل می‌شوند [۱۷]. در این راستا گزارش شده است که مکانیسم‌هایی مانند جذب، تبادل یونی، تشکیل کمپلکس و شلاته کردن می‌توانند در زمینه جذب بیولوژیکی فلزات نقش داشته باشند [۱۳].

همانطور که پیشتر بیان شد، در تمام باکتری‌های مورد ارزیابی، افزایش زمان انکوباسیون به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم شد این امر می‌تواند به دلیل افزایش زمان تماس فلزات با میکروارگانیسم‌ها باشد که فرصت کافی جهت جذب و حذف فلزات را داشته‌اند. مشابه با این نتایج Elsanhoty و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند که افزایش زمان انکوباسیون از ۳۰ تا ۳۰۰ دقیقه به‌طور معنی داری باعث افزایش میزان حذف فلز کادمیوم توسط باکتری های *Lactobacillus acidophilus*، *Lactobacillus rhamnosus*، *Streptococcus thermophiles* و *Lactobacillus plantarium* شد [۱۸]. همچنین Bhakta و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که افزایش زمان انکوباسیون باعث افزایش میزان حذف فلز سرب از طریق جذب بر سطح میکروارگانیسم‌ها شد اما تاثیری بر میزان حذف کادمیوم نداشت [۱۹]. از سوی دیگر Teemu و همکاران (۲۰۰۸) گزارش کردند که زمان انکوباسیون تاثیر معنی‌داری بر میزان حذف فلز کادمیوم توسط میکروارگانیسم‌ها نداشت. این تفاوت در نتایج می‌تواند به دلیل تفاوت در غلظت فلزات موجود در محیط، گونه میکروارگانیسم مورد استفاده و شرایط انکوباسیون باشد [۲۰].

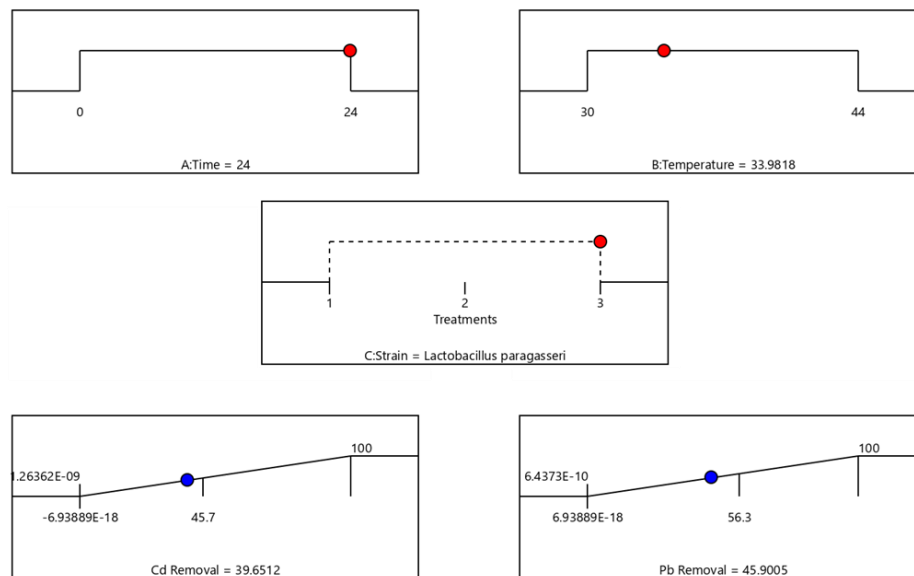
از طرف دیگر افزایش دمای انکوباسیون بیشتر از ۴۰ درجه سانتی گراد به طور معنی‌داری باعث کاهش میزان حذف فلزات سنگین شد. به‌طور کلی بیشترین میزان حذف فلزات در دمای ۴۰-۳۴ درجه سانتی گراد حاصل شد. این یافته

می‌تواند به دلیل اثر تخریبی دما بر میکروارگانیسم‌های مورد ارزیابی باشد که افزایش دما باعث غیر فعال شدن و یا کاهش میزان فعالیت آنها شده است که در نتیجه از توانایی آنها در حذف فلزات موجود در محیط کاسته است. Kim و Cho (۲۰۰۳) گزارش کردند که افزایش دما باعث افزایش حذف فلز کادمیوم توسط شد [۲۱]. به‌طور کلی در این راستا گزارش شده است که میزان حذف فلزات سنگین توسط میکروارگانیسم‌ها به عوامل مختلفی از جمله دما و زمان انکوباسیون، pH و غلظت فلزات بستگی دارد [۲۲].

از طرف دیگر مقایسه میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم نشان داد که به طور کلی میکروارگانیسم‌های مورد ارزیابی توانایی بیشتری در حذف فلز سرب نسبت به کادمیوم داشته‌اند به عبارت دیگر میزان حذف فلز سرب توسط میکروارگانیسم‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر از فلز کادمیوم بود. این امر را می‌توان به دلیل اندازه یونی بزرگ‌تر و وزن اتمی سنگین تر سرب نسبت به کادمیوم نسبت داد که باعث برهمکنش بیشتر آن با اجزای بیولوژیکی (میکروارگانیسم‌ها) می‌گردد [۲۳].

۴- بهینه سازی و ارزیابی اعتبار مدل

پس از آنالیز داده‌ها همانطور که در شکل ۷ نشان داده شده است، نرم افزار شرایط بهینه جهت دستیابی به بیشترین میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به ترتیب به میزان ۴۵/۹ و ۳۹/۶۵ درصد را زمان انکوباسیون ۲۴ ساعت و دمای ۳۳/۹۸ درجه سانتی گراد با استفاده از باکتری *Lactobacillus paragasseri* تعیین کرد. به‌منظور ارزیابی اعتبار مدل، در شرایط ذکر شده میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم به ترتیب ۴۷/۱ و ۳۸/۵۴ درصد بود. این نتایج بیانگر توانایی مناسب مدل در پیش بینی اثر متغیرهای دما، زمان و نوع باکتری بر پاسخ‌های مورد بررسی (میزان حذف فلزات سرب و کادمیوم) می‌باشد.



شکل ۷- شرایط بهینه جهت دستیابی به حداکثر حذف فلزات سرب و کادمیوم

۵- نتیجه گیری

سانتی گراد و زمان ۲۴ ساعت قادر به حذف فلزات سنگین سرب و کادمیوم به ترتیب به میزان ۴۵/۹ و ۳۹/۶۵ درصد بود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از میکروارگانیسم *Lactobacillus paragasseri* تکنیکی ارزان و سازگار با محیط است که به طور قابل توجهی قادر به حذف فلزات سنگین می‌باشد. بنابراین می‌توان از آن به عنوان روشی با بازدهی بالا جهت حذف فلزات سنگین از پساب‌های صنعتی استفاده نمود.

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که باکتری‌های *Lactiplantibacillus paraplantarum*، *Limosilatobacillus* و *Lactobacillus paragasseri*، *reuteri* از توانایی قابل توجهی در حذف فلزات سرب و کادمیوم برخوردارند. استفاده از روش سطح پاسخ به عنوان تکنیکی مناسب جهت بهینه‌سازی فرآیندهای چند متغیری نشان داد که در میان باکتری‌های مورد ارزیابی باکتری *Lactobacillus paragasseri* در دمای ۳۳/۹۸ درجه

۶- منابع

- [1]Bhat, S. A., Hassan, T., & Majid, S. (2019). Heavy metal toxicity and their harmful effects on living organisms—a review. *International Journal of Medical Science And Diagnosis Research*, 3(1), 106-122.
- [2]Flora, S. J. S. (2009). Metal poisoning: threat and management. *Al Ameen J Med Sci*, 2(2), 4-26.
- [3]Lentini, P., Zanolli, L., Granata, A., Signorelli, S. S., Castellino, P., & Dellaquila, R. (2017). Kidney and heavy metals-The role of environmental exposure. *Molecular medicine reports*, 15(5), 3413-3419.
- [4]Paknikar, K. M., Pethkar, A. V., & Puranik, P. R. (2003). Bioremediation of metalliferous wastes and products using inactivated microbial biomass.
- [5]Syed, S., & Chinthala, P. (2015). Heavy metal detoxification by different *Bacillus* species isolated from solar salterns. *Scientifica*, 2015(1), 319760.
- [6]R. H. S. F. Vieira and B. Volesky, "Biosorption: a solution to pollution?" *International Microbiology*, vol. 3, no. 1, pp. 17-24, 2000.
- [7]Yin, K., Wang, Q., Lv, M., & Chen, L. (2019). Microorganism remediation strategies towards heavy metals. *Chemical Engineering Journal*, 360, 1553-1563.

- [8]Chen, R., Tu, H., & Chen, T. (2022). Potential application of living microorganisms in the detoxification of heavy metals. *Foods*, 11(13), 1905.
- [9]Monachese, M., Burton, J. P., & Reid, G. (2012). Bioremediation and tolerance of humans to heavy metals through microbial processes: a potential role for probiotics?. *Applied and environmental microbiology*, 78(18), 6397-6404.
- [10]Halttunen, T., Salminen, S., & Tahvonen, R. (2007). Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 114(1), 30-35.
- [11]Massoud, R., Hadiani, M. R., Hamzehlou, P., & Khosravi-Darani, K. (2019). Bioremediation of heavy metals in food industry: Application of *Saccharomyces cerevisiae*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 37, 56-60.
- [12]Ahmed, S., Islam, M. R., Ferdousi, J., & Iqbal, T. S. (2017). Probiotic *Lactobacillus* sp. with bioremediation potential of toxic heavy metals. *Bangladesh J. Microbiol*, 34(1), 43-6.
- [13]Kirillova, A. V., Danilushkina, A. A., Irisov, D. S., Bruslik, N. L., Fakhrullin, R. F., Zakharov, Y. A., ... & Yarullina, D. R. (2017). Assessment of resistance and bioremediation ability of *Lactobacillus* strains to lead and cadmium. *International journal of microbiology*, 2017(1), 9869145.
- [14]Ibrahim, F., Halttunen, T., Tahvonen, R., & Salminen, S. (2006). Probiotic bacteria as potential detoxification tools: assessing their heavy metal binding isotherms. *Canadian journal of microbiology*, 52(9), 877-885.
- [15]Kaveh, S., Sadeghi, M. A., Ghorbani, M., Jafari, S. M., Sarabandi, K. (2020). Antioxidant properties of fenugreek bioactive peptides prepared with pancreatin enzyme. *Food Engineering Research*, 18(2), 103-122.
- [16]Hashemi, S. M. B., Kaveh, S., & Abedi, E. (2023). Microscopic monitoring of the antibacterial potential of *Nepeta elymaitica* Bornm essential oil against kohlrabi leaves' foodborne pathogens. *Lwt*, 188, 115403.
- [17]Mrvčić, J., Stanzer, D., Šolić, E., & Stehlik-Tomas, V. (2012). Interaction of lactic acid bacteria with metal ions: opportunities for improving food safety and quality. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(9), 2771-2782.
- [18]Elsanhoty, R. M., Al-Turki, I. A., & Ramadan, M. F. (2016). Application of lactic acid bacteria in removing heavy metals and aflatoxin B1 from contaminated water. *Water Science and technology*, 74(3), 625-638.
- [19]Bhakta, J. N., Ohnishi, K., Munekage, Y., Iwasaki, K., & Wei, M. Q. (2012). Characterization of lactic acid bacteria-based probiotics as potential heavy metal sorbents. *Journal of applied microbiology*, 112(6), 1193-1206.
- [20]Teemu, H., Seppo, S., Jussi, M., Raija, T., & Kalle, L. (2008). Reversible surface binding of cadmium and lead by lactic acid and bifidobacteria. *International journal of food microbiology*, 125(2), 170-175.
- [21]Cho, D. H., & Kim, E. Y. (2003). Characterization of Pb 2+ biosorption from aqueous solution by *Rhodotorula glutinis*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 25, 271-277.
- [22]Mrvčić, J., Prebeg, T., Barišić, L., Stanzer, D., Bačun-Družina, V., & Stehlik-Tomas, V. (2009). Zinc Binding by Lactic Acid Bacteria. *Food Technology & Biotechnology*, 47(4).
- [23]Lu, W. B., Kao, W. C., Shi, J. J., & Chang, J. S. (2008). Exploring multi-metal biosorption by indigenous metal-hyperresistant *Enterobacter* sp. J1 using experimental design methodologies. *Journal of hazardous materials*, 153(1-2), 372-381.



Scientific Research

Detoxification of heavy metals by probiotic bacteria: investigating the effect of temperature, time, and type of bacteria on the removal of lead and cadmium metals using the response surface methodology

Seyed Mohammad Bagher Hashemi^{1*}, Shima Kaveh², Ali poorkarimi³

1 -Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran

2- Ph.D of food chemistry, Faculty of Food Science and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran

3- Assistant professor, Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Fasa University, Fasa, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/8/20 Accepted:2024/9/11 Keywords: lactic acid bacteria, lead, biosorption, heavy metals, cadmium. DOI: 10.22034/FSCT.22.159.195. *Corresponding Author E- hasshemii@gmail.com	Pollution in industrial areas due to the release of heavy metals is one of the important environmental concerns. Heavy metals can have very adverse effects on human and animal health. In this regard, food products contaminated with heavy metals, even in low concentrations, can have harmful effects on human health. In this regard, the use of microorganisms is known as a new and low-cost method for the biological removal of metals. The purpose of this study was to investigate the effect of the type of microorganism (<i>Lactiplantibacillus paraplantarum</i>, <i>Lactobacillus paragasseri</i>, and <i>Limosilactobacillus reuteri</i>), temperature, and incubation time on the removal of lead and cadmium metals using the response surface methodology. The results showed that the removal rate of lead metal using microorganisms was significantly higher than that of cadmium. Increasing the time from 0 to 24 hours significantly increased the amount of metal removal. On the other side, increasing the temperature up to about 38 °C positively affected the removal of metals, but increasing the temperature further reduced the ability of microorganisms to remove metals. In general, the software determined the optimal conditions to achieve the maximum removal of lead and cadmium metals by 45.9% and 39.65%, respectively, at 24 hours incubation time and 33.98 °C temperature using <i>Lactobacillus paragasseri</i> bacteria. Therefore, according to the results of this research, the use of microorganisms such as <i>Lactobacillus paragasseri</i> is a useful solution for removing heavy metals from various sources, such as industrial wastewater.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تحلیل رفتار خرید مصرف کنندگان میگو و بررسی ترجیحات آن‌ها در بازار بعثت تهران با استفاده از نرم افزار لیزرل

سکینه یگانه^۱، سهیل ریحانی پول^{۲*}، محمد خلیلی^۳، آرش رخشانی^۴

۱- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲- دانش‌آموخته دکتری تخصصی، گروه فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده شیلات و محیط زیست، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع

طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۴- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران.

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۶

کلمات کلیدی:

میگو،

رفتار خریداران،

بازار بعثت،

مدل عرضه،

نگرش

پژوهش حاضر به منظور بررسی رفتار خریداران میگو و ارزیابی ترجیحات آن‌ها با جامعه آماری ۶۰۰ نفر در بازار بعثت تهران انجام شد. در این پژوهش خریداران میگو مورد سه دسته سوال قرار گرفتند. سوالات دسته اول مربوط به ویژگی‌های جمعیت‌شناختی و سوالات دسته دوم در ارتباط با میزان و دلایل خرید میگو و همچنین ارزیابی اولویت‌های خریداران در شاخص‌هایی نظیر سایز، انواع مدل عرضه و گونه میگو (آزمون فریدمن) بودند. سوالات دسته سوم بر اساس طیف پنج‌گزینه‌ای لیکرت حاضر و به منظور بررسی عوامل موثر بر نگرش جامعه آماری به خرید میگو با استفاده از طراحی مدل مفهومی و روش مدل‌سازی معادلات ساختاری (نرم‌افزار لیزرل) مطرح شدند. نتایج این تحقیق نشان داد خریدارانی که در سال سه یا چهار مرتبه و در هر مرتبه ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم میگو خریداری می‌کنند، دارای بیشترین فراوانی بودند (به ترتیب ۵۴/۳۳ و ۵۶/۳۴ درصد). ۶۴/۵۶ درصد از خریداران ارزش غذایی و مزه مطلوب (به صورت توام) را دلیل اصلی خرید میگو عنوان کردند. در بررسی اولویت‌های خریداران مشخص شد که سایز بزرگ میگو (۲۶ تا ۳۵ قطعه در هر کیلوگرم)، میگوی فله‌ای (در مقایسه با میگوی بسته‌بندی و ترکیبی)، میگوهای دریایی (در مقایسه با میگوی پرورشی و ترکیبی) و سایز ۵۰۰ تا ۷۵۰ گرم بسته میگو دارای طرفداران بیشتری هستند. نتایج اجرای مدل مفهومی تحقیق نشان داد که همه فرضیات تأیید شدند؛ به این صورت که متغیرهای سایز، انواع عرضه و گونه میگو به صورت معنی‌داری به ترتیب با ضرایب اثر ۰/۱۹، ۰/۳۳ و ۰/۴۷ بر نگرش خریداران موثر بودند. در ادامه نگرش خریداران با ضریب اثر ۰/۶۸ بر تصمیم به خرید و این سازه با ضریب اثر ۰/۷۱ بر خرید میگو اثرگذار بودند. نتایج چنین تحقیقاتی به مدیران تولید و فروشندگان در جهت تأمین نیازهای بازار، حفظ تعادل آن و سود پایدار کمک شایانی خواهد کرد.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.207.

* مسئول مکاتبات:

soheylreyhani@gmail.com

۱- مقدمه

میگو یکی از آبزیانی است که به دلایل مختلف از جمله قیمت بالا و بو [۱]، از سرانه مصرف بسیار کمی نسبت به ماهی در کشور برخوردار است [۲]. پژوهشی که سال ۱۳۹۸ پیرامون سرانه مصرف میگو در کشور انجام شد، نشان داد که میزان این شاخص در جامعه آماری ۹۸/۵ و برای جامعه مصرف ۴۸۷ گرم بوده است [۱]. میزان کل تولید میگو در سال ۱۴۰۱ مطابق سالنامه آماری سازمان شیلات، ۶۸۲۶۷ تن بوده که از این مقدار، ۳۷۵۹۸ تن معادل ۵۵/۰۷ درصد صادر شد. باقی مانده تولید کل که معادل ۴۴/۹۲ درصد و ۳۰۶۶۹ تن است، در داخل مصرف شد که این رقم با توجه به جمعیت کشور خود دال بر سرانه پائین مصرف میگو در کشور می باشد.

تحقیقات تقریباً کاملی در مورد بازاریابی و راهکارهای افزایش سرانه مصرف میگو در کشور در دهه ۹۰ انجام شد که نتایج درخور توجهی هم به همراه داشت [۱-۷]. با این حال با توجه به فوائد افزایش سرانه میگو در کشور (اشتغال-زایی و ثبات شغلی افراد شاغل در زیربخش های شیلات، تداوم تولید در صورت بروز مشکل در صادرات، نقش میگو در حفظ سلامت جمعیت و پیشگیری از بروز بیماری های مختلف [۲]) انجام تحقیقات جزئی تر و دقیق تر در این حوزه می تواند به دستیابی راهبردهای تولیدی مناسب منجر شود.

بازار بعثت تهران واقع در بزرگراه بعثت و منطقه ۱۵، مهم ترین بازار خرید انواع آبزیان در پایتخت است که پایانه نهایی تخلیه بار آبزیان از شمال، جنوب و سایر استان های کشور و مبدأ توزیع آبزیان در کلانشهر تهران به حساب می آید. تنوع گونه های انواع آبزیان و فرآورده های آنها و همچنین قیمت مناسب نسبت به سایر اماکن، دو ویژگی مهم بازار بعثت به شمار می آید. گرچه عمده خریداران این بازار را مصرف کنندگان ماهی تشکیل می دهند، اما مطابق تحقیقات میدانی، خریداران میگو نیز دارای جمعیت قابل توجهی هستند. به همین دلیل شناخت رفتار خرید این افراد و ارائه گزارش این

تحقیق می تواند به دست اندرکاران و مدیران بالادستی، در ایجاد ثبات بازار و پاسخ گویی مقتضی به نیاز مراجعه کنندگان کمک شایانی کند. اینکه گردانندگان و مسئولین بالادستی این بازار و بازارهای مشابه بدانند چه تعداد از مراجعه کنندگان جهت خرید میگو به این بازار می آیند، اینکه بدانند میگوی دریایی طرفداران بیشتری دارد یا پرورشی، اینکه بدانند میگوی فله ای فروش بیشتری دارد یا فله ای، اینکه بدانند کدام سایز میگو بیشتر مورد توجه افراد است، اینکه بدانند چه متغیرهایی بر نگرش خریداران جهت خرید میگو موثر است و چه متغیرهایی بر رفتار و تصمیم به خرید موثرترند، می تواند به صورت قابل توجهی در آگاهی بخشی به آنها به منظور انتخاب راهبرد مناسب تولیدی-اقتصادی موثر باشد [۵]. اینگونه تحقیقات بازاریابی آبزیان در داخل کشور [۱-۱۲] و خارج [۱۸-۱۳] طی دهه اخیر بسیار مورد توجه بوده و نتایج مفیدی در اختیار مدیران بازار، اقتصاددانان کشاورزی و دست اندرکاران تولید قرار داده است.

قبل از انجام این تحقیق، تحقیق مشابهی به منظور تحلیل رفتار خریداران ماهی در بازار بعثت انجام شده [۱۰] اما تاکنون رفتار مصرف کنندگان و خریداران میگو در این بازار مورد بررسی قرار نگرفته است. به همین دلیل هدف از انجام تحقیق پیش رو، شناخت رفتار خریداران میگو در بازار بعثت، ارزیابی اولویت های خرید آنان و شناسایی عوامل موثر بر نگرش خریداران به خرید این آبزی بود که توسط محققین در نیمه دوم سال ۱۴۰۲ انجام شده است.

۲- مواد و روش

۲-۱- طراحی پرسش نامه

جهت ارزیابی رفتار خریداران میگو در بازار بعثت، سه دسته سوال با کمک اساتید دانشگاهی، پرسش نامه های مختلف و مطالعات کتابخانه ای آماده شد. سوالات دسته اول مربوط به ویژگی های جمعیت شناختی جامعه آماری و سوالات دسته دوم در ارتباط با میزان و دلایل خرید میگو و همچنین ارزیابی

اولویت‌های خریداران در مواردی نظیر سایز، انواع مدل عرضه، گونه میگو، ویژگی‌های بسته‌بندی و سایز بسته بودند. سوالات دسته سوم بر اساس طیف پنج‌گزینه‌ای لیکرت (خیلی کم با کد ۱، کم با کد ۲، متوسط با کد ۳، زیاد با کد ۴ و خیلی زیاد با کد ۵) و به منظور بررسی عوامل موثر بر نگرش جامعه آماری به خرید میگو (با استفاده از طراحی مدل مفهومی و روش مدل‌سازی معادلات ساختاری) مطرح شدند [۲].

۲-۲- تعیین پایایی (قابلیت اعتماد) و روایی (قابلیت اعتبار) پرسش‌نامه

جهت تعیین پایایی سوالات پرسش‌نامه، از روش آلفای کرونباخ استفاده گردید. بدین منظور یک نمونه اولیه شامل ۳۰ پرسش‌نامه پیش‌آزمون گردید و سپس با استفاده از داده‌های به دست آمده از این پرسش‌نامه‌ها و به کمک نرم‌افزار آماری SPSS22 میزان

ضریب اعتماد با روش مذکور ۰/۹۳ محاسبه شد که نشان‌دهنده سطح قابل قبولی از پایایی برای سوالات مورد پرسش از افراد است. به منظور بررسی روایی پرسش‌نامه ابتدا از اعتبار صوری استفاده شد. در این مرحله با انجام مصاحبه‌های مختلف و کسب نظرات افراد متخصص، اصلاحات لازم بعمل آمد و بدین ترتیب اطمینان حاصل گردید که پرسش‌نامه همان خصیصه مورد نظر محققین را می‌سنجد. به منظور دقت و اطمینان بیشتر در بحث تناسب سوالات پرسش‌نامه و گویه‌های (سازه‌های) مدل طراحی شده برای فرضیات (روایی سوالات)، از تحلیل عاملی تأییدی استفاده گردید که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است. با توجه به مقادیر بارهای عاملی (که برای همه سوالات بیشتر از ۰/۳ است) و T-value (که برای تمام سوالات خارج از بازه ۱/۹۶- تا ۱/۹۶ ثبت شد) می‌توان دریافت که سوالات طراحی شده دارای سطح مطلوبی از روایی هستند [۴].

Table 1. Factor loadings and t-value for questions (Confirmatory Factor Analysis)

Questions	Factor loading	T-value	Questions	Factor loading	T-value
1. Size			4. Attitude		
Small	0.51	9.26	Pleasure feeling	0.63	11.23
Medium	0.29	4.98	Good feeling	0.42	7.86
Big	0.45	8.34	Bad feeling	0.49	9.12
Very big	0.64	11.25	5. Intention		
2. Type of supply			I want to purchase	0.55	9.68
Bulk	0.71	12.87	I have a plan to purchase	0.54	9.49
Packaging	0.58	10.18	Try to purchase	0.84	17.11
Combined	0.47	8.69	6. purchase		
3. Species of shrimp			1-2 times purchase in year	0.32	5.82
Farmed	0.35	5.77	3-4 times purchase in year	0.53	9.63
Marine	0.43	7.98	5-6 times purchase in year	0.66	11.24
Combined	0.3	5.11	7-8 times purchase in year	0.40	7.36

دهند و نهایتاً، رفتار نهایی (خرید) جز متغیرهای مکنون وابسته (درون‌زا) می‌باشد. فرضیات تحقیق عبارتند از:

۱. سایز میگو به صورت معنی‌داری بر نگرش خریداران به خرید میگو موثر است.
۲. نوع عرضه میگو به صورت معنی‌داری بر نگرش خریداران به خرید میگو موثر است.

۲-۳- فرضیات پژوهش و ساخت مدل مفهومی بر پایه آن‌ها

با مطالعه منابع داخل و خارج، فرضیاتی مشخص و سپس مدل مفهومی متناسب با فرضیات طراحی شد که دیاگرام آن در شکل ۱ ارائه شده است. در این مدل متغیرهای سایز، انواع عرضه و گونه میگو از دسته متغیرهای مکنون مستقل (بروزن‌زا) هستند. نگرش و تصمیم به خرید متغیرهای میانجی مدل را تشکیل می‌-

۵. تصمیم به خرید میگو به صورت معنی داری بر رفتار نهایی (خرید) موثر است.

۳. گونه میگو به صورت معنی داری بر نگرش خریداران به خرید میگو موثر است.

۴. نگرش خریداران به خرید میگو به صورت معنی داری بر تصمیم به خرید میگو موثر است.

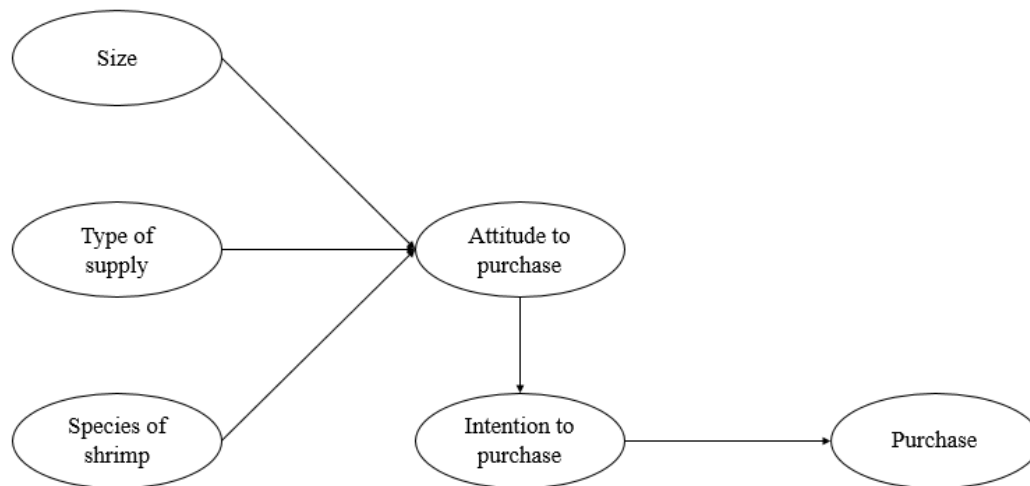


Fig 1. Diagram of conceptual model of research

در جدول ۲ ویژگی‌های جمعیت‌شناختی جامعه آماری شامل جنسیت، سن، تحصیلات، وضعیت تاهل، شغل، محل تولد، جمعیت خانوار و درآمد ارائه شده است. مطابق این جدول، نسبت زنان و مردان جامعه آماری تقریباً برابر است که از تعداد کل آن‌ها فقط ۱۳/۳ درصد مجرد بودند. بیشتر خریداران در بازه سنی ۲۰ تا ۵۰ سال (۸۹/۸ درصد) قرار داشتند که ۱۹/۸ درصد آن‌ها اعلام کردند تحصیلات دانشگاهی ندارند. در ادامه مشخص شد، ۲۱/۶ درصد از جامعه آماری متولد مناطق ساحلی هستند. همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود، حدود ۸۰ درصد خریداران دارای خانوارهای ۴ نفر و بیشتر از آن و همچنین درآمدی بیشتر از ۲۰۰ میلیون ریال بودند. همچنین حدود ۵۰ درصد از خریداران میگو را کارمندان و بازنشستگان (با نسبت تقریباً برابر) و ۴۳/۵ درصد را افراد دارای شغل آزاد تشکیل می‌دادند.

۲-۴- جامعه آماری

جامعه آماری تحقیق حاضر بر اساس میانگین حداقل و حداکثر خرید از ۱۰ غرفه بازار بعثت و پیش‌بینی حد مشخصی از میانگین خرید سالیانه و نهایتاً فرمول ککران، ۳۸۴ نفر بدست آمد اما به منظور کسب نتایج قابل اطمینان - تر از تعداد ۶۰۰ پرسش‌نامه (جامعه آماری) استفاده گردید.

۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور انجام تحلیل عاملی تأییدی، بررسی قبول یا رد فرضیه‌ها (در سطح اطمینان ۹۵ درصد) و همچنین شدت و جهت رابطه بین سازه‌های مدل از روش مدل‌سازی معادلات ساختاری و نرم‌افزار لیزرل (نسخه ۸/۸۰) استفاده گردید. در ادامه، جهت ارزیابی و رتبه‌بندی اولویت‌های جامعه آماری پیرامون برخی از خصوصیات میگو از آزمون فریدمن (نرم-افزار SPSS22) استفاده شد.

۳- نتایج

۳-۱- ویژگی‌های جمعیت‌شناختی جامعه آماری

Table 2. Socio-demographic characteristics of the sample (% respondents, n=600)

Characteristics	Abundance	Characteristics	Abundance
Gender		Place of birth	

Male	50.2	Coastal city	21.6
Female	49.8	Non-coastal city	78.4
Age		Household size	
<20 years	1	Two	4.1
20-35 years	29.3	Three	16.8
35-50 years	60.5	Four	54.4
50-65 years	8.2	Five and more	24.7
65-80 years	1	Income (Rials)	
Education		100-150 millions	1.1
College education	80.2	150-200 millions	18
Diploma & less	19.8	200-250 millions	55.2
Marital Status		≥ 250 millions	25.7
Married	86.7		
Single	13.3		
Job			
Free	43.5		
Employee	25.1		
Student	4.9		
Unemployed	1.1		
Retired	25.4		

۲-۳- دفعات و میزان خرید میگو

خرید داشتند، کمتر از ۱۵ درصد ثبت شد. در بین گزینه‌های مرتبط با دلایل اصلی خرید و مصرف میگو، اکثر جامعه آماری یعنی ۶۴/۵۶ درصد، ارزش غذایی و مزه مطلوب به صورت توأم را انتخاب کردند. ضمن اینکه ۲۶/۰۱ درصد نیز صرفاً میگو را به دلیل ارزش غذایی بالا خرید و مصرف می‌کردند.

جدول ۳، دفعات خرید میگو در سال و میزان هر مرتبه خرید و همچنین درصد فراوانی دلایل مصرف جامعه آماری را نشان می‌دهد. مطابق این جدول، خرید سالیانه سه تا چهار مرتبه دارای بیشترین فراوانی (۵۴/۳۳ درصد) بود و خرید ۱ تا ۲ مرتبه در سال (۲۶/۷۳ درصد) در سطح بعدی قرار داشت. فراوانی افرادی که بیشتر از ۵ مرتبه در سال خرید انجام می‌دادند، کمتر از ۲۰ درصد بود. همانطور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، ۸۵/۱ درصد از افراد جامعه آماری در هر مرتبه خرید، میزان ۰/۵ تا ۱/۵ کیلوگرم میگو خریداری می‌کردند و درصد افرادی که بیشتر از این میزان در هر مرتبه

Table 3. Frequency of purchases, amount of each purchase of shrimp and reasons of consumption

Purchase frequency in year	Abundance (%)	Purchase amount per time	Abundance (%)	Main reasons of consumption	Abundance (%)
1 or 2	26.73	0.5 to 1	28.76	Just nutritional value	26.01
3 or 4	54.33	1 to 1.5	56.34	Nutritional value and taste	64.56
5 or 6	10.27	1.5 to 2	10.23	Just taste	9.43
7 or 8	5.86	2 to 2.5	3.57		
9 and more	2.81	2.5 and more	1.1		

۳-۳- اولویت‌های جامعه آماری پیرامون سایز میگو،

خرید میگوی بسته‌بندی و وزن بسته‌بندی

جدول ۴ اولویت (رتبه‌بندی) جامعه آماری پیرامون سایز میگو، مشخصات بسته‌بندی میگو و سایز بسته را نشان می‌دهد. همانطور که در این جدول مشاهده می‌شود، بین سایزهای مختلف میگو، سایز بزرگ (۲۶ تا ۳۵ قطعه در یک کیلوگرم) در رتبه اول قرار گرفت (با میانگین رتبه ۱/۸۲)؛ به گونه‌ای که ۴۹/۳ درصد از پاسخ‌دهندگان آن را اولویت اول و ۳۳/۹ درصد از آن‌ها این سایز را در اولویت دوم قرار دادند. در ادامه مشخص شد میگوی خیلی بزرگ با سایز ۱۶ تا ۲۵ قطعه در هر کیلوگرم، در رتبه دوم قرار دارد (با میانگین رتبه ۲/۲۹) و مجموعاً ۶۷/۶ درصد از خریداران این سایز را در اولویت‌های اول و دوم قرار دادند. میگوهای با سایز متوسط یا ۳۶ تا ۵۰ قطعه در هر کیلوگرم حائز رتبه سوم (با میانگین رتبه ۲/۹۷) شدند و فقط ۱۱/۲ درصد از پاسخ‌دهندگان این سایز را در اولویت نخست جای دادند. نهایتاً میگوهای کوچک (۵۱ تا ۷۰ قطعه در هر کیلوگرم) در رتبه چهارم (با میانگین رتبه ۳/۶۶) قرار گرفتند؛ به گونه‌ای فقط ۲/۴ درصد از جامعه آماری این سایز را در اولویت اول انتخاب کردند. همانطور که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، خریداران جهت خرید میگوی بسته‌بندی به اولین موردی که توجه می‌کردند، نام تجاری یا برند بود (رتبه ۱ با میانگین رتبه ۱/۱۸)؛ به گونه‌ای که مجموعاً ۸۵/۶ درصد آن‌ها این عامل را در اولویت‌های اول و دوم قرار دادند. بعد از برند، طرح و رنگ

بسته‌بندی بود که از نظر خریداران در رتبه دوم اهمیت (رتبه ۲ با میانگین رتبه ۱/۹۶) جای داشت؛ به این صورت که مجموعاً ۶۴/۳ از جامعه آماری به این عامل در اولویت اول و دوم هنگام خرید توجه می‌کردند. سایز و وزن بسته در رتبه سوم اهمیت (رتبه ۳ با میانگین رتبه ۲/۸۵) جای گرفت و فقط ۱۲/۴ درصد از افراد این عامل را در اولویت نخست جای دادند. مطابق جدول ۴، رتبه چهارم (رتبه ۴ با میانگین رتبه ۳/۷۴) هم متعلق به جنس بسته‌بندی بود و فقط ۴/۵ درصد پاسخ‌دهندگان این فاکتور را هنگام خرید در اولویت اول قرار دادند.

رتبه‌بندی اولویت‌های جامعه آماری در مورد وزن بسته میگو (جدول ۴) نشان داد که وزن ۵۰۰ تا ۷۵۰ گرم دارای رتبه اول (با میانگین رتبه ۱/۱۱) است؛ به گونه‌ای که مجموعاً ۸۴/۹ درصد از پاسخ‌دهندگان این وزن را در اولویت‌های اول و دوم قرار دادند. همچنین وزن ۲۵۰ تا ۵۰۰ گرم حائز رتبه دوم (با میانگین رتبه ۱/۷۳) شد و مجموعاً ۷۲/۲ درصد از جامعه آماری این وزن را در اولویت‌های اول و دوم جای دادند. وزن ۷۵۰ تا ۱۰۰۰ گرم در رتبه سوم قرار گرفت (با میانگین رتبه ۲/۶۸) و فقط ۱۲/۱ درصد از خریداران این وزن را در الویت نخست جای دادند. نهایتاً جامعه آماری سایزهای بیشتر از ۱۰۰۰ گرم را در رتبه چهارم قرار داد (با میانگین رتبه ۳/۳۹) و صرفاً ۶/۸ درصد از آنان این اوزان را در اولویت اول انتخاب کردند.

Table 4. The priorities of the statistical community regarding shrimp size, packaging characteristics and packed size

Options	Consumer preferences				Average score	Rank	Friedman	Significance level
	1	2	3	4				
Size (pieces per kg)								
Small (51 to 70)	2.4	11.1	39.4	47.1	3.66	4	323.26	0.001
Medium (36 to 50)	11.2	24.5	25.5	38.8	2.97	3		
Big (26 to 35)	49.3	33.9	14.7	2.1	1.82	1		
Very big (16 to 25)	37.1	30.5	20.4	12	2.29	2		
Packed shrimp								
Size and weight	12.4	21.6	34.5	31.5	2.85	3		

Color and design	32.2	32.1	19.3	16.4	1.96	2	293.64	0.001
Material	4.5	11.6	36.4	47.5	3.74	4		
Brand	50.9	34.7	9.8	4.6	1.18	1		
Packed size								
250 to 500 gr	36.8	35.4	15.1	12.7	1.73	2		
500 to 750 gr	44.3	40.6	12.4	2.7	1.11	1	301.57	0.001
750 to 1000 gr	12.1	19.8	36.7	31.4	2.68	3		
More than 1000gr	6.8	4.2	35.8	53.2	3.39	4		

۴-۳- اولویت جامعه آماری پیرامون انواع مدل عرضه و گونه‌های میگو

در جدول ۵ اولویت‌های جامعه آماری پیرامون انواع مدل عرضه و گونه‌های میگو ارائه شده است. مطابق این جدول، بین انواع مدل عرضه میگو، میگوی فله‌ای دارای رتبه اول (با میانگین رتبه ۱/۱۲) بود و ۷۲/۴ درصد از افراد جامعه آماری این مدل را در اولویت نخست خرید جای دادند. میگوی بسته‌بندی در رتبه دوم (با میانگین رتبه ۱/۸۵) قرار گرفت و ۲۲/۶ درصد از پاسخ‌دهندگان این مدل عرضه را در اولویت اول و ۶۱/۸ درصد در اولویت دوم انتخاب کردند. خرید ترکیبی به معنای خرید توام میگوی فله‌ای و بسته‌بندی در هر مرتبه خرید بود که در رتبه سوم (با میانگین رتبه ۲/۴۷) جای گرفت و فقط ۵ درصد از جامعه آماری این نوع خرید را در اولویت نخست قرار دادند. بین میگوهای دریایی، پرورشی و خرید ترکیبی، رتبه اول (با میانگین رتبه ۱/۲۸) مربوط به

میگوی دریایی بود و ۸۱/۵ درصد از جامعه آماری گونه‌های دریایی را در اولویت نخست جای دادند. ۱۷/۶ درصد از خریداران، میگوی پرورشی را در اولویت اول و ۴۵ درصد از آن‌ها این میگوها را در اولویت دوم انتخاب کردند و این میگوها در رتبه دوم (با میانگین رتبه ۱/۹۹) قرار گرفتند. جامعه آماری، خرید ترکیبی (خرید توام میگوی دریایی و پرورشی در هر مرتبه خرید) را در رتبه آخر با میانگین رتبه ۲/۶۷ جای دادند و درصد افرادی که این مدل خرید را در اولویت اول انتخاب کردند، کمتر از ۱ درصد بودند.

Table 5. The priorities of the statistical community regarding types of supply and species of shrimp

Options	Consumer preferences			Average score	Rank	Friedman	Significance level
	1	2	3				
Type of supply							
Bulk	72.4	19.7	7.9	1.12	1	296.58	0.001
Packaged	22.6	61.8	15.6	1.85	2		
Combined	5	18.5	76.5	2.47	3		
Species of shrimp							
Farmed	17.6	45	37.4	1.99	2	281.33	0.001
Marine	81.5	8.8	9.7	1.28	1		
Combined	0.9	46.2	52.9	2.67	3		

۳-۵- اجرای مدل مفهومی تحقیق در حالت استاندارد و

معنی‌داری

شکل ۲ اجرای مدل مفهومی تحقیق را در دو حالت استاندارد و معنی‌داری (نرم‌افزار لیزرل) نشان می‌دهد. مطابق این شکل، همه فرضیات تحقیق تأیید شدند (به دلیل قرارگیری مقادیر T-Value در خارج از بازه ۱/۹۶ تا ۱/۹۶-؛ به این صورت که متغیرهای سائز، انواع عرضه و گونه میگو به صورت

معنی‌داری به ترتیب با ضرایب اثر ۰/۱۹، ۰/۳۳ و ۰/۴۷ بر نگرش خریداران (نسبت به خرید میگو) موثر بودند. در ادامه سازه نگرش خریداران (نسبت به خرید میگو) با ضریب اثر ۰/۶۸ بر تصمیم به خرید و این سازه (تصمیم به خرید) با ضریب اثر ۰/۷۱ بر خرید میگو (رفتار نهایی) اثرگذار بود. مطابق مقادیر ضریب اثر، موثرترین متغیر موثر بر نگرش خریداران (نسبت به خرید میگو)، گونه میگو بود (دریابی، پرورشی و ترکیبی).

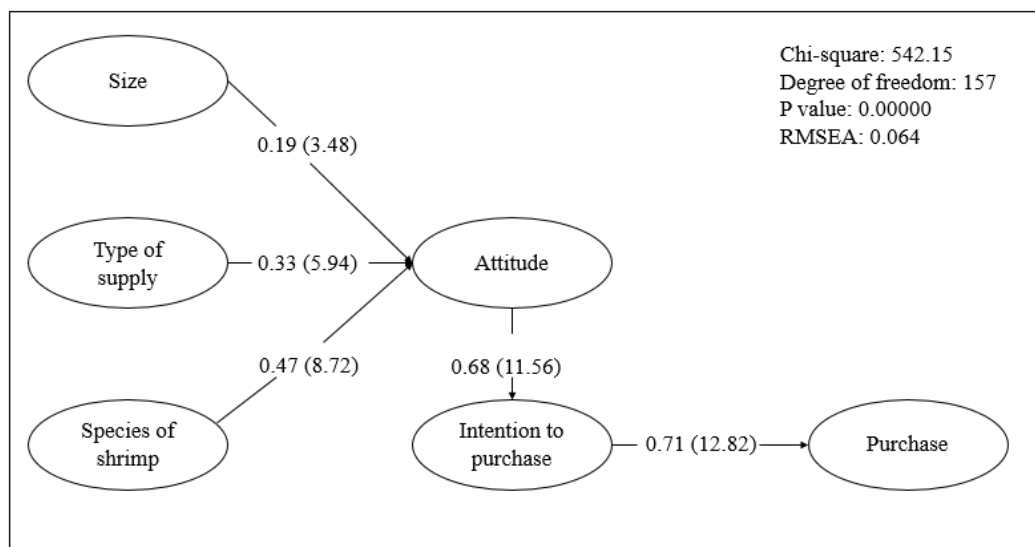


Figure 2. Implementation of the research model in two standard and significant modes

قبولی قرار دارند، می‌توان ادعا کرد که مدل از برازش مناسبی برخوردار می‌باشد. به این معنی که مدل اعتبار بسیار بالایی برای سنجش و ارزیابی روابط بین متغیرهای مورد بررسی دارد.

۳-۶- شاخص‌های برازش مدل

جدول ۶ شاخص‌های برازش مدل را نشان می‌دهد. با توجه به اینکه این شاخص‌ها نسبت به استاندارد، در سطح قابل

Table 6. The measurement of model goodness of fit index (GOFI)

Fit Index	Result	The Fit Criteria	Model Evaluation
Chi-Square/Df	3.45	$\text{Chi-Square/Df} \leq 5$	Good Fit
RMSEA	0.064	$\text{RMSEA} \leq 0.08$	Good Fit
CFI	0.96	$\text{CFI} \geq 0.90$	Good Fit
GFI	0.92	$\text{GFI} \geq 0.90$	Good Fit
AGFI	0.93	$\text{AGFI} \geq 0.90$	Good Fit
IFI	0.95	$\text{IFI} \geq 0.90$	Good Fit
NFI	0.92	$\text{NFI} \geq 0.90$	Good Fit
NNFI	0.95	$\text{NNFI} \geq 0.90$	Good Fit

با بررسی اجمالی خصوصیات جمعیت‌شناختی جامعه آماری تحقیق حاضر مشخص می‌شود که طیف گسترده‌ای از افراد جهت تکمیل پرسش‌نامه انتخاب شدند که این عامل موجب صحت بیشتر و قابل استناد بودن نتایج پژوهش می‌گردد. ضمن اینکه تعداد نمونه در پژوهش پیش‌رو نسبت به تحقیقات مشابه بیشتر و قابل توجه است.

نتایج مربوط به دفعات خرید در سال و میزان هر مرتبه خرید میگو در جامعه آماری نشاد داد که سرانه مصرف میگو در داخل کشور نسبت سایر مواد غذایی و حتی دیگر آبزیان بسیار کم است که نتیجه تحقیق ریحانی پول و همکاران [۱] پیرامون سرانه مصرف میگو در کشور، این مورد را قبلاً اعلام کرده بود. در تحقیق پیش‌رو خریدارانی که در سال سه یا چهار مرتبه و در هر مرتبه ۱ تا ۱/۵ کیلوگرم میگو خریداری می‌کنند، دارای بیشترین فراوانی بودند (به ترتیب ۵۴/۳۳ و ۵۶/۳۴ درصد). در پژوهشی که مقادیر خرید میگو در بازار با جامعه آماری کل کشور مورد مطالعه قرار گرفت، مشخص شد که ۴۴/۲ درصد از افراد مورد پرسش سالیانه ۱ مرتبه و ۲۸/۶ درصد از آن‌ها سالیانه ۲ مرتبه میگو خریداری می‌کردند. همچنین نتیجه پژوهش مذکور نشان داد که ۷۶/۳ درصد از مصرف‌کنندگان مقدار ۱ کیلوگرم و ۲۰/۲ درصد آن‌ها میزان ۰/۵ کیلوگرم را در هر مرتبه خرید ترجیح می‌دهند [۶]. در پژوهش پیش‌رو اکثر پاسخ‌دهندگان یعنی ۶۴/۵۶ درصد، دلیل اصلی خرید و مصرف میگو را ارزش غذایی و مزه مطلوب (به صورت توأم) گزارش کردند. همچنین ۲۶/۰۱ درصد از افراد، صرفاً ارزش غذایی را دلیل اصلی خرید و مصرف میگو عنوان نمودند. این دو گزارش نشان می‌دهند که غالب جامعه آماری به ارزش غذایی و نقش میگو در حفظ سلامت (پیشگیری از بروز بیماری‌های مختلف) آگاه و دانا هستند.

ارزیابی اولویت‌های جامعه آماری پیرامون سبزی میگو نشان داد که سبزی بزرگ میگو یعنی ۲۶ تا ۳۵ قطعه در هر کیلوگرم دارای بیشترین طرفدار نسبت به دیگر سبزی‌ها می‌باشد. در ادامه، سبزی خیلی بزرگ، متوسط و ریز به ترتیب در رده‌های بعدی از نظر محبوبیت قرار گرفتند. در پژوهشی که اولویت-

ها و موانع مصرف میگو در کشور مورد بررسی قرار گرفت نیز چنین یافته‌ای تأیید شد [۱]. این نتیجه به بازاریان و دست‌اندرکاران تولید نشان می‌دهد که به منظور تأمین میگوی مورد پسند جامعه آماری، بیشتر تمرکز آن‌ها باید روی تولید و پخش سبزی بزرگ میگوها باشد تا هم نیاز بازار تأمین شود و مردم کالای مورد پسند خودشان را خریداری کنند و هم از این طریق تولید بهینه شده و هدر رفت کاهش یابد. میگوهای خیلی بزرگ احتمالاً به دلیل عدم تناسب قیمت و سبزی (عدم مقرون‌بصری) در اولویت دوم قرار گرفتند. میگوهای ریز نیز احتمالاً به دلیل هدررفت و پرتی زیاد طی پاک‌کردن و طبخ در رتبه آخر محبوبیت جای داشتند. همه این نتایج می‌توانند در ایجاد یک راهبرد مناسب جهت تنظیم نیاز بازار به مسئولین امر کمک کنند [۱].

از خصوصیات مهم بسته‌بندی، برند یا نام تجاری محصول است [۵]. به گونه‌ای که شاید بتوان گفت که نام تجاری (برند) معروف در فروش یک محصول و جلب توجه مشتریان آنقدر مهم است که گاهی کیفیت مواد غذایی در پس نام تجاری پنهان می‌شود. نتایج پژوهش پیش‌رو نشان داد هنگام خرید میگوی بسته‌بندی، برند یا نام تجاری محصول، مهم‌ترین عاملی بود که در حلقه اول مورد توجه جامعه آماری قرار می‌گرفت. در مطالعه‌ای که پیرامون ارزیابی رفتار خریداران و مصرف‌کنندگان میگو در کشور انجام گرفت، از بین ویژگی‌های مختلف بسته‌بندی، برند اولین ویژگی مورد توجه جامعه آماری جهت خرید میگوی بسته‌بندی گزارش شد [۱] که این یافته با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

رنگ بسته، یکی از ابعاد مهم بسته‌بندی محسوب و اولین نمادی است که موجب جلب توجه مصرف‌کننده می‌گردد. تأثیرپذیری انسان از رنگ‌ها ماهیتی کاملاً روانی داشته و بطور غیرمستقیم در واکنش‌ها و رفتارهای فرد موثر واقع می‌شوند. رنگ بسته علاقه را برمی‌انگیزد و قدرت خرید محصول را افزایش می‌دهد. در تصمیم‌گیری‌هایی که درگیر شدن مصرف‌کننده در آن کمتر است، از آنجا که ارزیابی ویژگی‌های محصول اهمیت کمتری دارد، فاکتور قابل مشاهده‌ای

مانند رنگ بسیار با اهمیت است [۱]. رنگ‌ها یکی از علائم کلامی هستند که به عنوان یک عنصر مهم در بازاریابی محصولات شناخته شده‌اند. در صنعت غذا، اهمیت رنگ‌ها به ویژه زمانی که در ارتباط با تبلیغات و یا بسته‌بندی باشند، به دلیل نقشی که در جلب توجه مشتری دارند، بیشتر می‌شوند [۱۹]. استفاده از رنگ مناسب برای بسته‌بندی محصولات، تایپوگرافی و یک ظاهر طراحی شده می‌تواند نشانگر آن باشد که مخاطبین هدف محصولات چه کسانی هستند. برای مثال برندهایی که می‌خواهند احساسات لوکس را در مشتریان بوجود بیاورند اغلب از رنگ‌هایی مانند سیاه، نقره‌ای و طلایی استفاده می‌کنند تا اظهارات جسورانه‌ای را بیان کنند. بنابراین از رنگ بسته می‌توان برای برقراری ارتباط با مشتری و یا ترویج یک واکنش احساسی استفاده کرد [۲۰]. بعد دیگر بسته‌بندی، طرح آن است. این بعد به جذابیت بسته‌بندی اشاره دارد و مربوط به وجود طرح‌ها، تصاویر، ترکیب‌های رنگی، علائم، نشانه‌ها و نگاره‌های گرافیکی روی بسته می‌شود. طبق مطالعات، گرایش و توجه مصرف‌کننده بیشتر به سمت محصولاتی با بسته‌بندی جذاب‌تر معطوف می‌شود [۲۱]. طرحی برای بسته‌بندی مناسب و کارا است که بتواند در تمامی فرایندهای بازاریابی تولیدکننده را بر رقبای پیروز کند. به این صورت که این طرح باید سریعاً جلب توجه کند، موجب تشدید علاقه و تمایل به خرید در مصرف‌کننده شود، افراد را وادار به خرید کند و در انتها رضایت مشتری را به دنبال داشته باشد تا بتواند موجب فروش مستمر محصول گردد. تولیدکنندگان محصولات غذایی برای رسیدن به اهداف ارتباطی به طور موثر و بهینه‌کردن پتانسیل بسته‌بندی باید از پاسخ و واکنش مصرف‌کننده به بسته‌هایشان آگاه باشند و فرآیندهای ادراکی مصرف‌کننده را با طراحی ادغام و در ابعاد مختلف بسته‌بندی لحاظ کنند. همچنین در فرآیند طراحی، بازاریابان و طراحان بسته‌بندی باید تجربیات گذشته مصرف‌کننده، نیازها و خواسته‌های وی را مد نظر داشته باشند [۲۲]. در پژوهش حاضر، طرح و رنگ بسته‌بندی میگو دومین ویژگی بسته‌بندی از نظر اهمیت بودند که مورد توجه خریداران قرار گرفتند. در تحقیقی که

خصوصیات بسته‌بندی میگو از نظر جامعه آماری (کل کشور) رتبه‌بندی شد، طرح و رنگ بسته حائز رتبه دوم اهمیت شدند [۱]. یافته پژوهش حاضر با نتایج تحقیق Ares و Deliza [۲۳] که ابعاد بسته بسته‌بندی (رنگ، جذابیت، شکل، درج اطلاعات محصول بر روی بسته‌بندی، اندازه و ...) را مورد ارزیابی قرار داده بودند، کاملاً هم‌خوانی دارد. نتایج پژوهش اسماعیل‌پور و همکاران [۲۴] در مورد نقش بسته‌بندی بر تصمیم‌گیری خرید مشابه پژوهش حاضر است. نتایج پژوهش مذکور نشان داد که طرح‌های جذاب‌تر بیشتر انتخاب می‌شوند و میان طرح‌های جذاب و انتخاب محصول ارتباط مثبت وجود دارد. به گونه‌ای که با افزایش جذابیت طرح، رنگ و گرافیک، تمایل افراد برای انتخاب محصول بیشتر می‌شود. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت جذابیت رنگ، طرح و گرافیک بسته‌بندی محصول بر روی تصمیم خرید مصرف‌کنندگان اثر مثبت و معنی‌داری می‌گذارد که در نتیجه آن تولیدکنندگان مواد غذایی برای جلب نظر مصرف‌کنندگان و تاثیرگذاری بر تصمیم آن‌ها باید به دنبال بسته‌بندی‌های جذاب با طرح، رنگ و گرافیک مناسب بوده تا در بازارهای رقابتی بتوانند مصرف‌کننده را ترغیب به خرید میگو نمایند. نتیجه مطالعه مهرانی و همکاران [۲۲] در مورد تاثیر بسته‌بندی مواد غذایی تولید داخل بر رفتار مصرف‌کننده نشان داد که مهم‌ترین خصوصیات بسته‌بندی از نظر خریداران عبارتند از طراحی بسته‌بندی، متمایز بودن بسته‌بندی از انواع دیگر، بادوام بودن بسته‌بندی و ذکر قیمت مصرف‌کننده روی بسته‌بندی.

رتبه سوم خصوصیات بسته‌بندی (از ۴ آیتم)، مربوط به ساین و وزن بسته میگو بود. میگوهای بسته‌بندی موجود در بازار در اوزان مختلفی از ۲۵۰ تا بیشتر از ۱۰۰۰ گرم عرضه می‌شوند و خریداران بسته به نیاز خانواده و محدودیت‌هایی نظیر قیمت، اوزان دلخواه خود را خریداری می‌کنند. در تحقیقی که پیرامون ارزیابی رفتار خریداران میگو در کل کشور انجام شد، وزن بسته ۲۵۰ تا ۵۰۰ گرم از محبوبیت بیشتری نسبت به سایر اوزان برخوردار بود [۱] که این یافته

با نتیجه تحقیق حاضر مغایرت دارد. در پژوهش پیش‌رو، سایز بسته در بازه ۵۰۰ تا ۷۵۰ گرم حائز رتبه نخست شد. در پژوهش پیش‌رو اکثر خریداران میگوی فله را به میگوی بسته‌بندی ترجیح دادند و تمایلی هم به منظور خرید ترکیبی (بسته‌بندی و فله) نشان ندادند. احتمالاً دسترسی راحت‌تر (عدم موجودی میگوی بسته‌بندی در تمامی اماکن خرید)، قیمت ارزان‌تر و همچنین حس تازگی و طراوت، دلیل ارجحیت میگوی فله‌ای نسبت به میگوی بسته‌بندی است. البته میگوی بسته‌بندی نیز طرفداران خاص خود را داشت. شاید فرآوری که منجر به بهبود بو و طعم می‌گردد، حس بهداشتی‌بودن و همچنین لوکس‌بودن محصول از جمله علل گرایش خریداران به میگوی بسته‌بندی باشد.

در تحقیق حاضر میگوهای دریایی (وحشی) نسبت به میگوی پرورشی از طرفداران بیشتری برخوردار بودند که این یافته با تحقیقات ریحانی پول و همکاران [۱] و دارایی و همکاران [۲۵] مطابقت دارد. همین یافته نشان می‌دهد که بازاریان و مسئولین مرتبط با تولید و پخش میگو در بازار بعثت و سایر اماکن باید بیشتر تلاش خود را جهت تامین میگوی دریایی متمرکز کنند تا پاسخگوی نیاز خریداران باشند. میگوهای دریایی نسبت به میگوهای پرورشی دارای قیمت بیشتر و همچنین طعم، ارزش غذایی و کیفیت مطلوب‌تری هستند. ضمن اینکه در جریان تولید میگوی پرورشی ممکن است از هورمون‌ها و آنتی‌بیوتیک‌هایی استفاده شود که در دراز مدت موجب ایجاد عوارضی در مصرف‌کنندگان می‌شود [۲۶]. از آنجا که در پژوهش پیش‌رو اولویت اکثر مردم میگوی دریایی بود، آگاهی خریداران به برتری غذایی و سلامتی این گونه از میگوها تا حد زیادی تأیید می‌گردد. یافته بعدی در این بخش مربوط به عدم تمایل غالب خریداران به خرید میگوی ترکیبی (دریایی و پرورشی) در هر مرتبه خرید بود. به این معنی که اکثر خریداران یا میگوی پرورشی می‌خرند یا میگوی دریایی. دارایی و همکاران [۲۵] در تحقیقی آگاهی و رفتار شهروندان بوشهری نسبت به مصرف میگوی پرورشی و وحشی را بررسی کردند. در این پژوهش مشخص شد که خانوارهای بوشهری به دلیل طعم و مزه بهتر، مغذی‌بودن و

سالم‌تربودن میگوی وحشی نسبت به پرورشی از آن استفاده می‌کنند.

نتایج اجرای مدل در حالت استاندارد و معنی‌داری نشان داد که نگرش خریداران میگو در بازار بعثت از سه متغیر سایز، مدل عرضه و گونه میگو تأثیر می‌پذیرد که در این بین، متغیر گونه میگو موثرترین عامل بر سازه نگرش بود. دو متغیر مدل عرضه و سایز میگو به ترتیب در رده‌های بعدی از نظر اهمیت جای گرفتند. در پژوهشی که رفتار خریداران و مصرف‌کنندگان میگو در شهر تهران مورد بررسی قرار گرفت، نوع عرضه و فرآوری میگو از موثرترین متغیرها بر نگرش شهروندان نسبت به خرید و مصرف میگو گزارش شد [۵]. نگرش به احساس‌های مثبت یا منفی اطلاق می‌شود که یک فرد نسبت به انجام یک رفتار دارد. به صورت جامع‌تر، نگرش یعنی احساسات نسبتاً پایدار، تمایلات یا مجموعه‌ای از باورهای هدایت‌شده به سمت یک ایده، شی، شخص و یا موقعیت. در مورد خرید و مصرف یک ماده غذایی، نگرش به احساسات مختلفی گفته می‌شود که افراد نسبت به خرید و مصرف آن ماده غذایی دارند [۲]. در بسیاری از تحقیقاتی که پیرامون ارزیابی رفتار خریداران و مصرف‌کنندگان آبریان، فرآورده‌های دریایی و سایر مواد غذایی صورت گرفته‌اند، نگرش موثرترین سازه بر تصمیم به خرید گزارش شده است [۱۳، ۳۰-۲۷]. بنابراین، نتایج این بخش از پژوهش موید آن است که سایز میگو، مدل عرضه این آبرزی و همچنین گونه‌های آن، بر حسی که خریداران نسبت به خرید و مصرف میگو دارند، موثر می‌باشند و از آنجایی که فرضیه اثرگذاری سازه نگرش بر تصمیم به خرید میگو و نهایتاً بر رفتار نهایی با ضریب اثر بالایی تأیید شده است، مدیران امر تولید، توزیع و فروش میگو در بازار بعثت و سایر اماکن باید در بحث سایز، مدل عرضه و گونه میگو به سلاقی و علایق خریداران (که در تحقیق حاضر به آن پرداخته شد) توجه ویژه‌ای داشته باشند تا به این طریق بتوانند نیاز مراجعه‌کنندگان و متعاقباً سود پایدار خود را تامین کنند.

۴- نتیجه‌گیری

باشند. مدیران امر تولید، توزیع و فروش میگو باید در بحث سبزی، مدل عرضه و گونه میگو به سبزی و علائق خریداران عنایت ویژه‌ای داشته باشند تا به این طریق بتوانند نیاز مراجعه کنندگان و متعاقبا سود پایدار خود را تامین کنند. بنابراین نتایج چنین تحقیقاتی به مدیران تولید و فروشندگان در جهت تامین نیازهای بازار و حفظ تعادل آن کمک شایانی خواهد کرد؛ ضمن اینکه استفاده صحیح از این نتایج، سود پایدار فروشندگان را نیز تضمین و تامین می‌کند.

سرانه مصرف میگو در کشور بسیار کم است و این در حالیکه مردم از ارزش غذایی و فوائد سلامتی میگو آگاهند و مزه مطلوبی از مصرف این آبی در دریافت می‌کنند. غرفه‌داران بازار بعثت و سایر اماکن فروش آبزیان (میگو) باید از برندهای معروف و در عین حال با قیمت مناسب در بحث میگوهای بسته‌بندی استفاده کنند و تمرکزشان بیشتر بر اوزان ۵۰۰ تا ۷۵۰ کیلوگرم بسته باشد. در ادامه، بازاریان باید به سبزیهای ۲۶ تا ۳۵ قطعه در یک کیلوگرم و میگوهای فله-ای دریایی به منظور تامین نیاز بازار توجه ویژه‌ای داشته

ه-منابع

- [1] Reyhani Poul, S., Alishahi, A., Adeli, A., Nargesian, A., and Ojaq, M. Study of behavior, priorities and barriers of shrimp consumers in Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 2019; 28(6), 35-47 [In Persian].
- [2] Reyhani Poul, S., Alishahi, A., Adeli, A., Nargesian, A., and Ojaq, M. Study and assessment of the behavior of shrimp consumers in Iran based on the theory of planned behavior. *Journal of Food Science and Technology*, 2019; 90(16), 65-77 [In Persian].
- [3] Reyhani Poul, S., Alishahi, A., Adeli, A. A comprehensive study of effective factors on increasing of shrimp per capita consumption in Tehran city based on attitude items and decision to buy. *Journal of Food Science and Technology*, 2019; 93(16), 121-134 [In Persian].
- [4] Reyhani Poul, S., Alishahi, A., and Adeli, A. Comparison of the conceptual model of shrimp purchasing behavior in two different income levels of households in Tehran, *Journal of Fisheries*, 2020; 73(4), 529-540 [In Persian].
- [5] Reyhani Poul, S. Factors affecting consumers and buyers' attitude toward fish and fishery products packaging in Tehran city. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 2021; 20(6), 1727-1739.
- [6] Reyhani Poul, S., Adeli, A., and Alishahi, A. Shrimp purchase quantities in the market and the relationship between consumption amount and some of demographic characteristics. *Journal of Fisheries Sciences and Technology*, 2021; 10(1), 21-30 [In Persian].
- [7] Reyhani Poul, S. Analysis of conceptual model of fish buyer's behavior (Case study: west of Mazandaran Province). *Iranian Scientific Fisheries Journal*, 2021; 30 (3), 149-163 [In Persian].
- [8] Ziaee, S., Samare Hashemi, Kh., and Samare Hashemi S.A. Investigation of factors affecting fresh fish consumption in Iran. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2017; 26(3), 119-129 [In Persian].
- [9] Moslemi, M., Rahimi, M., Abedi, R., and Hosseini, V. Investigating on the marketing of fishery products by prioritizing factors affecting fish consumers: A case study in Babolsar. *Journal of Aquaculture Sciences*, 2019; 7(11), 89-95 [In Persian].
- [10] Alidoosti, Kh., Adeli, A., Kordjazi, M., and Vahedi, M. Purchase behavior of fish consumers of besat fish market in Tehran. *Journal of Fisheries Science and Technology*, 2020; 9(2), 66-78 [In Persian].
- [11] Yeganeh, S., Reyhani Poul, S., and Ghoghghi, F. Comprehensive identification of priorities and behavior analysis of packaged fish buyers in Tehran city using structural equation modeling method. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 2024; 147(21), 1-15 [In Persian].
- [12] Hosseini, M., and Adeli, A. Prioritizing the effective factors on the behavior of fish consumers (case study: Sari city). *Fisheries Sciences and Technology*, 2017; 5(4), 99-110 [In Persian].
- [13] Thong, N. T., and Olsen, S. O. Attitude toward and consumption of fish in Vietnam. *Journal of Food Products Marketing*, 2012; 18(2), 79-95.
- [14] Ghifarini, A. F., Sumarwan, U., and Najib, M. Application of theory of planned behavior in shrimp consumer behavior analysis. *Independent Journal of Management & Production*, 2018; 9(3), 984-1001.
- [15] Ahmed, A. F., Mohamed, Z., and Ismail, M. M. Determinants of fresh fish purchasing behavior among Malaysian consumers. *Current Research Journal of Social Sciences*, 2011; 3(2), 126-131.

- [16] Kessuvan, A., Parthanadee, P., and Buddhakulsomsiri, J. The study of consumption behaviors and factors affecting decision to purchase fishery products of consumers in the North and Northeast of Thailand. *International Food Research Journal*, 2015; 22(6), 116-129.
- [17] Sayin, C., Emre, Y., Mencet, M. N., Karaman, S., and Tascioglu, Y. Analysis of factors affecting fish purchasing decisions of the household: Antalya district case. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2010; 9(12), 1689-1695.
- [18] Wirth, F. F. Consumers' shrimp purchasing preferences: an application of conjoint analysis. *Journal of Food Products Marketing*, 2014; 20(2), 182-195.
- [19] Hammond, D., Daniel, S., and White, C. M. The effect of cigarette branding and plain packaging on female youth in the United Kingdom. *Journal of Adolescent Health*, 2013; 52(2), 151-157.
- [20] Singh, S. P., Singh, J., Grewal, G., and Chonhanchob, V. Analyzing color on printed packaging to valuate brand logo integrity and impact on marketing. *Universal Journal of Marketing and Business Research*, 2000; 1(3), 79-88.
- [21] Rundh, B. 2005. The multi-faceted dimension of packaging: marketing logistic or marketing tool?. *British food journal*, 107(9): 670-684.
- [22] Mehrani, K., Hosseingholipour, T., and Seyedjavadin, R. Investigating the effect of packaging of domestically produced food products on consumer behavior. Master's thesis, Tehran University, Tehran. 2010 [In Persian].
- [23] Ares, G., and Deliza, R. Studying the influence of package shape and colour on consumer expectations of milk desserts using word association and conjoint analysis. *Food Quality and Preference*, 2010; 21(8), 930-937.
- [24] Smailpour, H., Qaffari, P., and Matinrad, A. The role of packaging on purchasing decisions. *Industry and Entrepreneurship Journal*, 2010; 51(1), 53-56 [In Persian].
- [25] Darai, sh., Fekrandish, H., and Marmazi, S. Investigating the awareness and behavior of Bushehri citizens regarding the consumption of farmed and wild shrimp. Master's thesis. Kherad Higher Education Institute, Bushehr. 2014. [In Persian].
- [26] Davis, R. P., Davis, D. A., and Boyd, C. E. A preliminary survey of antibiotic residues in frozen shrimp from retail stores in the United States. *Current Research in Food Science*, 2021; 4 (6), 679-683.
- [27] Alhosseini, M., Baqeri, H., Dehqani, A., and Radfar S. The effect of consumer perception on his attitude towards organic food in Yazd. *Journal of Management of Organizational Culture*, 2018; 16(1), 195-217 [In Persian].
- [28] Tarkiainen, A., and Sundqvist, S. Subjective norms, attitudes and intentions of Finnish consumers in buying organic food. *British Food Journal*, 2005; 107(11), 808-822.
- [29] Effendi, I., Ginting, P., Lubis, A. N., & Fachrudin, K. A. Analysis of consumer behavior of organic food in North Sumatra Province, Indonesia. Analysis of consumer behavior of organic food in north Sumatra province, Indonesia. *Journal of Business and Management*, 2015; 4(1), 44-58
- [30] Najaf aabadi, F., and Alhosseini, M. Checking the intention to consume organic food products using the theory of planned behavior. *Journal of Business Strategies*, 2017; 24(10), 35-46 [In Persian].



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Analyzing the purchase behavior of shrimp consumers and checking their preferences in Tehran's Besat market using Lisrel software

Sakineh Yeganeh¹, Soheyl Reyhani Poul^{2*}, Mohammad khalili³, Arash Rakhshani⁴

- 1- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 2- PhD graduate, Department of Processing of Fishery Products, Faculty of Fisheries and Environment, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
- 3- Bachelor graduate, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 4- PhD student, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/9/29

Accepted: 2024/11/26

Keywords:

Shrimp,
Buyers behavior,
Besat market,
Supply model,
Attitude

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.207.

*Corresponding Author E-
soheylreyhani@gmail.com

The present study was conducted in order to investigate the behavior of shrimp buyers and evaluate their preferences with a statistical population of 600 people in Tehran's Besat market. In this research, shrimp buyers were asked three categories of questions. The questions of the first category were related to demographic characteristics and the questions of the second category were related to the amount and reasons for purchasing shrimp, as well as evaluating the preferences of buyers in indicators such as size, types of supply models, and species of shrimp (Friedman test). The third group of questions were prepared based on the Likert five-option scale and in order to investigate the factors affecting the attitude of the statistical community to the purchase of shrimp by using conceptual model design and structural equation modeling method (Lisrel software). The results of this research showed that buyers who purchase 3 or 4 times a year and selected each time 1 to 1.5 kg of shrimp, had the highest frequency (54.33 and 56.34%, respectively). 64.56 percent of the buyers cited the nutritional value and good taste (together) as the main reason for buying and consuming shrimp. In the study of buyer's preferences, it was found that large size shrimp (26 to 35 pieces per kilogram), bulk shrimp (compared to packaged and combined shrimp), marine shrimps (compared to cultured and combined shrimp) and the size of 500 to 750 grams of shrimp package have more fans. The results of the implementation of the research conceptual model showed that all hypotheses were confirmed; in such a way that variables of size, types of supply and shrimp species were significantly effective on buyer's attitudes with effect coefficients of 0.19, 0.33 and 0.47, respectively. In the following, the attitude of buyers with an effect coefficients of 0.68 on the decision to purchase and this element with an effect coefficients of 0.71 was effective on the purchase of shrimp. The results of such research will be of great help to production managers and sellers in order to meet the needs of the market, maintain its balance and sustainable profit.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

پردازش تصویر فیلم موسیلاژ دانه چیا حاوی نانوامولسیون اسانس دارچین

بهنام امیری^۱، مهران صیادی^{۲*}، الهه عابدی^{۳*}، محمد امین جعفری^۴

۱- استادیار بخش آمار، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فسا

۲- استادیار دانشگاه علوم پزشکی فسا

۳- دانشیار مهندسی علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فسا

۴- دانشجوی دانشگاه تربیت مدرس تهران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۸/۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۱

کلمات کلیدی:

صمغ دانه چیا،

پردازش تصویر،

میکروسکوپ الکترونی روبشی،

میکروسکوپ نیروی اتمی،

فشرده‌گی فیلم خوراکی

DOI:10.22034/FSCT.22.159.221.

* مسئول مکاتبات:

Mehransayadi62@gmail.com;
elaheabedi1389@gmail.com

تصویربرداری ابزاری مهم برای ارزیابی ساختار مواد غذایی است. پردازش تصویر شامل تصاویر دو بعدی (D_2) از سطوح و مقاطع، مانند آنچه در میکروسکوپ مشاهده می‌شود و همچنین تصاویر سه‌بعدی (D_3) از ساختار داخلی، مانند آنچه توسط میکروسکوپ کانفوکال، توموگرافی کامپیوتری و تصویربرداری تشدید مغناطیسی می‌باشد. در این تحقیق از پردازش تصاویر برای تعیین سختی و فشرده‌گی بیو فیلم‌های خوراکی آغشته به نانوامولسیون استفاده شد. فیلم خوراکی صمغ دانه چیا حاوی اسانس دارچین با غلظت ۲٪، ۴٪ و ۶٪ تهیه شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی^۱ و میکروسکوپ نیروی اتمی^۲ از فیلم‌ها تهیه شد. نتایج AFM و پردازش تصویر نشان دادند که با افزایش میزان اسانس از ۲٪ به ۶٪ میزان فشرده‌گی کاهش و زبری سطح افزایش پیدا کرد که با نتایج پردازش تصاویر مطابقت داشت. بنابراین پردازش تفسیر این امکان را فراهم می‌کند که قابلیت بالقوه‌ای برای تعیین فشرده‌گی فیلم‌های خوراکی و غیر خوراکی در صنعت بسته‌بندی دارد.

1: Scanning electron microscopy (SEM)

2: Atomic Force Microscopy (AFM)

۱-مقدمه

از موسیلاژ پلی ساکاریدهای گیاهی به عنوان پلیمرهای زیستی پایدار در فیلم‌های بسته‌بندی مواد غذایی استفاده می‌شوند. استفاده از موسیلاژ در فیلم‌های بسته‌بندی خوراکی به دلیل عدم سمیت، زیست سازگاری، زیست تخریب پذیری و نفوذپذیری انتخابی به اکسیژن/دی اکسید کربن دارای اهمیت است [۱-۲]. همچنین استفاده از موسیلاژ در فیلم‌های خوراکی فواید سلامتی قابل توجهی مانند کاهش کلسترول، کاهش فشار خون بالا و بهبود شاخص گلیسمی را نشان داده است. فیلم‌های خوراکی به دلیل ماهیت زیست تخریب پذیری که دارند، جایگزین پلاستیک در بسته بندی مواد غذایی شده‌اند و استفاده غالب از فیلم‌های خوراکی می‌تواند به طور قابل توجهی آلودگی محیطی را به دلیل پلاستیک حدود ۷.۸ میلیارد تن در سراسر جهان، کاهش دهد [۳-۴]. پلی ساکاریدهای گیاهی متعددی مانند آلژینات‌ها، پکتین، نشاسته، ریحان، صمغ زانتان به طور گسترده برای فرموله کردن فیلم‌های خوراکی استفاده می‌گردند [۵]. با این حال، فیلم‌های خوراکی ساخته شده دارای طبیعت شکننده و مقاومت مکانیکی ضعیفی هستند. چنین محدودیت‌هایی با اضافه کردن پلی‌ساکاریدهای مختلف و پرکننده‌ها، امولسیفایرها و اسانس‌ها برطرف می‌گردد [۶].

دانه چیا (*Salvia hispanica*) یک گیاه یکساله از خانواده *Lamiaceae* و بومی آمریکای مرکزی می‌باشد که دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی است. دانه چیا دارای ۵-۶٪ موسیلاژ است که می‌تواند ۲۷ برابر وزن خود آب جذب کند. این ماده عمدتاً از زیلو، گلوکز و متیل گلوکورونیک اسید تشکیل شده است و باعث تشکیل پلی ساکارید شاخه‌ای با وزن مولکولی بالا می‌شود [۷-۸] و به عنوان یک صمغ پلی ساکارید جدید توسط FAO شناخته شده است، زیرا در

مقادیر پایین در محلول‌های آبی دارای خواص موسیلاژی است [۹]. موسیلاژ دانه چیا به عنوان پایدارکننده، قوام دهنده و امولسیون کننده در سیستم‌های غذایی و همچنین در بسته بندی‌های زیست تخریب پذیر کاربرد دارد [۱۰]. موسیلاژ دانه چیا به دلیل دارا بودن ظرفیت نگهداری آب و گرانیوی مناسب، یک ماده بالقوه برای تولید فیلم‌های خوراکی است [۹].

اسانس‌های روغنی^۳ (EOs) ترکیبات فرار و طبیعی هستند که طیف وسیعی از خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی دارند [۱۱]. در بین EO های مختلف، اسانس دارچین یک ترکیب فرار با چندین ویژگی بیولوژیکی از جمله فعالیت‌های ضد باکتریایی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی است و ترکیبات اصلی آن سینامالدهید و اوژنول است. اگرچه اسانس دارچین به عنوان یک طعم و عطر افزودنی در محصولات غذایی استفاده می‌شود، اما حلالیت آن ضعیف است. این محدودیت به ویژه در فیلم‌های خوراکی مبتنی بر پلی ساکارید [۱۲] بسیار مهم می‌باشد. بنابراین، کپسوله کردن اسانس دارچین برای استفاده در ماتریس فیلم بسیار مهم است.

چندین استراتژی برای تهیه فیلم‌های خوراکی کامپوزیتی با اتصال متقابل و افزودن لیپیدهای آبریز و اسانس‌ها جهت افزایش مقاومت در برابر آب فیلم‌های خوراکی گزارش شده است [۱۳-۱۴]. در تحقیقی، Luo و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر موسیلاژ دانه چیا را بر فیلم خوراکی ژلاتین بررسی کردند. در این تحقیق، اسانس ارگانیو در فیلم خوراکی موسیلاژ دانه چیا/ژلاتین بارگذاری شد و سپس فعالیت آنتی میکروبی فیلم مورد بررسی قرار گرفت. مطابق با نتایج، با افزودن موسیلاژ دانه چیا، استحکام کششی، نفوذپذیری به بخار آب کاهش و ازدیاد طول در نقطه شکست و زاویه تماس افزایش یافت.

بین موسیلاژ دانه چیا با ماتریکس پروتئینی بود. تصاویر SEM و AFM سلول‌های سالم باکتریایی را نشان داد. همچنین، عملکرد فیلم خوراکی پروبیوتیک توسط پوشش نان‌های گندم ارزیابی شد که زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها برای ۳ هفته در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بدست آمد و نشان‌دهنده کاربرد فیلم خوراکی پروبیوتیک به عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیکی در محصولات نانویی است [۱۸]. در تحقیقی Muñoz-Tébar و همکاران (۲۰۲۳) فیلم خوراکی حاصل از موسیلاژ دانه چیا حاوی اسانس‌های ارگانیو (*Origanum vulgare*) و مرزه (*Satureja montana*) در مقادیر مختلف (۰/۱، ۱ و ۱/۵ v/v) تهیه کردند و ویژگی‌های فیزیکی، شفافیت، مکانیکی و ضدقارچی و ساختاری آن‌ها را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که استفاده از اسانس‌های مختلف تنها بر شفافیت، اختلاف رنگ کل و فعالیت ضدقارچی فیلم‌ها تأثیر معنی‌داری داشت. با این حال، نوع اسانس تأثیر قابل توجهی در خواص مکانیکی و فیزیکی فیلم‌ها نداشت. همچنین مطابق با نتایج، افزایش مقدار اسانس تا ۱/۵٪ منجر به کاهش قدرت کششی فیلم و ازدیاد طول در نقطه شکست شد. فعالیت ضدقارچی فیلم‌ها نیز با افزودن اسانس‌ها افزایش معنی‌داری داشت. از نظر فعالیت ضدقارچی، فیلم‌های حاوی ۰/۱٪ اسانس غیرفعال بودند درحالی‌که فیلم‌های حاوی ۱ و ۱/۵٪ به شکل موثری از رشد گونه‌های قارچی (۳۸-۷۷٪) جلوگیری کردند. همچنین تصاویر SEM نشان داد که افزودن اسانس‌ها باعث برخی ناهمگنی در ماتریکس فیلم‌ها و سطح بدون منافذ و شکاف شد. درحالی‌که ساختار متراکم و همگن‌تری در پلیمر حاوی اسانس ارگانیو مشاهده شد. در نهایت، نویسندگان گزارش کردند که افزودن اسانس‌های مرزه و ارگانیو به عنوان ترکیبات ضد میکروبی طبیعی در ساختار فیلم‌ها دارای پتانسیل لازم در بسته بندی‌های فعال و کنترل رشد کپک‌ها را دارد و منجر به افزایش ایمنی مواد غذایی می‌شود [۱۹].

علی رغم تحقیقات جامع در مورد خواص میکروبی، مکانیکی، دمایی و فیزیکوشیمیایی انواع بیوفیلم‌های خوراکی،

همچنین به دلیل پیوندهای هیدروژنی بین ترکیبات تشکیل دهنده ماتریکس فیلم، نرخ باقی ماندن اسانس در فیلم افزایش یافت. همچنین بررسی رهایش اسانس با استفاده از کروماتوگرافی گازی نشان داد که فعالیت ضد میکروبی پایداری در فیلم وجود داشت که ناشی از باقی ماندن مقادیر بالایی از اسانس در فیلم خوراکی بود [۱۵]. Emir Çoban و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر پوشش خوراکی موسیلاژ دانه چیا حاوی مقادیر مختلفی از عصاره گوجی بری را در ماندگاری فیله ماهی قزل‌الا تهیه و مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که رشد میکروبی در نمونه پوشش داده با موسیلاژ حاوی ۲٪ عصاره گوجی بری نسبت به نمونه کنترل به تاخیر افتاد. همچنین پوشش موسیلاژ دانه چیا از افزایش اندیس تیوباریتوریک اسید، pH و میزان نیتروژن فرار جلوگیری کرد [۱۶]. در تحقیق انجام شده توسط Mousavi و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر پوشش خوراکی موسیلاژ دانه چیا / سلولز باکتریایی را بر ترکیبات زیست فعال و فعالیت آنتی اکسیدانی توت فرنگی در دوره انبارمانی سرد بررسی کردند. در این تحقیق، توت فرنگی‌ها با موسیلاژ دانه چیا حاوی ۰/۶ و ۸٪ (w/w) نانوفیبر سلولز باکتریایی پوشش داده شدند. محتوای فنل، فلاونوئید، آنتوسیانین، اسکوربیک اسید، پروتئین، فعالیت آنتی اکسیدانی و فعالیت پلی فنل اکسیداز، پروکسیداز را بررسی کردند. نتایج نشان داد که استفاده از موسیلاژ دانه چیا منجر به حفظ ترکیبات فنلی، فلاونوئید، اسکوربیک اسید و فعالیت آنتی اکسیدانی شد [۱۷]. در تحقیق دیگری، Semwal و همکاران (۲۰۲۲) به فیلم پروبیوتیک برپایه کازئینات سدیم، موسیلاژ دانه چیا را به عنوان محافظ اضافه کردند و بهبود زنده مانگی باکتری پروبیوتیک (*Limosilactobacillus fermentum*) و *Lactobacillus brevis* NKN52 و NKN51 بارگذاری شده در ساختار فیلم و نگهداری شده در دمای ۲۵ و ۴ درجه سانتیگراد بررسی کردند. نتایج نشان داد که حضور موسیلاژ دانه چیا منجر به افزایش قابل توجهی در زنده مانگی باکتری‌های پروبیوتیک شد. همچنین باعث بهبود انعطاف پذیری فیلم و کاهش حلالیت فیلم شد که ناشی از فعل و انفعالات

رطوبت نسبی ۵۲٪ در مخزن حاوی محلول اشباع $Mg(NO_3)_2$ تا زمان انجام آزمون‌ها نگهداری گردید [۲۲].

اندازه‌گیری خصوصیات سطحی فیلم

خصوصیات سطحی فیلم‌ها به وسیله‌ی دستگاه میکروسکوپ الکترونی بررسی شد. در آماده‌سازی نمونه‌ها برای تصویربرداری از مقطع عرضی، ابتدا نمونه‌ها را در نیتروژن مایع شکسته، در مقطع عرضی روی پایه آلومینیومی چسبانده و پایه‌ها در یک دستگاه پوشش دهنده با طلا پوشش داده شدند و با یک میکروسکوپ الکترونی در بزرگ‌نمایی متفاوت تصویربرداری گردیدند [۲۲].

میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)

برای مشاهده سطح فیلم، از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) استفاده شد. بعد از اینکه فیلم به روش تصعیدی، خشک شد، الگوی سطح فیلم در دامنه ۱۰ mm در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد بررسی گردیدند [۲۲].

پردازش تصویر فیلم خوراکی

در این مطالعه برای بررسی دوره‌ای بودن تصویر یک فیلم و تعیین میزان فشردگی از کد نویسی در نرم افزار R و بسته imager استفاده شد. برای این منظور، ابتدا تصاویر فیلم‌ها توسط بسته imager در برنامه R فراخوانی شد. در پردازش تصویر، هر تصویر را می‌توان به صورت یک فرآیند فضایی در نظر گرفت و از ویژگی‌های فرآیند فضایی در تحلیل تصاویر استفاده کرد. یک فرآیند فضایی مرتبه دوم گردایه‌ای به صورت $X = \{X_t: t = (t_1, t_2) \in \mathcal{T} \subseteq \mathbb{Z}^2\}$ است هرگاه برای هر $X_t, t \in \mathcal{T}$ یک متغیر تصادفی با میانگین صفر ($E[X_t] = 0$) و گشتاور دوم متناهی ($E[X_t^2] < \infty$) باشد. برای فرآیند X تابع کوواریانس، R_X ، به صورت زیر بدست می‌آید:

$$R_X(t, s) = E[X_t X_s], t, s \in \mathcal{T}.$$

تا کنون از پردازش تصویر جهت تعیین فشردگی فیلم‌های خوراکی مطالعاتی صورت نگرفته است. در این مطالعه پردازش تصویر فیلم خوراکی در حضور و عدم حضور نانوامولسیون اسانس دارچین، برای تجزیه و تحلیل میزان فشردگی فیلم‌های مورد مطالعه استفاده شد. برای این منظور، ابتدا مقادیر پیکسل‌های تصویر یک فیلم به صورت یک فرآیند فضایی در نظر گرفته شده و با استفاده از ویژگی‌های فرآیند فضایی همبسته دوره‌ای و تابع کوهرنسی فضایی، معرفی شده توسط شیشه بر و امیری (۲۰۱۹)، به صورت یک فرآیند فضایی همبسته دوره‌ای مدل‌بندی شد [۲۰]. همچنین بر اساس نمودار کوهرنسی فضایی، دوره تناوب تصویر فیلم برآورد شده و میزان فشردگی فیلم با استفاده از مقدار دوره تناوب مشخص گردید. برای اجرای تحلیل‌های بیان شده از نرم افزار R استفاده شد.

۲- مواد و روش‌ها

تهیه نانوامولسیون حاوی اسانس دارچین

برای تهیه نانوامولسیون، درصدهای مختلفی از اسانس دارچین با توپین ۸۰ (۶٪ وزنی اسانس) و آب مقطر ترکیب و با دور ۳۰۰۰ rpm استیرر شد. سپس با هموژنایزر اولتراتوراکس به مدت ۷ دقیقه و اولتراسوند به مدت ۵ دقیقه هموژن شد [۲۱].

تهیه فیلم صمغ دانه چیا

بعد از خریداری دانه چیا از عطاری و تاییده پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی دانشگاه شهید بهشتی، برای تهیه فیلم، ابتدا صمغ دانه چیا (۱٪) با ۳۰٪ گلیسرول با آب مخلوط و بن ماری شد. سپس نسبت‌های مختلف اسانس دارچین و نانوامولسیون حاوی اسانس دارچین ترکیب و با هموژنایزر اولتراتوراکس ۳۲۰۰ rpm به مدت یک دقیقه هموژن گردید. در نهایت محلول فیلم تهیه شده درون پتری دیش ریخته و در دمای اتاق به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. سپس فیلم‌های خشک شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و

$$S_{f_X} := \{(\theta, \eta): \theta, \eta \in [0, 2\pi)^2, f_X(\theta, \eta) > 0\}$$

$$= \bigcup_{k_1=-T_1+1}^{T_1-1} \bigcup_{k_2=-T_2+1}^{T_2-1} \left\{ (\theta, \eta): \theta, \eta \in [0, 2\pi)^2, \theta_j - \eta_j = \frac{2\pi k_j}{T_j}, j = 1, 2 \right\}$$

(۲)

با استفاده از ویژگی‌های (۱) و (۲) شیشه بر و امیری (۲۰۱۹) یک روش گرافیکی برای تشخیص PCSP بودن و تعیین دوره تناوب یک فرآیند فضایی مرتبه دوم، به فرم $X = \{X_t: t = (t_1, t_2), t_j = 1, \dots, N_j, j = 1, 2\}$ ارائه کردند. اساس کار آنها استفاده از تابع کوهرنسی فضایی، γ_X ، زیر است:

$$\gamma_X(p_1, p_2) = \frac{\left| \sum_{m_1=0}^{M_1-1} \sum_{m_2=0}^{M_2-1} d_X(m_1, m_2) \overline{d_X(m_1 + p_1, m_2 + p_2)} \right|^2}{\sum_{m_1=0}^{M_1-1} \sum_{m_2=0}^{M_2-1} |d_X(m_1, m_2)|^2 \sum_{m_1=0}^{M_1-1} \sum_{m_2=0}^{M_2-1} |d_X(m_1 + p_1, m_2 + p_2)|^2},$$

مقدار پیکسل تصویر در موقعیت $t = (t_1, t_2)$ است. اگر فرآیند فضایی X یک PCSP باشد، می‌توان برای تشخیص دوره‌ای بودن و تعیین دوره تناوب یک تصویر از ویژگی‌های PCSP استفاده کرد. همچنین اگر عکس یک فیلم با یک PCSP مدل بندی شود می‌توان از آن برای بررسی میزان فشردگی فیلم استفاده کرد. در این حالت هر چقدر اندازه دوره تناوب فیلم کوچکتر باشد نشان دهنده فشردگی بیشتر فیلم است.

برای تعیین فشردگی، مقادیر پیکسل‌های تصویر فیلم به صورت یک فرآیند فضایی در نظر گرفته و نمودار کوهرنسی فضایی متناظر با تصویر فیلم ها رسم شد. جهت بررسی دوره ای بودن تصویر یک فیلم و تعیین میزان فشردگی با استفاده از نمودار تابع کوهرنسی فضایی از رویکرد زیر پیروی گردید:

۱- اگر نمودار کوهرنسی فضایی متناظر با تصویر یک فیلم پیک قابل توجهی داشته باشد، این تصویر را می‌توان به عنوان یک تصویر دورایی (PCSP) در نظر گرفت.

۲- با توجه (۳)، در نمودار کوهرنسی فضایی هر چه نقطه پیک از مبدا دورتر باشد، اندازه دوره تناوب

فرآیند فضایی مرتبه دوم $X = \{X_t: t \in \mathcal{T} \subseteq \mathbb{Z}^2\}$ را یک فرآیند فضایی همبسته دوره‌ای (PCSP) گویند اگر $T = (T_1, T_2) \in \mathbb{N}^2$ ، چنان موجود باشد که برای هر $t, s \in \mathcal{T}$ و $n \in \mathbb{N}^2$ رابطه زیر برقرار باشد:

$$R_X(t, s) = R_X(t + n \odot T, s + n \odot T),$$

(۱)

که در آن $n \odot T = (n_1 T_1, n_2 T_2)$. دوره تناوب فرآیند فضایی همبسته دوره‌ای X گویند اگر T_1 و T_2 کوچکترین اعداد طبیعی باشند که در (۱) صدق می‌کنند. همچنین اگر f_X تابع چگالی طیفی X باشد تکیه گاه f_X به صورت زیر است:

$$d_X(\lambda_1, \lambda_2) = \frac{1}{\sqrt{N_1 N_2}} \sum_{t_1=1}^{N_1} \sum_{t_2=1}^{N_2} X_t e^{i 2\pi \left(\frac{t_1 \lambda_1}{N_1} + \frac{t_2 \lambda_2}{N_2} \right)}$$

$\lambda_1, \lambda_2 \in [0, 2\pi)$ و $M = (M_1, M_2) \in \mathbb{N}^2$

با توجه به ویژگی‌های تابع کوهرنسی فضایی، اگر نمودار این تابع برای فرآیند فضایی X دارای پیک غالب در نقطه $p^* = (p_1^*, p_2^*)$ باشد، فرآیند X یک PCSP بوده و دوره تناوب آن برابر است با

$$T = \left(\frac{N_1}{p_1^*}, \frac{N_2}{p_2^*} \right) \quad (۳)$$

بنابه (۳) هر چقدر نقطه پیک از مبدا دورتر باشد اندازه دوره تناوب کوچکتر است و برعکس. همچنین پیک‌های موجود در نمودار کوهرنسی فضایی یک فرآیند فرکانس‌های اصلی فرآیند را تشکیل داده و بیشترین تاثیر را در فرآیند دارند. در ضمن اگر نمودار کوهرنسی فضایی فرآیندی چندین پیک داشته باشد، فرآیند ترکیبی از چندین دوره تناوب بوده و مرتفع‌ترین پیک تعیین کننده‌ی دوره تناوب غالب است.

فرض کنید $X = \{X_t: t = (t_1, t_2), t_j = 1, \dots, N_j, j = 1, 2\}$ یک فرآیندهای فضایی متناظر با تصویری با تعداد پیکسل‌های $N_1 \times N_2$ باشد که در آن X_t

یکنواخت امولسیون مشاهده کردند [۲۵]. با این حال، تجمع قطرات ممکن است پس از خشک شدن رخ دهد و مقداری لخته سازی و ادغام ایجاد کند. شن و همکاران (۲۰۲۱) به طور مشابه نشان داد که لایه‌های پولولان-ژلاتین سطح صافی داشتند، در حالی که افزودن امولسیون Pickering باعث زبری و بی‌نظمی نسبتاً در فیلم شد. این مشاهده ممکن است به دلیل حرکت گلبول‌ها به سطح در طول خشک شدن باشد [۲۶].

در این مطالعه تصویر فیلم‌های نمایش داده شده در شکل ۲ به عنوان فرآیند فضایی در نظر گرفته و نمودار کوه‌رنسی فضایی آن‌ها در شکل ۳ به تصویر کشیده شد. وجود پیک در نمودار کوه‌رنسی فضایی متناظر با فیلم‌ها، نشان دهنده دوره‌ای بودن فیلم‌ها و محل پیک، تعیین کننده متناوب بودن عکس در یک راستا (راستای محور y) است. با توجه به نمودار کوه‌رنسی فضایی متناظر با فیلم‌ها، که در شکل ۱ نمایش داده شده است، به ترتیب فیلم e ، f ، g و h بیشترین فشردگی را دارند که نتایج حاصل از AFM را تایید کرد. لازم به توضیح است چون پیک نمودار کوه‌رنسی فضایی متناظر با هر دو فیلم e و f در نقطه $p = (0,4)$ است پس می‌توان گفت میزان فشردگی هر دو فیلم تقریباً یکسان بوده و چون ارتفاع پیک در نمودار کوه‌رنسی متناظر با فیلم f نسبت به e بیشتر است، موجب می‌شود تا با اطمینان بیشتری فشردگی آن تعیین گردد.

فیلم کوچکتر و فیلم فشرده‌تر است.

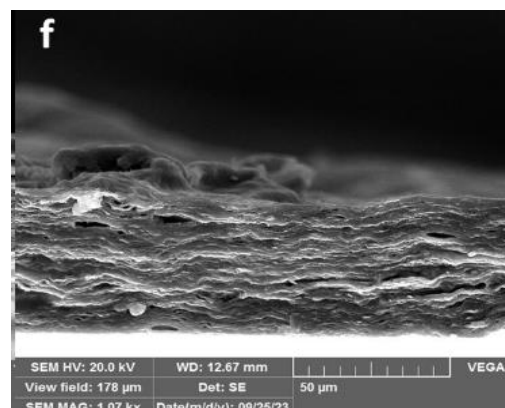
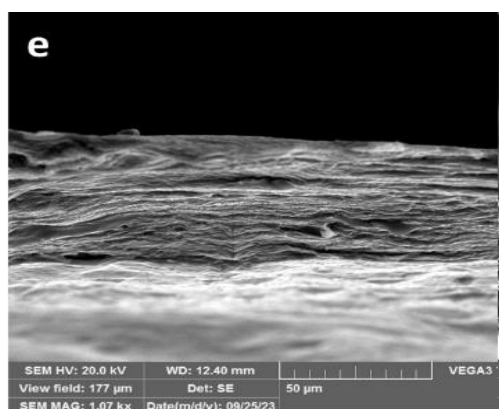
۳- اگر نمودار کوه‌رنسی فضای دو فیلم در نقطه یکسانی دارای پیک باشند می‌توان گفت فشردگی هر دو تقریباً یکسان است. در این حالت، ارتفاع پیک در نمودار کوه‌رنسی متناظر هر فیلم که بیشتر باشد میزان فشردگی را با اطمینان بیشتری مشخص می‌کند.

۴- اگر پیک نمودار کوه‌رنسی فضای متناظر با فیلم در محور x یا y باشد، نشان دهنده وجود دوره تناوب در همان راستا بوده است.

۳- نتایج و بحث

توپوگرافی سطح دو بعدی و سه بعدی تصاویر SEM و AFM از فیلم‌های صمغ دانه چیا حاوی نانوامولسیون اسانس دارچین در شکل ۱ ارائه شده است. سطح فیلم نسبتاً صاف و صاف بود. فیلم‌های مورد بررسی، با افزودن غلظت بیشتری از امولسیون دارای سطح نسبتاً ناهموار و نامنظمی بود. زبری فیلم‌های خوراکی حاوی امولسیون به دلیل انتشار دانه‌های ذرات روی سطح فیلم در طول خشک شدن است [۲۳].

مشاهدات ما به مشاهدات الماسی و همکاران (۲۰۲۰) نزدیک بود که سطح ناهموار فیلم پکتین بارگذاری شده با امولسیون Pickering را تایید کرد [۲۴]. علاوه بر این، سان و همکاران (۲۰۲۰) سازگاری فیلم اکنتیل سوکسینات نشاسته سدیم همراه با امولسیون اسانس دارچین را با توزیع



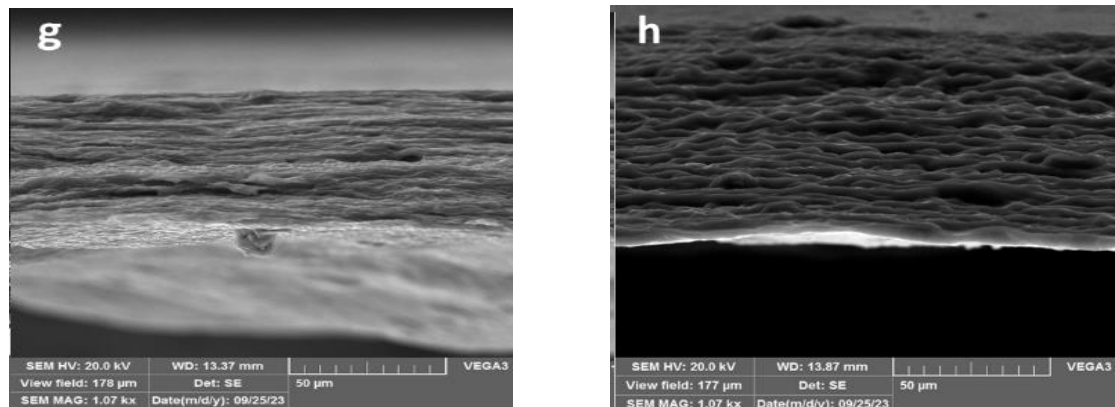


Fig. 1. SEM images of the cross-section of CSM film (e), CSM-2 (f), CSM-4 (g), CSM-6 (h).

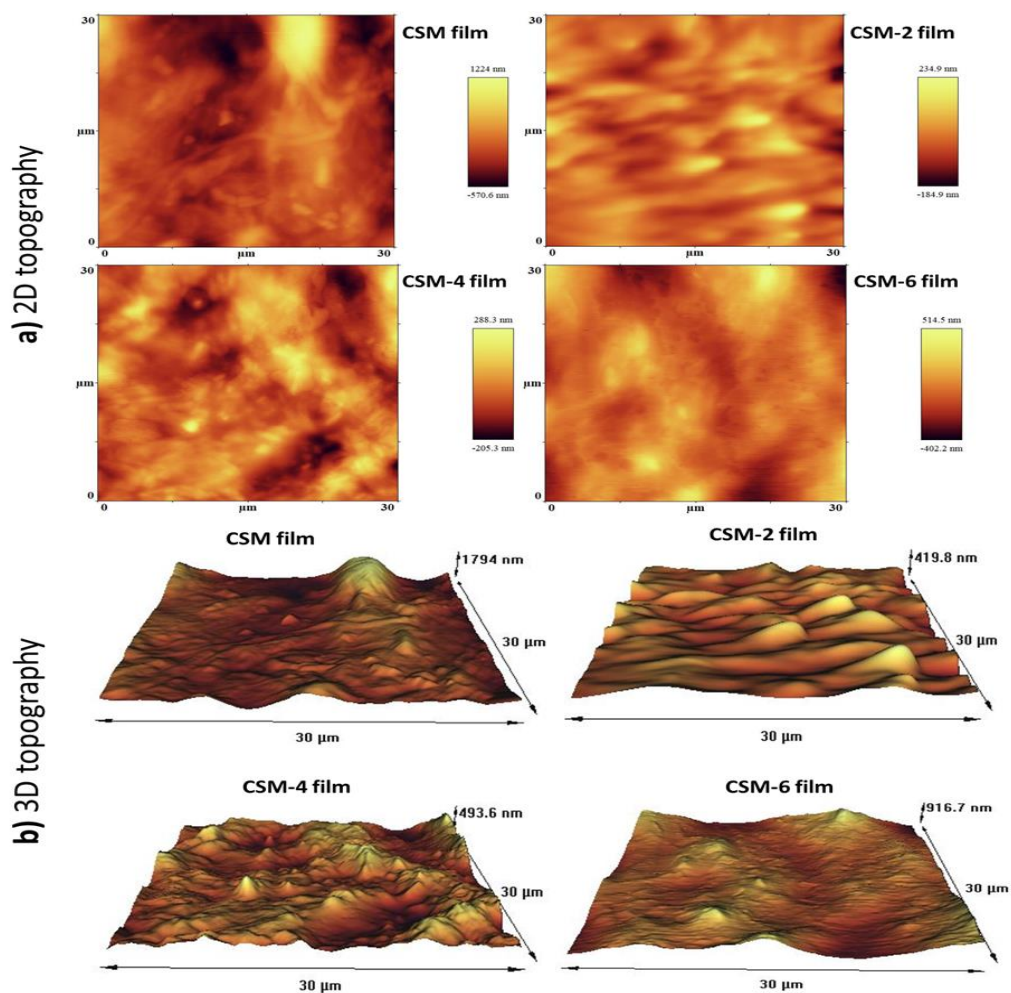
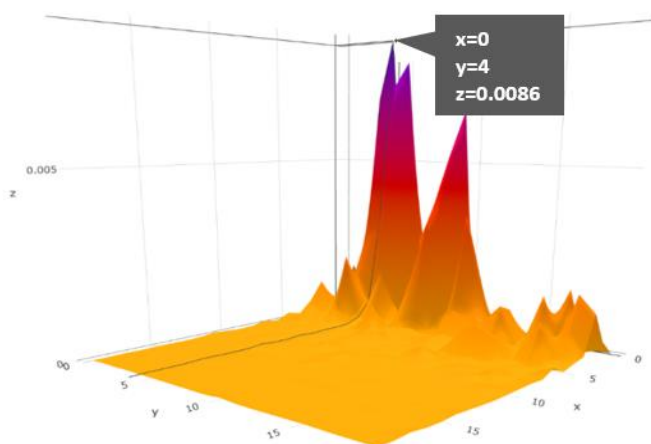
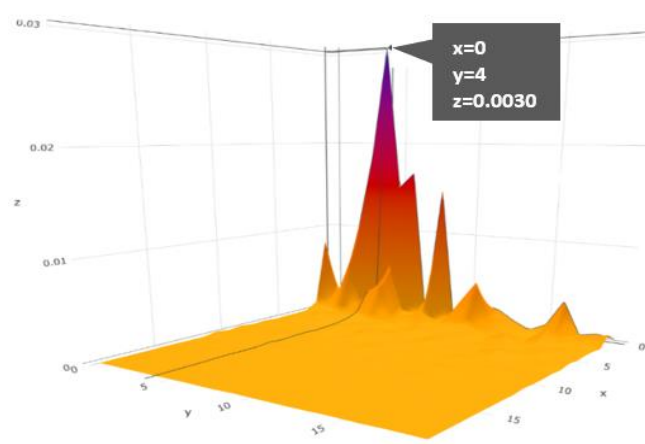


Fig. 2. AFM images of 2D surface (a) and 3D topography (b) of chia seed mucilage (CSM) films with different concentrations (2, 4, and 6%) of cinnamon essential oil nanoemulsion.

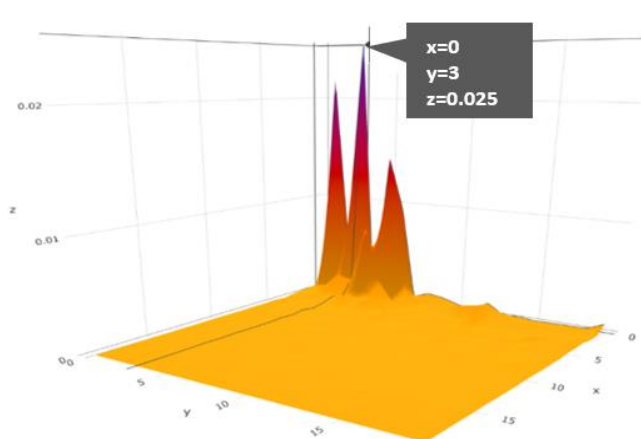
coherence graph of film e



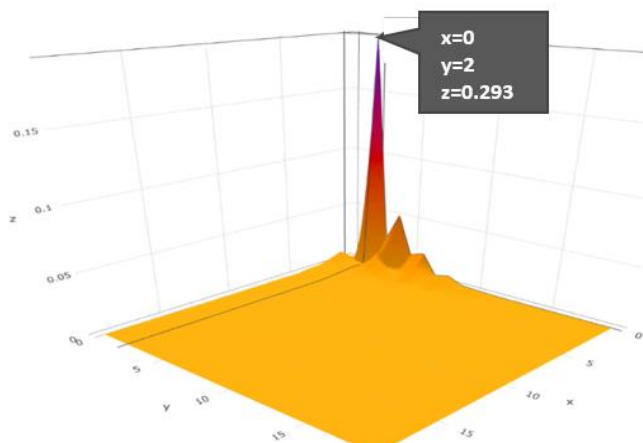
coherence graph of film f



coherence graph of film g



coherence graph of film h

**Fig. 3. Coherence graph of the films****۴- نتیجه گیری**

مورد پردازش تصویر قرار گرفتند و نتایج آن با AFM مورد مقایسه قرار گرفت. نتایج پردازش تصویر به عنوان روشی جدید، میزان زبری و فشردگی فیلم‌ها را پیش بینی کرده و نتایج نشان داد که در فیلم‌های نانوامولسیون، با افزایش غلظت اسانس، میزان فشردگی سطح کاهش پیدا می‌کند.

در تحقیق حاضر، فیلم‌های صمغ چیا حاوی نانوامولسیون اسانس دارچین تهیه و ویژگی‌های ساختاری، مورفولوژیکی آن‌ها توسط میکروسکوپ الکترونی روبشی و نیروی اتمی مکانیکی مورد بررسی قرار گرفت. سپس فیلم‌های میکروسکوپ الکترونی جهت بررسی میزان فشردگی سطح

ه-منابع

- [1] Mellinas, Cristina, et al. "Active edible films: Current state and future trends." *Journal of Applied Polymer Science* 133.2 (2016).
- [2] Erginkaya, Z., Kalkan, S., & Ünal, E. (2014). Use of antimicrobial edible films and coatings as packaging materials for food safety. In *Food processing: Strategies for quality assessment* (pp. 261-295). New York, NY: Springer New York.
- [3] Jiang, Changxing, Qingping Xiong, Dan Gan, Yunpeng Jiao, Jing Liu, Liping Ma, and Xiaoxiong Zeng. "Antioxidant activity and potential hepatoprotective effect of polysaccharides from *Cyclina sinensis*." *Carbohydrate Polymers* 91, no. 1 (2013): 262-268.
- [4] Ritchie, H., Roser, M., & Rosado, P. (2020). CO₂ and greenhouse gas emissions. *Our world in data*.
- [5] Espitia, P. J. P., Du, W. X., de Jesús Avena-Bustillos, R., Soares, N. D. F. F., & McHugh, T. H. (2014). Edible films from pectin: Physical-mechanical and antimicrobial properties-A review. *Food hydrocolloids*, 35, 287-296.
- [6] Mohamed, S. A., El-Sakhawy, M., & El-Sakhawy, M. A. M. (2020). Polysaccharides, protein and lipid-based natural edible films in food packaging: A review. *Carbohydrate polymers*, 238, 116178.
- [7] Dehghani S, Noshad M, Rastegarzadeh S, Hojjati M, Fazlara A. Electrospun chia seed mucilage/PVA encapsulated with green cardamom essential oils: Antioxidant and antibacterial property. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020;161:1-9.
- [8] Hatamian M, Noshad M, Abdanan-Mehdizadeh S, Barzegar H. Effect of roasting treatment on functional and antioxidant properties of chia seed flours. *NFS Journal*. 2020;21:1-8.
- [9] Dick M, Costa TMH, Gomaa A, Subirade M, de Oliveira Rios A, Flôres SH. Edible film production from chia seed mucilage: Effect of glycerol concentration on its physicochemical and mechanical properties. *Carbohydrate Polymers*. 2015;130:198-205
- [10] Salehi F. Characterization of new biodegradable edible films and coatings based on seeds gum: A review. *Journal of Packaging Technology and Research*. 2019;3(2):193-201
- [11] Nazir, S., Wani, I. A., & Masoodi, F. A. (2017). Extraction optimization of mucilage from Basil (*Ocimum basilicum* L.) seeds using response surface methodology. *Journal of Advanced Research*, 8(3), 235-244.
- [12] Y. Zhou, X. Wu, J. Chen, J. He, Effects of cinnamon essential oil on the physical, mechanical, structural and thermal properties of cassava starch-based edible films, *Int. J. Biol. Macromol.* 184 (2021) 574–583.
- [13] Gaba, A. B. M., Hassan, M. A., Abd EL-Tawab, A. A., Abdelmonem, M. A., & Morsy, M. K. (2022). Protective impact of chitosan film loaded oregano and thyme essential oil on the microbial profile and quality attributes of beef meat. *Antibiotics*, 11(5), 583.
- [14] Alves, V. D., Costa, N., & Coelho, I. M. (2010). Barrier properties of biodegradable composite films based on kappa-carrageenan/pectin blends and mica flakes. *Carbohydrate Polymers*, 79(2), 269-276.
- [15] Luo, M., Cao, Y., Wang, W., Chen, X., Cai, J., Wang, L., & Xiao, J. (2019). Sustained-release antimicrobial gelatin film: Effect of chia mucilage on physicochemical and antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 87, 783-791.
- [16] Emir Çoban, Ö., & Ergür, N. (2021). Chia musilage coating: Applications with gojiberry extract for shelf life extension of *Oncorhynchus mykiss* and its antibacterial and oxidative effects. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(2), e15114.
- [17] Mousavi, S. R., Rahmati-Joneidabad, M., & Noshad, M. (2021). Effect of chia seed mucilage/bacterial cellulose edible coating on bioactive compounds and antioxidant activity of strawberries during cold storage. *International Journal of Biological Macromolecules*, 190, 618-623.
- [18] Semwal, A., Ambatipudi, K., & Navani, N. K. (2022). Development and characterization of sodium caseinate based probiotic edible film with chia mucilage as a protectant for the safe delivery of probiotics in functional bakery. *Food Hydrocolloids for Health*, 2, 100065.
- [19] Muñoz-Tébar, N., Carmona, M., Ortiz de Elguea-Culebras, G., Molina, A., & Berruga, M. I. (2022). Chia seed mucilage edible films with *organum vulgare* and *satureja montana* essential

oils: characterization and antifungal properties. *Membranes*, 12(2), 213.

[20] Shishebor, Z., & Amiri Aghbilagh, B. (2019). On the asymptotic behavior of the periodograms of periodically correlated spatial processes: Periodicity detection. *Communications in Statistics-Theory and Methods*, 48(8), 1854-1870.

[21] Dammak, I., Lourenço, R. V., & do Amaral Sobral, P. J. (2019). Active gelatin films incorporated with Pickering emulsions encapsulating hesperidin: Preparation and physicochemical characterization. *Journal of Food Engineering*, 240, 9-20.

[22] Khodaei, D., Oltrogge, K., & Hamidi-Esfahani, Z. (2020). Preparation and characterization of blended edible films manufactured using gelatin, tragacanth gum and, Persian gum. *Lwt*, 117, 108617.

[23] Nisar, T., Wang, Z.-C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., & Guo, Y. (2018). Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670-680.

[24] Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338.

[25] Sun, H., Li, S., Chen, S., Wang, C., Liu, D., & Li, X. (2020). Antibacterial and antioxidant activities of sodium starch octenylsuccinate-based Pickering emulsion films incorporated with cinnamon essential oil. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159, 696-703.

[26] Shen, Y., Ni, Z.-J., Thakur, K., Zhang, J.-G., Hu, F., & Wei, Z.-J. (2021). Preparation and characterization of clove essential oil loaded nanoemulsion and pickering emulsion activated pullulan-gelatin based edible film. *International Journal of Biological Macromolecules*, 181, 528-539.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Image processing of chia seed mucilage film containing cinnamon essential oil nanoemulsion

Behnam Amiri¹., Mehran Sayadi^{2*}., Elahe Abedi^{3*}., Mohammad Aamin Jafari⁴

1- Department of Statistics, Faculty of Science, Fasa University, Fasa, Iran

2-Department of Food Safety and Hygiene, Faculty of Health, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran

3-Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa University, Fasa, Iran

4-Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/10/25 Accepted:2024/12/11	Imaging is a crucial tool for evaluating the structure of food materials. Image processing encompasses two-dimensional (2D) images of surfaces and cross-sections, such as those observed with microscopy, and three-dimensional (3D) internal structures obtained using confocal microscopy, computed tomography, and magnetic resonance imaging. This research utilized image processing to determine the hardness and compactness of edible biofilms infused with nanoemulsions. Chia seed gum edible films containing cinnamon essential oil were prepared at concentrations of 2%, 4%, and 6%. Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM) images of the films were acquired. The AFM and image processing results demonstrated that increasing the essential oil concentration from 2% to 6% decreased compactness and increased surface roughness, consistent with the image processing findings. Therefore, this interpretive image processing offers a potential capability for determining the compactness of edible and non-edible films in the packaging industry.
Keywords: Chia seed mucilage; Image processing; Scanning electron microscopy; Atomic force microscope; Compressibility of edible biofilms	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.221. *Corresponding Author E- Mehransayadi62@gmail.com; elaheabedi1389@gmail.com	



بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال بر خواص کیفی و ماندگاری خرما کبکاب

محمد گنجه^{۱*}، ناهید احمدی ثابت^۲، غلامرضا عبدی^{۳*}، سید سعید سخاوتی زاده^۴، حمید بخش آبادی^۱

۱- گروه کشاورزی، مجتمع آموزش عالی میناب، دانشگاه هرمزگان، بندرعباس، ایران.

۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی خرد، بوشهر، ایران.

۳- پژوهشکده زیست فناوری خلیج فارس، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.

۴- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی فارس، سازمان تحقیقات و آموزش جهاد کشاورزی، شیراز، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۷/۸

کلمات کلیدی:

خرما کبکاب،

پوشش خوراکی،

کیتوزان،

ژلاتین،

عصاره پوست پرتقال

DOI:10.22034/FSCT.22.159.232.

* مسئول مکاتبات:

abdi@pgu.ac.ir

خرما از نظر تغذیه‌ای بسیار غنی بوده و از لحاظ تجاری و صادرات نیز از اهمیت بالایی برخوردار است. لذا راهکارهای مختلف در جهت افزایش ماندگاری این محصول اتخاذ شده که می‌تواند آن را در گستره زمانی وسیع‌تر در اختیار مصرف‌کننده‌ها قرار دهد. از این‌رو هدف مطالعه حاضر استفاده از پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره طبیعی پوست پرتقال بر روی خرما کبکاب ذخیره شده در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ روز بود. در همین راستا با آزمون‌های فیزیکوشیمیایی (افت وزن، pH، اسیدیته، رطوبت، قند احیاء، مواد جامد محلول و سفتی بافت) و حسی (پذیرش کلی)، وضعیت تیمارها طی مدت نگهداری بررسی گردید. بر اساس بررسی‌های صورت گرفته کمترین تغییرات افت وزن در هر دو دمای مورد بررسی (۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد) در نمونه تیمار شده با پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال در روز ۹۰ نگهداری بود. نتایج نشان داد که با افزایش زمان و دمای نگهداری، میزان pH و رطوبت کاهش و میزان اسیدیته، مواد جامد محلول، قند احیاء و سفتی بافت افزایش معنی‌داری داشتند ($p < 0.05$). همچنین با افزایش زمان و دمای نگهداری روند کاهشی در ویژگی‌های حسی وجود داشت و نمونه‌های تیمار شده با پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان-ژلاتین حاوی ۴ و ۱۰ mg/ml عصاره پوست پرتقال دارای بالاترین مطلوبیت در ویژگی‌های حسی خرما کبکاب بودند. بر اساس نتایج بررسی‌ها می‌توان پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال را به عنوان بهترین فرمولاسیون در جهت افزایش ماندگاری خرما کبکاب تا ۹۰ روز معرفی نمود.

۱-مقدمه

خرما (*Phoenix dactylifera* L.) موفق‌ترین و مهم‌ترین محصول معیشتی در بیشتر مناطق گرم و خشک محسوب می‌شود. میوه خرما یک محصول مهم تجاری در کشورهای خاورمیانه است. این محصول منبع غنی کربوهیدرات، قندهای ساده، مواد معدنی، عناصری مانند فسفر، آهن، پتاسیم، ویتامین‌ها و درصد بالایی از فیبرهای غذایی شناخته شده است، اما نسبتاً کم پروتئین است [۱]. امروزه در بسته‌بندی مواد غذایی، فیلم و پوشش‌های خوراکی در بسیاری موارد به طور کامل جایگزین فیلم‌های پلیمری سنتزی یا ترموپلاستیک (Thermoplastic) شده‌اند. از آن جمله می‌توان به استفاده از انواع این پوشش‌ها و فیلم‌ها بر سطح فرآورده‌های غذایی نظیر فرآورده‌های قنادی، میوه‌ها و سبزی‌های تازه، برخی فرآورده‌های گوشتی، طیور و ماهی، فرآورده‌های منجمد، خشک شده اشاره داشت [۲]. استفاده از پوشش‌ها و لفاف‌های خوراکی در افزایش ماندگاری و بهبود کیفیت مواد غذایی تازه و منجمد روشی است که طی سالیان اخیر مورد توجه فراوان قرار گرفته است [۳]. پوشش‌ها یا فیلم‌های خوراکی با بهبود ظاهر میوه‌ها، به تأخیر انداختن رسیدن و تغییر رنگ و داشتن عملکردهایی نظیر حامل عوامل ضد میکروبی و ضد قهوه‌ای شدن بودن، ممانعت از ورود رطوبت و اکسیژن و در نتیجه کاهش سرعت واکنش اکسیداسیون، کیفیت و ماندگاری مواد غذایی را بهبود می‌بخشند [۴]. در سال‌های اخیر، پروتئین سویا، ژلاتین، کازئین، کلاژن، کیتوزان، پروتئین آب پنیر، فیلم‌های مبتنی بر متیل سلولز و غیره از جمله پرکاربردترین فیلم‌ها یا پوشش‌های خوراکی بوده است [۵]. از طرف دیگر، مشخص شده است که ذخیره‌سازی سرد، ماندگاری میوه را به تأخیر می‌اندازد و ماندگاری خرما را در مقایسه با ذخیره‌سازی در شرایط محیط افزایش می‌دهد [۶].

کیتوزان دارای خواصی مانند غیرسمیت، زیست سازگاری، تجزیه بیولوژیکی و فعالیت ضد میکروبی

می‌باشد که باعث افزایش استفاده از این ماده در مقایسه با بسیاری از بیوپلیمرها شده است [۷]. بعلاوه، کیتوزان بسیاری از خواص مفید سلامتی از جمله خاصیت آنتی‌اکسیدانی [۸]، خاصیت ضد دیابت [۹]، اثرات موثر در کاهش وزن [۱۰]، فعالیت ضد سرطانی [۱۱]، فعالیت کاهش دهنده کلسترول [۱۲] و سایر موارد را فراهم می‌کند، که آن را به یک عامل امیدوار کننده برای فیلم‌ها و پوشش‌های خوراکی تبدیل می‌کند. در تحقیقی دیگر در مورد استفاده از فیلم‌های ضد میکروبی مبتنی بر کیتوزان گزارش گزارش شده است که ایمنی مواد غذایی را فراهم می‌کند و ماندگاری محصولات غذایی را افزایش می‌دهد [۱۳]. بعلاوه از کیتوزان به عنوان مواد بسته‌بندی زیست فعال برای حفظ محصولات لبنی نیز استفاده شده است [۱۴]. خواص کیتوزان را می‌توان در صورت استفاده با سایر عوامل فعال زیستی بهبود بخشید [۱۵]. با وجود تمام این مزایا استفاده از کیتوزان به عنوان ماده بسته‌بندی به دلیل خاصیت مکانیکی ضعیف، مقاومت در برابر آب به دلیل خاصیت آبدوستی با چالش‌هایی مواجه است [۱۶].

ژلاتین یک بیوپلیمر کاربردی مانند پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌ها است [۱۷] که توانایی تشکیل فیلم مناسب [۱۸]، تجزیه بیولوژیکی [۱۹] و خاصیت ضد بخار آب قوی [۲۰] را دارد. ژلاتین به راحتی با کیتوزان مخلوط می‌شود و به دلیل اسیدهای آمینه با بار منفی، امکان تعامل الکترواستاتیک با کیتوزان با بار مثبت را فراهم می‌کند [۲۱]. از فیلم‌های ژلاتینی به عنوان مواد بسته‌بندی خوراکی سازگار با محیط زیست برای حفظ ماندگاری مواد غذایی به ویژه مواد حساس به تغییرات کیفیت ناشی از جذب رطوبت استفاده شده است [۲۲].

پوست پرتقال به اپیکارپ (*Epicarp*) یا فلاودو (*Flavedo*) (سطح رنگی بیرونی) و مزوکارپ (*Mesocarp*) یا آلبودو (*Albedo*) (لایه میانی سفید نرم) تقسیم می‌شود. استفاده از بخش‌های مختلف مرکبات

مخلوط از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۲ برای حذف ذرات پوست صاف شد. عصاره‌های صاف شده توسط اواپراتور چرخشی تحت خلاء در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد تا حذف کامل حلال فرایند شد. عصاره‌ها را در شیشه‌های تیره قرار داده و تا زمان استفاده در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند [۳۰].

بعد از استخراج عصاره پوست پرتقال

تهیه پوشش خوراکی

به طور خلاصه برای تهیه پوشش ژلاتین (GL)، پودر ژلاتین در آب مقطر دو بار تقطیر (۱ درصد وزنی/حجمی)، حل شده و جهت تورم و انحلال بهتر ۴۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شدند. پس از آن، محلول در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه به آرامی همزده شد. برای تهیه پوشش کیتوزان (CH)، پودر کیتوزان در آب مقطر دو بار تقطیر (۲ درصد وزنی/حجمی) که حاوی ۰/۰۷ درصد اسید استیک است، حل شد و محلول در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ ساعت همزده شد. برای تهیه پوشش کیتوزان-ژلاتین (CH-GL)، به محلول کیتوزان، پودر ژلاتین (۱ درصد وزنی/حجمی) اضافه شد و محلول در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ دقیقه همزده شد. به منظور نرم شدن و انعطاف‌پذیر شدن پوشش‌ها، ۰/۷۵ درصد (حجمی/حجمی) گلیسرول به عنوان نرم‌کننده (پلاستیسایزر) به محلول اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط کردن ادامه یافت [۳۱].

در ادامه جهت غنی‌سازی پوشش‌های خوراکی با ترکیبات زیست فعال، به هر پوشش مقادیر ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره پوست پرتقال (OPE) اضافه شد و محلول‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد تا حلالیت کامل مخلوط شدند [۳۲]. محلول‌های پوشش‌دهی نهایی جهت پوشش‌دهی خرما کبکاب طبق جدول ۱ می‌باشد.

برای درمان و پیشگیری از بیماری‌های مختلف استفاده شده است که به عنوان چند نمونه می‌توان به مطالعاتی مانند درمان اسکوربوت [۲۳] آب پرتقال، لیمو ترش و لیمو برای پیشگیری از تشکیل سنگ کلیه [۲۴]، گریپفروت عامل کاهش دهنده فشار خون [۲۵]، فلاونوئیدهای مرکبات عاملی مؤثر در تعدیل متابولیسم لیپیدهای کبدی [۲۶]، آب پرتقال برای جلوگیری و تعدیل فرآیندهای التهابی [۲۷]، پلی‌فنولیک‌های پوست کامکوات حاوی عوامل آنتی‌اکسیدانی مؤثر [۲۸]، آب گریپ فروت دارای اثرات ضد سمیت ژنی [۲۹] اشاره کرد.

با توجه به اهمیت خرما در ارتباط با تأمین مواد غذایی، صنعتی و نقش آن در اقتصاد و معشیت مناطق خرماخیز و همچنین به علت داشتن ویژگی‌های مناسب برای صادرات، توجه به مشکلات و مسائل آن ضروری است. از اینرو این ضرورت ایجاد گردید که خرما کبکاب که در ایران بصورت وسیعی کشت می‌شود را توسط پوشش خوراکی کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره طبیعی پوست پرتقال مورد بررسی قرار داده و از طرفی با استفاده از پسماند کارخانجات آبمیوه و استخراج عصاره‌های سرشار از ترکیبات زیست فعال و کاهش هزینه و همچنین کاهش آلودگی محیط بهره برد.

۲- مواد و روش‌ها

تهیه پودر و عصاره پوست پرتقال

میوه‌های پرتقال (رقم تامسون ناول) را با آب مقطر شستشو داده و پوست آنها را جدا کرده و قسمت‌های خوراکی آنها با دقت جدا شد. پوست‌های جدا شده را به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا بصورت کامل خشک شدند و سپس توسط آسیاب برقی به پودر ریز تبدیل کرده و از طریق الک شماره ۲۴ عبور داده شد. بر اساس روش‌های توصیه شده ۱۰۰ گرم نمونه پودر تهیه شده با ۸۰۰ میلی‌لیتر متانول به روش سوکسله در دمای اتاق و به مدت ۶ ساعت، عصاره‌گیری شد. این

جهت پوشش‌دهی خرماهای کبکاب با توجه به غیریکنواخت بودن سطح خرما، عملیات پوشش‌دهی از روش غوطه‌وری صورت پذیرفت. بدین صورت که خرماهای کبکاب به مدت ۲ دقیقه در محلول‌های تهیه شده غوطه‌ور شدند و سپس محلول پوشش‌دهی اضافی با آبکش کردن از خرما جدا شد. خرماهای پوشش داده شده در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده و در بسته‌های

پلی‌اتیلنی بسته‌بندی شدند. تیمار شاهد فاقد پوشش (آب مقطر) بود. خرماهای تیمار شده و شاهد پس از بسته‌بندی، در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و در زمان‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ ماه پس از نگهداری مورد بررسی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی قرار گرفتند.

Table 1: Treatments used to coating the Kabkab dates

Row	Coating composition	Sample Code
1	GL (1 %) + OPE (5 mg/ml)	G-E5
2	GL (1 %) + OPE (10 mg/ml)	G-E10
3	CH (2 %) + OPE (5 mg/ml)	CH-E5
4	CH (2 %) + OPE (10 mg/ml)	CH-E10
5	GL (1 %) + CH (2 %) + OPE (5 mg/ml)	G-CH-E5
6	GL (1 %) + CH (2 %) + OPE (10 mg/ml)	G-CH10E
7	Control sample (uncoated)	C

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی ارزیابی pH

میزان pH با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm 827, Germany) که با محلول‌های بافر ۴ و ۷ کالیبره شد و با الکترودهای شیشه‌ای استاندارد در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری گردید. بدین صورت که ۲۵ گرم خرما در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط مخلوط‌کن کاملاً همگن شده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد [۳۳].

ارزیابی اسیدیته

جهت اندازه‌گیری میزان اسیدیته (برحسب اسید سیتریک) در خرماهای کبکاب به روش تیتراسیون به هیدروکسید سدیم ۰/۱ نرمال انجام شد. بدین منظور ابتدا ۵ گرم از هر نمونه خرما در هاون چینی خمیر شده و پس از افزودن ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۵ دقیقه همزدن بر روی شیکر،

تیتراسیون با استفاده از محلول سود ۰/۱ نرمال تا رسیدن به pH حدود ۸/۴ تا ۸/۶ انجام شد [۳۳]. اسیدیته خرما با استفاده از معادله ۱ محاسبه گردید:

$$\text{معادله ۱} \quad \text{اسیدیته} = \frac{V \times N \times 0.064}{M} \times 100$$

در این معادله V، مقدار سود مصرفی به میلی‌لیتر، N، نرمالیه سود مصرفی و M وزن نمونه (گرم) می‌باشد.

اندازه‌گیری رطوبت

ده گرم میوه خرما بدون هسته با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و با آسیاب به قطعات کوچک تبدیل شد. سپس برای تعیین رطوبت، نمونه‌های چرخ شده را به میزان ۲-۳ گرم توزین کرده و در آون تحت خلاء (Memmert V049, Germany) در دمای ۶۵-۷۰ درجه

سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت خشک شد [۳۴].

ارزیابی مواد جامد محلول کل (بریکس)

ده گرم میوه خرما بدون هسته با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط کرده و با آسیاب به قطعات کوچک تبدیل شد. سپس مقدار بریکس (مواد جامد محلول)^۱ (TSS) برای هر عصاره با استفاده از رفراکتومتر دیجیتال (Atago PL-2, Japan) قرائت شد [۳۴].

افت وزن

افت وزن به وسیله اندازه‌گیری وزن خرما در زمانهای ۰، ۱، ۲ و ۳ ماه پس از نگهداری و محاسبه اختلاف وزن در هر زمان با وزن اولیه خرما بدست آمد [۳۵].

اندازه‌گیری قند احیاء کننده

برای اندازه‌گیری قند احیاء کننده خرما از روش لین اینون استفاده شد [36]. اساس این روش احیاء مس دو ظرفیتی حاصل از ترکیب فهلینگ A و B توسط قندهای احیاء کننده و تبدیل آن به مس یک ظرفیتی می‌باشد. بدین منظور پس از توزین ۴ گرم خرما و رساندن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر، تیتراسیون محلول‌های فهلینگ A و B با محلول قندی تا تشکیل رسوب قرمز آجری و در حضور معرف متیلن بلو انجام شد. مقدار گرم قند احیاء کننده در ۱۰۰ گرم نمونه خرما از معادله ۲ محاسبه شد.

$$\text{معادله ۲} \quad n = \frac{F \times 100 \times 100}{M \times V}$$

در این معادله n، مقدار گرم قند احیاء کننده در ۱۰۰ گرم نمونه خرما، F، فاکتور فهلینگ، V، حجم محلول قندی مصرفی برای تیتراسیون و M، وزن نمونه خرما (گرم) می‌باشد.

سفتی بافت

سفتی بافت، پس از جدا کردن هسته خرما، طی آزمون نفوذ توسط دستگاه پنترومتر (Lutron FR-5120, Taiwan) توسط یک پروب استوانه‌ای با قطر ۱/۲۷ سانتیمتر با سرعت ۲ میلی‌متر در ثانیه و عمق نفوذ ۱/۳ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد [36].

ارزیابی ویژگی‌های حسی

این ارزیابی توسط ۱۰ نفر ارزیاب نیمه آموزش دیده متشکل از ۵ مرد و ۵ زن انجام گرفت. ارزیابی حسی بر روی ویژگی‌های طعم و مزه (طعم مطلوب تا طعم ترشیدگی)، درخشندگی، سفتی بافت و پذیرش کلی با استفاده از آزمون هدونیک ۵ نقطه‌ای (۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب معادل خیلی بد، بد، متوسط، خوب و خیلی خوب) انجام شد. این ارزیابی یک روز بعد از پوشش‌دهی و هر ۱ ماه یکبار تا ۳ ماه تکرار گردید.

طرح آماری

کلیه آزمون‌ها در سه تکرار صورت پذیرفت. آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ انجام و نتایج به صورت میانگین مثبت، منفی انحراف معیار بیان شدند. جهت ارائه تفاوت بین داده‌ها از جدول آنالیز واریانس یک‌طرفه ANOVA و همچنین برای اختلاف میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Microsoft Excel نسخه ۲۰۱۶ استفاده گردید.

۳- نتایج و بحث

تغییرات افت وزن

افت وزن فیزیولوژیکی میوه‌ها و سبزیجات به‌طور مستقیم با از دست دادن آب و تنفس محصولات تولید شده از طریق پوست در ارتباط است. میزان از دست دادن رطوبت به گرادیان فشار بافت‌های تولید شده بستگی دارد. این عامل مهمی است که طول عمر میوه‌ها و سبزیجات پس از

1 -Total Soluble Solids

برداشت را تعیین می‌کند [۳۷، ۳۸]. تأثیر تیمارهای پوششی مورد مطالعه بر افت وزن میوه‌های خرما کبکاب در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ روز بررسی شد و نتایج بدست آمده در جدول ۲ ارائه شد. داده‌های ارائه شده نشان داد که افت وزن به تدریج برای تمام تیمارهای مورد مطالعه با افزایش دوره ذخیره‌سازی افزایش می‌یابد، این افت وزن عمدتاً به میزان تنفس و تبخیر رطوبت میوه‌ها مربوط می‌شود [۳۹]. اما بیشترین افزایش برای نمونه شاهد در هر دو دمای نگهداری مشاهده شد. از نتایج می‌توان متوجه شد که پائین‌ترین تغییرات افت وزن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد بجز روز اول به ترتیب، در روز سوم در دو نمونه خرما پوشش شده با کیتوزان-ژلاتین حاوی ۱۰mg/ml ($1/70 \pm 0/02$ درصد) و ۵mg/ml ($1/78 \pm 0/01$ درصد) و بالاترین تغییرات در روز ۹۰ نگهداری در نمونه شاهد با میزان $9/12 \pm 0/07$ درصد بود. همچنین پائین‌ترین تغییرات افت وزن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بجز روز اول به ترتیب، در روز سوم در نمونه خرما پوشش شده با کیتوزان-ژلاتین حاوی ۱۰mg/ml ($3/92 \pm 0/03$ درصد) و بالاترین تغییرات در روز ۹۰ نگهداری در نمونه شاهد با میزان $11/39 \pm 0/09$ درصد بود. در مقایسه تغییرات افت وزن نمونه‌های خرما تیمار شده با انواع مختلف پوشش‌های خوراکی حاوی عصاره پوست پرتقال در دو دمای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد طبق جدول ۲ مشاهده گردید که تغییرات افت وزن در دمای بالاتر (۲۵ درجه سانتی‌گراد) بیشتر از دمای پائین (۴ درجه

سانتی‌گراد) بود؛ بطوری که کمترین تغییرات افت وزن در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد $6/49 \pm 0/01$ درصد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد برابر با $7/61 \pm 0/06$ درصد بعد از ۹۰ روز نگهداری بود که هردو نمونه پوشش شده با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال بود. این کاهش در افت وزن میوه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد، احتمالاً به دلیل تأثیر پوشش‌ها به عنوان یک مانع نیمه نفوذپذیر در برابر اکسیژن، دی اکسید کربن، رطوبت و حرکت املاح است، در نتیجه تنفس، کاهش آب و سرعت واکنش اکسیداسیون را کاهش می‌دهد [۴۰]. مطالعات متعددی نتایج مبنی بر تأثیر پوشش‌های خوراکی را بر کاهش در افت وزن میوه‌های تیمار شده را نشان داده‌اند که تأیید کننده نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر است. همچنین تعدادی از محققان در مطالعات خود مبنی بر تأثیرات پوشش خوراکی بر افت وزن گزارش کرده‌اند که پوشش خوراکی به دلیل خاصیت ممانعت کنندگی در برابر از دست دادن آب، کاهش سنتز و کنترل فعالیت آنزیمی، می‌تواند افت وزن میوه و سبزیجات را در طول دوره ذخیره‌سازی کند نماید [۴۱]، [۴۲ و ۴۳]. بنابراین می‌توان با توجه به نتایج به دست آمده بیان کرد پوشش مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال سبب محدود شدن انتقال آب از طریق بستن منافذ روی سطح خرما کبکاب و کاهش درصد افت وزن میوه شده است.

Table 2: Effect of coating, temperature and storage time on the weight (g) loss of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	0 ^d	2.34 $\pm$ 0.03 ^{cB**}	4.93 $\pm$ 0.07 ^{bB}	7.11 $\pm$ 0.09 ^{aB}
	G-E10	0 ^d	2.23 $\pm$ 0.03 ^{cC}	4.80 $\pm$ 0.05 ^{bC}	7.02 $\pm$ 0.05 ^{aB}
	CH-E5	0 ^d	2.04 $\pm$ 0.04 ^{cD}	4.31 $\pm$ 0.04 ^{bD}	6.80 $\pm$ 0.04 ^{aC}
	CH-E10	0 ^d	1.97 $\pm$ 0.07 ^{cD}	4.22 $\pm$ 0.05 ^{bDE}	6.88 $\pm$ 0.07 ^{aC}
	G-CH-E5	0 ^d	1.78 $\pm$ 0.03 ^{cE}	4.16 $\pm$ 0.04 ^{bE}	6.49 $\pm$ 0.02 ^{aD}
	G-CH-E10	0 ^d	1.70 $\pm$ 0.03 ^{cE}	4.02 $\pm$ 0.06 ^{bF}	6.52 $\pm$ 0.1 ^{aD}

	C	0 ^d	5.56 ± 0.07 ^{cA}	7.64 ± 0.13 ^{bA}	9.12 ± 0.12 ^{aA}
	G-E5	0 ^d	4.42 ± 0.05 ^{cB**}	6.81 ± 0.04 ^{bB}	8.01 ± 0.13 ^{aBC}
	G-E10	0 ^d	4.40 ± 0.04 ^{cB}	6.87 ± 0.04 ^{bB}	8.17 ± 0.06 ^{aB}
	CH-E5	0 ^d	4.23 ± 0.03 ^{cC}	6.52 ± 0.12 ^{bCD}	7.79 ± 0.03 ^{aDE}
25	CH-E10	0 ^d	4.15 ± 0.08 ^{cC}	6.60 ± 0.17 ^{bC}	7.91 ± 0.08 ^{aCD}
	G-CH-E5	0 ^d	4.11 ± 0.05 ^{cC}	6.46 ± 0.06 ^{bCD}	7.72 ± 0.12 ^{aDE}
	G-CH-E10	0 ^d	3.92 ± 0.05 ^{cD}	6.37 ± 0.06 ^{bD}	7.61 ± 0.11 ^{aE}
	C	0 ^d	6.39 ± 0.11 ^{cA}	9.43 ± 0.06 ^{bA}	11.39 ± 0.16 ^{aA}

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P > 0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan + 10 mg/ml orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

pH و اسیدیته قابل تیتراسیون

در جدول ۳ و ۴ تغییرات pH و اسیدیته را در بازه زمانی ۹۰ روزه و تحت تأثیر پوشش‌ها در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد. اسیدیته قابل تیتراسیون نمونه‌های خرما کبکاب ذخیره شده روند کاهشی اسیدیته و روند افزایشی pH را در نمونه شاهد و نمونه‌های خرما تیمار شده با پوشش خوراکی با گذشت زمان ذخیره‌سازی نشان داد. بطوری که پائین‌ترین تغییرات میزان pH در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز اول در نمونه‌های خرما در محدوده بین ۶/۰۰-۹/۶۰ و کمترین میزان pH در روز ۹۰ نگهداری در نمونه خرما تیمار شده با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب، $6/47 \pm 0/03$ و $6/30 \pm 0/02$ بود و همانطور که از مقایسه تغییرات بین دو دما مشاهده می‌شود با افزایش دما میزان pH کاهش می‌یابد. بنابراین سه عامل زمان، دما و نوع پوشش بر میزان تغییرات pH تأثیرگذار بوده است. در بررسی میزان تغییرات اسیدیته قابل تیتراسیون در این سه دوره نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد کمترین میزان را در نمونه شاهد در روز ۹۰ نگهداری با میزان $0/11 \pm 0/163$ و بالاترین میزان را نمونه

خرما پوشش شده با کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال به میزان $0/005 \pm 0/283$ در روز ۳۰ نگهداری نشان داد، از طرفی اثر نوع پوشش خوراکی بر میزان تغییرات میزان اسیدیته در روز ۳۰، ۶۰ و ۹۰ نگهداری تأثیرگذار بوده بطوری که در بین تمام نمونه‌های خرما پوشش شده حاوی عصاره پوست پرتقال اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p < 0/05$) ولی با نمونه شاهد اختلاف معنی‌داری داشتند ($p < 0/05$). میزان تغییرات اسیدیته نمونه‌های خرما تیمار شده با انواع مختلف پوشش‌های خوراکی حاوی عصاره پوست پرتقال در دو دمای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌توان بیان کرد که با گذشت زمان میزان اسیدیته نمونه‌های خرما افزایش داشته است. همچنین در بررسی اثر نوع پوشش خوراکی می‌توان هر دو پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال را در ایجاد تغییرات کمتر میزان اسیدیته بیان کرد. بنابراین این مطالعه پتانسیل پوشش خوراکی کامپوزیت کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال را در کاهش تلفات خرما کبکاب پس از برداشت نشان داد. می‌توان بیان کرد که پوشش‌های خوراکی از طریق کاهش میزان تنفس و استفاده کمتر از اسیدهای آلی ذخیره شده در واکوئل‌ها به عنوان بستر تنفسی، به تأخیر در بلوغ میوه و رسیدن آن کمک می‌کنند [۴۴].

Table 3: Effect of coating, temperature and storage time on the pH of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	5.98 ±0.02 ^{dA**}	6.17 ±0.02 ^{cB}	6.38 ±0.03 ^{bB}	6.58 ±0.02 ^{aB}
	G-E10	5.96 ±0.001 ^{dA}	6.17 ±0.005 ^{cB}	6.37 ±0.04 ^{bB}	6.58 ±0.02 ^{aB}
	CH-E5	5.98 ±0.02 ^{dA}	6.13 ±0.01 ^{cC}	6.35 ±0.04 ^{bB}	6.53 ±0.03 ^{aBC}
	CH-E10	5.98 ±0.02 ^{dA}	6.14 ±0.01 ^{cC}	6.37 ±0.05 ^{bB}	6.52 ±0.02 ^{aCD}
	G-CH-E5	5.97 ±0.03 ^{dA}	6.10 ±0.01 ^{cD}	6.39 ±0.01 ^{bB}	6.53 ±0.04 ^{aBC}
	G-CH-E10	5.99 ±0.01 ^{dA}	6.10 ±0.01 ^{dD}	6.35 ±0.02 ^{bB}	6.47 ±0.03 ^{aD}
	C	5.97 ±0.01 ^{dA}	6.27 ±0.25 ^{cA}	6.64 ±0.04 ^{bA}	6.86 ±0.027 ^{aA}
25	G-E5	5.99 ±0.02 cA**	6.08 ±0.02 cB	6.20 ±0.06 bB	6.43 ±0.05 aB
	G-E10	5.97 ±0.005 dA	6.06 ±0.025 cB	6.21 ±0.01 bB	6.43 ±0.03 aB
	CH-E5	5.97 ±0.03 dA	6.07 ±0.02 cB	6.19 ±0.02 bB	6.35 ±0.03 aC
	CH-E10	6.00 ±0.01 dA	6.07 ±0.005 cB	6.17 ±0.02 bB	6.33 ±0.028 aC
	G-CH-E5	5.98 ±0.011 dA	6.06 ±0.011 cB	6.16 ±0.005 bB	6.30 ±0.02 aC
	G-CH-E10	5.98 ±0.02 dA	6.05 ±0.025 cB	6.16 ±0.005 bB	6.32 ±0.025 aC
	C	5.97 ±0.017 dA	6.19 ±0.02 cA	6.35 ±0.06 bA	6.62 ±0.04 aA

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P>0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan+mg/ml 10 orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

Table 4: effect of coating, temperature and storage time on the acidity of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	0.276 ±0.005 ^{aA**}	0.276 ±0.005 ^{aA}	0.243 ±0.011 ^{bA}	0.216 ±0.025 ^{bA}
	G-E10	0.286 ±0.015 ^{aA}	0.266 ±0.02 ^{aA}	0.256 ±0.011 ^{aA}	0.203 ±0.015 ^{bA}
	CH-E5	0.286 ±0.011 ^{aA}	0.276 ±0.005 ^{aA}	0.256 ±0.01 ^{bA}	0.20 ±0.01 ^{cA}
	CH-E10	0.28 ±0.01 ^{aA}	0.263 ±0.011 ^{aA}	0.24 ±0.01 ^{bA}	0.203 ±0.011 ^{cA}
	G-CH-E5	0.296 ±0.005 ^{aA}	0.27 ±0.01 ^{bA}	0.25 ±0.01 ^{cA}	0.216 ±0.005 ^{dA}
	G-CH-E10	0.293 ±0.011 ^{aA}	0.283 ±0.005 ^{aA}	0.26 ±0.011 ^{bA}	0.22 ±0.01 ^{cA}
	C	0.293 ±0.011 ^{aA}	0.236 ±0.005 ^{bB}	0.206 ±0.015 ^{cB}	0.163 ±0.011 ^{dB}
25	G-E5	0.30 ±0.01 ^{aA**}	0.286 ±0.015 ^{abA}	0.256 ±0.005 ^{bA}	0.196 ±0.011 ^{cA}
	G-E10	0.293 ±0.011 ^{aA}	0.276 ±0.015 ^{aA}	0.256 ±0.005 ^{bA}	0.196 ±0.005 ^{cA}

CH-E5	0.286 ±0.005 ^{aA}	0.273 ±0.005 ^{abA}	0.26 ±0.02 ^{bA}	0.203 ±0.011 ^{cA}
CH-E10	0.296 ±0.005 ^{aA}	0.28 ±0.01 ^{bA}	0.26 ±0.01 ^{cA}	0.196 ±0.005 ^{dA}
G-CH-E5	0.28 ±0.01 ^{aA}	0.28 ±0.01 ^{aA}	0.263 ±0.011 ^{aA}	0.203 ±0.011 ^{bA}
G-CH-E10	0.29 ±0.017 ^{aA}	0.29 ±0.017 ^{aA}	0.263 ±0.005 ^{bA}	0.203 ±0.011 ^{cA}
C	0.29 ±0.02 ^{aA}	0.266 ±0.005 ^{abA}	0.243 ±0.01 ^{bB}	0.166 ±0.005 ^{cB}

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P>0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan+mg/ml 10 orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

جرم میوه باشد [۴۶]. محتوای مواد جامد محلول تحت تأثیر محتوای قند میوه‌ها می‌باشد. در نتیجه، رشد میکروب‌هایی با توانایی تجزیه ترکیباتی از قبیل نشاسته، سلولز و پکتین همراه با آنزیم‌های طبیعی موجود در محصولات کشاورزی می‌توانند محتوای مواد جامد محلول میوه‌ها را به دلیل تجزیه و افزایش حلالیت ترکیباتی با وزن مولکولی بالا افزایش دهند [۴۷، ۴۸]. افزایش کمتر مواد جامد محلول کل در نمونه‌های خرما کبکاب پوشش داده شده احتمالاً به دلیل کند شدن سنتز، فعالیت متابولیکی، از دست دادن آب، فعالیت آنزیم هیدرولیتیک و تبدیل قند در آب و گاز دی اکسید کربن در طول دوره ذخیره‌سازی است که به واسطه ایجاد لایه محافظتی و بازدارندگی رشد میکروبی در سطح خرما ایجاد می‌شود. روند کند شدن فعالیت متابولیکی و میزان تنفس منجر به مواد جامد محلول پائینتر به دلیل کاهش میزان تغییر از دیگر کربوهیدرات‌ها به قند می‌شود [۴۹]. نتایج این مطالعه با تحقیقات قبلی در مورد سایر گونه‌های خرما مطابقت دارد [۴۰].

در مطالعه‌ای هفت واریته خرما با پوشش خوراکی پکتین-متیل سلولز حاوی روغن زیتون نشان داده شد که مقادیر مواد جامد محلول به طور قابل توجهی تحت تأثیر مدت زمان ذخیره‌سازی قرار گرفت. همچنین مشاهده شد که مواد جامد محلول پس از ۳ ماه ذخیره در دمای اتاق افزایش ، اما پس از آن به تدریج کاهش یافت. نتایج مربوط به این یافته‌ها در مطالعه حاضر و مطالعه دیگری که بیان داشته است متابولیسم اسید باعث تغییر اسید به قند می‌شود، مطابقت دارد، بنابراین اسیدیته کل کاهش می‌یابد و میزان مواد جامد

تغییرات مواد جامد محلول (TSS)

مواد جامد محلول (TSS) میوه‌ها و سبزیجات یک عامل مهم برای پذیرش مصرف کننده است. با افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی، وضعیت مواد جامد محلول میوه افزایش می‌یابد که به دلیل تبدیل هیدرولیتیکی پلی‌ساکاریدهای پیچیده به قندهای ساده‌تر و تبدیل مواد پکتیک و غلظت آبمیوه است [۴۵]. در مطالعه حاضر، روند افزایش مواد جامد محلول در خرما کبکاب ذخیره شده در دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۹۰ روز از زمان ذخیره‌سازی ارزیابی شد (جدول ۵). کمترین افزایش مواد جامد محلول در خرماهای کبکاب تیمار ذخیره شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد ($72/23 \pm 0/05$ درجه بریکس) و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد ($70/26 \pm 0/07$ درجه بریکس) در روز ۹۰ نگهداری ثبت شد. مواد جامد محلول به سرعت در نمونه‌های شاهد در مقایسه با خرما کبکاب تیمار شده در طول زمان ذخیره‌سازی ۹۰ روز افزایش یافت. میزان افزایش بالاتر مواد جامد محلول در خرما کبکاب شاهد ($81/06 \pm 0/09$ درجه بریکس) در طول دوره ذخیره‌سازی در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز ۹۰ نگهداری ثبت شد. همچنین در بررسی اثر نوع پوشش خوراکی می‌توان پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال را در ایجاد تغییرات کمتر میزان مواد جامد محلول بیان کرد. نتایج نشان داد که میزان افزایش مواد جامد محلول در خرما کبکاب شاهد در مقایسه با تیمارهای پوشش شده بالاتر بود؛ این ممکن است به دلیل اکسیداسیون و انتقال

جلوگیری از افزایش مواد جامد محلول را می‌توان با این واقعیت تفسیر کرد که مواد پوشش به عنوان مانعی در برابر حرکت دی اکسید کربن و اکسیژن به داخل و خارج سلول‌ها عمل کرده و در نتیجه میزان تعرق را کاهش می‌دهد، در نتیجه تبدیل کندتر پلی‌ساکاریدها به مواد جامد محلول در میوه‌های پوشش‌دهی شده ایجاد می‌شود که منجر به مقادیر پائین‌تر مواد جامد محلول می‌شود [۵۱].

محلول در طول مدت ذخیره‌سازی افزایش می‌یابد [۵۰]. همچنین این افزایش می‌تواند به دلیل تبدیل برخی از ترکیبات نامحلول به ترکیبات محلول (مانند تبدیل پروتوپکتین به پکتین) یا در نتیجه از دست رفتن آب میوه‌ها باشد [۴۰]. در نتیجه بررسی‌های انجام شده بر میزان مواد جامد محلول خرماهای کبکاب تیمار شده با پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال،

Table 5: Effect of coating, temperature and storage time on the soluble solids of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	66.42 ± 0.026 ^{dA**}	69.04 ± 0.06 ^{cB}	70.04 ± 0.06 ^{bB}	72.05 ± 0.07 ^{aB}
	G-E10	66.40 ± 0.037 ^{dA}	69.04 ± 0.08 ^{cB}	70.06 ± 0.06 ^{bB}	72.1 ± 0.03 ^{aB}
	CH-E5	66.45 ± 0.005 ^{dA}	68.50 ± 0.08 ^{cC}	69.76 ± 0.16 ^{bC}	70.95 ± 0.07 ^{aC}
	CH-E10	66.46 ± 0.005 ^{dA}	68.52 ± 0.09 ^{cC}	69.74 ± 0.09 ^{bC}	70.92 ± 0.06 ^{aC}
	G-CH-E5	66.42 ± 0.04 ^{dA}	67.8 ± 0.14 ^{cD}	68.24 ± 0.05 ^{bD}	70.30 ± 0.01 ^{aD}
	G-CH-E10	66.43 ± 0.04 ^{dA}	67.93 ± 0.1 ^{cD}	68.22 ± 0.07 ^{bD}	70.26 ± 0.07 ^{aD}
	C	66.42 ± 0.03 ^{dA}	71.24 ± 0.11 ^{cA}	73.76 ± 0.075 ^{bA}	77.04 ± 0.1 ^{aA}
25	G-E5	66.45 ± 0.011 ^{dA*}	71.62 ± 0.05 ^{cB}	72.33 ± 0.06 ^{bB}	73.45 ± 0.07 ^{aB}
	G-E10	66.42 ± 0.04 ^{dA}	71.71 ± 0.06 ^{cB}	72.26 ± 0.07 ^{bB}	73.48 ± 0.03 ^{aB}
	CH-E5	66.45 ± 0.015 ^{dA}	70.23 ± 0.04 ^{cC}	70.97 ± 0.07 ^{bC}	72.98 ± 0.04 ^{aC}
	CH-E10	66.45 ± 0.00 ^{dA}	70.20 ± 0.05 ^{cC}	70.99 ± 0.05 ^{bC}	73.01 ± 0.04 ^{aC}
	G-CH-E5	66.43 ± 0.043 ^{dA}	68.28 ± 0.07 ^{cD}	70.43 ± 0.06 ^{bD}	72.24 ± 0.07 ^{aD}
	G-CH-E10	66.44 ± 0.036 ^{dA}	68.26 ± 0.06 ^{cD}	70.46 ± 0.02 ^{bD}	72.23 ± 0.05 ^{aD}
	C	66.43 ± 0.047 ^{dA}	75.34 ± 0.07 ^{cA}	77.65 ± 0.06 ^{bA}	81.06 ± 0.09 ^{aA}

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P > 0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan + 10 mg/ml orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

اندازند [۵۳]. در بین فرمول‌های پوشش‌دهی در مطالعه حاضر، فرمول مبتنی بر کیتوزان و کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال مؤثرترین تیمار در کنترل از دست دادن رطوبت پس از برداشت میوه خرما بود (جدول ۶). همچنین درصد رطوبت میوه‌های خرما کبکاب با افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی کاهش یافت. میزان رطوبت در روز اول در هر دو دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد بین محدوده ۲۴/۵۲-

محتوای رطوبت

درصد رطوبت میوه‌های خرما خشک و نیمه خشک یک پارامتر کیفی مهم به ویژه پس از برداشت و به منظور بازاریابی است. پوشش‌های خوراکی می‌توانند به عنوان یک مانع فیزیکی در برابر از دست دادن رطوبت عمل کنند [۵۱، ۵۲] و در نتیجه دهیدراتاسیون و چروکیدگی میوه‌ها را به تأخیر

می‌شود فشار بخار آب بین میوه و هوای محصور شده معمولاً توسط لایه سلولی کوتیکول و اپیدرمی به حداقل برسد [56]. بنابراین، استفاده از پوشش خوراکی نشان‌دهنده یک لایه اضافی است و باعث بستن روزنه‌ها شده که کاهش سرعت تعرق را موجب می‌شود که در نهایت منجر به کاهش رطوبت می‌شود.

نتایج به دست آمده در مطالعات دیگر هم با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد که نشان می‌دهد کارایی پوشش‌های خوراکی به عنوان یک مانع نیمه نفوذپذیر قادر است خروج رطوبت را به تأخیر اندازد و کاهش میزان تنفس به دلیل آبدوست بودن پلی‌ساکاریدها که به صورت تأخیر در از دست دادن آب، آنها را به عنوان یک مانع گازی آشکارتر می‌کند [۴۹، ۵۷]. بنابراین می‌توان بیان کرد که خرماهای کبکاب پوشش داده شده با کیتوزان و کیتوزان-ژلاتین حاوی ۵ و ۱۰ mg/ml عصاره پوست پرتقال بیشترین رطوبت را نسبت به سایر تیمارها در نتیجه تشکیل لایه سطحی روی خرماهای کبکاب جهت جلوگیری در برابر از دست رفتن رطوبت، کاهش میزان تنفس و کنترل تبادل گاز را نشان دادند. از طرفی مطابق با نتایج حاصل از مطالعه حاضر میزان رطوبت در خرماهای کبکاب پوشش شده با ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال افت رطوبت بیشتری را نسبت به سایر تیمارها داشتند می‌توان اظهار کرد که پوشش‌های ژلاتینی در رطوبت نسبی کم و متوسط، ویژگی‌های مانع خوبی در برابر انتقال اکسیژن و عطر نشان می‌دهند اما با این حال، آنها به دلیل طبیعت آبدوست بودن خواص ممانعت‌کنندگی ضعیفی در برابر انتقال بخار آب دارند [۵۸]؛ بنابراین، برای اصلاح خواص ضعیف ممانعت‌کنندگی در برابر بخار آب این فیلم پروتئینی، بهتر است از پوشش ترکیبی ژلاتین با سایر مواد استفاده شود [۴۸].

۲۴/۴۸ درصد بود و در روز ۹۰ نگهداری این محدوده به ۷/۸۰-۱۴/۲۲ درصد و در روز ۹۰ نگهداری این محدوده به ۶/۸-۱۳/۸۸ درصد به ترتیب در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت بطوری که کمترین میزان در روز ۹۰ نگهداری در نمونه شاهد $7/8 \pm 0/45$ (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) و $6/8 \pm 0/31$ (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد) درصد مشاهده گردید. در بررسی اثر نوع پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان و کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال تأثیر زیادی در ایجاد تغییرات کمتر میزان رطوبت طی مدت ذخیره‌سازی نشان دادند. در راستای کاهش میزان رطوبت طی مدت نگهداری در مطالعه‌ای نشان داده شد که درصد رطوبت میوه‌های خرما برحی شاهد و تیمار شده با پوشش خوراکی مبتنی بر نمک‌های آلزینات با افزایش مدت زمان ذخیره‌سازی ۴۵ روزه کاهش یافت، اما خرماهای بدون پوشش برحی کاهش تدریجی بیشتری در درصد رطوبت در مقایسه با میوه‌های پوشش شده با پوشش‌های خوراکی مختلف نشان دادند؛ در مورد تأثیر تیمارهای مورد بررسی، نتایج آنها نشان داد که تیمار آلزینات کلسیم نسبت به سایر تیمارها کارایی بیشتری داشت [۵۴]. در بررسی تأثیر پوشش خوراکی مبتنی بر پکتین در انواع واریته‌های خرما و مقایسه آنها با بسته‌بندی پلاستیکی و کاغذی، نتایج نشان دهنده کمترین درصد رطوبت در خرماهای تیمار شده با پوشش خوراکی بر پایه پکتین وجود داشت، آنها در مطالعه خود بیان کردند که مشاهده شد درصد رطوبت میوه‌های خرما بستگی به نوع رقم و شرایط رشد دارد و همچنین اظهار کردند که پوشش‌های خوراکی می‌توانند به عنوان یک مانع فیزیکی در برابر از دست دادن رطوبت عمل کنند [۵۵]. در مطالعه‌ای مشخص شده که از دست دادن رطوبت و تبادل گازی میوه‌ها معمولاً توسط لایه‌های اپیدرمی مجهز به سلول‌های محافظ و روزنه کنترل می‌شود، استفاده از پوشش‌های خوراکی باعث

Table 6: Effect of coating, temperature and storage time on the moisture content of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	24.52 $\pm$ 0.05 ^{aA**}	18.71 $\pm$ 0.17 ^{bB}	15.88 $\pm$ 0.63 ^{cB}	12.98 $\pm$ 0.78 ^{dB}
	G-E10	24.51 $\pm$ 0.07 ^{aA}	18.79 $\pm$ 0.08 ^{bAB}	15.96 $\pm$ 0.94 ^{cB}	12.85 $\pm$ 0.95 ^{dB}

	CH-E5	24.51 ±0.05 ^{aA}	19.02 ±0.37 ^{bAB}	17.05 ±0.38 ^{cAB}	13.67 ±0.16 ^{dAB}
	CH-E10	24.52 ±0.06 ^{aA}	18.89 ±0.33 ^{bAB}	17.09 ±0.35 ^{cAB}	13.76 ±0.35 ^{dAB}
	G-CH-E5	24.51 ±0.03 ^{aA}	19.48 ±0.79 ^{bA}	17.77 ±0.4 ^{cA}	14.22 ±0.33 ^{dA}
	G-CH-E10	24.5 ±0.02 ^{aA}	19.50 ±0.36 ^{bA}	17.72 ±1.41 ^{cA}	14.14 ±0.57 ^{dA}
	C	24.5 ±0.02 ^{aA}	14.59 ±0.16 ^{bC}	10.74 ±0.63 ^{cC}	7.8 ±0.35 ^{dC}
25	G-E5	24.52 ±0.05 ^{aA**}	14.20 ±0.64 ^{bB}	13.768 ±0.313 ^{bB}	11.42 ±0.3 ^{cA}
	G-E10	24.49 ±0.06 ^{aA}	14.29 ±0.19 ^{bB}	13.85 ±0.19 ^{bB}	11.4 ±1.14 ^{cA}
	CH-E5	24.52 ±0.06 ^{aA}	15.55 ±0.16 ^{bA}	14.89 ±0.16 ^{cAB}	13.11 ±0.31 ^{dA}
	CH-E10	24.50 ±0.02 ^{aA}	15.75 ±0.57 ^{bA}	14.75 ±0.94 ^{bAB}	13.08 ±0.28 ^{cA}
	G-CH-E5	24.48 ±0.01 ^{aA}	16.11 ±1.48 ^{bA}	15.88 ±0.77 ^{bA}	13.88 ±0.52 ^{cA}
	G-CH-E10	24.51 ±0.03 ^{aA}	16.27 ±0.17 ^{bA}	15.71 ±1.64 ^{bA}	13.82 ±3.18 ^{bA}
	C	24.51 ±0.05 ^{aA}	12.8 ±0.65 ^{bC}	8.80 ±0.31 ^{cC}	6.8 ±0.31 ^{dB}

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P>0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan+mg/ml 10 orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

۶۰ و ۹۰ دوره ذخیره سازی داشت بطوری که این دو پوشش خوراکی باعث تغییرات کمتر در محتوای قندهای احیاء کننده شدند. غنی بودن نمونه شاهد در قندهای احیاء کننده نشان دهنده وجود برجسته و غالب فعالیت اینورتاز است که میزان ساکارز نمونه های شاهد را به میزان قابل توجهی در طی ۹۰ روز نگهداری کاهش می دهد [۶۱، ۶۲]. در مطالعه ای بر روی خرما برخی تیمار شده با پوشش های خوراکی مختلف (کیتوزان، ژلاتین و صمغ گوآر)، نتایج نشان داد که میزان قندهای احیاء کننده و کل با افزایش مدت زمان ذخیره سازی برای همه تیمارهای مورد مطالعه با نرخ های مختلف افزایش یافته است، اما بیشترین میزان افزایش برای نمونه شاهد مشاهده شد که از ۳۱ و ۲۸/۲ درصد (در زمان صفر) تا ۳۲/۲ و ۳۰/۸ درصد (پس از ۵ هفته ذخیره سازی سرد) به ترتیب برای قند کل و احیاء کننده، افزایش یافت [۴۰]. این یافته ها مشابه مطالعه دیگری است که در آن گزارش شده است که هم قند کل و هم قند احیاء کننده خرما برخی ذخیره شده در صفر درجه سانتی گراد، با افزایش زمان ذخیره سازی افزایش

تغییرات میزان قند احیاء

نتایج بررسی تغییرات میزان قند احیاء نمونه های خرما کبکاب پوشش داده شده مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال طی مدت نگهداری در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد در جدول ۷ گزارش شده است. قند موجود در خرما به راحتی هضم می شود و بلافاصله پس از مصرف به خون منتقل می شود و می تواند به سرعت متابولیزه شود تا انرژی را برای فعالیت های مختلف سلولی آزاد کند. محتوای قندهای احیاء کننده و غیر احیاء کننده بستگی به رقم خرما دارد و با بافت آن ارتباط تنگاتنگی دارد، بطوری که خرماهای نرم با رطوبت زیاد مقادیر بسیار کمی ساکارز دارند [۵۹]. رسیدن با افزایش میزان قند احیاء کننده و فعالیت اینورتاز همراه با کاهش میزان قند غیراحیاء همراه است. از طرفی [۶۰]. نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان و کیتوزان-ژلاتین حاوی ۵ و ۱۰ mg/ml عصاره پوست پرتقال تأثیر معنی داری ($p<0.05$) بر محتوای قندهای احیاء کننده خرماهای کبکاب تیمار شده در روزهای ۳۰،

یافته است [۶۳]. این افزایش قند ممکن است به دلیل رسیدن تدریجی میوه‌های خرما باشد که با افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز همزمان شده است [۴۰].

Table 7: Effect of coating, temperature and storage time on the reducing sugar (%) of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	42.22 ±0.03 dA**	43.14 ±0.05 cB	43.95 ±0.06 bB	44.98 ±0.06 aB
	G-E10	42.23 ±0.07 dA	43.16 ±0.08 cB	43.99 ±0.08 bB	44.99 ±0.11 aB
	CH-E5	42.21 ±0.06 dA	42.77 ±0.08 cC	43.15 ±0.06 bC	43.98 ±0.08 aC
	CH-E10	42.26 ±0.06 dA	42.73 ±0.09 cC	43.12 ±0.04 bC	43.87 ±0.13 aCD
	G-CH-E5	42.20 ±0.04 dA	42.84 ±0.06 cC	43.26 ±0.05 bC	43.72 ±0.06 aD
	G-CH-E10	42.21 ±0.04 dA	42.86 ±0.1 cC	43.19 ±0.11 bC	43.84 ±0.12 aCD
	C	42.23 ±0.06 dA	43.67 ±0.11 cA	45.44 ±0.09 bA	47.23 ±0.06 aA
25	G-E5	42.20 ±0.04 dA**	43.80 ±0.04 cB	44.27 ±0.08 bB	45.76 ±0.1 aB
	G-E10	42.26 ±0.06 dA	43.84 ±0.04 cB	44.28 ±0.14 bB	45.80 ±0.11 aB
	CH-E5	42.22 ±0.03 dA	43.04 ±0.07 cC	43.63 ±0.15 bC	44.19 ±0.08 aC
	CH-E10	42.19 ±0.05 dA	43.06 ±0.1 cC	43.56 ±0.24 bC	44.24 ±0.1 aC
	G-CH-E5	42.26 ±0.04 dA	42.95 ±0.06 cC	43.52 ±0.21 bC	44.26 ±0.13 aC
	G-CH-E10	42.21 ±0.04 dA	42.94 ±0.06 cC	43.51 ±0.21 bC	44.26 ±0.09 aC
	C	42.23 ±0.07 dA	44.51 ±0.09 cA	46.84 ±0.09 bA	47.77 ±0.13 aA

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P>0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan+mg/ml 10 orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

تغییرات میزان سفتی بافت

در مطالعه حاضر میزان تغییرات سفتی بافت نمونه‌های خرما تیمار شده با انواع مختلف پوشش‌های خوراکی مبتنی بر کیتوزان و ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال در دو دمای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد در جدول ۸ اراده شده است. همانطور که مشخص است با گذشت زمان میزان سفتی بافت نمونه‌های خرما افزایش معنی‌داری داشته ($p<0/05$) و از طرفی با افزایش دمای نگهداری به 25 درجه سانتی‌گراد افزایش بیشتری در میزان سفتی بافت تمامی نمونه‌های خرما طی مدت نگهداری مشاهده شد.

همچنین در بررسی اثر نوع پوشش خوراکی مشاهده شد

که پوشش خوراکی مبتنی بر کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال در ایجاد تغییرات کمتر میزان سفتی بافت خرماهای کبکاب بیشتر از سایر تیمارها مؤثر بود. در مطالعات مختلف با توجه به خرما تیمار شده و مرحله بلوغ آن میزان سفتی بافت خرماها در طی دوران ذخیره‌سازی نتایج مختلفی را نشان داده‌اند. در مطالعه‌ای زمان و دمای نگهداری تأثیر معنی‌داری بر روی میزان سفتی خرما مضافتی تیمار شده با دو نوع مختلف پوشش خوراکی لیپیدی مبتنی بر گلیسرول منواسترات و موم کارنوبا نشان

داد بطوری که افزایش زمان و دما از ۴ به ۲۵ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش سفتی بافت خرما شدند ولی میزان سفتی بافت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد کمتر از دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد بود و از طرفی میزان سفتی بافت خرماهای دارای پوشش خوراکی کمتر از نمونه شاهد بود؛ نتایج مطالعه آنها با مطالعه حاضر همخوانی دارد [36]. این محققین در مطالعه خود علت افزایش کمتر میزان سفتی خرماهای با پوشش خوراکی را در اثر از دست رفتن کمتر رطوبت در زمان ذخیره‌سازی و نقش پوشش‌های خوراکی در حفظ رطوبت بیان کردند. در همین راستا مطالعه‌ای مبنی بر تأثیر زمان و دمای انبارداری بر روی خرما کبکاب صورت گرفته نشان داد که با افزایش زمان و دمای انبارداری، میزان سفتی بافت خرماها افزایش یافته است [۶۴]. میزان سفتی بافت خرما کبکاب در نمونه‌های تیمار شده با پوشش خوراکی بر پایه ۳ و ۵ درصد متیل سلولز و نمونه شاهد طی مدت نگهداری شش ماه افزایش یافت اما این افزایش میزان سفتی در نمونه‌های با پوشش خوراکی کمتر از نمونه شاهد بودند و پس از آن در نتیجه فعل و انفعالات صورت گرفته در بافت ناشی از افزایش آلودگی میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی به مرور کاهش یافته است. دلیل افزایش سفتی بافت خرما با افزایش زمان نگهداری در طی دوره نگهداری را افزایش استحکام سلولی و به دنبال آن سخت شدن اتصالات دیواره سلولی بیان کرده‌اند [۶۵].

لازم به ذکر است که عواملی از جمله اکسیداسیون چربی، تعرق آب و هیدرولیز مواد پکتین از عوامل اصلی

هستند که سفتی میوه‌ها و سبزیجات را در طول دوره ذخیره‌سازی کاهش می‌دهند [۴۱]. نتایج مطالعه بر روی خرما زاغلول در مرحله خلال تیمار شده با پوشش خوراکی حاوی ۴ درصد روغن جوجوبا، ۱۰ درصد صمغ عربی و ۷/۵ درصد روغن پارافین نشان داد که سفتی میوه‌های خرما زاغلول با استفاده از تمام پوشش‌های خوراکی به عنوان عملیات پس از برداشت تحت تأثیر قرار گرفت، کمترین مقدار سفتی میوه روی میوه‌های تیمار نشده (شاهد) ثبت شد و با توجه به تأثیر دوره ذخیره‌سازی سرد، نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که با افزایش مدت زمان نگهداری، سفتی میوه کاهش می‌یابد؛ به طور کلی، نتایج به دست آمده است که ترکیب جوجوبا در ۵ درصد و صمغ عربی در ۱۰ درصد بیشترین میزان سفتی میوه‌های خرما زاغلول را حفظ کرد [۶۶]. مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که پوشش خوراکی بر پایه کیتوزان در حفظ سفتی بافت میوه و سبزیجات را موثر است [۶۷، ۶۸، ۳۸ و ۴۳]؛ این پژوهش‌ها تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و پوشش خوراکی کامپوزیت کیتوزان-ژلاتین را بر حفظ سفتی بافت در طول دوره ذخیره‌سازی را مورد تأیید قرار می‌دهند؛ در مطالعه حاضر، خرماهای کبکاب تیمار شده با کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال میزان سفتی بافت بیشتری نسبت به خرماهای بدون تیمار نشان دادند، و این احتمالاً می‌تواند به دلیل یک لایه متراکم از پوشش خوراکی در جهت ایجاد جو مناسب در اطراف سطح خرما به صورت کاهش تغییرات در مواد پکتین و عمل تخریب آنزیمی دیواره سلولی باشد.

Table 8: Effect of coating, temperature and storage time on the Hardness of Kabkab dates

Storage Temperature	Edible Coating	Day 1	Day 30	Day 60	Day 90
4	G-E5	26.61 ± 0.14 cA**	26.87 ± 0.17 cB	27.56 ± 0.39 bB	28.44 ± 0.37 aB
	G-E10	26.6 ± 0.37 cA	27.16 ± 0.26 bcAB	27.5 ± 0.35 bB	28.54 ± 0.34 aB
	CH-E5	26.57 ± 0.21 cA	26.54 ± 0.35 cB	27.6 ± 0.32 bB	28.37 ± 0.31 aB
	CH-E10	26.41 ± 0.2 cA	26.49 ± 0.42 cB	27.60 ± 0.43 bB	28.7 ± 0.27 aB
	G-CH-E5	26.66 ± 0.2 cA	26.6 ± 0.34 cB	27.47 ± 0.25 bB	28.46 ± 0.46 aB

	G-CH-E10	26.66 ±0.12 ^{cA}	26.58 ±0.32 ^{cB}	27.4 ±0.25 ^{bB}	28.32 ±0.21 ^{aB}
	C	26.58 ±0.27 ^{cA}	27.6 ±0.48 ^{bA}	28.81 ±0.52 ^{aA}	29.57 ±0.42 ^{aA}
	G-E5	26.45 ±0.18 ^{dA**}	27.16 ±0.21 ^{cB}	27.76 ±0.39 ^{bB}	28.36 ±0.33 ^{aB}
	G-E10	26.45 ±0.18 ^{cA}	27.23 ±0.22 ^{bB}	27.7 ±0.32 ^{bB}	28.41 ±0.32 ^{aB}
	CH-E5	26.62 ±0.28 ^{cA}	27.06 ±0.065 ^{cB}	27.75 ±0.3 ^{bB}	28.49 ±0.36 ^{aB}
25	CH-E10	26.74 ±0.11 ^{cA}	27.27 ±0.28 ^{bcB}	27.64 ±0.45 ^{bB}	28.31 ±0.36 ^{aB}
	G-CH-E5	26.49 ±0.13 ^{cA}	27.24 ±0.3 ^{bB}	27.69 ±0.35 ^{bB}	28.39 ±0.4 ^{aB}
	G-CH-E10	26.41 ±0.2 ^{cA}	27.12 ±0.25 ^{bB}	27.81 ±0.31 ^{aB}	28.29 ±0.27 ^{aB}
	C	26.68 ±0.21 ^{dA}	28.41 ±0.38 ^{cA}	29.15 ±0.25 ^{bA}	29.85 ±0.29 ^{aA}

*Data are reported as (mean ± standard deviation) in three replicates.

**The same lowercase letters (a-d) in each row and the same uppercase letters (A-F) in each column indicate no significant difference ($P>0.05$) between the data based on Duncan's test. (G-E5): gelatin + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-E): gelatin + 10 mg/ml orange peel extract; (CH-E5): chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10CH-E): chitosan+mg/ml 10 orange peel extract; (G-CH-E5): gelatin + chitosan + 5 mg/ml orange peel extract; (10G-CH-E): gelatin + chitosan + 10 mg/ml orange peel extract.

کرد که با گذشت زمان پذیرش کلی از نظر ارزیابان در نمونه‌های خرما کاهش داشته است. با افزایش دمای نگهداری

به 25 درجه سانتی-گراد این کاهش پذیرش کلی در تمامی نمونه‌های خرما طی مدت نگهداری بیشتر بوده است ($p<0/05$). در همین راستا تأثیر مثبت کیتوزان بر حفظ استحکام خرما کبکاب در مطالعه حاضر با نتایج به دست آمده بر روی میوه انبه [۶۹] همخوانی دارد. بطور کلی در ارزیابی حسی مشخص شد که خواص حسی خرما کبکاب با پوشش‌های خوراکی بیشتر حفظ شده و از بوجود آمدن شکر و کدر شدن در نمونه‌های خرما جلوگیری شده است [۶۹]. در نهایت با توجه به مجموع نتایج ارزیابی‌های حسی انجام شده، پوشش کیتوزان-ژلاتین حاوی ۵ و ۱۰ mg/ml عصاره پوست پرتقال، بهترین تیمار جهت افزایش ماندگاری خرما کبکاب تشخیص داده شد.

ارزیابی حسی

پوشش خوراکی کامپوزیتی کیتوزان-ژلاتین با عصاره پوست پرتقال در حفظ امتیاز حسی بالاتر برای پذیرش کلی و پارامترهای حسی مرتبط در خرما کبکاب تیمار شده در مقایسه با خرما کبکاب بدون تیمار (شاهد) ذخیره شده در دمای اتاق و همچنین در دمای سرد مؤثر بود. خرماهای کبکاب ذخیره شده در دمای ۴ درجه سانتی-گراد در مقایسه با خرماهای کبکاب ذخیره شده در دمای ۲۵ درجه سانتی-گراد صرف نظر از نوع پوشش‌دهی، نمرات حسی بالاتری را داشتند.

بر اساس نتایج گزارش شده در شکل ۱ که میزان پذیرش کلی نمونه‌های خرما تیمار شده با انواع مختلف پوشش‌های خوراکی حاوی عصاره پوست پرتقال در دو دمای مختلف ۴ و ۲۵ درجه سانتیگراد است، می‌توان بیان

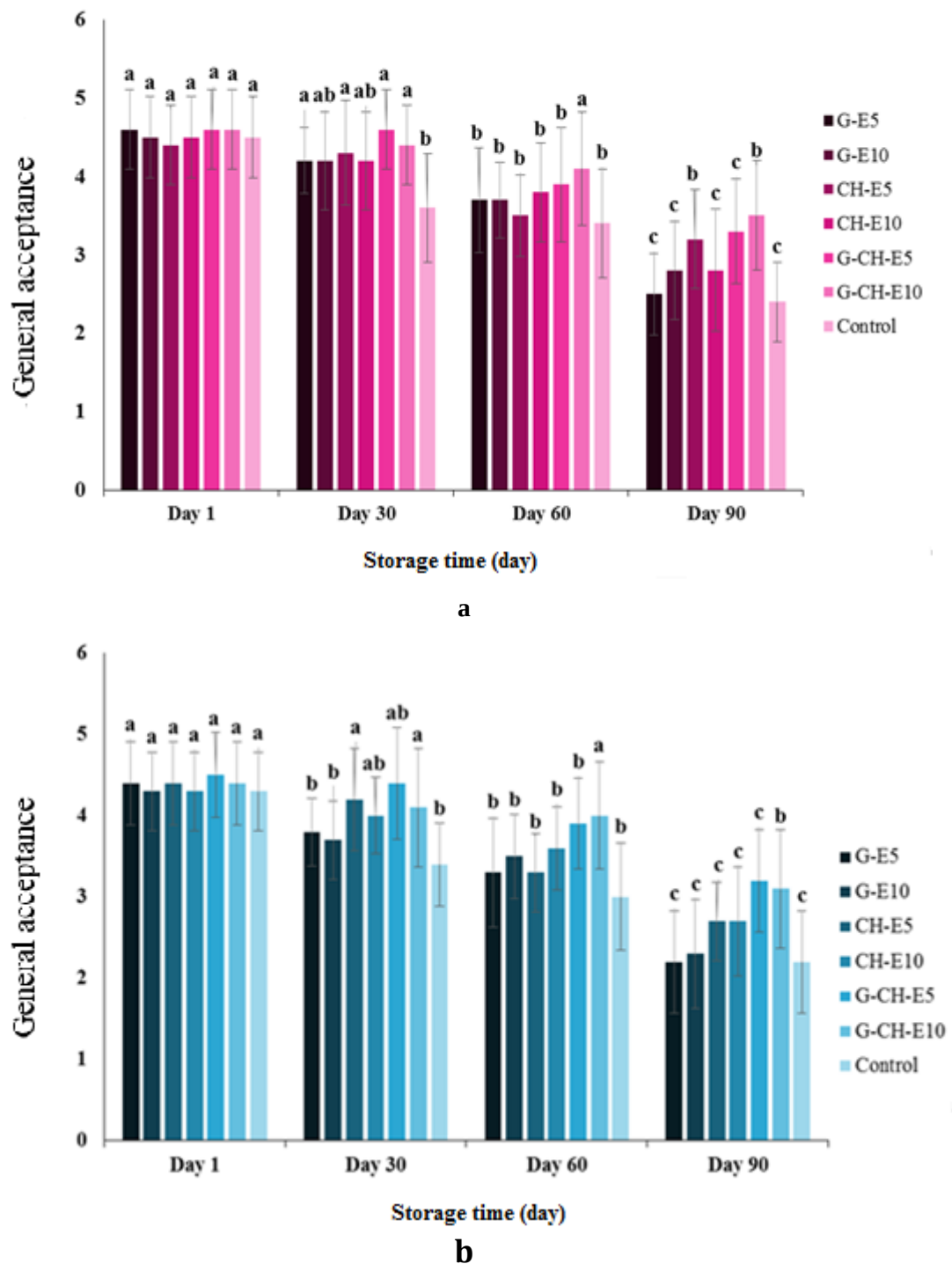


Figure 1: Effect of coating, temperature and storage time on the general acceptance of Kabkab dates 4°C (a) and 25°C (b)

کشور کشت می‌شود و با توجه به اهمیت و ویژگی‌های راهبردی این محصول در ارتباط با تأمین مواد غذایی، صنعتی و نقش آن در اقتصاد کشاورزی مناطق خرماخیز، توجه به حفظ کیفیت آن ضروری است. از اینرو، در مطالعه حاضر اثر

۴-نتیجه‌گیری کلی

خرما کبکاب به دلیل غنی بودن از نظر املاح و سایر ترکیبات مغذی یکی از محصولات کشاورزی است که به صورت وسیعی در ایران به ویژه در استان بوشهر واقع در جنوب

خرمای کبکاب داشت، می‌توان این ترکیب را پیشنهادی مناسب برای ارتقاء کیفیت و ماندگاری این محصول در بازه زمانی ۳ ماهه پیشنهاد داد.

پوشش‌های خوراکی مبتنی بر ژلاتین، کیتوزان و کیتوزان-ژلاتین ترکیب شده با عصاره پوست پرتقال در شرایط مختلف ذخیره‌سازی بر روی خصوصیات مختلف فیزیکوشیمیایی و حسی آن مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به تأثیرات مثبتی که پوشش کیتوزان-ژلاتین حاوی عصاره پوست پرتقال روی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی

ه-منابع

- [1] Hemmateenejad, B., et al., *Classification and assessment of antioxidant activity and phenolic content of different varieties of date palm (Phoenix dactylifera) fruits from Iran*. Journal of the Iranian Chemical Society, 2015. **12**: p. 1935-1943.
- [2] Kumar, A., et al., *Trends in edible packaging films and its prospective future in food: a review*. Applied Food Research, 2022. **2**(1): p. 100118.
- [3] da Silva, S.B., D. de Souza, and L.D. Lacerda, *Food applications of chitosan and its derivatives*. Chitin and chitosan: Properties and applications, 2019: p. 315-347.
- [4] Yousef, A.R., E. El-Moniem, and T.S.M. Mahmoud, *Edible coating of soy protein or gelatin as a carrier of thyme oil for maintaining quality of 'barhee' dates fruits during cold storage*. Plant Archives, 2020. **20**: p. 9311-9322.
- [5] Shon, J., J.H. EO, and J.B. EUN, *Effect of soy protein isolate coating on quality attributes of cut raw Han-Woo (Korean cow) beef, aerobically packaged and held refrigerated*. Journal of Food Quality, 2010. **33**: p. 42-60.
- [6] Al-Obeed, R., *Improving fruit quality, marketability and storability of Barhee date palm*. World applied sciences journal, 2010. **9**(6): p. 630-637.
- [7] Ghosh, T. and V. Katiyar, *Cellulose-based hydrogel films for food packaging*. Cellulose-based superabsorbent hydrogels. Polymers and polymeric composites: a reference series. Springer, Cham, 2018: p. 1-25.
- [8] Yen, M.-T., et al., *Antioxidant properties of fungal chitosan from shiitake stipes*. LWT-Food Science and Technology, 2007. **40**(2): p. 255-261.
- [9] Hayashi, K. and M. Ito, *Antidiabetic action of low molecular weight chitosan in genetically obese diabetic KK-Ay mice*. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 2002. **25**(2): p. 188-192.
- [10] Mhurchu, C.N., et al., *Effect of chitosan on weight loss in overweight and obese individuals: a systematic review of randomized controlled trials*. Obesity reviews, 2005. **6**(1): p. 35-42.
- [11] Wimardhani, Y.S., et al., *Chitosan exerts anticancer activity through induction of apoptosis and cell cycle arrest in oral cancer cells*. Journal of oral science, 2014. **56**(2): p. 119-126.
- [12] Ylitalo, R., et al., *Cholesterol-lowering properties and safety of chitosan*. Arzneimittelforschung, 2002. **52**(01): p. 1-7.
- [13] Dutta, P., et al., *Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications*. Food chemistry, 2009. **114**(4): p. 1173-1182.
- [14] Coma, V., A. Deschamps, and A. Martial-Gros, *Bioactive packaging materials from edible chitosan polymer—antimicrobial activity assessment on dairy-related contaminants*. Journal of food science, 2003. **68**(9): p. 2788-2792.
- [15] Muxika, A., et al., *Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications*. International journal of biological macromolecules, 2017. **105**: p. 1358-1368.
- [16] Gal, M.R., M. Rahmaninia, and M.A. Hubbe, *A comprehensive review of chitosan applications in paper science and technologies*. Carbohydrate Polymers, 2023: p. 120665.
- [17] Mariod, A.A. and H. Fadul, *Gelatin, source, extraction and industrial applications*. Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria, 2013. **12**(2): p. 135-147.
- [18] Li, X., et al., *Ultrasonic treatment regulates the properties of gelatin emulsion to obtain high-quality gelatin film*. Food Chemistry: X, 2023. **18**: p. 100673.
- [19] Jagannath, J.H., et al., *Studies on the stability of an edible film and its use for the preservation of carrot (Daucus carota)*. International journal of food science & technology, 2006. **41**(5): p. 498-506.
- [20] Artharn, A., T. Prodpran, and S. Benjakul, *Round scad protein-based film: Storage stability and its effectiveness for shelf-life extension of dried fish powder*. LWT-Food Science and Technology, 2009. **42**(7): p. 1238-1244.
- [21] Guillén-Carvajal, K., et al., *Chitosan, Gelatin, and Collagen Hydrogels for Bone Regeneration*. Polymers, 2023. **15**(13): p. 2762.
- [22] Riahi, Z., et al., *High-performance multifunctional gelatin-based films engineered with metal-organic frameworks for active food packaging applications*. Food Hydrocolloids, 2023: p. 108984.
- [23] Magiorkinis, E., A. Beloukas, and A. Diamantis, *Scurvy: past, present and future*. European journal of internal medicine, 2011. **22**(2): p. 147-152.

- [24] Pak, C.Y., *Medical management of urinary stone disease*. Nephron Clinical Practice, 2004. **98**(2): p. c49-c53.
- [25] Sica, D.A., *Interaction of grapefruit juice and calcium channel blockers*. American journal of hypertension, 2006. **19**(7): p. 768-773.
- [26] Cha, J.-Y., et al., *Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats*. Plant Foods for Human Nutrition, 2001. **56**: p. 349-358.
- [27] Coelho, R.C.L.A., H.H.M. Hermsdorff, and J. Bressan, *Anti-inflammatory properties of orange juice: possible favorable molecular and metabolic effects*. Plant foods for human nutrition, 2013. **68**: p. 1-10.
- [28] Sadek, E.S., D.P. Makris, and P. Kefalas, *Polyphenolic composition and antioxidant characteristics of kumquat (Fortunella margarita) peel fractions*. Plant foods for human nutrition, 2009. **64**: p. 297-302.
- [29] Yilmaz, D., et al., *Anti-genotoxic effect of naringin against bleomycin-induced genomic damage in human lymphocytes in vitro*. Drug and chemical toxicology, 2016. **39**(2): p. 119-123.
- [30] Arora, M. and P. Kaur, *Antimicrobial & antioxidant activity of orange pulp and peel*. International Journal of Science and Research, 2013. **2**(11): p. 412-415.
- [31] Hanani, Z.N., Y. Roos, and J.P. Kerry, *Use of beef, pork and fish gelatin sources in the manufacture of films and assessment of their composition and mechanical properties*. Food hydrocolloids, 2012. **29**(1): p. ۱۵۱-۱۴۴.
- [32] Jridi, M., et al., *Investigation of physicochemical and antioxidant properties of gelatin edible film mixed with blood orange (Citrus sinensis) peel extract*. Food Packaging and Shelf Life, 2019. **21**: p. 100342.
- [33] Baloch, M.K., et al., *Impact of controlled atmosphere on the stability of Dhakki dates*. LWT-food Science and Technology, 2006. **39**(6): p. 671-676.
- [34] Mehryar, G.F., et al., *Effect of edible coatings on fruit maturity and fungal growth on Barhi dates*. International Journal of Food Science & Technology, 2014. **49**(11): p. 2409-2417.
- [35] Sedaghat, N. and Y. Zahedi, *Application of edible coating and acidic washing for extending the storage life of mushrooms (Agaricus bisporus)*. Food science and technology international, 2012. **18**(6): p. ۵۳۰-۵۲۳.
- [36] Ayoubi, A., H. Kazemi, and A. Aarabi, *Influence of lipid based edible coatings and temperature storage on quality of date fruit*. Journal of Food Processing and Preservation, 2018. **10**(2): p. 1-18.
- [37] Abbasi, N.A., et al., *Enhancing storage life of bell pepper by UV-C irradiation and edible coatings*. Pakistan Journal of Agricultural Sciences, 2015. **52**(2).
- [38] TAA, N., R. MA, and L. Akter, *Effect of edible coating on postharvest quality of bell pepper at ambient storage*. Bulletin of the Institute of Tropical Agriculture, Kyushu University, 2018. **41**: p. 73-83.
- [39] Maguire, K.M., N.H. Banks, and L.U. Opara, *Factors affecting weight loss of apples*. Horticultural reviews, 2010. **25**: p. 197-234.
- [40] Abu-Shama, H.S., F.O.F. Abou-Zaid, and E.Z. El-Sayed, *Effect of using edible coatings on fruit quality of Barhi date cultivar*. Scientia Horticulturae, 2020. **265**: p. 109262.
- [41] Kumar, N., A. Ojha, and R. Singh, *Preparation and characterization of chitosan-pullulan blended edible films enrich with pomegranate peel extract*. Reactive and Functional Polymers, 2019. **144**: p. 104350.
- [42] Bakhy, E.A., N.S. Zidan, and H.E.D. Aboul-Anean, *The effect of nano materials on edible coating and films' improvement*. Int. J. Pharm. Res. Allied Sci, 2018. **7**(3): p. 20-41.
- [43] Nair, M.S., A. Saxena, and C. Kaur, *Characterization and antifungal activity of pomegranate peel extract and its use in polysaccharide-based edible coatings to extend the shelf-life of capsicum (Capsicum annum L.)*. Food and bioprocess technology, 2018. : p. 1317-1327.
- [44] Moalemiyan, M., H.S. Ramaswamy, and N. Maftoonazad, *Pectin-based edible coating for shelf-life extension of ataulfo mango*. Journal of food process engineering, 2012. **35**(4): p. 572-600.
- [45] Abebe, Z., Y.B. Tola, and A. Mohammed, *Effects of edible coating materials and stages of maturity at harvest on storage life and quality of tomato (Lycopersicon Esculentum Mill.) fruits*. African journal of agricultural research, 2017. **12**(8): p. 550-565.
- [46] Ghafoor, K., et al., *Effects of Functional Coatings Containing Chitosan, Orange Peel and Olive Cake Extracts on the Quality Attributes of Cucumber during Cold Storage*. Plants, 2022. **11**(14): p. 1895.
- [47] Zarbakhsh, S. and S. Rastegar, *Influence of postharvest gamma irradiation on the antioxidant system, microbial and shelf life quality of three cultivars of date fruits (Phoenix dactylifera L.)*. Scientia Horticulturae, 2019. **247**: p. 275-286.
- [48] Radi, M., et al., *Effect of gelatin-based edible coatings incorporated with Aloe vera and black and green tea extracts on the shelf life of fresh-cut oranges*. Journal of Food Quality, 2017. **2017**.
- [49] Ali, A., et al., *Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Ekotika II papaya (Carica papaya L.) fruit during cold storage*. Food chemistry, 2011. **124**(2): p. 620-626.
- [50] Duan, J., et al., *Effect of edible coatings on the quality of fresh blueberries (Duke and Elliott) under*

- commercial storage conditions. Postharvest biology and technology, 2011. **59**(1): p. 71-79.
- [51] Kocira, A., et al., *Polysaccharides as edible films and coatings: Characteristics and influence on fruit and vegetable quality—A review*. Agronomy, 2021. **11**(5): p. 813.
- [52] Saberi, B., et al., *Application of biocomposite edible coatings based on pea starch and guar gum on quality, storability and shelf life of 'Valencia' oranges*. Postharvest Biology and Technology, 2018. **137**: p. 9-20.
- [53] Almenar, E., et al., *Controlled atmosphere storage of wild strawberry fruit (Fragaria vesca L.)*. Journal of agricultural and food chemistry, 2006. **54**(1): p. 86-91.
- [54] Samra, N., A.M. Shalan, and T. Basma, *Maintaining storability of brahee date palm fruits with postharvest edible coating by using alginate salts*. Journal of Plant Production, 2019. **10**(12): p. 983-993.
- [55] Rahemi, M., F. Roustai, and S. Sedaghat, *Use of Edible Coatings to Preserve Date Fruits (Phoenix Dactylofera L.)*. Journal of Packaging Technology and Research, 2020. **4**: p. 79-84.
- [56] Díaz-Mula, H.M., M. Serrano, and D. Valero, *Alginate coatings preserve fruit quality and bioactive compounds during storage of sweet cherry fruit*. Food and Bioprocess Technology, 2012. **5**: p. 2990-2997.
- [57] Xiao, C., et al., *Combined action of pure oxygen pretreatment and chitosan coating incorporated with rosemary extracts on the quality of fresh-cut pears*. Food Chemistry, 2010. **121**(4): p. 1003-1009.
- [58] Andrade, R., et al., *Wettability of gelatin coating formulations containing cellulose nanofibers on banana and eggplant epicarps*. LWT-Food Science and Technology, 2014. **58**(1): p. 158-165.
- [59] Hasnaoui, A., et al., *Physico-chemical characterization, classification and quality evaluation of date palm fruits of some Moroccan cultivars*. Journal of Scientific Research, 2011. **3**(1).
- [60] Zhang, L., et al., *Post-ripening and senescence behavior of atemoya (Annona cherimola × A. squamosa) under two typical storage temperatures*. Postharvest Biology and Technology, 2023. **200**: p. 112336.
- [61] Elleuch, M., et al., *Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre*. Food chemistry, 2008. **112**(2): p. 676-682.
- [62] Besbes, S., et al., *Adding value to hard date (Phoenix dactylifera L.): Compositional, functional and sensory characteristics of date jam*. Food chemistry, 2009. **112**(2): p. 406-411.
- [63] Al-Redhaiman, K., *Chemical changes during storage of Barhi dates under controlled atmosphere conditions*. HortScience, 2005. **40**(5): p. 1413-1415.
- [64] Cheraghi Dehdezi, S. and N. Hamdami, *The effect of storage types and conditions on The texture properties of dates (Kabkab variety) during storage*. Journal of Food Science & Technology (2008-8787), 2014. **12**(46).
- [65] Aleid, S., et al., *Effect of frozen storage and packing type on Khalas and Sukkary dates quality*. American Journal of Food Technology, 2014. **9**(3): p. 127-135.
- [66] Aboryia, M. and A.S. Omar, *Effectiveness of some edible coatings on storage ability of Zaghloul date palm fruits*. Journal of Plant Production, 2020. **11**(12): p. 1477-1485.
- [67] Xing, Y., et al., *Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (Capsicum annuum L.)*. Food chemistry, 2011. **124**(4): p. 1443-1450.
- [68] Poverenov, E., et al., *Gelatin-chitosan composite films and edible coatings to enhance the quality of food products: Layer-by-layer vs. blended formulations*. Food and Bioprocess Technology, 2014. **7**: p. 3319-3327.
- [69] Jitareerat, P., et al., *Effect of chitosan on ripening, enzymatic activity, and disease development in mango (Mangifera indica) fruit*. New Zealand journal of crop and horticultural science, 2007. **35**(2): p. 211-218.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of chitosan-gelatin edible coating containing orange peel extract on quality properties and shelf life of Kabakab dates

Mohammad Ganje^{1,2}, Nahid Ahmadi Sabet², Gholamreza Abdi^{*3}, Seyed Saeed Sekhavatizadeh⁴, Hamid Bakhshabadi¹

1- Department of Agriculture, Minab Higher Education center, University of Hormozgan, Bandar Abbas, Iran.

2- Department of Food Science and Technology, Kherad Institute of Higher Education, Bushehr, Iran.

3- Department of Biotechnology, Persian Gulf Research Institute, Persian Gulf University, Bushehr, 75169, Iran.

4- food science and technology Dep. Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Shiraz, Fars, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/7/15

Accepted: 2024/9/29

Keywords:

Date Kabkab,
edible coating,
chitosan,
gelatin,
extract,
orange peel

Dates are nutritionally rich and commercially important. Various solutions have been implemented to increase the shelf life of the product, allowing it to be available to consumers for a longer period. This study aims to use a chitosan-gelatin edible coating containing natural orange peel extract on stored dates at 4 and 25 °C for 90 days. Physical and chemical tests (weight loss, pH, acidity, moisture, reducing sugars, soluble solids, and texture) and sensory evaluations were conducted to assess the treatments over the storage period. The lowest weight loss occurred in the sample treated with the chitosan-gelatin coating containing orange peel extract on day 90 at both temperatures. Results indicated that with increased storage time and temperature, pH and moisture decreased while acidity, soluble solids, reducing sugars, and texture increased significantly. Additionally, a decrease in sensory attributes was observed with increased storage time and temperature, with samples treated with chitosan-gelatin coating containing 4 and 10 mg/ml orange peel extract showing the highest preference in sensory properties for the dates. Based on the findings, the chitosan-gelatin edible coating containing orange peel extract can be introduced as the best formulation for increasing the shelf life of dates for up to 90 days.

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.232.

*Corresponding Author E-
abdi@pgu.ac.ir



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی ویژگی‌های پکتین استخراج شده از کنجاله کلزا در روش هیدرولیز آنزیمی با استفاده از استخراج به کمک مایکروویو

نیما مباهی^{*}، سید هادی رضوی^۱، زهرا امام جمعه^۳

- ۱- دانشجوی دوره دکتری تخصصی رشته علوم و مهندسی صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
- ۲- دکتری علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
- ۳- دکتری علوم و صنایع غذایی، آزمایشگاه مهندسی فرآیندهای بیوتکنولوژی، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

کنجاله کلزا،

پکتین،

هیدرولیز آنزیمی،

فرآیند کمکی مایکروویو،

راندمان استخراج،

فعالیت امولسیون کننده

DOI:10.22034/FSCT.22.159.251.

* مسئول مکاتبات:

n.mobahi@ut.ac.ir

پکتین به عنوان هیدروکلوئید که در دیواره سلولی گیاهان قرار دارد می‌تواند یک محصول ثانویه در فراوری صنایع غذایی باشد. کلزا پس از روغنکشی دارای مقادیر بالایی از پکتین است. برای استخراج پکتین از کنجاله کلزا از روش مقایسه استخراج هیدرولیز آنزیمی با حضور و عدم حضور به کمک مایکروویو (با قدرت ۶۰۰ وات در چهار زمان صفر، ۱، ۳ و ۵ دقیقه) مورد استفاده قرار گرفت. بررسی تأثیر زمان تابش مایکروویو بر عملکرد استخراج و ویژگی‌های فیزیکی‌شیمیایی و رئولوژیکی پکتین استخراج شده انجام شد. ویژگی‌های فیزیکی، رئولوژیکی و شیمیایی نشان دادند که حضور فرآیند مایکروویو منجر شد تا خواص عملکردی پکتین استخراج شده بهبود یابد و فرآیند استخراج را تسهیل کرد ($p < 0/05$). بالاترین بازده استخراج پکتین ۹/۱٪ (وزنی/وزنی) در ۵ دقیقه تابش پرتو با قدرت ۶۰۰ وات در فرآیند کمکی مایکروویو با قدرت ۶۰۰ وات بود. این فرآیند کمکی بر درجه استری شدن و محتوای اسید گالاکترونیک پکتین تأثیر گذاشت تا توانایی تشکیل ژل در حضور مقادیر قند کم را داشته باشد و در محصولات رژیمی مناسب باشد. محتوای اسید گالاکترونیک در تمام نمونه‌ها بالاتر از ۶۰٪ بود که نشان از ظرفیت تشکیل ژل بالا است. پکتین استخراجی در زمان ۵ دقیقه تابش مایکروویو با قدرت ۶۰۰ وات بهترین ویژگی‌ها را با حداکثر محتوای اسید گالاکترونیک (۷۶/۵۱٪)، بالاترین فعالیت امولسیون کنندگی (۵۸/۰۱٪) و پایداری امولسیون (۹۵/۰۳٪) را ارائه داد. حضور فرآیند کمکی مایکروویو مقادیر کشش سطحی محلول آبی پکتین را کاهش داد (۴۳/۱۱٪ در ۵ دقیقه تابش) و ظرفیت ایجاد کف پکتین (بیشترین مقدار در ۵ دقیقه تابش ۸۴/۱۳٪) آن را تحت تأثیر قرار داد، بهبود بخشید. تابش پرتو در طول زمان مایکروویو باعث تغییرات قابل توجهی در ویژگی‌های پکتین، مانند ویسکوزیته ذاتی، میانگین ویسکوزیته، ظرفیت نگهداری آب شد تا ژلی با کیفیت بالاتر را تشکیل دهد.

۱- مقدمه

توان در مناطق معتدل جهان کشت کرد. هر دو شکل بهاره و زمستانی این گیاه وجود دارد، اما این شکل بهاره است که در تولید آمریکای شمالی، اروپا و مناطق سردسیر ایران مانند اردبیل، آذربایجان شرقی و گلستان غالب است. روغن کانولا محصول اصلی این گیاه است و حدود ۴۵٪ وزن دانه را تشکیل می‌دهد. این روغن در صنایع گوناگونی مانند روغن پخت و پز، روغن تولید انواع شکلات، صنایع بیسکویت و شیرینی پزی و غیره کاربرد فراوان دارد [۹، ۱۰]. کنجاله کلزا امروزه به عنوان غذای دام و یا در صنایع سلولزی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۱۱]. کنجاله دانه کلزا حاوی مقادیر بالایی از کربوهیدرات (بیش از ۳۰٪)، پروتئین (بیش از ۳۰٪) و چربی (بیش از ۱۰٪) است و به طور بالقوه می‌تواند به عنوان یک منبع برای استخراج دو مورد اول باشد [۱۲]. محتوای پکتین در کربوهیدرات‌های کنجاله کلزا نسبتاً بیشتر از سایر پلی‌ساکاریدها است [۱۳]. بنابراین در بررسی استخراج پکتین از کلزا انتظار می‌رود که کارایی کاربرد کربوهیدرات کنجاله کلزا افزایش و جنبه اقتصادی پالایشگاه‌های کلزا را بهبود بخشد. با این حال، مطالعات کمی در مورد پکتین این منبع وجود دارد، و بیشتر بر روی سلولز و همی سلولز کنجاله کلزا بحث شده است [۱۱].

مایکروویو تولید کننده امواج الکترومغناطیسی با فرکانس متناظر از ۰/۳ تا ۳۰۰ گیگاهرتز است. ناحیه مایکروویو در کل طیف الکترومغناطیسی بین فرکانس‌های مادون قرمز و رادیویی است. به عنوان نوعی موج الکترومغناطیسی، مایکروویو دارای میدان‌های الکتریکی و مغناطیسی است. بر اساس برهمکنش بین تابش مایکروویو و مواد تابیده شده به آن، یک ماده را می‌توان به سه نوع طبقه بندی کرد: (۱) مواد جاذب مانند آب و گلیسرول که می‌توانند امواج مایکروویو

پکتین به عنوان پلی‌ساکاریدی که یکی از ارکان ساختاری در دیواره‌های سلولی اولیه و لایه میانی گیاهان عالی یافت می‌شود شناخته شده است. این کمپلکس آنیونی پلی‌ساکاریدی است که بخش اصلی آن متشکل از (۱-۴) آلفا-دی گالاکترونیک اسید است و با قندهای خشی آرابینوز، گالاکتوز و زایلوز زنجیره‌های جانبی را تشکیل داده است. پکتین‌ها بر اساس درجه متیلاسیون^۱ عمدتاً به دسته‌های متوکسیل بالا^۲ (MD>50%) و متوکسیل کم^۳ (DM<50%) طبقه بندی می‌شوند [۱]. پکتین یک ماده پرکاربرد در صنایع غذایی، زیست پزشکی، دارویی، آرایشی و بهداشتی است نه تنها به دلیل خواص و ویژگی‌های عملکردی آن، بلکه به عنوان فیبر محلول نیز تأثیرات ارتقاء سلامتی آن اثبات شده است [۲]. افزایش نگرانی برای حفظ محیط زیست و رفاه اجتماعی، توسعه منابع غذایی جایگزین را تسریع کرده است. بنابراین، منابع طبیعی مختلفی که محیطی، اقتصادی و فراوان هستند، از سوی بازارهای خاص در صنایع غذایی مورد توجه قرار گرفته اند [3]. در مقیاس تجاری در صنایع غذایی و دارویی، این ماکرومولکول کربوهیدرات اسیدی معمولاً از ضایعات مرکبات و سبب تولید می‌شود، زیرا به دلیل درجه متیلاسیون، وزن مولکولی و میزان هموگالاکتورونان در ساختار پکتین این منابع است [۴]. پکتین‌ها به عنوان عوامل ژل کننده و امولسیون کننده معمولاً برای تثبیت مربا، ژله و نوشیدنی‌های لبنی اسیدی استفاده می‌شوند [۵، ۶]. پکتین‌ها همچنین می‌توانند به تنهایی یا در ترکیب با پلیمرهای زیستی دیگر برای تهیه کپسول‌های میکرو و نانو حاوی مواد فعال زیستی استفاده شوند [۷]. علاوه بر این، نقش‌های مرتبط با سلامتی پکتین‌ها مانند کاهش کلسترول، کاهش سطح گلوکز سرم، مهار رشد سلول‌های سرطانی و بهبود سیستم ایمنی گزارش شده است [۴، ۸].

کلزا^۴ به عنوان محصول دانه روغنی در اروپا در اوایل قرون وسطی کشت شد. دانه‌های روغنی کلزا به دلیل توانایی جوانه زدن و رشد در دماهای پایین، یکی از معدود محصولات روغنی است که می

3- Low Methylation

4-Brassica napus

1- Methylation degree (MD)

2- High Methylation

را جذب کنند، که دی الکتریک مایکروویو نیز نامیده می شوند. (۲) هادی ها (عمدتاً فلزات) که امواج مایکروویو نمی تواند به آنها نفوذ کند و بیشتر این امواج تابیده شده منعکس می شوند. و (۳) عایق ها یا مواد شفاف با از جمله کوارتز و تفلون، که به امواج مایکروویو اجازه عبور بدون تلفات را می دهند. دی الکتریک مایکروویو معمولاً به عنوان وسیله گرمایش استفاده می شود. حضور مایکروویو همچنین دارای مزایای بی شماری در استخراج پلی ساکاریدها از جمله پتانسیل کاهش زمان فرآیند و مصرف انرژی، کاهش تولید فاضلاب در نتیجه استفاده کمتر از حلال های آلی، افزایش بازده و خلوص پلی ساکاریدهای استخراج شده، بهبود نرخ گرمایش هنگام استخراج، کنترل بیشتر سیستم و پارامترهای استخراج در طول فرآیند است [۱۴].

در این مطالعه، استخراج پکتین را با استفاده از فرآیند ترکیبی در شرایط بهینه در طول هیدرولیز آنزیمی برای عملکرد پکتین بالا بررسی کردیم. در ابتدا، چربی کلزا با استخراج با حلال حذف شد و سپس هیدرولیز آنزیمی با زمان های مختلف هیدرولیز آنزیمی، نسبت آنزیم-RSC و نسبت کوکتل آنزیم (نسبت سلولولکلاست-آلکالاز) در pH و دمای ثابت انجام شد. علاوه بر این، اثر شرایط هیدرولیز آنزیمی بر استخراج پکتین برای مقایسه نرخ تخریب کنجاله کلزا و بازده قندهای احیاکننده آزاد شده و پکتین مورد بررسی قرار گرفت.

۲-مواد و روش ها

۱-۲ مواد اولیه

۱-۲-۱ تهیه کنجاله کلزا:

دانه گیاه کلزا (رقم نیما از نوع زمستانه، غیر هیبریدی، درصد خلوص بذر برابر با ۹۹٪) از اداره جهاد کشاورزی استان تهران تهیه شد. ابتدا و به کمک آسیاب آزمایشگاهی (شرکت ایران میل،

کشور ایران) به طور کامل آسیاب و توسط الک با مش ۴۰ (الک زرین، ایران) جداسازی پوسته و پودر دانه ها انجام شد. در ادامه فرآیند روغن گیری اولیه دانه های خرد شده با پرس سرد (شرکت بکردانه، ایران) انجام شد. در مرحله دوم، با استفاده از حلال هگزان با نسبت ۱:۶ وزنی/حجمی بر روی همزن مغناطیسی (هر ۳ ساعت یک بار محلول هگزان تعویض شد)، جدا سازی روغن از پودر دانه تکمیل شد. سپس با استفاده از سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، در دمای محیط و به مدت ۳۰ دقیقه محلول روغن و حلال باقی مانده را از پودر دانه کلزا جدا کرده و آرد باقی مانده به کمک آون تحت خلا (گروه صنعتی بهمن، ایران) در دمای ۳۵ درجه سلسیوس و در فشار ۲ بار به مدت ۱۰ دقیقه جداسازی هگران تکمیل شد [۱۳].

۲-۱-۲ استخراج پکتین به روش هیدرولیز آنزیمی^۵

پس از فرآیند حذف چربی، از دو آنزیم تجاری (Novozymes Korea Ltd، کشور کره جنوبی) جهت هیدرولیز مورد استفاده قرار گرفت: سلولکلاست L ۱/۵ نوع FG0 به عنوان سلولاز، تولید شده از *Trichoderma reesei*، با فعالیت اعلام شده ۷۰۰ EGU/g و آلکالاز L ۲/۵ نوع EX0 (آلکالاز) به عنوان پروتئاز، تولید شده از *Bacillus licheniformis* با فعالیت اعلام شده ۲/۵ AU-A/g. پنج گرم پودر کنجاله بدون چربی کلزا^۶ بدون چربی در یک ارلن ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده و ۱۰۰ میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH برابر ۵/۵) به آن اضافه شد. سلولکلاست و آلکالاز با نسبت آنزیم-کنجاله از ۱:۵۰ حجمی/وزنی استفاده شدند. در نهایت، کوکتل آنزیمی، متشکل از نسبت سلولکلاست به آلکالاز (۴:۱ حجمی/حجمی)، روی کنجاله اعمال شد. پس از انکوباسیون در انکوباتور تکان دهنده (پارت آزما، ایران) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس با ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۹۰ دقیقه، مایع رویی با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و سانتریفیوژ شدند (۱۹۶۲۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه) تا مایع شفاف رویی جمع آوری شد. سپس مواد پکتیک سه بار با اتانول ۹۵ درصد شسته شدند تا کربوهیدرات های هیدرولیز شده (مانند مونو و دی ساکاریدها) حذف شوند. در نهایت پکتین

6- Rapeseed defatted cake (RSDC)

5- Enzymatic Hydrolysis (EH)

گرم پکتین، مخلوط در ۲۰ میلی لیتر آب دیونیزه شده حل شد و با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه بر روی همزن مغناطیسی (IKA، آلمان) هم زده شد. دو یا سه قطره از معرف فنل فتالین به محلول اضافه و با NaOH ۰/۱ نرمال تیترا شد. در مرحله بعد، ۱۰ میلی لیتر NaOH ۰/۱ نرمال به محلول نمونه اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه با شرایط قبل هم خورد تا واکنش هیدرولیز کامل شود. سپس ۱۰ میلی لیتر هیدروکلراید ۰/۱ نرمال به نمونه‌ها اضافه شد و تا زمانی که رنگ صورتی کاملاً حذف شود، هم زده شد. در نهایت، نمونه‌ها با NaOH ۰/۱ نرمال تیترا شدند تا زمانی که رنگ صورتی نمایان شود. از معادله ۲ برای تخمین درصد استریفیکاسیون (DE) استفاده شد [۱۵]:

$$DE = \frac{v_2}{v_2 + v_1} \times 100 \quad \text{معادله ۲}$$

۲-۳ اندازه‌گیری محتوای کل اسید گالاکترونیك^{۱۰}

از روش رنگ سنجی بر اساس معرف ۵،۳-دی متیل فنل برای اندازه‌گیری محتوای اسید گالاکترونیك کل پکتین‌های استخراج شده از کنجاله کلزا به هر دو روش استخراجی استفاده شد. برای این آزمایش، ۱ میلی لیتر محلول پکتین با غلظت ۲۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر در یک لوله ریخته شد و سپس ۶ میلی لیتر اسید سولفوریک/تتربورات سدیم اضافه شد و بلافاصله در حمام حاوی آب سرد خنک شد. عملیات مداوم شامل تکان دادن لوله‌ها با یک میکسر گردابی، گرم کردن در حمام آب و خنک سازی انجام شد. در این مرحله، معرف اضافه شد، به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد و جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (SP-UV 500) UV/Vis (کشور چین) در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد [۱۶].

۲-۴ خواص کشش سطحی، کف کردن و ظرفیت نگهداری آب

مرطوب در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ ساعت خشک و در لوله‌های شیشه‌ای پیرکس نگهداری شد [۳].
۱-۲ استخراج پکتین به روش حضور کمکی مایکروویو^۷
روش فروهر و همکاران (۲۰۲۳) با اندکی تغییر برای استخراج پکتین از کنجاله پودری کلزا با استفاده از یک دستگاه مایکروویو مجهز به یک سیستم مخزن (MLS Ethos 1600 Microwave System، Leutkirch، آلمان) استفاده شد. با توجه به بررسی‌های اولیه برای رسیدن به حداکثر راندمان استخراج^۸، پارامترهای پردازش اعمال شده ۵ گرم پودر کنجاله کلزا در ۱۰۰ میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۰۵ مولار (pH برابر ۱/۵ تنظیم شده با اسید سیتريك)، قدرت مایکروویو ۶۰۰ وات، و زمان تابش ۱، ۳ و ۵ دقیقه بود. پس از سرد شدن، آنزیمها طبق روش بخش ۱-۲-۲ اضافه و فرایند ادامه پیدا کرد. محلولهای استخراج به دست آمده از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ فیلتر شده و سانتریفیوژ شدند (۱۹۶۲۰ گرم به مدت ۱۰ دقیقه) تا مایع شفاف رویی جمع آوری شد. سپس مواد پکتیک سه بار با اتانول ۹۵ درصد شسته شدند تا کربوهیدرات‌های هیدرولیز شده (مانند مونو و دی ساکاریدها) حذف شوند. در نهایت پکتین مرطوب در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ ساعت خشک و در لوله‌های شیشه‌ای پیرکس نگهداری شد [۱۴].

۱-۲ تمام مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت سیگما آلدریچ (ایالات متحده آمریکا) تهیه شد.

۲-۲ آزمون‌ها

۱-۲-۲ اندازه‌گیری راندمان استخراج

راندمان استخراج پکتین (EY) حاصل از هر دو روش استخراج با تقسیم وزن (گرم) پکتین خشک (W_{Dried-Pectin}) به وزن (گرم) پودرهای کنجاله کلزا (W_{Dried-RSC}) (معادل ۱) برآورد شد [۱]:

$$EY = \frac{W_{Dried-Pectin}}{W_{Dried-RSC}} \quad \text{معادله ۱}$$

۲-۲-۲ اندازه‌گیری درجه استریفیکاسیون^۹

از روش تیتراسیون کلاسیک برای تعیین درجه استری شدن استفاده شد. پس از افزودن ۳ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد به ۰/۲

9- Esterification Degree

10 -Total Galacturonic Acid (TGA)

7 -Microwave-Assisted (MAE)

8 -Extraction yields (EYs)

$$t_{1/2} = \left(\frac{V_{r0}}{2 \times K_s} \right)^{10} \quad \text{معادله ۴}$$

ظرفیت نگهداری آب^{۱۴} در نمونه پکتین‌های استخراجی دمای اتاق ارزیابی شد. از هر پکتین ۰/۳ گرم به ۱۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شدند، مخلوط به مدت ۱ دقیقه ورتکس شد و به مدت ۳۰ دقیقه قبل از سانتریفیوژ در ۷۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شد. پکتین باقی مانده به شکل گلوله پس از حذف مایع رویی وزن شد. مقدار WHC نمونه‌ها به صورت گرم آب حفظ شده توسط ۱ گرم پکتین بیان شد [۱۷].

۲-۵- ویسکوزیته و رفتار رئولوژیکی

ویسکومتر قابل برنامه ریزی چرخشی (Brookfield Engineering Inc, DVBT، ایالات متحده آمریکا) مجهز به آداپتور UL پیشرفته برای تعیین ویسکوزیته و رفتار جریان محلول‌های پکتین (۲۰ میلی لیتر) در 1 ± 24 درجه سلسیوس، در غلظت‌های ۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ (وزنی/حجمی) استفاده شد. در این آزمون از سیستم اندازه‌گیری سیلندر کواکسیال شکاف باریک با دوک (پروپ) LV#16 بهره برده شد. همانطور که در کتابچه راهنمای بروکفیلد توصیه شده است، سرعت اسپیندل برای ارائه بالاترین درصد گشتاور در محدوده ۱۰۰-۱۰٪ تنظیم شده است. زمان انجام فرایند برای هر اندازه‌گیری تقریباً ۵ دقیقه بود [۱].

۲-۶- فعالیت امولسیون کننده^{۱۵} و پایداری امولسیون

امولسیون‌ها با مخلوط کردن محلول‌های ۵ درصد روغن ذرت و ۵ درصد پکتین (۱:۱ حجمی) تهیه شدند و متعاقباً با استفاده از هموژنایزر روتور-استاتور (Ultraturrax T25، IKA، کشور آلمان) به مدت ۵ دقیقه در ۷۵۰۰ دور در دقیقه در ۲۴ درجه سلسیوس همگن شدند. امولسیون‌های حاوی قطعات درشت با استفاده از سیستم فراصوت ۲۴ کیلوهرتز (UP400S، Hielscher Ultrasonics GmbH، کشور آلمان) با حداکثر توان خروجی ۴۰۰ وات برای تولید امولسیون‌های پراکنده ریز

کشش سطحی^{۱۱} تعادل با روش حلقه دو نوی و با استفاده از دستگاه کشش سنج (Kruss K20 Easy Dyne) اندازه‌گیری شد. برای این آزمایش، محلول نمونه‌های هر دو روش استخراج (با غلظت ۱٪ وزنی) با حل ۰/۳ گرم پکتین در ۳۰ میلی لیتر آب مقطر در دمای ۶۰ درجه سلسیوس تهیه شد. محلول‌های نمونه قبل از اندازه‌گیری به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. کشش سطحی آب تازه ۴ بار تقطیر با مقدار ۷۱ mN/m، به عنوان مرجع استفاده شد [۱۴].

خواص کف کنندگی محلول پکتین‌های استخراجی به عنوان ظرفیت کف^{۱۲} (FC) و پایداری کف^{۱۳} (FS) بیان شد و با روشی که توسط فروهر و همکاران (۲۰۲۳) توضیح داده شد، با تغییرات جزئی تعیین شد. فوم با هموژنیزه کردن محلول پکتین (۱٪ وزنی/حجمی) در ۱۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با استفاده از هموژنایزر (Ultraturrax IKA، کشور آلمان) تهیه شد. حجم فوم هر ۵ دقیقه تا ۳۵ دقیقه با استفاده از دوربین دیجیتال ثبت شد و سپس توسط نرم افزار ImageJ 1.46r تجزیه و تحلیل شد. FC و FS به ترتیب با اندازه‌گیری نسبت ارتفاع کف به ارتفاع کل بلافاصله پس از تشکیل فوم و پس از ۳۵ دقیقه تعیین شدند [۱۴، ۱۷].

با توجه به مدل‌سازی سینتیکی پایداری فوم، از مدل‌های تجربی (معادله (۳)) برای همبستگی داده‌های تجربی نسبت فوم استفاده شد که به صورت ارتفاع فوم به نسبت ارتفاع کل از $t = 0$ تا $t = 35$ دقیقه بیان شد. نیمه تایم ($t_{1/2}$) که نشان دهنده پایداری فوم است مطابق شکل زیر محاسبه شد (معادله (۴)). پارامترهای سینتیک k_1 (حجم فوم در دقیقه) و عدد ثابت V_r ، از طریق رگرسیون ابزار برازش منحنی نرم افزار MATLAB R2008a (The Mathworks، ایالات متحده آمریکا) تعیین شد [۱۷].

$$V_r = V_{r0} - K_1 t^{0.01} \quad \text{معادله ۳}$$

14 -Water Holding Capacity (WHC)

15 -Emulsifying Activity (EA)

11 -Surface Tension (ST)

12 -Foam Capacity (FC)

13- Foam Stability (FS)

لیتر از ۷/۴ میلی مول در لیتر نمک دی آمونیوم ABTS با ۰/۳۵ میلی لیتر ۲/۶ میلی مول در لیتر $K_2S_2O_8$ مخلوط شد و در یک محیط تاریک در دمای 24 ± 1 درجه سلسیوس به مدت ۱۵ ساعت انکوبه شد تا رادیکال ABTS تشکیل شود. محلول ABTS با افزودن اتانول ۹۶ درصد رقیق شد تا به مقدار جذب 0.70 ± 0.02 در ۷۳۴ نانومتر برسد. پس از آن، ۲ میلی لیتر محلول ABTS با ۰/۲ میلی لیتر محلول پکتین در غلظت های مختلف (۱۵-۳ میلی گرم بر میلی لیتر) مخلوط شد و جذب پس از ۲۰ دقیقه انکوباسیون در ۷۳۴ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis (SP-UV 500، کشور چین) اندازه گیری شد. قرائت در برابر اتانول ۹۶٪ (کنترل منفی) اندازه گیری شد. کنترل های مثبت در این آزمایش BHA و ویتامین C بودند. درصد SA_{ABTS} با معادله زیر محاسبه شد (معادل ۸) [۲۰]:

$$SA_{ABTS} = \left(1 - \frac{Abs_{Sample}}{Abs_{Control}}\right) \times 100 \quad \text{معادله ۸}$$

۳-۲ تجزیه و تحلیل آماری

داده های دریافتی با نرم افزار IBM SPSS Statistics (۲۵/۰/۲/۲، ایالات متحده آمریکا) مورد تجزیه و تحلیل شد. تفاوت معنی داری بین گروه های اندازه گیری شده با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با سطح اطمینان ۹۵ درصد تعیین شد. پس از نرمال بودن و آزمون همگنی انحراف معیار از آزمون Tukey HSD استفاده شد. تجزیه و تحلیل تشخیص خطی (LDA) برای بررسی تفکیک پذیری هر نوع پکتین استخراجی انجام شد. در صورت وجود تفاوت معنادار، آزمون توکی با سطح ۵ درصد معناداری به کار گرفته شد. کلیه آزمون ها در سه تکرار صورت پذیرفتند.

۳- نتایج و بحث

۱-۳ میزان راندمان استخراج پکتین

مقادیر بازده پکتین استخراج شده با استفاده از روش های EH و MAE در شکل ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده

فراصوت شدند. ۱۰ گرم از امولسیون بلافاصله در لوله آزمایش ریخته شد و در دمای ۴ و ۲۴ درجه سلسیوس به عنوان دمای نگهداری^{۱۶} به مدت ۲۸ روز نگهداری شد. فعالیت امولسیون کننده (EA) (%، معادله ۵) و پایداری امولسیون^{۱۷} (ES) (%، معادله ۶) پکتینهای استخراج شده از هر دو روش محاسبه شد.

$$EA = \frac{V_{el}}{V_t} \quad \text{معادله ۵}$$

$$ES = \frac{EA_f - d_{28}}{EA_i - d_{od}} \quad \text{معادله ۶}$$

که در آن V_{el} و V_t به ترتیب حجم لایه امولسیون شده و حجم کل امولسیون بودند. EA_{f-28d} و EA_{i-0d} به ترتیب فعالیت امولسیون کنندگی در زمان اولیه (روز ۰) و انتهایی (روز ۲۸) زمان ذخیره سازی بودند [۱، ۱۸]

۲-۲-۷ فعالیت آنتی اکسیدانی

۲-۲-۱-۷ توانایی مهار رادیکال DPPH

روش اصلاح شده یاماگوچی و همکاران (۱۹۹۸) برای ارزیابی فعالیت مهار رادیکال های آزاد پکتین های استخراج شده به هر دو روش استفاده شد. به طور خلاصه ۱ میلی لیتر عصاره پکتیک با غلظت های مختلف (۳-۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر) با ۲ میلی لیتر از محلول ۰/۲ میلی مولار DPPH مخلوط شد و در دمای ۲۴ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. جذب (Abs) در برابر متانول با استفاده از اسپکتروفتومتر UV/Vis (SP-UV 500، کشور چین) در طول موج ۵۱۷ نانومتر ثبت شد. BHA و ویتامین C به عنوان کنترل مثبت استفاده شد و با استفاده از رابطه زیر (معادل ۷) برآورد شد [۱۹]:

$$SA_{DPPH} = \left(1 - \frac{Abs_{Sample}}{Abs_{Control}}\right) \times 100 \quad \text{معادله ۷}$$

۲-۲-۲-۷ ظرفیت مهار رادیکال ABTS

فعالیت مهار رادیکال ABTS (SA_{ABTS}) محلول های پکتین مطابق روشی که توسط تامبیراج و همکارانش (۲۰۱۵) توضیح داده شد با اندکی تغییر اندازه گیری شد. به طور خلاصه، ۰/۳۵ میلی

بهبود بخشند [۲۱]. افزایش زمان فرایند می‌تواند به رهايش بیشتر پکتین به درون محلول اسیدی کمک نماید. پیش از این جیونگ و همکاران (۲۰۱۳) اقدام به استخراج پکتین از کلزا به روش هیدرولیز آنزیمی کرده بودند که میزان راندمان استخراج در روش هیدرولیز آنزیمی ۶/۲۳٪ بود. این موضوع که گونه و وارته گیاه می‌تواند در مقادیر اجزای آن تفاوت ایجاد کند یکی از علل تفاوت میزان استخراجی ما (۷/۶٪) با نتایج آنها بود [۳]. از سوی دیگر اما فرایند مایکروویو به عنوان پیش تیمار کمکی در استخراج پکتین از دانه‌های روغنی در تحقیقی مشاهده نشد. از بین گیاهان دیگر، جیانگ و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که بازده استخراج پکتین از پوست هندوانه ۱۹/۶ درصد توسط MAE در توان ۵۰۰ W، pH برابر با ۱/۵ و زمان استخراج ۷ دقیقه بود [۲۲].

می‌شود بیشترین راندمان و بازده پکتین استخراج شده در نمونه MAE5 (توان ۶۰۰ وات و مدت زمان ۵ دقیقه) برابر با مقدار ۹٪/۱ می‌باشد و کمترین مقدار مربوط به نمونه EH (استخراج بدون فرایند کمکی مایکروویو) با مقدار ۷/۶٪ است. با حضور فرایند کمکی درصد راندمان استخراج پکتین از پودر کنجاله کلزا افزایش یافت. زمان تابش پرتو مایکروویو یکی از مهمترین عوامل افزایش راندمان استخراج است [۱۷]. افزایش راندمان از ۸/۴٪ به ۹٪/۱ طی مدت ۱ دقیقه تا ۵ دقیقه تابش پرتو مشاهده شد. در فرآیند استخراج، حرارت دادن مایکروویو فشار قابل توجهی را در داخل دانه‌های پودر ایجاد می‌کند و می‌تواند خواص فیزیکی مواد خام مانند تخلخل را تغییر دهد. این موضوع توسط بسیاری از محققان به اثبات رسیده که امواج مایکروویو می‌تواند نفوذ حلال به بافت، انتقال انرژی به مخلوط و آزادسازی ترکیبات هدف را

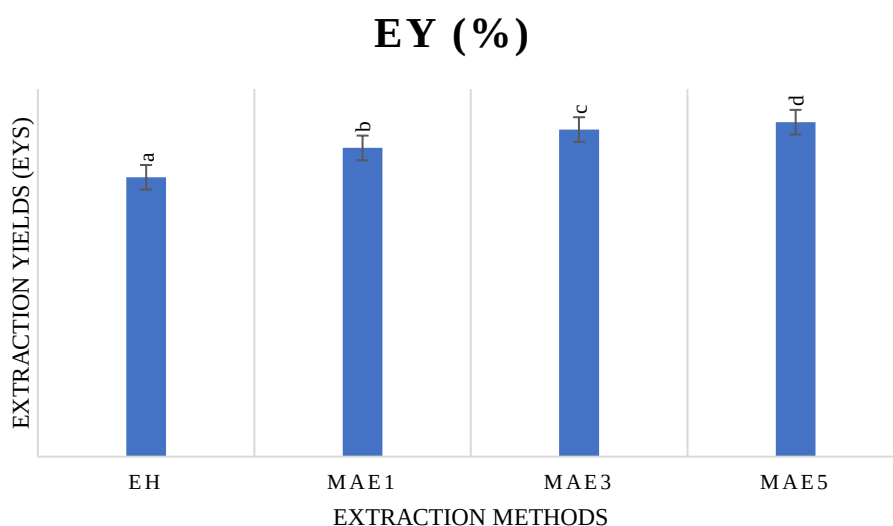


Fig 1. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on pectin extraction efficiency of defatted-cake rapeseed^{a, ‡}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1, 3 and 5 min)

[‡] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

بستگی دارد. نتایج در شکل ۲ نشان داد که مقدار DE پکتین استخراجی در فرآیند استخراج به روش هیدرولیز آنزیمی به ۴۵٪/۴ رسید. تفاوت معنی داری در مقدار DE پکتین به دست آمده با مدت زمان های مختلف استخراج مشاهده شد. اعمال فرایند کمکی مایکروویو (۳، ۱ و ۵ دقیقه) بین ۴۵٪/۱۷ تا ۴۲٪/۸۱ متغیر است. استخراج پکتین در شرایط دمایی و حضور پرتو مایکروویو موجب ایجاد شرایط سخت‌تر شده،

۳-۲ اندازه‌گیری درجه استریفیکاسیون

کاربرد پکتین تا حد زیادی به درجه استری شدن (DE) آن بستگی دارد. همه پکتین‌های استخراجی طبق نتایج شکل ۲ به نوع با متوکسی کم تعلق داشتند، چرا که مقادیر DE در همه نمونه‌ها کمتر از ۵۰٪ بود. با توجه به این مورد و شکل ۲، تأثیر زمان اعمال فرآیند تابش مایکروویو بر مقادیر DE

به پکتین‌های بالای ۵۰٪ نسبت به pH مقاوم تر هستند و ژل ها را می توان در محدوده وسیعی از pH بدست آورد [۲۵]. پکتین‌های با درجه استری کمتر از ۵۰٪ می توانند در حضور کاتیون های دو ظرفیتی، معمولاً کلسیم (Ca^{2+}) ژل کنند و این فرآیند ژل شدن را می توان به راحتی با افزودن یون های تک ظرفیتی مانند سدیم (Na^{+}) و پتاسیم (K^{+}) معکوس کرد [۲۶]. جئونگ و همکاران (۲۰۱۴) در استخراج به کمک فراصوت محدود ۴۷٪ را برای پکتین استخراجی از کنجاله کلزا نشان داد که از نمونه‌های موجود در بازار حدود ۷٪ کمتر بود [۱۲]. در تحقیقی دیگر، ایگل‌سیاس و همکارش (۲۰۰۴) DE مربوط به پکتین استخراج شده از کنجاله آفتابگردان را حدود ۱۱٪ اعلام کرد که بسیار پایینتر از کلزا بود [۲۷].

افزایش استری زدایی زنجیره های پلی گالاکترونیک را به دنبال دارد که می‌تواند منجر به DE کمتر شود [۲۳]. طبق نتایج دیگر محققین سه عامل یعنی زمان اعمال فرآیند، قدرت اعمالی در فرآیند و دمای فرآیند می‌تواند بر مقدار DE تاثیر و میزان DE را کاهش دهد [۱۷]. در بین این سه عامل اما تنها مدت زمان فرآیند برای ما متغیر بود، قدرت آن ثابت و نیز دمای آن با توجه به افزایش زمان احتمالاً افزایش داشته است. در پکتین‌های با درجه استری کمتر از ۵۰٪ مستقل از محتوای قند (در نبود آنها و یا مقدار جزئی) ژل می شوند و از نظر شیمیایی در برابر رطوبت و گرما پایدارتر از پکتین‌های با درجه استری بیشتر از ۵۰٪ هستند [۲۴]. این نوع پکتین‌ها معمولاً برای فرموله کردن مرباهای کم شکر یا کم کالری، ژله ها و دسرهای لبنی استفاده می شوند [۱]. آنها همچنین نسبت

Degree of Esterification

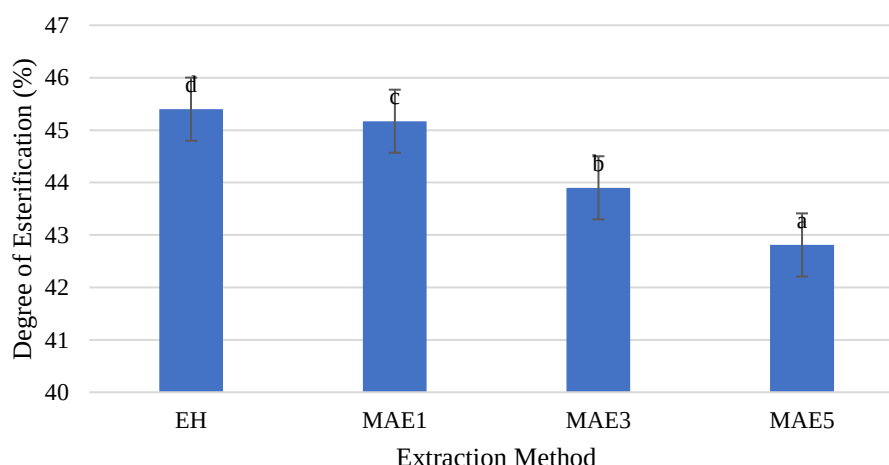


Fig 2. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on pectin Degree of Esterification (DE) of defatted-cake rapeseed ^{a ‡}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[‡] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

(۶۵/۲۱٪) به‌طور معنی‌داری کمتر از پکتین‌های تجاری تهیه شده بود ($p < 0.05$). اعمال فرآیند مایکروویو موجب افزایش معنی‌دار TGA در پکتین شد. حداکثر میزان TGA در ۵ دقیقه اعمال فرآیند مایکروویو معادل ۷۶/۵۱٪ بود. الزامات FAO و اتحادیه اروپا، محتوای TGA در پکتین های صنعتی باید حداقل ۶۵٪ باشد [۲۸]. لذا پکتین استخراج شده

۳-۳ اندازه‌گیری محتوای کل اسید گالاکترونیک

کیفیت پکتین استخراج شده را می توان با توجه به درصد DE و TGA ارزیابی کرد، زیرا این پارامترهای شیمیایی تأثیر قابل توجهی بر خواص ژل شدن و ایجاد بافت دارند [۲۳]. TGA پکتین استخراج شده توسط هیدرولیز آنزیمی

دلیل ترکیب این نوع پکتین با اسید در دمای بالا، دارای توانایی بالایی برای آزادسازی کامل ترکیبات پکتیک با اسید گالاکترونیك بیشتر از قسمت‌های عمیق‌تر ساختار گیاه است [۳۰].

به کمک فرآیند مایکروویو برای تشکیل ژل های قوی در صنایع غذایی مناسب است. ظرفیت بالای پکتین به دست آمده توسط MAE در ایجاد ژل ممکن است به اثر غالب پرتوهای مایکروویو در ایجاد بستری برای استخراج کامل و سریع نسبت شرایط دیگر نسبت داده شود [۲۹]. به همین

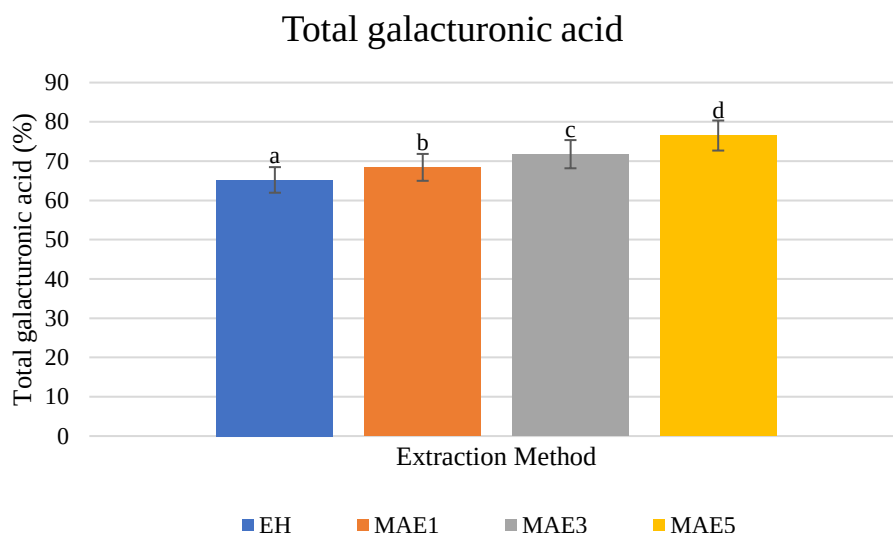


Fig 3. The effect of Enzymatic and microwave-assisted treatment on total galacturonic acid content of defatted-cake rapeseed ^{a†}

^a Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[†] Means within each column with the same letters are not significantly different ($P < 0.05$).

دقیقه و $43/11 \text{ mN/m}$ در ۵ دقیقه بود. اما در مقایسه با نمونه تجاری موجود در بازار ارزش کشش سطحی محلول پکتین استخراج شده کنجاله کلزا به هر دو روش (۱٪ وزنی در حجم) تقریباً برابر بودند ($45/8 \text{ mN/m}$). اشمیت و همکاران (۲۰۱۴) نیز رقمی مشابه با نمونه تجاری موجود در بازار ایران از محلول پکتین مرکبات (۱٪ (وزن / حجم)) به دست آورده بودند [۳۲].

FC و FS محلول های آبی پکتین کنجاله کلزا در جدول ۱ نشان داده شده است. تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که مدت زمان پیش تیمار استخراج می تواند به طور قابل توجهی بر FC تأثیر بگذارد ($P < 0.05$). پکتین به دست آمده با استفاده از EH (هیدرولیز آنزیمی) تفاوت معنی داری را در FC و FS از نمونه MAE نشان داد. این نتایج برای FC محلول های پکتین استخراجی با اندازه گیری کشش سطحی

۴-۳ خواص کشش سطحی، کف کردن و ظرفیت نگهداری آب

کشش سطحی آب دیونیزه، به عنوان مرجع، معادل mN/m ۷۱ اندازه گیری شد. همانطور که در جدول ۱ نشان داده شده است، مقادیر کشش سطحی محلول پکتین کنجاله کلزا به روش EH (هیدرولیز آنزیمی)، ۱٪ (وزنی/حجمی)، کمتر از mN/m ۷۱ بود ($45/45$)، که نشان می دهد پکتین استخراجی می تواند کشش سطحی محلول را کاهش دهد. این پارامتر یکی از مهمترین خواص فیزیکی پلیمرهای زیستی برای تشکیل کف است که هر چه کشش سطحی کمتر باشد، توانایی تشکیل فوم بیشتر است [۳۱]. مقادیر کشش سطحی پکتین استخراج شده توسط MAE معادل mN/m $44/38$ در ۱ دقیقه، mN/m $43/69$ در ۳

و داده‌های پروتئین مطابقت دارد. FS نمونه‌ها در محدوده ۳۰/۴۸ تا ۳۱/۸۷ درصد بود.

WHC می‌تواند برای خواص فیزیکی مانند ویسکوزیته، ایجاد غلظت و بافت و نیز تولید حجم در محصولات غذایی فرموله شده با پکتین موثر باشد ۳۸. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، WHC پودر کنجاله کلزا به دست آمده از MAE در محدوده ۱۱/۷۱ تا ۱۱/۷۵ گرم آب بر گرم پکتین (gwater/gpectin) بود که مقادیر مناسبی را برای WHC در مقایسه با پکتین مرکبات که به صورت تجاری فروش می‌روند (gwater/gpectin ۱۰/۲) نشان داد. بر اساس نتایج تجربی (جدول ۱)، مقدار WHC پکتین از MAE بالاتر از مقدار بدست آمده توسط EP بود، در حالی که تنها تفاوت معنی داری بین نمونه های MAE و EH هنگام استفاده از پیش تیمار به مدت ۵ دقیقه در ۶۰۰ وات

مشاهده شد. ساختار فیزیکی و ترکیب شیمیایی پکتین می‌تواند برای WHC موثر باشد. بنابراین، پیش تیمار مایکروویو می‌تواند ساختار فیزیکی یا ترکیب شیمیایی پکتین را تغییر دهد که بر این پارامتر تأثیر می‌گذارد و خاصیت آب دوستی نمونه‌ها را کاهش می‌دهد ۳۹. ارزش WHC پکتین کنجاله کلزا در نمونه‌های با یا بدون پیش تیمار مایکروویو، بالاتر از ارزش WHC صمغ گوار (gwater/gpectin ۴/۸) و کربوکسی متیل سلولز (gwater/gpectin ۱۰) بود که در محصولات آرایشی و بهداشتی به عنوان غلیظ کننده و برای کاهش پدیده از دست دادن رطوبت پوست استفاده می‌شود [۳۳]. از آنجایی که پکتین به عنوان یک عامل غلیظ کننده طبقه بندی می‌شود و دارای ارزش WHC است، پکتین کنجاله کلزا را می‌توان برای استفاده در محصولات آرایشی و بهداشتی پیشنهاد کرد.

Table 1. Effect of extraction method (1% (w/v) pectin solutions at 25 °C) on Surface Tension, Water holding capacity, foam properties, Viscosity, emulsifying activity, emulsion stability, S_{ADPPH}, and S_{ABTS} ^{†*}

Characters ^a	Pectin types obtained with different extraction methods ^b			
	EH	MAE1	MAE3	MAE5
SF (%)	45.45±0.1 ^d	44.38±0.24 ^c	43.69±0.17 ^b	43.11±0.15 ^a
WHC (%)	11.67±0.11 ^a	11.72±0.1 ^b	11.71±0.18 ^b	11.75±0.39 ^c
FS (%)	30.48±0.12 ^a	31.21±0.23 ^b	31.8±0.05 ^c	31.87±0.41 ^d
FC (%)	81.1±0.09 ^a	82.45±0.21 ^b	84.12±0.09 ^c	84.13±0.14 ^c
Viscosity (Pa.s)	8.54±0.09 ^a	9.34±0.31 ^b	11.57±0.2 ^c	12.39±0.33 ^d
EA (% , 4°C)	50.6±0.13 ^a	52.33±0.15 ^b	55.87±0.19 ^c	58.01±0.39 ^d
EA (% , 24°C)	49.87±0.11 ^c	50.04±0.14 ^c	51.08±0.27 ^f	52.1±0.11 ^a
ES ^a (% , 4°C)	81.7±0.12 ^a	85.54±0.2 ^b	89.88±0.31 ^c	93.05±0.21 ^d
ES ^a (% , 24°C)	79.09±0.1 ^a	83.68±0.09 ^b	88.16±0.33 ^c	92.04±0.24 ^d
S _{ADPPH} ^a	67.3±0.2 ^b	69.9±0.19 ^b	70.5±0.14 ^c	71.2±0.26 ^d
S _{ABTS} ^a	70.5±0.13 ^b	72.4±0.16 ^b	75.1±0.15 ^c	78.8±0.47 ^d

^a SF (Surface Tension), WHC (Water Holding Capacity), FS (Foam Stability), FC (Foam Capacity), EA (emulsifying activity), ES (emulsion stability), S_{ADPPH} (DPPH scavenging activity), S_{ABTS} (ABTS scavenging activity)

^b Operating conditions in an acidic medium (pH 1.5): EH (Enzymatic Hydrolysis), MAE (Microwave-Assisted) (600 W, 1,3 and 5 min)

[†] Means within each row followed with the same letters are not significantly different (P < 0.05).

* Data are means ± SD.

۳-۵ رفتار رئولوژیکی

ویسکوزیته محلول‌های پکتین در غلظت ۱٪ وزنی/حجمی نشان داد که محلول‌های پکتین استخراج شده توسط MAE ویسکوزیته بیشتری از محلول‌های به دست آمده توسط EH را دارد (p < ۰/۰۵).

شکل ۴). این جدول رفتار جریان پکتین های بدست آمده با روش های MAE (در سه زمان ۱، ۳ و ۵ دقیقه در توان ۶۰۰ وات) و EH را در غلظت ۱٪ وزنی/حجمی نشان می‌دهد. افزایش قابل توجهی در ویسکوزیته همه محلول پکتین استخراج شده با

ناهمسانگردی ساختاری ناشی از تغییر شکل برشی، ویسکوزیته با افزایش نرخ برش به تدریج با مقدار تقریباً ثابتی کاهش می‌یابد [۳۵]. نتیجه مشابهی قبلاً توسط چن و همکاران (۲۰۱۴) در رابطه با رفتار رئولوژیکی پکتین استخراجی از بامیه گزارش شده بود [۳۶]. همچنین غریب زاهدی و همکاران (۲۰۱۹) در روش‌های گوناگون استخراج پکتین از انجیر خشک متوجه شدند که حضور پیش تیمار کمکی مایکروویو می‌تواند نتایج مشابهی در افزایش ویسکوزیته پکتین حاصله بدست آورد (شکل ۴) [۱].

مایکروویو ($p < 0.05$) مشاهده شد. رفتار جریان نیوتنی در نمونه مربوط به EH مشاهده شد، در حالی که رفتار جریان شبه پلاستیک در نمونه‌های مربوط به استخراج به کمک مایکروویو غالب بود (شکل ۴). تغییر از نیوتنی به شبه پلاستیک در بیشترین زمان استخراج پکتین را می‌توان به از هم گسیختگی شبکه پلیمری زیستی تحت تنش برشی و جهت گیری جزئی زنجیره‌های پکتین در جهت جریان برشی و به دلیل تضعیف برخی از برهمکنش‌های فیزیکی ضعیف نسبت داد [۱، ۳۴]. جون و همکاران (۲۰۰۶) در تحقیق خود بر روی پکتین کدوتنبل نشان دادند که به دلیل

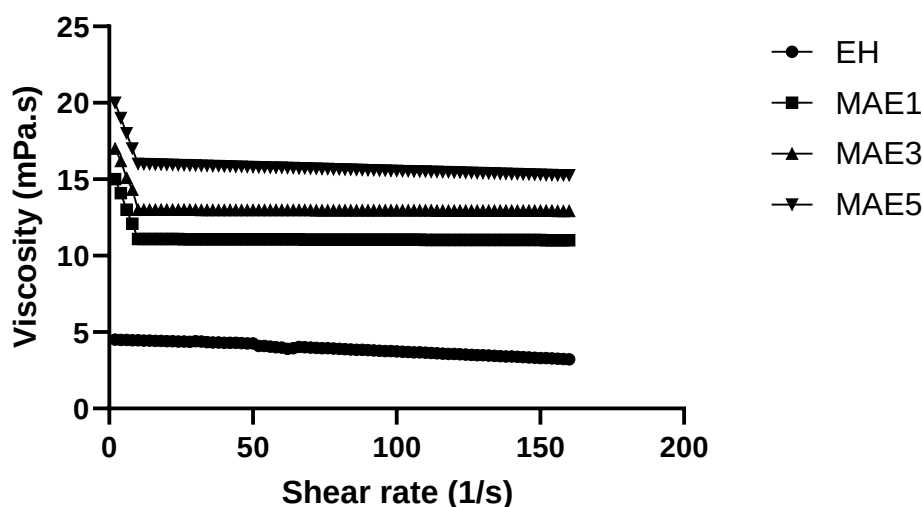


Fig. 4. The flow behavior of pectic solutions containing RSC pectins extracted by Enzymatic Hydrolysis (EH) and Microwave-Assisted Extraction (MAE) methods at different times

پکتین کنجاله کلزا استخراج شده توسط MAE می‌تواند به عنوان یک امولسیفایر و تثبیت کننده قدرتمند برای ترکیب در فرمولاسیون‌های مختلف غذایی و زیستی در نظر گرفته شود. به نظر می‌رسد که پکتین‌ها می‌توانند سیستم‌های امولسیون را با کاهش کشش سطحی قطرات روغن از طریق تشکیل دافعه‌های الکترواستاتیک روی سطوح آن‌ها تثبیت کنند [۳۷]. پکتین می‌تواند خواص امولسیون سازی را با تشکیل شبکه‌های سه بعدی قوی و بهبود ویژگی‌های رئولوژیکی فاز آبی پیوسته ارتقا دهد [۳۸].

۳-۷ فعالیت آنتی اکسیدانی

جدول ۱ و شکل ۵ فعالیت‌های مهار DPPH (شکل ۵-الف) و ABTS (شکل ۵-ب) پکتین‌های استخراج شده از کنجاله کلزا

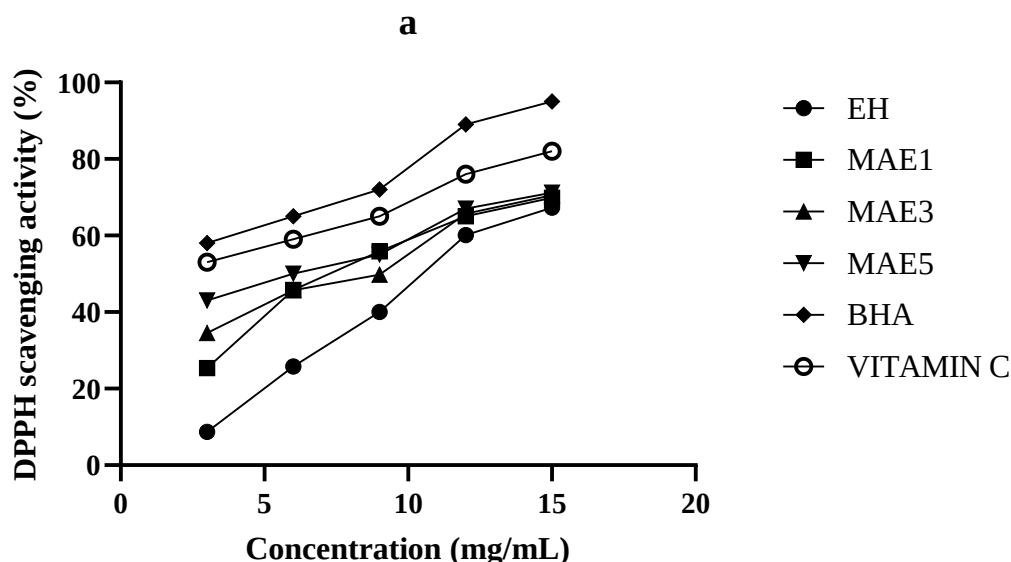
۳-۶ فعالیت امولسیون کننده و پایداری امولسیون

فعالیت امولسیون کنندگی (EA) هر سه نمونه پکتین استخراج شده توسط MAE در زمان‌های ۱، ۳ و ۵ دقیقه تحت تأثیر دمای ذخیره سازی (ST) قرار گرفتند ($p < 0.05$) با این حال، پکتین استخراجی به روش EA تمام انواع پکتین با افزایش ST از ۴ به ۲۴ درجه سلسیوس کاهش یافت جدول ۱. کاهش در ES با افزایش ST از ۴ به ۲۴ درجه سلسیوس مشاهده شد. اگرچه افزایش ST برای پکتین‌های استخراج شده MAE تأثیر قابل توجهی بر این پارامتر داشت ($p < 0.05$)، اما با افزایش ST، تغییر قابل توجهی در ES پکتین‌های استخراج شده توسط EH مشاهده نشد. پکتین استخراج شده توسط MAE به ترتیب دارای حداکثر و حداقل مقادیر EA و ES بود (جدول ۱). بنابراین،

گروه کمتر از مقادیر BHA و ویتامین C بود. SA_{DPPH} به ترتیب از $67/3\%$ تا $71/2\%$ متغیر بود (جدول ۱ و شکل ۵-الف). با این حال، در ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر عصاره پکتین، بیشترین و کمترین درصد SA_{ABTS} به ترتیب مربوط به پکتین های استخراج شده توسط MAE5 (۵ دقیقه در توان ۶۰۰ وات) ($78/8$) و EH ($70/5\%$) بود ($p < 0/05$) (جدول ۱ و شکل ۵-ب). این نتایج نشان از افزایش قدرت حذف DPPH و ABTS با افزایش زمان اعمال تابش مایکروویو تا زمان ۵ دقیقه و نیز افزایش خواص آنتی اکسیدانی پکتین در تیمار MAE5 نسبت به دیگر تیمارها بود. حضور بسیاری از گروه های هیدروکسیل و کربوکسیل در پکتین های استخراج شده می تواند نقش کلیدی به عنوان اهدا کننده الکترون و انتقال الکترون ها به رادیکال های آزاد مورد مطالعه داشته باشد. همچنین، مولکول های پکتین می توانند واکنش زنجیره ای رادیکال را با ترکیب یون های رادیکالی که برای فرآیند اکسیداسیون ضروری هستند خاتمه دهند. این نتایج به طور کلی با یافته های گزارش شده توسط غریب زاهدی و همکاران (۲۰۱۹)، مرزوقی و همکاران (۲۰۱۸) که بررسی ویژگی DPPH و ABTS پکتین حاصل از استخراج برگ سیاه شور پرپشت و جئونگ و همکاران (۲۰۱۳) مطابقت داشت [۱، ۱۲، ۳۹].

با روش های EH و MAE و ترکیبات کنترل مثبت BHA و ویتامین C را نشان می دهد. DPPH رادیکال آزاد نیتروژن محور با یک الکترون جفت نشده است که در مواجهه با رادیکال های پروتون مستعد کاهش است. محلول آن به دلیل وجود الکترون فرد به رنگ ارغوانی تیره قرار می گیرد که این موضوع منجر به جذب قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر می شود. بنابراین، تغییر رنگ محلول از بنفش به زرد پس از حذف DPPH توسط آنتی اکسیدان ها به عنوان وسیله ای برای تعیین کمیت عمل می کند. ABTS نیز یک رادیکال مصنوعی معروف نیتروژن محور است که می تواند از طریق اکسیداسیون ABTS با پرسولفات پتاسیم تولید شود. پس از واکنش بین ABTS و آنتی اکسیدان، ABTS با اهدای یک الکترون به شکل غیر رادیکال خود تبدیل می شود [۲۵].

فعالیت های آنتی اکسیدانی برای پکتین های استخراج شده به صورت وابسته به دوز ۳ تا ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر افزایش یافته است ($p < 0/05$). بر اساس داده های جدول ۱ مشاهده می شود که تفاوت معنی داری در مقادیر SA_{DPPH} ۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر از پکتین های استخراج شده توسط EH و MAE وجود ندارد ($p > 0/05$). در کل فعالیت های ضد رادیکال پکتین های هر دو



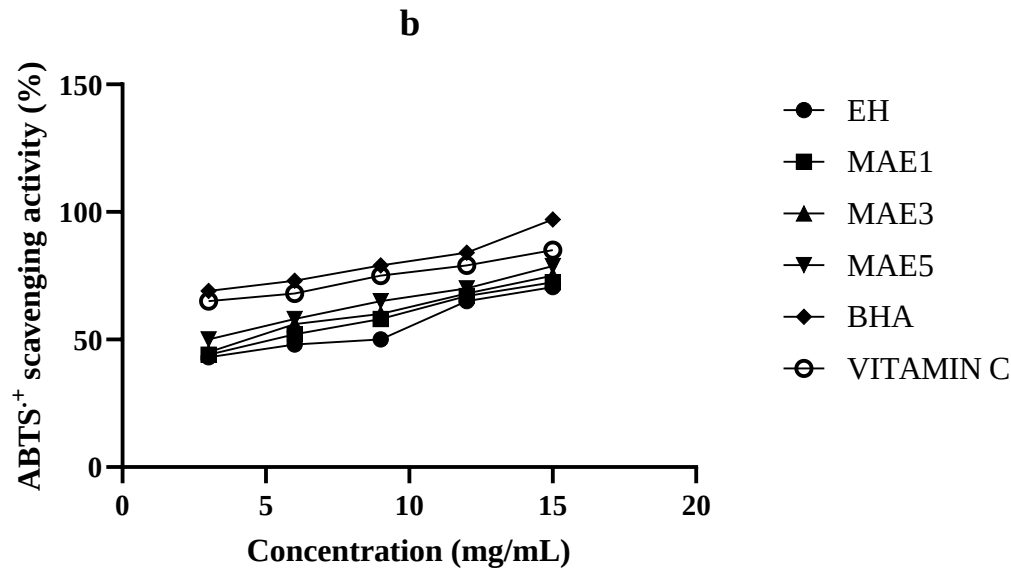


Fig. 5. DPPH[•] (a) and ABTS^{•+} (b) scavenging activities of the RSC pectins extracted by different methods at various concentrations. Vitamin C and BHA were used as positive controls

مایکروویو، درجه استریفیکاسیون کاهش و محتوای کل اسید گالاکترونیك نیز افزایش داشت. به طور کلی، تمام پکتین های استخراج شده در این مطالعه دارای DE کمتر از ۵۰ بودند. بنابراین، آنها به عنوان LMP می توانند در فرمولاسیون های پایدار بسیاری از غذاهای رژیمی کم قند استفاده شوند. این تغییرات در ویژگی هایی مانند ویسکوزیته محلول پکتین تاثیر خود را نشان داد، به طوری که با اعمال تابش پرتو و نیز افزایش زمان این تابش منجر به تغییر رفتار از نیوتونی به شبه پلاستیکی شد که در اکثر محصولات غذایی مورد هدف استفاده از پکتین مناسب تر است. EA و ES نگهداری، SA_{DPPH} و SA_{ABTS} در دماها و زمان های مختلف در تولید امولسیون های غذایی نیز ثابت شد زیرا امولسیون های O/W نتایج مناسبی را ارائه دادند.

۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق از فناوری های استخراج به روش آنزیمی (EH) و پیش تیمار کمکی توسط مایکروویو (MAE) (۶۰۰ وات، در سه زمان ۱، ۳ و ۵ دقیقه) برای استخراج پکتین از کنجاله کلزا استفاده شد. زمان تابش ۵ دقیقه و توان مایکروویو ۶۰۰ وات، استراتژی موفق برای استخراج پکتین با وزن مولکولی بالا و با بالاترین مقادیر بود. بر اساس یافته های این پژوهش، بیشترین راندمان و بازدهی استخراج پکتین از پودر کنجاله کلزا برابر با ۹/۱٪ بود که نسبت به استخراج آنزیمی افزایش یافته بود. افزایش این راندمان به عنوان یک عامل کمی، در کنار افزایش عوامل کیفی نشان از بهبود استخراج پکتین از منبع مورد نظر داشت. عملکرد این نوع پکتین DE و TGA نشان داد که با افزایش زمان تابش پرتو

ه-منابع

- [1] Gharibzahedi, S.M.T., B. Smith, and Y. Guo, *Pectin extraction from common fig skin by different methods: The physicochemical, rheological, functional, and structural evaluations*. International Journal of Biological Macromolecules, 2019. **136**: p. 275-283.
- [2] Gharibzahedi, S.M.T., B. Smith, and Y. Guo, *Ultrasound-microwave assisted extraction of pectin from fig (Ficus carica L.) skin: Optimization, characterization and bioactivity*. Carbohydrate polymers, 2019. **222**: p. 114992.
- [3] Jeong, H.-S., et al., *Effects of combination processes on the extraction of pectins from rapeseed cake (Brassica napus L.)*. Food chemistry, 2013. **139**(1-4): p. 9-15.
- [4] Inngjerdingen, K.T., et al., *Immunological and structural properties of a pectic polymer from Glinus oppositifolius*. Glycobiology, 2007. **17**(12): p. 1299-1310.
- [5] Joudaki, H., et al., *A practical optimization on salt/high-methoxyl pectin interaction to design a stable formulation for Doogh*. Carbohydrate polymers, 2013. **97**(2): p. 376-383.
- [6] Joudaki, H., et al., *Scrutinizing the different pectin types on stability of an Iranian traditional drink "Doogh"*. International journal of biological macromolecules, 2013. **60**: p. 375-382.
- [7] Madziva, H., K. Kailasapathy, and M. Phillips, *Alginate-pectin microcapsules as a potential for folic acid delivery in foods*. Journal of Microencapsulation, 2005. **22**(4): p. 343-351.
- [8] Chandel, V., et al., *Current advancements in pectin: Extraction, properties and multifunctional applications*. Foods, 2022. **11**(17): p. 2683.
- [9] Mobahi, N., *The effect of the presence of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium and Streptococcus thermophilus on physicochemical, colorimetric and rheological properties of probiotic dark chocolate*. Journal of food science and technology (Iran), 2022. **18**(119): p. ۱۳۱-۱۵.
- [10] Mobahi, N., *Study of survival of probiotic strains of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium and Streptococcus thermophilus and their effect on sensory properties of probiotic dark chocolate during storage at room temperature and refrigerated for 180 days*. Journal of food science and technology (Iran), 2022. **18**(121): p. 185-201.
- [11] McVetty, P., et al., *Grain production and consumption: Oilseeds in North America*. 2016.
- [12] Jeong, H.-S., et al., *Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (Brassica napus L.) using commercial enzymes*. Food chemistry, 2014. **157**: p. 332-338.
- [13] Kaushik, P., et al., *Preparation, characterization and functional properties of flax seed protein isolate*. Food chemistry, 2016. **197**: p. 212-220.
- [14] Forouhar, A., et al., *The effect of ultrasound pretreatment on pectin extraction from watermelon rind using microwave-assisted extraction*. Applied Sciences, 2023. **13**(9): p. 5558.
- [15] Brown, W. and M. Marques, *14 The United States Pharmacopeia/National Formulary, in Generic drug product development: solid oral dosage forms*. 2013, CRC Press Boca Raton p. p. 319.
- [16] Blumenkrantz, N. and G. Asboe-Hansen, *New method for quantitative determination of uronic acids*. Analytical biochemistry, 1973. **54**(2): p. 484-489.
- [17] Xu, M., et al., *Polysaccharides from sunflower stalk pith: Chemical, structural and functional characterization*. Food Hydrocolloids, 2020. **100**: p. 105082.
- [18] Rostami, H. and S.M.T. Gharibzahedi, *Microwave-assisted extraction of jujube polysaccharide: optimization, purification and functional characterization*. Carbohydrate polymers, 2016. **143**: p. 100-107.
- [19] Yamaguchi, T., et al., *HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of foods by using 1- α ,diphenyl-2-picrylhydrazyl*. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1998. **62**(6): p. 1201-1204.
- [20] Thambiraj, S.R., et al., *Antioxidant activities and characterisation of polysaccharides isolated from the seeds of Lupinus angustifolius*. Industrial Crops and Products, 2015. **74**: p. 950-956.
- [21] Kratchanova, M., E. Pavlova, and I. Panchev, *The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin*. Carbohydrate polymers, 2004. **56**(2): p. 181-185.
- [22] Jiang, L.N., et al., *Comparisons of microwave-assisted and conventional heating extraction of pectin from seed watermelon peel*. Advanced Materials Research, 2012. **550**: p. 1801-1806.
- [23] Wai, W.W., A.F. Alkarkhi, and A.M. Easa, *Effect of extraction conditions on yield and degree of esterification of durian rind pectin: An experimental design*. Food and Bioproducts Processing, 2010. **88**(2-3): p. 209-214.
- [24] Sundar Raj, A., et al., *A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses*. 1: 550 doi: 10.4172/scientificreports. 550 Page 2 of 4 Volume 1• Issue 12• 2012 in a chain-like configuration; this corresponds to average molecular weights from about 50,000 to 150,000 daltons. Large differences may exist between samples and between molecules within a sample and estimates may differ between methods of measurement, 2012.

- [25] Fraeye, I., et al., *Influence of intrinsic and extrinsic factors on rheology of pectin-calcium gels*. Food Hydrocolloids, 2009. **23**(8): p. 2069-2077.
- [26] Lara-Espinoza, C., et al., *Pectin and pectin-based composite materials: Beyond food texture*. Molecules, 2018. **23**(4): p. 942.
- [27] Iglesias, M.T. and J.E. Lozano, *Extraction and characterization of sunflower pectin*. Journal of food engineering, 2004. **62** : (۳) p. 215-223.
- [28] Willats, W.G., J.P. Knox, and J.D. Mikkelsen, *Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel*. Trends in food science & technology, 2006. **17**(3): p. 97-104.
- [29] Garna, H., et al., *New method for a two-step hydrolysis and chromatographic analysis of pectin neutral sugar chains*. Journal of agricultural and food chemistry, 2004. **52**(15): p. 4652-4659.
- [30] Liew, S.Q., et al., *Sequential ultrasound-microwave assisted acid extraction (UMAE) of pectin from pomelo peels*. International journal of biological macromolecules, 2016. **93**: p. 426-435.
- [31] Mitura, S., A. Sionkowska, and A. Jaiswal, *Biopolymers for hydrogels in cosmetics*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2020. **31**: p. 1-14.
- [32] Schmidt, U., et al., *Effect of molecular weight reduction, acetylation and esterification on the emulsification properties of citrus pectin*. Food biophysics, 2015. **10**: p. 217-227.
- [33] Sánchez, C.C. and J.M.R. Patino, *Interfacial, foaming and emulsifying characteristics of sodium caseinate as influenced by protein concentration in solution*. Food hydrocolloids, 2005. **19**(3): p. 407-416.
- [34] McClements, D.J., *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2004: CRC press.
- [35] Jun, H.-I., et al., *Characterization of the pectic polysaccharides from pumpkin peel*. LWT-Food Science and Technology, 2006. **39**(5): p. 554-561.
- [36] Chen, Y., et al., *Pectin from Abelmoschus esculentus: Optimization of extraction and rheological properties*. International journal of biological macromolecules, 2014 :۷۰ .p. 498-505.
- [37] Gharibzahedi, S.M.T. and S. Mohammadnabi, *Effect of novel bioactive edible coatings based on jujube gum and nettle oil-loaded nanoemulsions on the shelf-life of Beluga sturgeon fillets*. International journal of biological macromolecules, 2017. **95**: p. 769-777.
- [38] Gharibzahedi, S.M.T., S.H. Razavi, and S.M. Mousavi, *Comparison of antioxidant and free radical scavenging activities of biocolorant synthesized by Dietzia natronolimnaea HS-1 cells grown in batch, fed-batch and continuous cultures*. Industrial crops and products, 2013. **49**: p. 10-16.
- [39] Mzoughi, Z., et al., *Optimized extraction of pectin-like polysaccharide from Suaeda fruticosa leaves: Characterization, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic activities*. Carbohydrate polymers, 2018. **185**: p. 127-137.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the characteristics of pectin extracted from rapeseed meal in enzymatic hydrolysis method using Microwave-Assisted Extraction

Nima Mobahi*, Seyed Seyed Hadi Razavi, Zahra Emam-Djomeh

- 1- Nima Mobahi, (Ph.D.) student in Food science and technology, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.
- 2- Seyed Seyed Hadi Razavi, Ph.D., Professor, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.
- 3- Zahra Emam-Djomeh, Ph.D., Professor, Bioprocess Engineering Laboratory (BPEL), Department of Food Science, Technology and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, 31587-11167 Karaj, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/6/12 Accepted:2024/11/10	Pectin as a hydrocolloid located in the cell wall of plants can be a secondary product in food industry processing. Canola after de-oiling has high amounts of pectin. To extract pectin from rapeseed meal, the comparison method of enzymatic hydrolysis extraction was used with and without the presence of microwaves (with power of 600 W at four times zero, 1, 3, and 5 minutes). The effect of microwave irradiation time on extraction performance and physicochemical and mechanical characteristics of extracted pectin was investigated. Physical, mechanical, and chemical characteristics showed that the presence of the microwave process improved the functional properties of the extracted pectin and facilitated the extraction process ($p < 0.5$). The highest yield of pectin extraction was 9.1% (W/W) in 5 minutes of radiation with 600 W power in the microwave-assisted process with 600 W power. This auxiliary process affected the degree of esterification and galacturonic acid content of pectin so that it can form a gel in the presence of low sugar amounts and is suitable in diet products. The content of galacturonic acid in all samples was higher than 60%, which indicates a high gel formation capacity. Pectin extracted during 5 minutes of microwave irradiation with 600 W power presented the best characteristics with the maximum content of galacturonic acid (76.51%), the highest emulsifying activity (58.01%), and emulsion stability (95.03%). The presence of the microwave-assisted process reduced the surface tension values of the pectin aqueous solution (43.11% in 5 minutes of irradiation) and affected and improved the foaming capacity of pectin (the highest value in 5 minutes of irradiation was 84.13%). Irradiation during microwave time caused significant changes in pectin properties, such as intrinsic viscosity, mean viscosity, and water holding capacity, to form a higher-quality gel.
Keywords: Rapeseed meal, Pectin, Enzymatic Hydrolysis (EH), microwave-assisted extraction (MAE), Extraction yield, Emulsifying activity	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.251.	
*Corresponding Author E-mail: n.mobahi@ut.ac.ir	



بررسی خواص فیزیکوشیمیایی، بافتی و ارگانولپتیکی ژله سیب سین بیوتیک حاوی اینولین بر پایه کاراگینان

اکرم پیمان نیا^۱، علیرضا شهاب لواسانی^{۲*}، نازنین زند^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین -پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین -پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

۳- استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد ورامین -پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

در این مطالعه تولید ژله سیب سین بیوتیک حاوی اینولین (۰ تا ۳ درصد) و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (10^{11} cfu/ml) مورد مطالعه قرار گرفت و آزمونهای pH، بریکس، سینرسیس، کدورت، زنده مانی، خصوصیات بافتی و ارزیابی حسی بر روی نمونه‌ها صورت پذیرفت. این ارزیابی‌ها در دوره نگهداری ۳۰ روزه انجام شد. نتایج نشان داد، با افزایش مقدار اینولین، مقادیر pH، بریکس و کدورت نمونه‌ها افزایش یافت. سینرسیس نمونه‌های ژله سیب نیز با افزایش مقدار اینولین کاهش یافت. افزودن باکتری پروبیوتیک به ژله سیب باعث افزایش آب اندازی نمونه‌ها گردید. با افزایش زمان pH نمونه‌های ژله سیب از ۴/۰۷ تا ۳/۹۸ کاهش یافت. کدورت نمونه‌ها نیز در طی دوره نگهداری به صورت معنی داری افزایش یافت. بیشترین تغییرات در دوره نگهداری ۳۰ روزه به آزمایشات سینرسیس مربوط بود که با افزایش زمان نگهداری، سینرسیس نمونه‌ها افزایش یافت. نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک از بافت نرم‌تری نسبت به نمونه شاهد برخوردار بودند. نمونه ژله سیب سین بیوتیک قابلیت جویدن بهتری نسبت به نمونه شاهد داشت. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس قابلیت زنده مانی بالاتری در نمونه حاوی اینولین دارا بود که با افزایش زمان قابلیت زنده مانی آن کاهش یافت.

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۳

کلمات کلیدی:

ژله سیب،

ژله سین بیوتیک،

لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس،

اینولین

DOI:10.22034/FSCT.22.159.267.

* مسئول مکاتبات:

shahabam20@yahoo.com

۱- مقدمه

مصرف فرآورده‌های شیرین، به شکل‌های مختلف یکی از عادات تغذیه‌ای روزمره در سراسر جهان به شمار می‌رود. مصرف فرآورده‌های شیرین در طول تاریخ متجاوز از سه هزار سال، سیری صعودی و تنوع پذیر داشته و از مصرف انواع میوه‌های شیرین و ترشحات گیاهی و عسل آغاز شده و به انواع شیرین‌کننده‌های سنتزی گسترش یافته است. میان وعده آماده که به دلیل بافت، طعم و شکل مطلوب از جذابترین محصولات مورد توجه کودکان است، اغلب دارای مواد مغذی کم و رنگهای با منشأ غیر طبیعی است که در دراز مدت منجر به سوء تغذیه و تهدید سلامت این قشر از جمعیت در حال رشد خواهد [۱]. در طی سالیان اخیر محققان بسیاری مواد غذایی حاوی میکرواورگانیزم‌های پروبیوتیک فراوری و تولید نموده‌اند. در این میان، ژله یکی از انواع مواد غذایی است که به عنوان دسر، طرفداران زیادی خصوصاً در بین کودکان دارد. با توجه به پرفرمدار بودن این محصول، بالاتر بردن ارزش غذایی آن می‌تواند حائز اهمیت باشد. ژله انواع مختلفی مانند ژله‌های آماده به مصرف، ژله دسر، ژله قنادی و ژله نوشیدنی دارد. ژله آماده به مصرف، فرآورده‌ای است که از مخلوط کردن مواد ژله‌کننده مانند کاراگینان، ژلاتین، پکتین، آگار و... به همراه شکر و یا سایر شیرین‌کننده‌ها، حجم دهنده‌های مجاز خوراکی، رنگ، اسانس مجاز خوراکی و یا پودر عصاره طبیعی میوه‌ها، اسیدهای مجاز خوراکی و سایر مواد متشکله فرعی (همچون پودر تخم مرغ، پودر کاکائو، زعفران و...) پس از فراوری تهیه می‌شود [۲]. ژله میوه یکی از انواع دسر و از میان وعده‌های مناسب است که در کشورهای مختلف انواع آن مورد تحقیق قرار گرفته است. در این محصولات از ترکیباتی مانند ژلاتین، نشاسته اصلاح شده، پکتین، کاراگینان و ... برای رسیدن به بافت مطلوب استفاده شده است. این فرآورده‌ها به آسانی قابل خوردن هستند، زمان ماندگاری بالایی دارند، ظاهر مناسب و بازار پسندی دارند، احساس دهانی خوبی دارند و از نظر سلامتی نیز مفید هستند. ژله طبق تعریف استاندارد فرآورده‌ای است که از مخلوط کردن مواد ژله‌کننده

مانند ژلاتین، پکتین، آگار، نشاسته، شکر، رنگ، اسانس‌های مجاز خوراکی یا عصاره‌های طبیعی میوه‌ها، اسیدهای مجاز خوراکی و سایر مواد متشکله فرعی، پس از فراوری تهیه می‌شود. اینولین ترکیبی قندی (از نوع الیگوساکارید) و غیر قابل هضم یا با قابلیت هضم اندک می‌باشد که در بیش از ۳۰۰۰۰ گونه گیاهی یافت می‌شود. ریشه کاسنی در کشورهای بلژیک، هلند و فرانسه تولید، فراوری و صادر می‌گردد [۳]. علاوه بر آن اینولین ترکیبی با قابلیت انحلال در آب بوده که در دمای ۹۰ درجه سانتی گراد، می‌تواند تا ۳۵ درصد در آب حل شود [۴]. یکی از بهترین جایگزین‌های چربی بر پایه کربوهیدرات‌ها می‌باشد. اینولین یک فیبر رژیمی قابل حل در آب می‌باشد که شامل مخلوطی از الیگومرها و پلیمرهای فروکتوز با اتصالات β ۲→۱ تشکیل شده است. اینولین پس از رسیدن به محیط روده به عنوان منبع کربن یا انرژی به طور انتخابی سبب رشد و یا فعالیت پروبیوتیک‌ها (باکتری‌های مفید روده‌ای مانند لاکتوباسیلوس‌ها و بیفیدوباکتریوم‌ها) می‌شود [۵]. از تحقیقات انجام شده می‌توان به تولید دسرهای ژلی پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و نیز تحقیق انجام شده توسط رجب پور و همکاران (۱۳۹۹) در خصوص امکان تولید و ارزیابی ویژگی‌های کیفی ژله پروبیوتیک و سین بیوتیک دارای باسیلوس کوآگولانس اشاره داشت [۶ و ۷]. مطالعات بسیاری در استفاده از لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به عنوان یک پروبیوتیک صورت گرفته اما از این میکرواورگانیزم در حضور پری بیوتیک اینولین در ژله‌ها تا کنون استفاده‌ای نشده است. از این رو هدف از انجام این مطالعه تولید ژله سین بیوتیک حاوی اینولین و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آن در طی دوره نگهداری می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تولید نمونه‌های ژله

به منظور تهیه نمونه‌های ژله ابتدا شکر (۱۶ تا ۱۸ درصد)، کاراگینان (۰/۶ تا ۰/۸ درصد)، سدیم سیترات (۰/۲ درصد)،

که در آن W_0 وزن اولیه و W_t وزن نهایی نمونه در زمان مورد نظر می‌باشد.

۲-۲-۳- اندازه گیری میزان کدورت نمونه‌ها

کدورت نمونه‌های ژله توسط دستگاه کدورت سنج (Aqua Lytic, Model: AL450T) اندازه‌گیری شد [۶].

۲-۲-۴- اندازه گیری بریکس

بریکس نمونه‌ها نیز توسط دستگاه رفرکتومتر اندازه‌گیری گردید [۷].

۲-۲-۵- تعیین فعالیت زنده مانی گونه پروبیوتیک:

برای شمارش باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس پس از تهیه رقت از نمونه‌ها، در محیط کشت MRS آگار کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری و سپس شمارش شد [۹]. کشت میکروبی و بررسی قابلیت زیستی باکتری پروبیوتیک، با نمونه برداری از نمونه‌های ژله تهیه شده، به صورت هفتگی در دو تکرار انجام گرفت.

۲-۲-۶- ارزیابی خصوصیات بافتی نمونه‌های ژل

بافت نمونه‌های ژل توسط دستگاه بافت سنج (Stable Micro system, Model: TA XT-Plus) و به وسیله آزمون TPA مورد بررسی قرار گرفت. در این آزمون خواص بافتی نمونه‌ها از جمله سختی، چسبندگی، قابلیت جویدن و فنریته اندازه‌گیری شد. برای این منظور از پروب استوانه‌ای با قطر ۷۵ میلی‌متر، سرعت حرکت ۱ میلی‌متر بر ثانیه و درصد فشردگی ۷۰ درصد استفاده شد [۷].

۲-۲-۷- ارزیابی حسی و ارگانولپتیک نمونه‌ها

این آزمون به روش هدونیک پنج نقطه‌ای (امتیازی) توسط پانزده نفر از ارزیابان حسی انجام شد. به هر یک از ارزیابان نمونه‌های با کد متفاوت داده شد و فاکتورهای مزه، بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی در مورد نمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت [۷].

اسید سیتریک (۲٪ درصد) و اسانس و رنگدانه طبیعی با یکدیگر مخلوط شدند. مخلوط بدست آمده به مدت ۲۰ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. pH نهایی محصول نیز توسط سیتریک اسید در محدوده ۴-۳ تنظیم گردید. در نهایت نمونه‌ها به صورت داغ درون ظرف‌های استریل شده پر و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

نمونه‌های ژله در سه گروه تهیه شدند:

۱- نمونه فاقد ماده پری بیوتیک و گونه پروبیوتیک (نمونه شاهد).

۲- نمونه دارای گونه پروبیوتیک (با غلظت CFU/g 10^{11}).

۳- نمونه سین بیوتیک که حاوی اینولین و باسیلوس اسیدوفیلوس بود (به میزان ۱، ۲ و ۳ درصد وزنی/وزنی).

۲-۲-۲- آزمایشات فیزیکو شیمیایی و میکروبی

۲-۲-۱- اندازه گیری pH

pH نمونه‌های تولید شده با استفاده از دستگاه pH متر (Metrohm 827 pH lab) در طی روزهای نگهداری اندازه‌گیری شد [۶].

۲-۲-۲- اندازه گیری میزان سینرسیس نمونه‌های ژله

برای اندازه‌گیری میزان سینرسیس، نمونه‌های ژل به ابعاد ۳۰ در ۸۰ میلی‌متر برش داده شد و در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد، درون پایت‌های شیشه‌ای، در طی دوره نگهداری، سردخانه‌گذاری گردید. در طی این مدت آب خارج شده از نمونه‌ها توسط دستمال جاذب رطوبت حذف و اختلاف وزن اولیه و نهایی نمونه و با استفاده از فرمول زیر به عنوان سینرسیس آن گزارش شد [۸].

$$\text{Syneresis\%} = \frac{(w_0 - w_t)}{w_t} \times 100$$

۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری

با توجه به آنالیز واریانس صورت گرفته بر روی مقادیر pH نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک، مشخص گردید که تغییرات اعمال شده، باعث ایجاد تغییرات معنی دار در مقادیر pH نمونه‌ها گردید ($p < 0.05$). بدین صورت که با تغییر مقدار درصد اینولین، باکتری پروبیوتیک و زمان نگهداری ژله سیب، مقدار pH نمونه‌ها به صورت معنی داری تغییر نمود.

اطلاعات جمع آوری شده به صورت طرح کامل تصادفی در ۳ تکرار با استفاده از نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم گردید.

۳- نتایج

۳-۱- بررسی تغییرات pH نمونه‌های ژل

Table 3-1-Analysis Variance of pH values of Samples of synbiotic apple jelly

Dependent Variable:pH						
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
Corrected Model	.425 ^a	23	.018	328.377	.000	
Intercept	1168.620	1	1168.620	2.078E7	.000	
Inulin	.316	3	.105	1.874E3	.000	
Probiotic	.010	1	.010	174.222	.000	
StorageTime	.094	2	.047	833.167	.000	
Inulin * Probiotic	.003	3	.001	15.556	.000	
Inulin * StorageTime	.001	6	.000	3.537	.006	
Probiotic * StorageTime	.001	2	.000	5.056	.010	
Inulin * Probiotic * StorageTime	.001	6	.000	1.944	.093	
Error	.003	48	5.625E-5			
Total	1169.047	72				
Corrected Total	.428	71				

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .991)

اینولین در نمونه‌های ژله سین بیوتیک، مقدار pH نمونه‌ها نیز افزایش معنی داری داشت ($p < 0.05$).

تغییرات مقدار pH نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک در برابر تغییرات مقادیر درصد اینولین در شکل ۳-۱، نشان داده شده است. در این شکل می‌توان مشاهده نمود با افزایش درصد

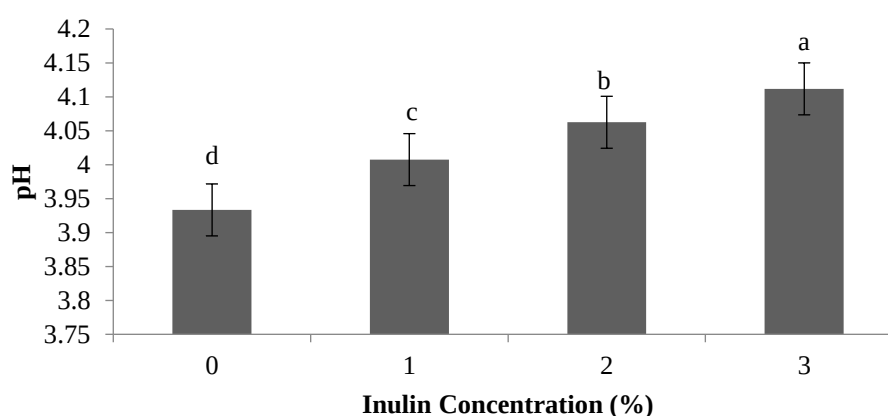


Fig. 3-1. Changes in the pH value of gel samples with changes in the percentage of inulin

با افزودن باکتری پروبیوتیک به نمونه‌های ژله، افت مقدار pH به اندازه ۰/۳ واحد بود.

تغییرات pH نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک در برابر مقدار باکتری پروبیوتیک در شکل ۳-۲، نشان داده شده است. نتایج حاکی از آن بود که با افزودن مقدار 10^8 CFU/ml باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نمونه‌های ژله سیب، pH نمونه‌ها تغییرات معنی داری نداشت ($p>0.05$). هر چند که

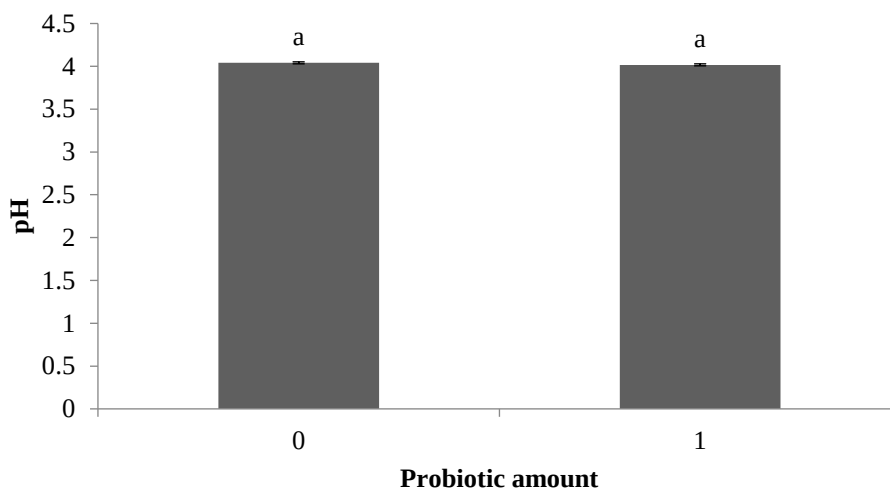


Fig.3-2. The viability of *Lactobacillus acidophilus* with pH changes

pH قرار گرفتند. با توجه به شکل ۳-۳، می‌توان بیان نمود که با افزایش زمان نگهداری، مقدار pH نمونه‌های سیب نیز کاهش معنی داری داشت ($p<0.05$).

نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک تولید شده حاوی ماده پری بیوتیک اینولین و باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، در طی دوره نگهداری ۳۰ روزه مورد ارزیابی

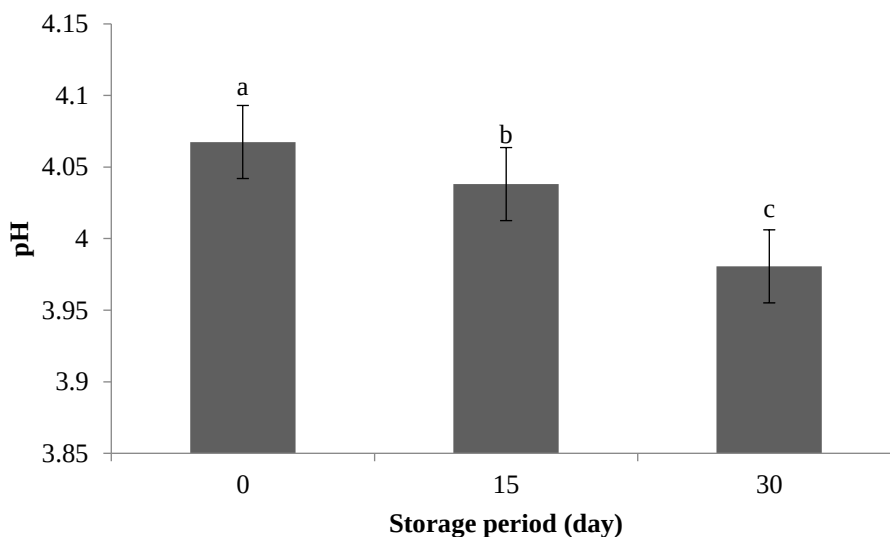


Fig. 3-3. Changes in the pH value of gel samples during the storage period

آنالیز آماری صورت گرفته بر روی داده‌های بریکس نمونه‌ای ژله سین بیوتیک حاکی از آن بود که اعمال متغیرهای زمان

۲-۳- بررسی تغییرات بریکس نمونه‌های ژله

ماندگاری، تغییر درصد اینولین و افزودن سویه پروبیوتیک به نمونه‌های ژله سیب، باعث ایجاد تغییرات معنی دار $p < 0.05$ در مقادیر بریکس نمونه‌ها شده است که این تغییرات در سطح احتمال ۹۵ درصد مورد بررسی قرار گرفته است (جدول ۳-۲).

Table 3-2. Analysis Variance of Brix values of synbiotic apple jelly samples

Dependent Variable: Brix					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	493.991 ^a	23	21.478	1.093E5	.000
Intercept	43000.054	1	43000.054	2.189E8	.000
Inulin	395.557	3	131.852	6.711E5	.000
Probiotic	33.397	1	33.397	1.700E5	.000
StorageTime	32.344	2	16.172	8.231E4	.000
Inulin * Probiotic	.125	3	.042	211.936	.000
Inulin * StorageTime	.005	6	.001	4.110	.002
Probiotic * StorageTime	32.562	2	16.281	8.287E4	.000
Inulin * Probiotic * StorageTime	.002	6	.000	1.785	.122
Error	.009	48	.000		
Total	43494.055	72			
Corrected Total	494.001	71			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

تغییرات بریکس نمونه‌ای ژله سیب سین بیوتیک در برابر تغییرات درصد اینولین در شکل ۳-۴، نمایش داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود با افزایش مقدار اینولین، بریکس نمونه‌ها نیز افزایش یافته است که این افزایش در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۳-۴).

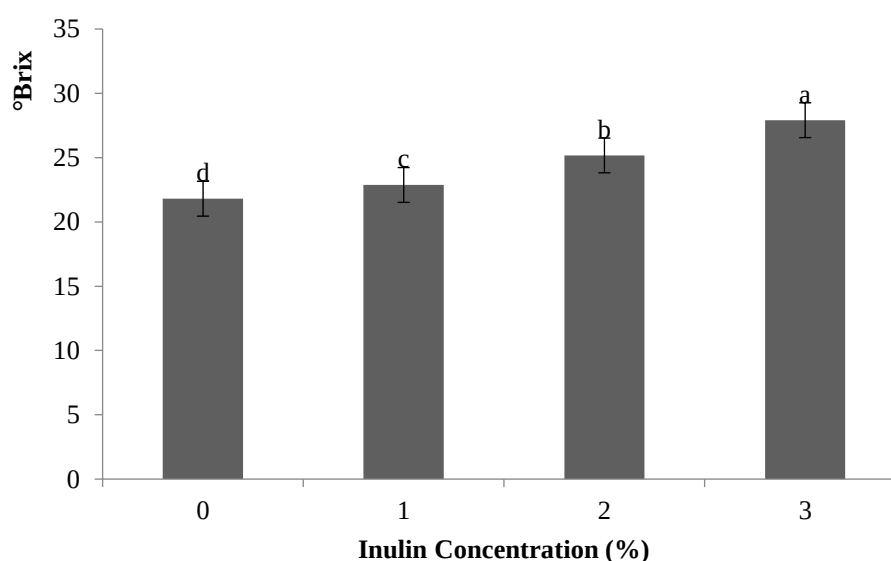


Fig.3-4. Changes in Brix value of gel samples with changes in inulin percentage

باعث کاهش بریکس آن‌ها شده است. کاهش بریکس نمونه‌های ژله سیب با افزودن سویه پروبیوتیک در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار بود ($p < 0.05$) (شکل ۳-۵). با توجه به شکل ۳-۵ و آنالیز آماری صورت گرفته می‌توان بیان نمود که افزودن سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به مقدار 10^{11} cfu/ml به نمونه‌های ژله سیب،

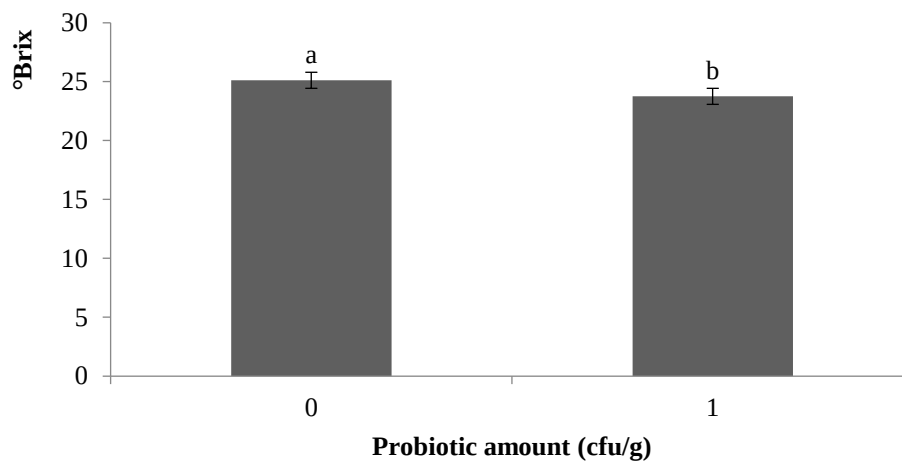


Fig. 3-5. Interaction between Brix value of gel samples and Lactobacillus acidophilus bacteria

نگهداری از روز صفر تا روز ۱۵ و پس از آن از روز ۱۵ تا روز ۳۰، بریکس نمونه‌های ژله سیب همواره کاهش یافت. این کاهش به صورت معنی داری اتفاق افتاد و کمترین آن در روز ۳۰ ام از تولید محصول مشاهده گردید ($p < 0.05$).

تغییرات بریکس نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک در طی دوره نگهداری ۳۰ روزه مورد بررسی قرار گرفت. همانطور که در شکل (۳-۶) نشان داده شده است، با افزایش زمان

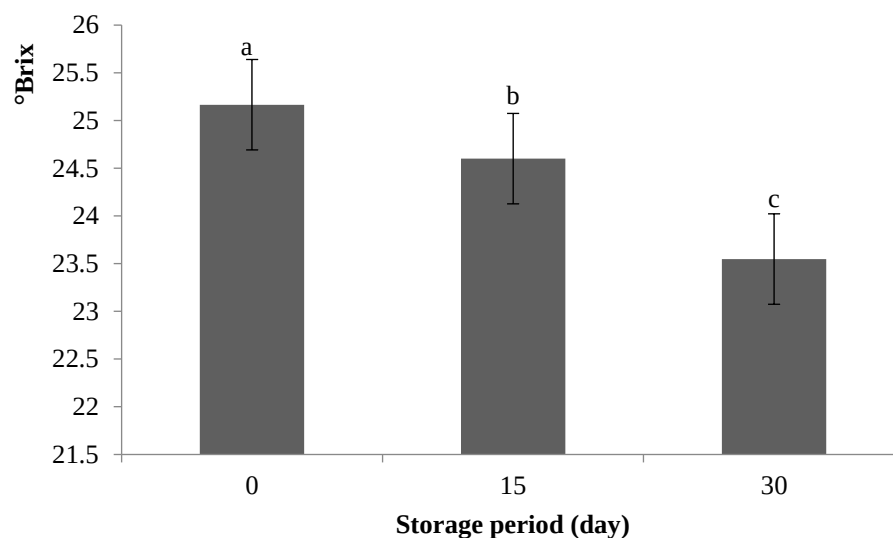


Fig.3-6. Changes in Brix value of gel samples during the storage period

منجر به تغییرات معنی داری در نتایج کدورت نمونه‌های ژله سین بیوتیک شده است ($p < 0.05$).

۳-۳- بررسی تغییرات کدورت نمونه‌های ژله

جدول آنالیز واریانس نتایج کدورت نمونه‌های ژله سین بیوتیک حاوی اینولین و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در جدول ۳-۳، ارائه شده است. در جدول ۳-۳، تاثیر زمان ماندگاری نمونه‌های ژله به همراه اثرات متقابل دوگانه و سه گانه تمامی پارامترهای مورد مطالعه ارائه شده است. نتایج آنالیز واریانس حاکی از آن است که پارامترهای مورد مطالعه

Table 3-3. Analysis Variance of Turbidity values of synbiotic apple jelly samples

Dependent Variable: Turbidity					
Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4001.704 ^a	23	173.987	1.711E5	.000
Intercept	13162.531	1	13162.531	1.295E7	.000
Inulin	3863.079	3	1287.693	1.267E6	.000
Probiotic	.146	1	.146	143.410	.000
StorageTime	138.384	2	69.192	6.806E4	.000
Inulin * Probiotic	.084	3	.028	27.451	.000
Inulin * StorageTime	.002	6	.000	.276	.946
Probiotic * StorageTime	.003	2	.001	1.392	.258
Inulin * Probiotic * StorageTime	.007	6	.001	1.192	.327
Error	.049	48	.001		
Total	17164.284	72			
Corrected Total	4001.753	71			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

نمود. با توجه به شکل ۹، با افزایش مقدار اینولین، کدورت نمونه‌ها نیز به صورت معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$).

در شکل ۳-۷، تغییرات مقدار کدورت در برابر تغییرات درصد اینولین نشان داده شده است. مقادیر کدورت از حداقل ۵/۵۴ NTU که به نمونه شاهد مربوط بود تا حداکثر ۲۵/۱۴ NTU که به نمونه حاوی ۳ درصد اینولین مربوط بود تغییر

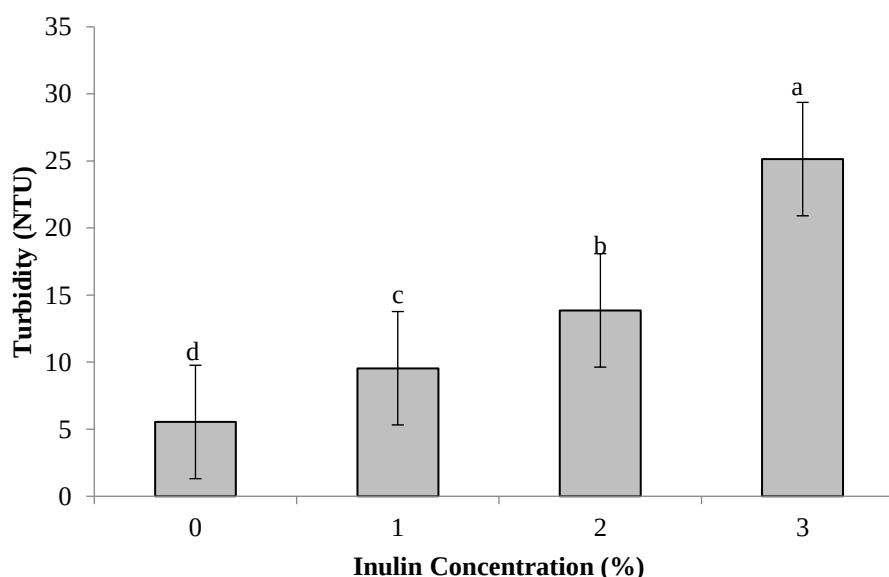


Fig.3-7. Changes in Turbidity value of gel samples with different percentage of Inulin

نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک نداشته است ($p > 0.05$).

هر چند که با افزودن باکتری پروبیوتیک، کدورت نمونه‌های ژله به صورت جزئی افزایش یافت.

با توجه به شکل ۳-۸، افزودن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، تغییرات معنی داری در مقدار کدورت

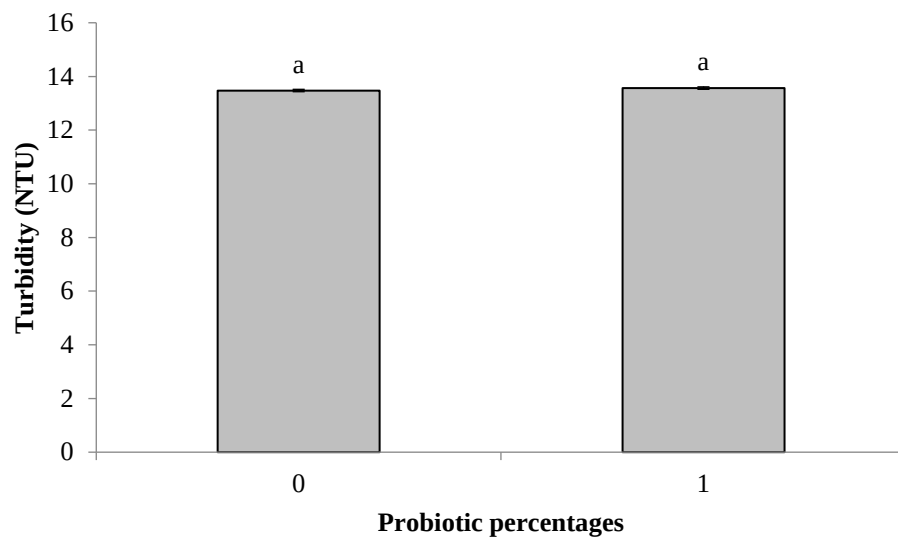


Fig.3-8. Changes in Turbidity value of gel samples with different percentage of probiotic

افزایش یافت. با این توضیح که افزایش کدورت در طی پانزده روز اول معنی دار نبود ($p>0.05$) اما با گذشت زمان تا سی روز، شاهد افزایش معنی دار مقادیر کدورت بودیم ($p<0.05$) (شکل ۳-۹).

در طی دوره نگهداری ۳۰ روزه و در فواصل زمانی ۱۵ روزه، کدورت نمونه‌های ژله سیب سبز بیوتیک مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش زمان ماندگاری ژله از زمان صفر تا روز سی‌ام، کدورت نمونه‌های ژله همواره

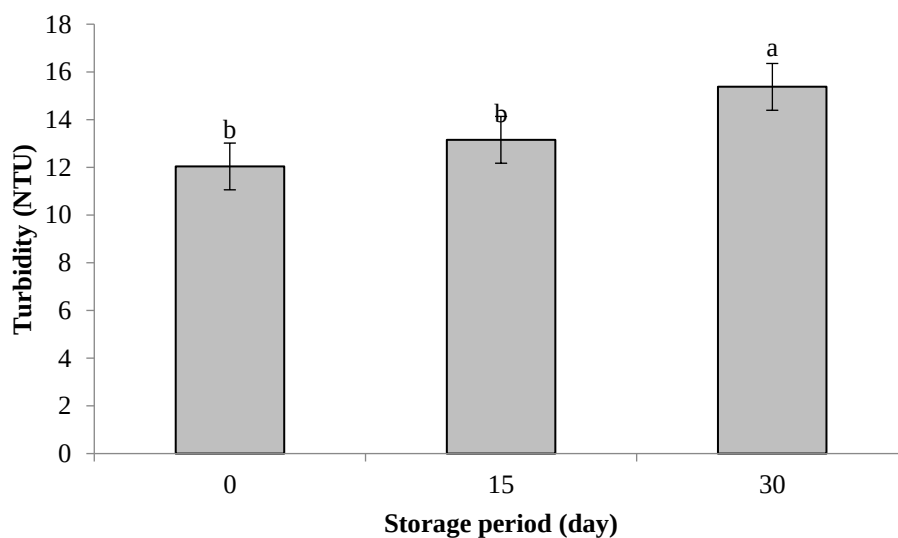


Fig. 3-9. Changes in turbidity value of gel samples during the storage period

۳-۴- بررسی تغییرات سینرسیس نمونه‌های ژل

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس ارائه شد است. نتایج حاکی از آن است که افزودن اینولین و باکتری پروبیوتیک به نمونه‌های ژله سیب، باعث تغییرات معنی دار در مقدار سینرسیس نمونه‌های ژله شد ($p < 0.05$) (جدول ۳-۴).

در جدول ۳-۴، آنالیز واریانس مقادیر سینرسیس نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک حاوی اینولین و باکتری

Table 3-4. Variance analysis table of syneresis values of synbiotic apple jelly samples

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1016.454 ^a	23	44.194	3.924E3	.000
Intercept	1785.315	1	1785.315	1.585E5	.000
Inulin	24.418	3	8.139	722.757	.000
Probiotic	.050	1	.050	4.399	.041
StorageTime	980.178	2	490.089	4.352E4	.000
Inulin * Probiotic	.003	3	.001	.090	.965
Inulin * StorageTime	11.696	6	1.949	173.104	.000
Probiotic * StorageTime	.076	2	.038	3.368	.043
Inulin * Probiotic * StorageTime	.033	6	.005	.488	.814
Error	.541	48	.011		
Total	2802.309	72			
Corrected Total	1016.994	71			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

($p < 0.05$). بیشترین مقدار سینرسیس به نمونه شاهد که فاقد اینولین بود مربوط بود و کمترین مقدار سینرسیس در نمونه حاوی ۳ درصد اینولین مشاهده شد (شکل ۳-۱۰).

سینرسیس نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک با افزودن اینولین از صفر تا ۳ درصد مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به شکل ۳-۱۰ می‌توان بیان نمود که با افزایش درصد انولین، سینرسیس نمونه‌های ژله به صورت معنی داری کاهش یافت

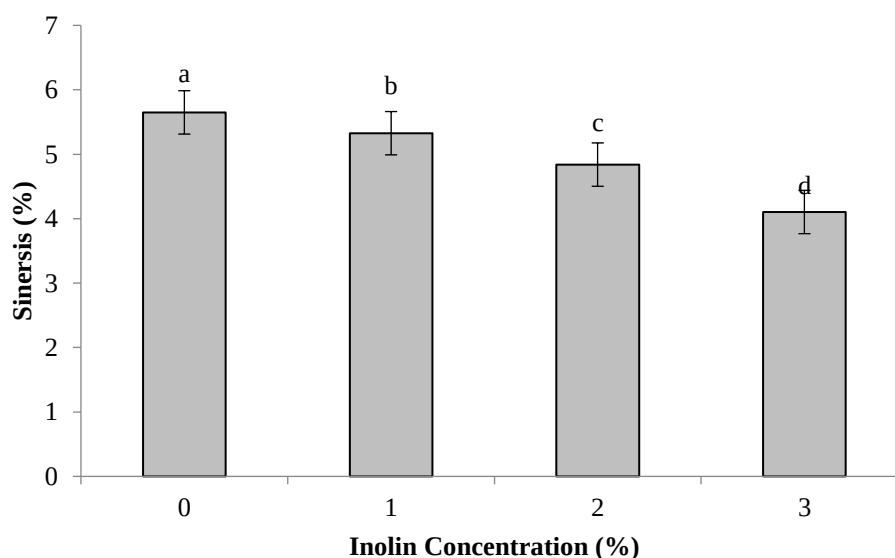


Fig. 3-10. Changes in the amount of syneresis of gel samples against changes in the percentage of inulin

اسیدوفیلوس به چه صورتی تغییر نموده است. با توجه به نتایج، افزودن باکتری پروبیوتیک منجر به افزایش معنی دار سینرسیس نمونه‌ها گردید ($p < 0.05$).

شکل ۳-۱۱، نشان می‌دهد که سینرسیس نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک در حضور و عدم حضور باکتری لاکتوباسیلوس

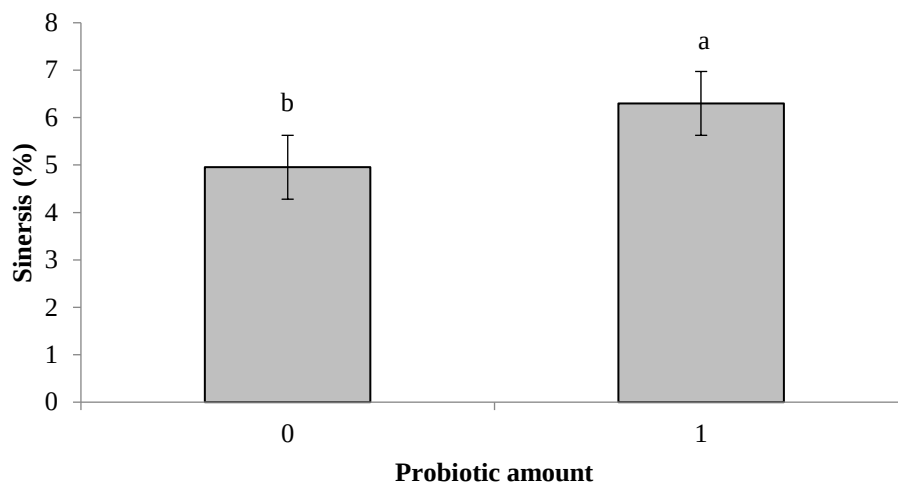


Fig. 3-11. Changes in syneresis value of gel samples against *Lactobacillus acidophilus* bacteria

صفر و چند ساعت پس از تولید و قالب گیری نمونه‌ها مشاهده شد. با افزایش زمان ماندگاری، سینرسیس افزایش یافت به گونه‌ای که بیشترین مقدار سینرسیس به نمونه نگهداری شده پس از سی روز مربوط بود (شکل ۳-۱۲).

سینرسیس نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک در لحظه تولید، ۱۵ روز پس از آن و در سی ام پس از تولید اندازه‌گیری و مورد بررسی قرار گرفت. کمترین مقدار سینرسیس در روز

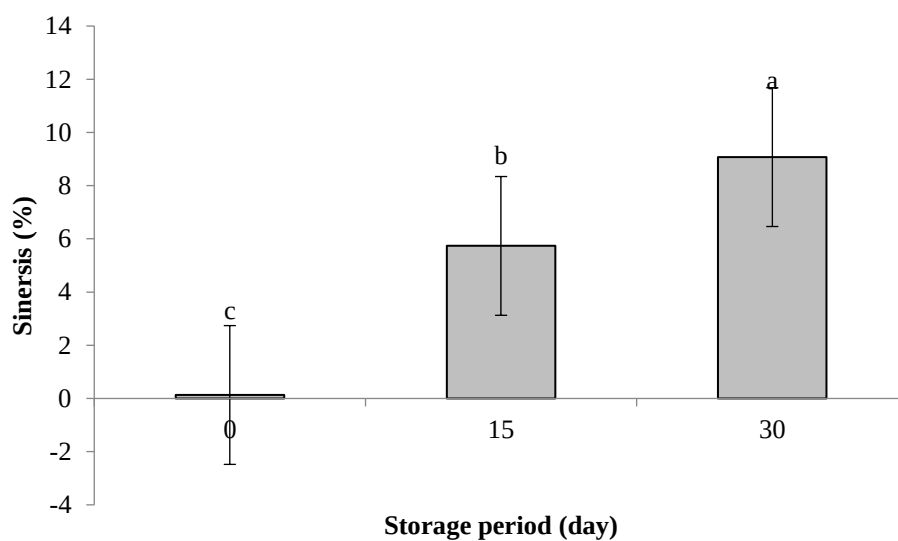


Fig.3-12. Changes in syneresis value of gel samples during the storage period

سینرسیس مورد بررسی قرار گرفت و در نهایت تیمار حاوی ۳ درصد اینولین که حاوی مقدار 10^8 cfu/ml باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس بود به عنوان نمونه بهینه انتخاب گردید و به همراه نمونه شاهد که فاقد اینولین و باکتری پروبیوتیک بود، جهت انجام آزمون‌های تکمیلی شامل بافت

۳-۵- تعیین شرایط بهینه تولید ژله سیب سین بیوتیک

نتایج حاصل از آزمون‌های فیزیکوشیمیایی انجام شده بر روی ژله سیب سین بیوتیک، به منظور تعیین بهترین تیمار با حداقل pH، حداکثر بریکس، حداقل کدورت و حداکثر

لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کاهش یافته است. همچنین می‌توان بیان نمود که نمونه ژله سیب سین بیوتیک که حاوی الیگوساکارید اینولین بوده است در هر دو زمان صفر و روز سی‌ام، دارای جمعیت بالاتری نسبت به نمونه شاهد بوده است.

سنجی، بررسی خصوصیات زنده مانی و خواص اورگانولپتیک مورد بررسی قرار گرفتند.

۳-۶- بررسی خاصیت زنده مانی باکتری پروبیوتیک با توجه به شکل ۳-۱۳، می‌توان بیان نمود که با افزایش زمان ماندگاری نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک، جمعیت باکتری

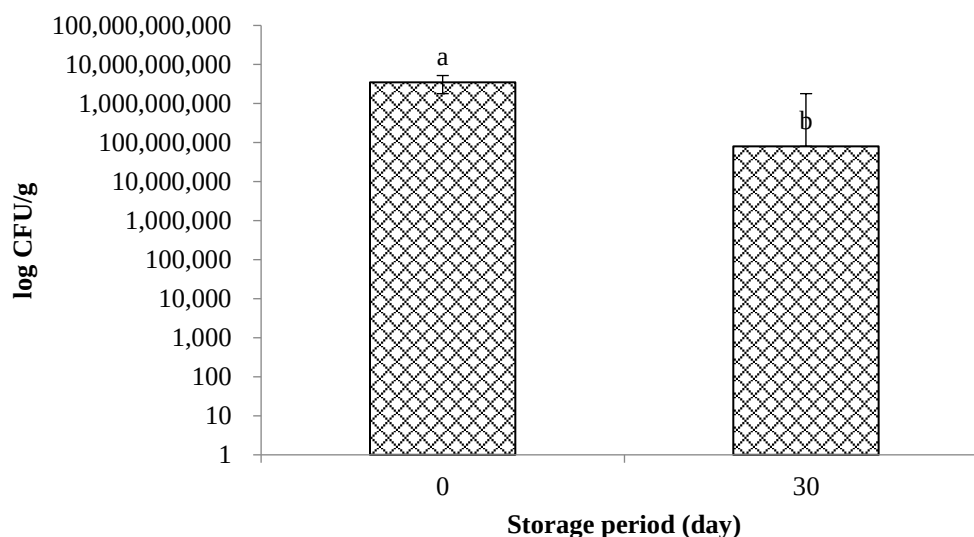


Fig.3-13. Changes in the population of *Lactobacillus acidophilus* bacteria in two periods of 0 and 30 days after inoculation in apple jelly samples

۳-۷- بررسی خصوصیات بافتی نمونه‌های ژله سیب
سین بیوتیک

آزمون بررسی خصوصیات پروفایل بافتی^۱ (TPA) نمونه‌های ژله سیب با استفاده از دستگاه بافت سنج صورت پذیرفت. نتایج آن در جدول ۳-۵، ارائه شده است. این نتایج شامل سختی (Hardness)، چسبندگی (Adhesivness)،

انسجام بافت (Cohesivness)، فنریت (Springines) و قابلیت جویدن (Chewiness) می‌باشد که برای نمونه ژله سین بیوتیک و نمونه ژله شاهد اندازه‌گیری شده است. نتایج نشان داد که نمونه شاهد دارای سختی و چسبندگی بالاتر نسبت به نمونه سین بیوتیک بوده است. اما نمونه سین بیوتیک قابلیت جویدن بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشت (جدول ۸).

Table 3-5. Texture characteristics of synbiotic and control apple jelly samples

Treatments	Texture characteristics				
	Hardness	Adhesivness	Cohesivness	Springines	Chewiness
Control	3783.7	-105.103	0.855	140	4530.94
Synbiotic	2200	-73.5	0.851	96.67	1810.81

۳-۸- بررسی خصوصیات ارگانولپتیک نمونه‌های
ژله سیب سین بیوتیک

جدول ۱ آنالیز واریانس نتایج ارزیابی حسی نمونه‌های ژله سیب را نشان می‌دهد. با توجه به آن می‌توان بیان نمود که نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک که حاوی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و اینولین بودند، از نظر خواص

حسی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، با یکدیگر تفاوت معنی داری داشتند ($p < 0.05$) (جدول ۳-۶). به عبارتی با افزودن ترکیب پری بیوتیک و باکتری پروبیوتیک، خصوصیات ارگانولپتیکی نمونه‌های ژله شامل عطر، رنگ، طعم، احساس دهانی و مطلوبیت کلی نمونه‌ها دچار تغییرات معنی درای شدند.

Table 3-6- Variance analysis table of sensory evaluation results of biotic apple jelly samples

Source	Dependent Variable	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	Flavor	1.500 ^a	1	1.500	4.500	.101
	Color	2.667 ^b	1	2.667	8.000	.047
	Taste	2.667 ^c	1	2.667	8.000	.047
	MouthFeeling	.167 ^d	1	.167	.500	.519
	Desirability	2.667 ^c	1	2.667	8.000	.047
Intercept	Flavor	104.167	1	104.167	312.500	.000
	Color	96.000	1	96.000	288.000	.000
	Taste	96.000	1	96.000	288.000	.000
	MouthFeeling	73.500	1	73.500	220.500	.000
	Desirability	96.000	1	96.000	288.000	.000
Treatment	Flavor	1.500	1	1.500	4.500	.101
	Color	2.667	1	2.667	8.000	.047
	Taste	2.667	1	2.667	8.000	.047
	MouthFeeling	.167	1	.167	.500	.519
	Desirability	2.667	1	2.667	8.000	.047
Error	Flavor	1.333	4	.333		
	Color	1.333	4	.333		
	Taste	1.333	4	.333		
	MouthFeeling	1.333	4	.333		

1 -Texture Profile Analysis

	Desirability	1.333	4	.333
Total	Flavor	107.000	6	
	Color	100.000	6	
	Taste	100.000	6	
	MouthFeeling	75.000	6	
	Desirability	100.000	6	
Corrected Total	Flavor	2.833	5	
	Color	4.000	5	
	Taste	4.000	5	
	MouthFeel	1.500	5	
	Desirability	4.000	5	

a. R Squared = .529 (Adjusted R Squared = .412)

b. R Squared = .667 (Adjusted R Squared = .583)

c. R Squared = .667 (Adjusted R Squared = .583)

d. R Squared = .111 (Adjusted R Squared = -.111)

معنی دار امتیاز طعم نمونه سین بیوتیک نسبت به نمونه شاهد گردید ($p < 0.05$) (شکل a ۱۷-۳).

شکل ۳-۱۷ تغییرات و تفاوت پارامترهای حسی نمونه‌های ژله سیب در دو نمونه سین بیوتیک و نمونه شاهد نشان می‌دهد. افزودن اینولین و باکتری پروبیوتیک باعث افزایش

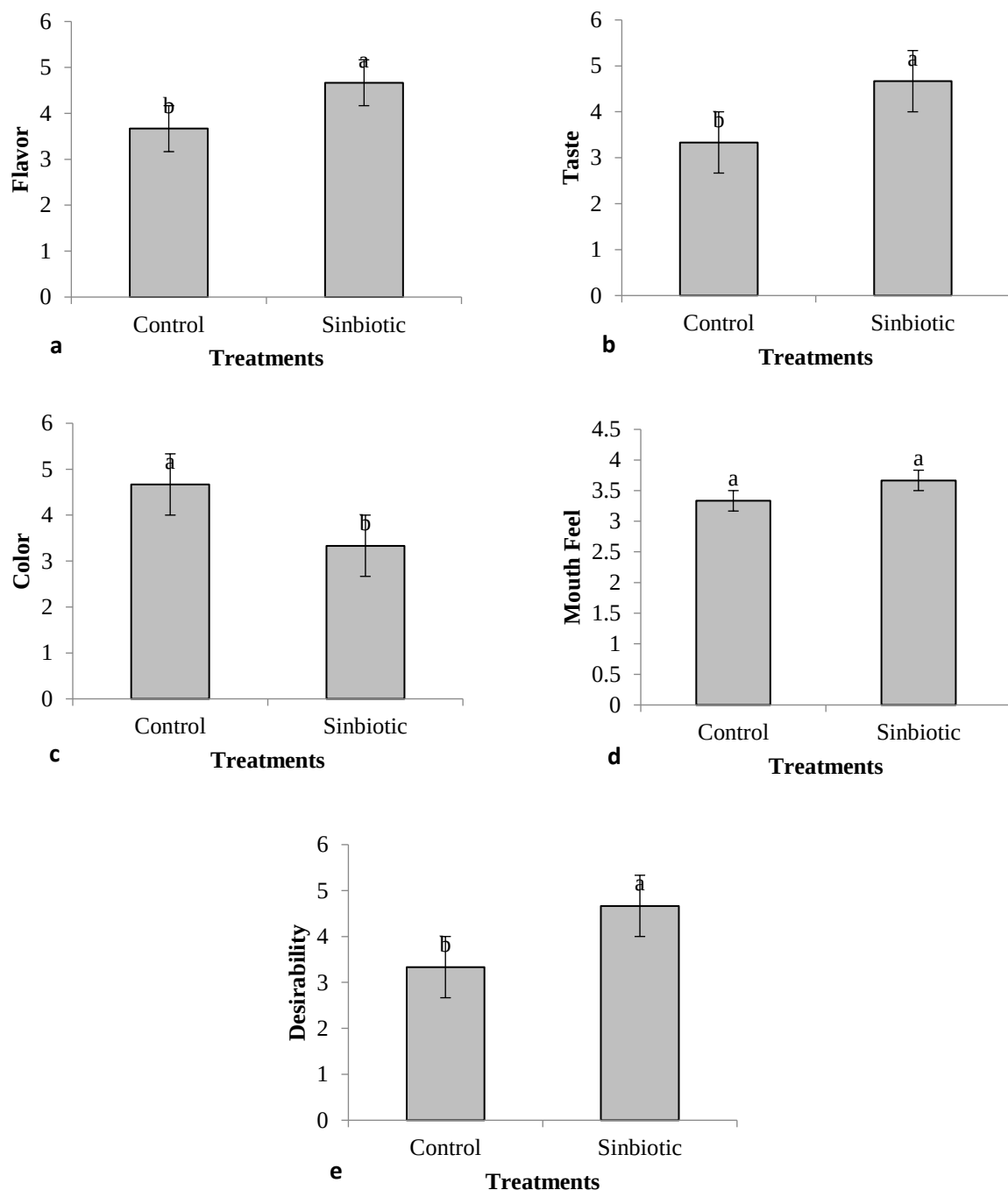


Fig. 3-17. Changes in organoleptic parameters including aroma (a), taste (b), color (c), mouthfeel (d) and overall acceptance (e)

رنگ نمونه شاهد نسبت به نمونه سین بیوتیک ($p > 0.05$)

امتیاز بالاتری دریافت نمود که در سطح احتمال ۹۵ درصد اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند ($p < 0.05$) (شکل ۱۶- c).

۴- بحث و نتیجه گیری کلی

همچنین نمونه سین بیوتیک امتیازات بالاتری در پارامترهای طعم (شکل b ۳-۱۷)، احساس دهانی (شکل d ۳-۱۷) و مطلوبیت کلی (شکل e ۳-۱۷) نسبت به نمونه شاهد دریافت نمود. این اختلاف در مورد طعم و مطلوبیت کلی معنی دار بود ($p < 0.05$) و برای احساس دهانی غیرمعنی دار بود.

۴-۱- بررسی تغییرات مقدار pH نمونه‌های ژله سیب

سین بیوتیک

نتایج حاکی از آن بود که با افزایش مقدار اینولین، pH نمونه‌های ژله سیب به صورت معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$) (شکل ۳). به نظر می‌رسد تأثیر عوامل آمفوتری موجود بر روی زنجیره هیدروکربنی اینولین دلیل افزایش مقدار pH نمونه‌ها بوده است. حسینی و همکاران (۱۳۹۶) pH نمونه‌های ژله سیب را حدوداً ۳/۷ و ژله آل‌بالو را ۳/۲ عنوان نمودند [۱۰]. افزودن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نمونه‌های ژله، هر چند که موجب کاهش مقدار pH نمونه‌ها گردید اما این کاهش در سطح احتمال ۹۵ درصد معنی دار نبود. به نظر می‌رسد در ابتدای امر و پس از افزودن باکتری پروبیوتیک، تأثیر چندانی در مقدار pH نمونه‌ها مشاهده نشده است اما تأثیر افزودن باکتری پروبیوتیک در طی زمان و در دوره نگهداری ژله سیب تهیه شده نمایان شده است. مطابق با شکل ۵، با افزایش زمان نگهداری نمونه‌های ژله سین بیوتیک، pH نمونه‌ها به صورت معنی داری کاهش یافت. می‌توان بیان نمود که با افزودن اینولین، فعالیت متابولیکی و زیستی سلول باکتریایی افزایش یافته و در نتیجه تولیدات سلولی آن، pH کاهش یافته است [۱۱]. کاراژیان و همکاران (۱۴۰۰) بیان نمودند که با افزایش درصد اینولین به عنوان جایگزین چربی، pH نمونه‌های سین بیوتیک کاهش یافت [۱۲].

۴-۲- بررسی تغییرات مقدار بریکس نمونه‌های ژله سیب

سین بیوتیک

بریکس نمونه‌های ژله سیب حاوی اینولین و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس در طی دوره نگهداری سی روزه و با تأثیر این دو متغیر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزودن اینولین، بریکس نمونه‌ها به صورت معنی داری افزایش یافته است به گونه‌ای که مقادیر بریکس از حداقل ۲۱/۸۰ درصد که به نمونه شاهد مربوط بود تا ۲۷/۹۱ درصد که به نمونه حاوی ۳ درصد اینولین بوده است تغییر

نموده است. به عبارتی با افزایش مقدار اینولین، بریکس نمونه‌ها نیز به صورت همواره افزایش یافت. دلیل این امر نیز به تأثیر افزودن اینولین مربوط می‌باشد. از طرفی با افزودن سویه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نمونه‌های ژله، بریکس این نمونه‌ها کاهش یافت. کاهش بریکس با افزودن باکتری پروبیوتیک به دلیل مصرف این ماده کربوهیدراتی و در نتیجه کاهش بریکس مربوط می‌باشد. همچنین با افزایش زمان ماندگاری محصول، بریکس از ۲۵/۱۶ درصد تا ۲۳/۵۵ درصد کاهش یافت. این امر به دلیل مصرف مواد قندی و اینولین موجود در فرمولاسیون ژله سیب می‌باشد که منجر به کاهش مقدار بریکس نمونه‌ها شد. حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۶ که بر روی تولید آبمیوه سین بیوتیک سیب مطالعه نمودند بیان داشتند که با افزایش زمان نگهداری، بریکس نمونه‌ها در اثر فعالیت باکتری پروبیوتیک کاهش داشته است که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت [۱۰]. رجب پور نیکو و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که با افزایش زمان ماندگاری نمونه‌های ژله سین بیوتیک در طی شش هفته، بریکس این نمونه‌ها از ۲۷ درصد به ۲۰/۷۵ درصد کاهش یافته است که نتایج این مطالعه با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد [۷].

۴-۳- بررسی تغییرات مقدار کدورت نمونه‌های ژله سیب

سین بیوتیک

کدورت نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک تولید شده با استفاده از دستگاه کدورت سنج مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاکی از آن بود که با افزایش درصد مقدار اینولین از صفر تا ۳ درصد، کدورت نیز افزایش معنی داری داشت. اینولین پودر سفید رنگی است که با افزودن آن به فرمولاسیون ژله، باعث افزایش کدورت نمونه‌ها شده است. پس از افزودن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به نمونه‌های ژله سیب، کدورت به صورت جزئی و ناچیز افزایش یافت که این افزایش معنی دار نبود ($p > 0.05$). افزودن باکتری پروبیوتیک در غلظت مورد مطالعه تغییر معنی داری در مقدار کدورت نداشت. با گذشت زمان ماندگاری

رطوبت و آب آزاد موجود در بافت ژله می‌باشند و با حذف و یا مصرف این ترکیبات توسط میکرواورگانیزم‌ها، ظرفیت نگهداری آب ژله کاهش می‌یابد. با گذشت زمان نگهداری ژله‌های تولید شده، سینرسیس آن‌ها افزایش یافت. این تغییر را می‌توان به فعالیت گونه پروبیوتیک، تولید اسید توسط آن و برهم خوردن تعادل الکترولیتی و در نهایت کاهش ظرفیت نگهداری آب توسط بافت یکنواخت ژله ابتدایی نسبت داد.

۴-۵- بررسی خصوصیات زنده مانی نمونه ژله سیب سین

بیوتیک

برای شمارش دقیق میکرواورگانیزم‌های زنده در نمونه‌های مختلف، اجماع کلی در میان محققان به رشد یک گونه باکتریایی و ایجاد کلنی را گویند. این موضوع به زمان کخ، دانشمند معروف در قرن نوزدهم بر می‌گردد. طبق این قرارداد، معمولاً سلولی قابل حیات در نظر گرفته می‌شود که قابلیت تکثیر و ایجاد کلنی را داشته باشد [۱۴]. نتایج این تحقیق حاکی از آن بود که با افزودن اینولین به فرمولاسیون نمونه‌های ژله سیب، قابلیت زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس افزایش یافته است. از طرفی با گذشت زمان ماندگاری نمونه‌های ژله سیب، قابلیت زنده مانی باکتری پروبیوتیک، در نمونه کاهش یافته است. این امر را می‌توان به کاهش مواد مغذی موجود در نمونه، در طی دوره نگهداری نسبت داد. از طرفی با مصرف مواد مغذی، متابولیت‌های ثانویه توسط میکرواورگانیزم تولید می‌گردد که در کنار کاهش مواد مغذی، منجر به کاهش جمعیت باکتریایی می‌گردد. میکروب‌ها بسته به شرایط محیطی و عوامل استرس زا در حالت‌های مختلف مراحل رشد و حالت‌های متابولیکی متفاوتی وجود دارند [۱۵ و ۱۶]. ترکیبات اسیدی مختلفی از جمله اسید استیک و اسید سیتریک در اثر رشد و تکثیر باکتری‌های اسید لاکتیک تولید می‌گردد که در آن‌ها pH محیط کاهش یافته و به مرور زمان شرایط برای رشد و بقا سلول از بین می‌رود. از این رو با گذشت زمان شاهد کاهش جمعیت باکتریایی در نمونه‌های ژله سیب بودیم. این نتایج با نتایج مطالعه شریفی سلطانی و همکاران (۱۳۹۵) که بر روی

نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک از صفر تا سی روز، کدورت نمونه‌ها افزایش یافت. این افزایش می‌تواند به دلیل کاهش محتوای رطوبت و همچنین تولید ترکیبات ثانویه ناشی از فعالیت میکرواورگانیزم باشد. در بررسی چشمی نمونه‌های ژله سین بیوتیک، با گذشت زمان، حباب‌های ریزی درون بافت ژله مشاهده شد که به نظر می‌رسد ناشی از فعالیت باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باشد. Talebzadeh و همکاران در سال ۲۰۱۶ که بر روی تولید نوعی ژله پروبیوتیک با استفاده از باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مطالعه نمودند بیان داشتند که افزودن این باکتری در هر دو فرم کپسوله شده و آزاد منجر به افزایش کدورت نمونه‌های ژله شده است. افزودن آلژینات کپسوله شده نیز منجر به افزایش کدورت نمونه‌های ژله شده بود که با نتایج این مطالعه مطابقت داشت [۶]. اندازه‌گیری کدورت از این جنبه دارای اهمیت است که به ظاهر و جلوه بصری محصول ارتباط مستقیم دارد [۱۳].

۴-۶- بررسی تغییرات مقدار سینرسیس نمونه‌های ژله

سیب سین بیوتیک

سینرسیس نمونه‌های ژله سین بیوتیک حاوی اینولین و باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس به روش وزن سنجی مورد بررسی قرار گرفت. از اینرو هر چه سینرسیس بیشتر باشد حاکی از آن است که اختلاف وزن اولیه و وزن نهایی بیشتر بوده است و هر چه سینرسیس کمتر باشد، اختلاف وزن کمتر می‌باشد. از این رو می‌توان بیان نمود که نمونه‌های با سینرسیس کمتر، از کیفیت بالاتری برخوردار بوده اند. افزودن اینولین به نمونه‌های ژله سیب باعث شد تا این ترکیب الیگوساکاریدی آب موجود در بافت ژله را در خود جذب نموده و مانع از آب اندازی نمونه‌ها گردد. به همین خاطر با افزایش مقدار اینولین، سینرسیس کاهش یافت. از طرف دیگر افزودن باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس باعث افزایش سینرسیس نمونه‌ها گردید. دلیل این امر را می‌توان به مصرف قند و اینولین موجود در فرمولاسیون ژله نسبت داد زیرا که این ترکیبات نگهدارنده و جاذب‌های

تولید ماست پروبیوتیک حاوی پودر کاکائو مطالعه نمودند نیز مطابقت دارد [۹].

۶-۴- بررسی خصوصیات بافتی نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک

بافت نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک و شاهد توسط آزمون TPA و با استفاده از پروب ۷۵ میلی‌متری مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمون که حالتی شبیه جویدن ماده غذایی در دهان را شبیه سازی می‌نماید در دو سیکل رفت و برگشتی بر روی نمونه انجام شده و نتایج مختلفی از جمله سختی (Hardness)، چسبندگی (Adhesiveness)، انسجام بافت (Cohesiveness)، فنریت (Springiness) و قابلیت جویدن (Chewiness) را در اختیار قرار می‌دهد. با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان بیان نمود که افزودن اینولین و سویه پروبیوتیک باعث ایجاد بافت نرم‌تر و چسبندگی کمتر در نمونه‌های ژله سین بیوتیک شده است. این امر را می‌توان به تاثیر مثبت اینولین در افزایش رشد باکتری لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت داد. زیرا که در اثر رشد این باکتری ترکیبات متابولیتی بیشتری، از جمله اسید استیک و اسید سیتریک، تولید شده و در نتیجه بافت نمونه نرم‌تر و سختی آن کمتر می‌گردد. Mirzaee و همکاران (۲۰۲۱) بیان داشتند که افزودن اسانس آویشن و روغن هسته انار به آب نبات باعث کاهش سختی و چسبندگی نمونه‌ها شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت [۱۷]. Miranda و همکاران (۲۰۲۰) که بر روی تولید ژله سین بیوتیک حاوی میوه‌های جنگلی و باکتری لاکتوباسیلوس کوآگولانز مطالعه

نمودند عنوان نمودند که انسجام بافت و سفتی نمونه‌ها تغییر معنی داری با یکدیگر نداشتند [۱۸].

۷-۴- بررسی خصوصیات ارگانولپتیک نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک

خصوصیات ارگانولپتیک نمونه‌های ژله سیب شاهد و سین بیوتیک توسط یک تیم پانزده نفره متشکل از ارزیابان آموزش دیده مورد بررسی قرار گرفت. برای این منظر ارزیابان نظرات خود را در مورد پارامترهای حسی از جمله عطر، رنگ، طعم، احساس دهانی و مطلوبیت کلی در پرسش نامه‌های طراحی شده برای این منظور، تکمیل نمودند. نتایج نشان داد که نمونه‌های ژله سیب سین بیوتیک، امتیاز عطر، احساس دهانی، طعم و مطلوبیت کلی بالاتری نسبت به نمونه شاهد دریافت نموده‌اند. افزودن اینولین و مهیا شدن شرایط برای رشد و تکثیر لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، باعث تولید مواد مولد عطر و طعم در نمونه‌های ژله سین بیوتیک گردید. از اینرو این نمونه‌ها امتیاز عطر و طعم بالاتری نسبت به نمونه شاهد دریافت نمودند. همچنین نمونه ژله سین بیوتیک امتیاز بیشتری در پارامتر احساس دهانی نسبت به نمونه شاهد گرفت. دلیل این امر را می‌توان به اسیدی شدن و کاهش pH نمونه و تولید متابولیت‌های ثانویه در اثر رشد لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس نسبت داد. زیرا از طرفی این ترکیبات باعث طعم بهتر شده و از طرف دیگر مطابق با نتایج بافت سنجی، این نمونه‌ها نرمی بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشتند. نمونه شاهد تنها در پارامتر رنگ امتیاز بیشتری از نمونه سین بیوتیک دریافت نمود که دلیل آن را می‌توان به ایجاد هاله سفید در اثر افزودن اینولین به نمونه سین بیوتیک نسبت داد.

۵-منابع

- [1] Lucas, B.F., de Moraes, M.G., Santos, T.D., and Costa, J.A.V. 2018. Spirulina for snack enrichment: Nutritional, physical and sensory evaluations. LWT-Food Science Technology, 90: 270–276.
- [2] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2009). jelly products-Specifications & test method. ISIRI No. 2682.
- [3] Zhu, Z., He, J., Gang Liu, G., Barba, F.J., Koubaa, M.K., Luhui Ding, L., Bals, O., Grimi, N., and

- Vorobiev, E. 2016. Recent insights for the green recovery of inulin from plant food materials using non-conventional extraction technologies: A review. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 23: 1-9.
- [4] Zhang, J., Tan, W., Zhao, P., Mi, Y., and Guo, Z. 2022. Facile synthesis, characterization, antioxidant activity, and antibacterial activity of carboxymethyl

- inulin salt derivatives. International Journal of Biological and Macromolecule, 199:138–149.
- [5] Peng, C., Guoqiang Yao, G., Sun, Y., Shuai Guo, Sh., Wang, J., Mu, X., Sun, Zh., and Zhang, H. 2022. Comparative effects of the single and binary probiotics of *Lactocaseibacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium lactis* V9 on the growth and metabolomic profiles in yogurts. Food Research International, 152: 110603.
- [6] Talebzadeh, S., and Sharifan, A. 2016. Developing Probiotic Jelly Desserts with *Lactobacillus Acidophilus*. Journal of Food Processing and Preservation, 41 (1): 1-12.
- [7] Rajabpour Nikoo, E., Mansouripour, S., and Hamed J. 2019. Feasibility study of producing and evaluation the quality properties of probiotic and synbiotic jelly containing *Bacillus coagulans*. Journal of Food Microbiology, 7(2): 34-43.
- [8] Chan, G., and Mooney, D.J. 2013. Ca^{2+} released from calcium alginate gels can promote inflammatory responses in vitro and in vivo. Acta Biomaterialia, 9: 9281–9291.
- [9] Sharifi Soltani, M., Kaim, G., and Pourahmad, R. 2016. Possibility of the production of probiotic chocolate yogurt. Journal of Food Hygiene, 6(22): 51-63.
- [10] Hosseini, M., Rezazad Bari, M., and Alizadeh Khaledabad, M. 2017. Production of synbiotic juice: study on the effect pH, Brix, Formalin index and Rheological. Journal of Food Science and Technology (Iran), 14 (63): 73-81.
- [11] Haissa, R.C., Flavia, C.A., Buriti, Inor.A., and Susana, M.I.S. 2008. Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic. Food Science and Technology, (41): 1037-1046.
- [12] Karazhyan, R., Ehtiati, A., Nazari, Z., and Mehraban Sanghatash, M. 2021. Optimizing the formulation of functional cake with date syrup and inulin. Iranian Journal of Food Science and Technology, 18(111): 147-157.
- [13] Calvo, C., and Salvador, A. 1997. Measurement of the colour and transparency of gels: Application to fruit gels. Food Hydrocolloids, 11: 443–447.
- [14] Carter, K.C., 1987. Essays of Robert Koch, Greenwood, Portsmouth, NH.
- [15] Volkert, M., Ananata, E., Luscher, C., and Knorr, D., 2008. Effect of air freezing, spray freezing, and pressure shift freezing on membrane integrity and viability of *Labctobacillus rhamonosus* GG. Journal of Food Engineering, 87: 532–540.
- [16] Garcia-Cayuela, T., Tabasco, R., Pelaez, C., and Requena, T., 2009. Simultaneous detection of viable lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented milk by using propidium monoazide and real-time PCR. International Dairy Journal, 19: 405–409.
- [17] Mirzaee Moghaddam, H., and Rajaei, A. 2021. Effect of Pomegranate Seed Oil Encapsulated in Chitosan-capric Acid Nanogels Incorporating Thyme Essential Oil on Physicomechanical and Structural Properties of Jelly Candy. Journal of Agricultural Machinery, 11 (1): 55-70.
- [18] Miranda, J. S., Costa, B. V., Oliveira, I. V., Lima, D. C. N., Martins, E. M. F. Júnior, B. R. C. L., Benevenuto, W.C.A.N., Queiroz, I.C., Silva, R.R., and Martins, M. L. 2020. Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. LWT - Food Science and Technology, 126: 1-6.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The study of physicochemical, textural, and organoleptical properties of symbiotic apple jelly containing inulin based on carrageenan

Akram Peyimannia¹, Alireza Shahab Lavasani^{2*}, Nazanin Zand³

- 1- Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin –Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
- 2- Associate Professor Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin – Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran
- 3- 3.Assistant Professor Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Varamin –Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/6/4 Accepted:2024/8/13 Keywords: Date Kabkab, edible coating, chitosan, gelatin, extract, orange peel DOI: 10.22034/FSCT.22.159.267. *Corresponding Author E- shahabam20@yahoo.com	In this study, the production of synbiotic apple jelly containing inulin (0 to 3%) and <i>Lactobacillus acidophilus</i> bacteria (10^{11} cfu/ml) was studied. The amount of pH, brix, syneresis, turbidity, viability, textural characteristics and sensory evaluation tests were conducted. These evaluations were performed during the 30-day maintenance period. The results indicated that with the increase in the amount of inulin, pH, Brix and turbidity of the samples increased. The syneresis of apple jelly samples also decreased with the increase of inulin. Adding probiotic bacteria to apple jelly increased the syneresis of the samples. The results showed that with increasing time, the pH of apple jelly samples decreased from 4.07 to 3.98. The turbidity of the samples also increased significantly during the storage period. The most changes in the 30-day storage period were related to the syneresis tests, which increased the syneresis of the samples as the storage time increased. Synbiotic apple jelly samples had a softer texture than the control sample. The synbiotic apple jelly sample had better chewability than the control sample. <i>Lactobacillus acidophilus</i> had a higher viability in the sample containing inulin, which decreased with increasing time.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تأثیر فراوری، زمان و منطقه برداشت بر فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات شیمیایی چای

نگین سمیع‌زادگان^۱، ماندانا طایفه^{۲*}، لیلی فدایی اشکیکی^۳، آذین نصرالله‌زاده^۴، سحر دعایی^۵

۱- دانش آموخته مقطع ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۲- *استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۳- دانش آموخته مقطع ارشد علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۴- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران

۵- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد لاهیجان، دانشگاه آزاد اسلامی، لاهیجان، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۱۱

کلمات کلیدی:

پلی فنل،

چای،

روش فراوری،

کافئین،

منطقه کاشت

چای پس از آب یکی از پرمصرفترین نوشیدنی‌های جهان است و به علت ترکیبات شیمیایی موجود در آن نظیر پلی فنل‌ها، ترکیبات آنتی اکسیدانی و کافئین که سودمند هستند، مورد توجه قرار گرفته است. عواملی مانند فراوری برگ چای، زمان برداشت برگ و منطقه کشت می‌تواند بر روی ترکیبات برگ چای تأثیر بگذارد. این تحقیق در طرح فاکتوریل و در غالب طرح کاملاً تصادفی شامل متغیرهای مستقل به صورت برگ سبز خام، چای سبز و چای سیاه فراوری شده است و متغیرهای وابسته در این طرح از جمله اندازه گیری میزان پلی فنل، فعالیت آنتی اکسیدانی، میزان کافئین و ویژگی‌های خاک می‌باشد که در دو فصل برداشت بهار (اردیبهشت) و تابستان (تیر) و دو منطقه کشت شرق گیلان (لاهیجان) و غرب گیلان (فومن)، انجام شده است. بر طبق نتایج به دست آمده اثرات متقابل بدین صورت بود، میزان رطوبت در چای سبز بهار منطقه فومن (۷۸/۸۳٪) در بیشترین حالت خود و چای سبز تابستانه منطقه فومن (۶/۲۲٪) کمترین مقدار را دارا بود. به همین ترتیب بیشترین میزان ماده جامد نیز در چای سبز تابستانه منطقه فومن (۹۳/۷۶٪) و کمترین میزان آن در برگ سبز بهار فومن (۲۱/۲۰٪) گزارش شد. همچنین بالاترین میزان کافئین در چای سبز بهار فومن (۲/۶۵٪) و کمترین مقدار آن در برگ سبز تابستانه لاهیجان (۱/۸۷٪) گزارش گردید و بیشترین و کمترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی به ترتیب در برگ سبز چای لاهیجان در هردو چین بهار و تابستان و چای سیاه تابستانه فومن (۵۷/۲۷٪) دیده شد. علاوه بر این بیشترین میزان ترکیبات پلی فنلی در چای سبز بهار فومن (۱۲/۳۷٪) و کمترین میزان آن در چای سبز تابستانه فومن (۱۲/۲۹٪) مشاهده گردید.

DOI:10.22034/FSCT.22.159.288.

* مسئول مکاتبات:

m.tayefe@yahoo.com

۱-مقدمه

از آسیب‌های ایجاد شده بر سلامتی انسان هستند و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی ارگانیک‌های بشر را از این مخاطرات حفظ می‌کنند [8]. چای از منابع اصلی کافئین است و به طور معمول، هر گرم برگ خشک چای دارای ۵۰-۲۰ میلی گرم کافئین است [9]. پلی فنل‌ها و کافئین موجود در چای از فاکتورهای مهمی هستند که در کنترل کیفی این نوشیدنی در سطح ملی و بین‌المللی مورد ارزیابی قرار می‌گیرند و حائز اهمیت هستند [10, 11, 12].

چای به فرم‌های تخمیری (چای سیاه)، غیر تخمیری (چای سبز) و نیمه تخمیری (اولانگ) مصرف می‌شود. برداشت برگ سبز در ایران از اوایل اردیبهشت تا اوایل آبان در سه برداشت (چین) عمده شامل چین بهار، تابستان و پاییز انجام می‌شود. چین بهار معمولاً از اواخر فروردین شروع و تا پایان خرداد ماه ادامه می‌یابد که حدود ۴۴ درصد محصول در این زمان برداشت می‌شود. این چین از نظر لطافت و عطر چای تولیدی معروف است. چین تابستان از تیر شروع و تا اواخر شهریور ماه ادامه دارد. ۳۸ درصد کل محصول سالیانه در این زمان جمع‌آوری می‌شود و این چین دارای چای مرغوب می‌باشد. چین پاییز از اوایل مهر شروع و تا اواسط آبان ادامه دارد. با سرد شدن هوا و کاهش ساعات روشنایی جوانه‌ها به خواب می‌روند و عمل برگ چینی متوقف می‌شود. براساس پژوهشی از نصیری راد و همکاران در سال ۱۳۹۱، بررسی تاثیر فصل برداشت بر میزان ترکیبات فنلی کل چای سبز لاهیجان نشان داد که ترکیبات پلی فنولی در برگ‌های سبز برداشت شده در فصل تابستان و بهار بیشتر از فصل پاییز می‌باشد [13].

مراحل تولید چای سیاه شامل پلاس، مالش، تخمیر و خشک کردن بوده و برای چای سبز شامل مراحل خشک کردن و برشته کردن برگ‌ها می‌باشد و برخلاف چای سیاه دو مرحله پلاس و تخمیر را ندارد. در فرآوری چای سبز ابتدا آنزیم‌های موجود در برگ را با بخار غیرفعال نموده و در مرحله بعد با مالش دادن توام با حرارت برگ‌ها، آن را

نوشیدنی چای به عنوان یکی از قدیمی‌ترین و پرمصرف‌ترین نوشیدنی‌ها پس از آب در سراسر جهان مطرح می‌باشد. از دیدگاه گیاهشناسی، گیاهی دولپه و همیشه سبز از خانواده *camelliaceae* است. بعلاوه یکی از محصولات اساسی و استراتژیک کشور بوده که در استان‌های گیلان و مازندران دارای بیشترین سطح زیر کشت می‌باشد. سطح زیر کشت چای در ایران حدود ۳۲ هزار هکتار در دو استان گیلان (۹۰٪) و مازندران (۱۰٪) است. دلیل عمومیت یافتن مصرف چای در ابتدا آروما و خصوصیات طعمی آن بوده و در سال‌های اخیر به علت اثرات دارویی و سودبخش آن بر سلامتی و بخصوص ویژگی‌های ضدسرطانی آن بسیار مورد توجه قرار گرفته است [1]. اما پایین بودن کیفیت چای تولیدی در کشور، یکی از معضلات این صنعت می‌باشد [2]. به طور کلی از عوامل تاثیرگذار بر کیفیت چای می‌توان به نوع، رقم، فصل، شرایط آب و هوایی، روش فرآوری، نوع خاک و روش نگهداری چای اشاره کرد [3,4].

از مهمترین عوامل موثر مراحل عمل آوری چای است که تفاوت کیفی فراورده‌های مختلف چای را سبب می‌گردد [5]. ترکیبات شیمیایی چای شامل پلی فنل‌ها (کاتچین و فلاونوئیدها)، آلکالوئیدها (کافئین، تئوروبین، تئوفیلین و...)، روغن‌های فرار، پلی ساکاریدها، آمینواسیدها، چربی‌ها، ویتامین‌ها به خصوص ویتامین C، عناصر معدنی مثل آلومینیوم، فلئورین، منگنز و... می‌باشد. به طور کلی ترکیبات فنلی چای حدود ۳۰٪ ماده خشک شاخساره‌های جوان آن را تشکیل می‌دهند که شامل فلاوون‌ها، کاتچین‌ها، فلاونول‌ها و آنتوسیانین است [6]. مقدار ترکیبات موثر در کیفیت چای، در شرایط متفاوت آب و هوایی دستخوش تغییر می‌گردد و به دنبال آن ویژگی‌های کیفی چای خشک تولید شده نیز تغییر می‌یابد [7]. در برگ سبز چای بیش از ۲۳ نوع پلی فنل تشخیص داده شده است. در تحقیقات بسیاری از محققین ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی پلی فنل‌های چای به اثبات رسیده است. رادیکال‌های آزاد عامل بسیاری

منطقه مورد مطالعه عنوان شدند [15]. بنابراین، هدف از این پژوهش تعیین تاثیر فراوری (برگ سبز خام، چای سبز و چای سیاه)، تغییرات فصلی (فصل های بهار و تابستان) و مناطق برداشت در ترکیبات شیمیایی چای مانند میزان ماده خشک، کافئین، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار DPPH) در دو منطقه شرق گیلان (شهرستان لاهیجان) و غرب گیلان (شهرستان فومن) می باشد.

۲- مواد و روش

خاک دو منطقه مورد بررسی (لاهیجان با طول جغرافیایی ۵۰ درجه و ۱ دقیقه و ۳ ثانیه و عرض جغرافیایی ۴۱ درجه و ۱۱ دقیقه و ۳۷ ثانیه و فومن با طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۲۱ دقیقه و ۳ ثانیه و عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۱۲ دقیقه و ۳۰ ثانیه) در دو فصل بهار و تابستان از نظر ویژگی های فیزیکی شیمیایی مورد بررسی و ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). همچنین تمامی مواد مورد استفاده جهت انجام آزمون های فیزیکوشیمیایی از شرکت مرک آلمان استفاده گردید.

Table1: Soil Tests in Spring and Summer in Two cultivation area

Location/Time	pH (1:1)H ₂ O	Electrical conductivity (ds/m)	Organic Carbon(%)
Lahijan/spring	4.5	0.526	4.3
Fouman/spring	5.5	0.313	4.2
Lahijan/Summer	4.4	0.627	5
Fouman/Summer	5.4	0.467	5.5

اندازه گیری میزان pH در خاک:

برای اندازه گیری مقدار pH در خاک از روش نسبت سوسپانسیون ۱ به ۱ استفاده شد. ابتدا ۲۰ گرم خاک به همراه ۲۰ سی سی آب مقطر را مخلوط کرده سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دستگاه شیکر بهم زده شد. سپس محتویات داخل بشر خالی شد و ۳۰ دقیقه در مکان ساکن قرار داده شد تا فاز جامد و مایع از هم جدا شوند. دستگاه pH متر ابتدا با تامپون ۷ و ۴ کالیبر شد سپس pH مایع به دست آمده با دستگاه pH متر قرائت شد.

اندازه گیری میزان هدایت الکتریکی در خاک:

عصاره های که از آزمون اندازه گیری pH به دست آمد را با دستگاه EC متر (ساخت اروپا، مدل Milwaukee MC310) قرائت شد.

اندازه گیری میزان کربن آلی در خاک:

۵ گرم خاک کوبیده شده و از الک نیم میلیمتری عبور داده شد و در ارلن مایر ۵۰۰ میلیلیتر ریخته شد و به همراه آن ۱۰ میلیلیتر بیکرومات پتاسیم یک نرمال اضافه شد و به

آرامی تکان داده شد. بلافاصله ۲۰ میلی لیتر اسید سولفوریک غلیظ به محلول اضافه شد و به آرامی تکان داده شد تا خاک با مواد به مدت ۱ دقیقه مخلوط شود و به مدت ۲۰ دقیقه محلول به طور ثابت در جایی نگهداری شد. سپس ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر به محلول اضافه و بعد از سرد شدن در حضور ۱۰ قطره ارتوفانتروپولین تیتراسیون با فروآمونیم سولفات تا ایجاد رنگ قرمز پایدار انجام گرفت.

آماده سازی چای:

ابتدا برگ سبز چای از مناطق لاهیجان و فومن به صورت خام تهیه شد و سپس در پژوهشکده چای لاهیجان به صورت چای سبز و چای سیاه فراوری شد.

اندازه گیری میزان کافئین:

برای اندازه گیری کافئین، از یک گرم چای خشک در مجاورت آمونیاک با حلال کلروفرم استخراج انجام شد. سپس عصاره حاصل با استفاده از محلول پتاس و سولفات سدیم خشک، صاف شد و پس از تهیه رقت، میزان جذب محلول در طول موج ۲۷۶ نانومتر با اسپکتروفتومتر (ساخت آمریکا، مدل UV/VIS) تعیین گردید. درصد کافئین نمونه از طریق مقایسه با منحنی استاندارد کافئین محاسبه گردید [16].

اندازه گیری پلی فنل چای:

بررسی میزان پلی فنل کل با استفاده از روش فولین سیوکالتو انجام شد (ISO 2004) [17]. برای اندازه گیری پلی فنل در چای ۲ گرم از نمونه آسیلاب شده، درون لوله ریخته و ۵ سی سی متانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید سپس در بن ماری (ساخت ایران، مدل آرتا WB150) با دمای ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. لوله ها پس از خنک شدن به مدت ۱ دقیقه ورتکس شده و توسط کاغذ صافی، صاف گردید. مجدداً ۵ سی سی متانول ۷۰٪ به آن اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری قرار داده شد و سپس ورتکس و صاف گردید. در ادامه بالن ژوژه ۱۰۰

میلی لیتر را با متانول ۷۰٪ به حجم رسانیده و از مایع مورد نظر ۱ سی سی به آن اضافه گردید. در ادامه داخل ۱۲ لوله ۵ سی سی فولین ۱۰٪، ۴ سی سی کربنات سدیم و ۱ سی سی از نمونه ریخته شد و به مدت یک ساعت در دمای محیط قرار داده شد. پس از گذشت یک ساعت با دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت آمریکا، مدل UV/VIS) با طول موج ۷۶۵ خوانده شد. دستگاه اسپکتروفتومتر با شاهد (۱ سی سی آب مقطر، ۵ سی سی فولین و ۴ سی سی کربنات سدیم) صفر شد.

اندازه گیری آنتی اکسیدان چای:

برای اندازه گیری آنتی اکسیدان در چای ابتدا ۰/۵ سی سی نمونه آماده شده به همراه ۵ سی سی DPPH در لوله آزمایش ریخته شد و به مدت نیم ساعت در جای تاریک قرار داده شد و سپس در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

$$p = 100 * \frac{A_{dpph0} - A_{Sample0}}{A_{dpph0}}$$

تجزیه و تحلیل آماری:

طرح آماری مورد استفاده در این بررسی، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بود. با اعمال متغیرهای مستقل شامل منطقه برداشت در ۲ سطح (فومن و لاهیجان)، نوع فراوری در ۳ سطح (برگ سبز چای، چای سبز و چای سیاه) و زمان برداشت (بهار و تابستان)، متغیرهای وابسته شامل رطوبت، ماده جامد، کافئین، فعالیت آنتی کمسیدانی و غلظت ترکیبات فنولی مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه واریانس طرح با استفاده از نرم افزار SPSS 18 انجام و کلیه نمودارها با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel رسم گردید.

۳- نتایج و بحث

رطوبت

(شکل ۲). از دلایل اصلی بالاتر بودن میزان رطوبت در برگ سبز را می‌توان، عدم حرارت دهی برگ‌ها در طی فراوری عنوان کرد. همچنین در فصل بهار، میانگین دما نسبت به تابستان پایین‌تر بوده که خود دلیلی بر پایین‌تر بودن میزان درصد رطوبت در تابستان می‌باشد.

بررسی اثر مستقل متغیرها نشان می‌دهد که منطقه برداشت، زمان برداشت و نوع فراوری دارای تاثیر معنی‌دار بر روی میزان رطوبت می‌باشد. به‌طوریکه بیشترین میزان رطوبت در منطقه فومن (۲۹/۸۵٪)، برگ سبز (۷۳/۵٪) و فصل بهار (۳۰/۰۲٪) گزارش شده است (شکل ۱). بررسی اثر متقابل متغیرها نیز نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود دارد به صورتی که برگ سبز بهار منطقه فومن دارای بیشترین میزان رطوبت (۷۸/۸۳٪) و چای سبز تابستانه منطقه فومن کمترین میزان رطوبت (۶/۲۲٪) را دارا می‌باشد.

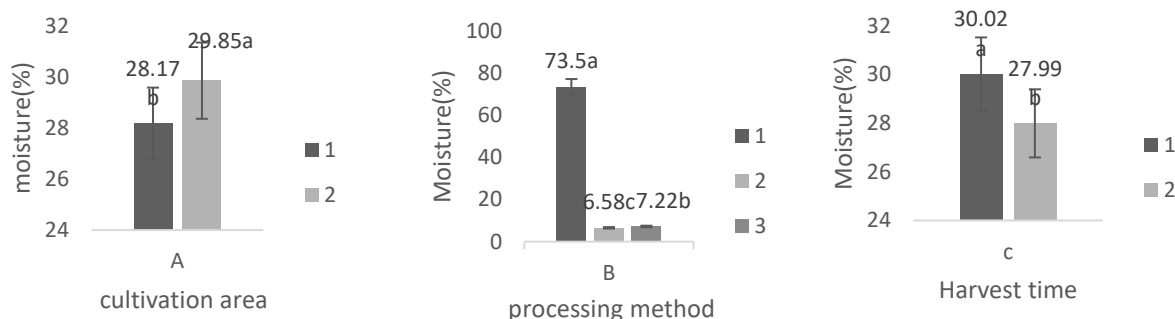


Fig1 The Effect of cultivation area (A) Processing Method (B) and Harvest Time (C) on Moisture Content

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

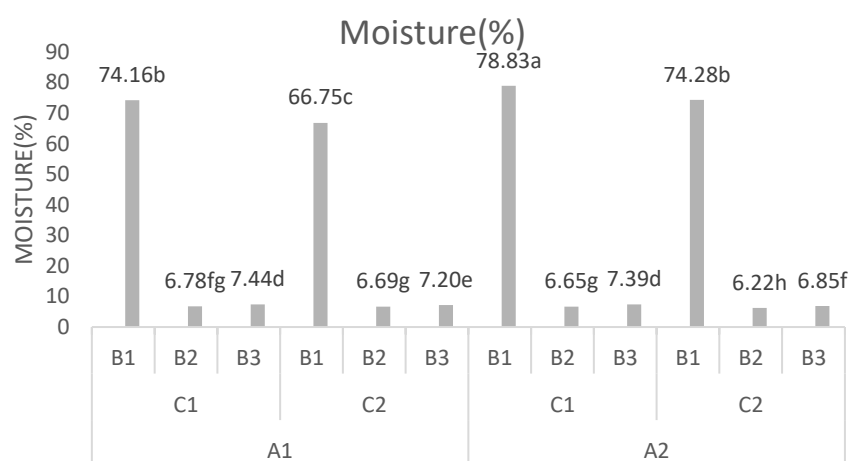


Fig2 The Effect of processing method and harvest time on Moisture content in two cultivation area (Fouman & Lahijan)

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

ماده جامد

(٪) نشان می دهد (شکل ۴). به نظر می رسد که بالا رفتن دما و اعمال حرارت در طی مراحل رشد گیاه و فراوری آن، رطوبت فراورده را کاهش داده و درصد ماده جامد را افزایش می دهد. به بیانی دیگر، میزان ماده جامد با میزان رطوبت رابطه‌ی عکس دارد و در تابستان با افزایش دما، رطوبت از برگ خارج شده و ماده جامد بیشتری در آن قابل اندازه‌گیری می‌باشد. همچنین با توجه به افزایش فتوسنتز و سرعت رشد در فصل تابستان همزمان با افزایش مواد غذایی خاک متعاقب کاهش بارندگی، میتوان انتظار داشت که میزان ماده جامد کل در فصل تابستان به مراتب بیش از فصل بهار باشد [18].

بررسی اثر مستقل متغیرها نشانگر آن است که منطقه برداشت، زمان برداشت و نوع فراوری تاثیر معنی داری بر روی درصد ماده جامد اندازه‌گیری شده دارد، به طوریکه بیشترین میزان ماده جامد در لاهیجان (۷۱/۸۲ ٪)، چای سبز (۹۳/۴ ٪) و تابستان (۷۱/۹۷ ٪) اندازه‌گیری شده است (شکل ۳). همچنین بررسی اثر متقابل متغیرها نیز بالاترین میزان ماده جامد را در چای سبز تابستانه منطقه فومن (۹۳/۷۶ ٪) و کمترین میزان آن را در برگ سبز بهاره منطقه فومن (۲۱/۲۰

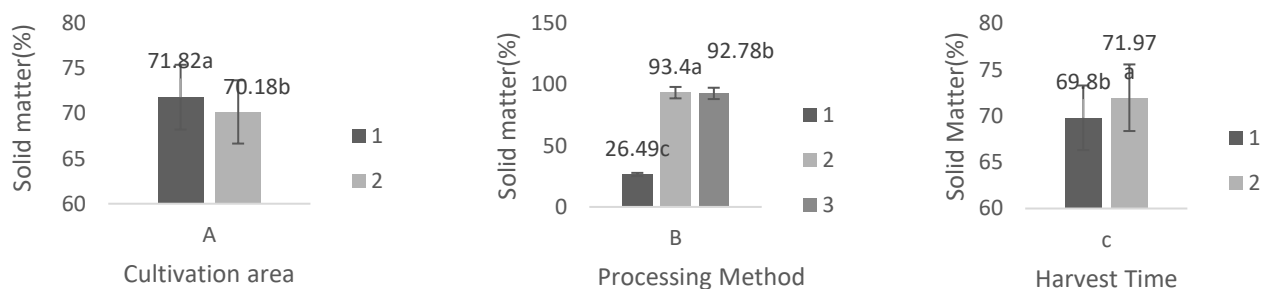


Fig3 The Effect of cultivation area (A), Processing Method (B) and Harvest Time (C) on Solid Matter Content

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

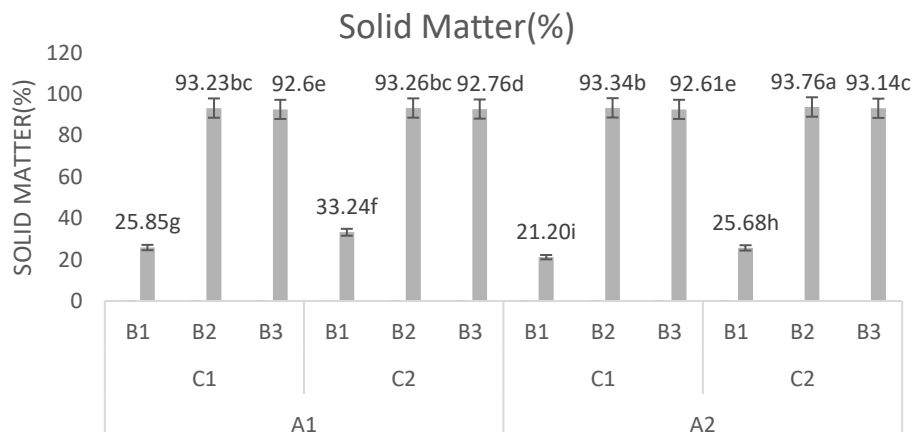


Fig4 The Effect of processing method and harvest time on Solid Matter content in two cultivation area (Fouman & Lahijan)

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

کافئین

منطقه لاهیجان در ماه اردیبهشت ۱۷/۶ درجه سانتی گراد و در تیر ماه ۲۵/۵ درجه سانتی گراد بوده است، بنابراین بالا بودن میزان کافئین در فصول ثابت در منطقه فومن نسبت لاهیجان قابل توجه می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیقات نصیری راد و همکاران در سال ۱۳۹۱ نیز میزان نور خورشید تاثیر مستقیم در میزان فتوسنتز داشته و هرچه میزان فتوسنتز بیشتر باشد، میزان کافئین نیز افزایش پیدا می‌کند. افزایش میزان فتوسنتز در روزهای بلند با میانگین دمای بالاتر به دلیل تابش بیشتر نور خورشید می‌تواند عامل افزایش بیوسنتز ترکیبات در برگ سبز شود که می‌تواند افزایش میزان سنتز کافئین در برگ سبز در منطقه فومن را افزایش دهد، زیرا میانگین دما در منطقه فومن نسبت به منطقه لاهیجان به طور کلی بیشتر گزارش شده است [13, 19].

بر اساس مقایسه میانگین تاثیر مستقل متغیرهای مورد بررسی شامل زمان برداشت، منطقه برداشت و نوع فراوری، تاثیر معنی داری بر روی میزان کافئین مشاهده می‌شود. بالاترین میزان کافئین در لاهیجان (۲/۵۲٪)، چای سیاه (۲/۴۱٪) و تابستان (۲/۳۶٪) اندازه‌گیری شد (شکل ۵). همچنین بررسی اثر متقابل بیانگر آن است که تفاوت معنی داری بین اثر متغیرها وجود دارد به طوریکه بالاترین میزان کافئین مربوط به چای سبز بهاره فومن (۲/۶۵٪) و کمترین مقدار آن در برگ سبز تابستانه لاهیجان (۱/۸۷٪) گزارش شده است. از آنجاییکه میانگین دمای ثبت شده در ماه اردیبهشت ۱۴۰۱ در منطقه فومن ۱۹ درجه سانتی گراد بوده و برای تیر ماه ۲۷/۴ درجه سانتی گراد می‌باشد و دمای ثبت شده برای

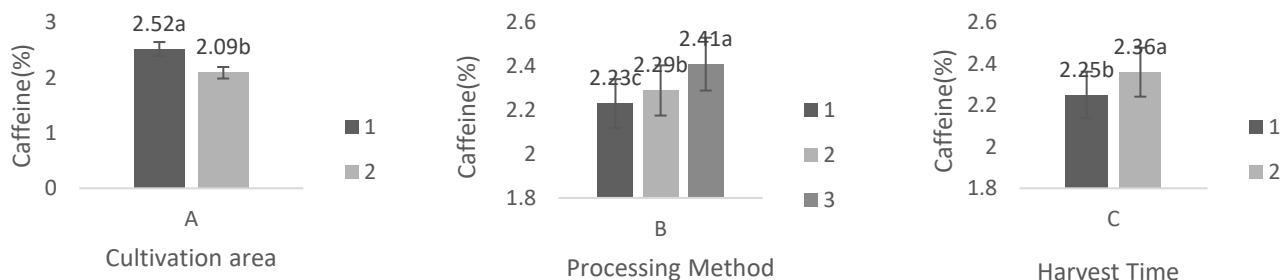


Fig5 The Effect of cultivation area (A), Processing Method (B) and Harvest Time (C) on Caffeine Content

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

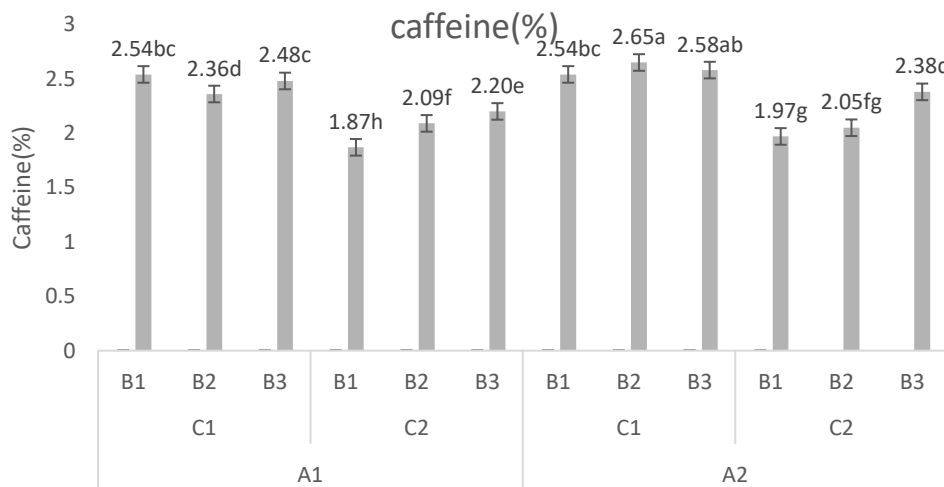


fig6 The Effect of processing method and harvest time on Caffeine content in two cultivation area (Fouman & Lahijan)

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

در تحقیق خود بیان کردند در چین اول برگ های جوان از بوته چای چیده میشوند و برای چای سازی مورد استفاده قرار می گیرند و ترکیبات مهم ایجاد کننده رنگ و طعم چای که شامل ترکیبات پلی فنلی نیز می شود در غنچه و برگ های اول بیشتر است و چون برداشت اول در بهار انجام شده و برداشت دوم (چین دوم) در تابستان صورت گرفته است، قدرت ترمیم و قوت برگ های تازه کاهش پیدا کرده و در نتیجه ترکیبات عامل عطر و طعم ضعیف تری دارند. بر این اساس ترکیبات پلی فنلی کمتری در چین دوم وجود دارد و در ادامه میزان فعالیت آنتی اکسیدان ها نیز کمتر می باشد و در نتیجه انتظار می رود میزان کافئین نیز افزایش پیدا کند [19].

ترکیبات آنتی اکسیدانی

بررسی اثر مستقل متغیرها (زمان برداشت، منطقه برداشت و نوع فراوری) بر درصد ترکیبات آنتی اکسیدانی، تفاوت معنی داری را بین نمونه ها نشان می دهد. بالاترین میزان درصد ترکیبات آنتی اکسیدانی در زمان برداشت، منطقه برداشت و نوع فراوری در فومن (۸۸/۴۳٪)، بهار (۸۹/۴۳٪) و چای سبز (۹۶/۶۴٪) گزارش شده است (شکل ۷). همچنین با بررسی اثر متقابل متغیرهای مذکور نیز تفاوت معنی دار در بین نمونه ها دیده شد، به طوری که بالاترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی در برگ سبز و چای سبز در هر دو چین بهار و تابستان منطقه لاهیجان و همچنین چای سبز بهار فومن گزارش شد، در صورتی که کمترین میزان آنتی اکسیدان در چای سیاه تابستانه فومن (۵۷/۲۷٪) مشاهده شد (شکل ۸). به نظر می رسد کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات پلی فنلی در فصل تابستان و چین دوم می تواند به چینش برگ های جوان تر و شاداب تر در فصل بهار مربوط باشد، به طوریکه در فصل تابستان ترکیبات تولید شده در برگ ها زمان کمتری برای سنتز داشته و ترکیبات ضعیف تری تولید خواهد شد. روفی گری حقیقت و همکاران در سال ۱۳۸۸

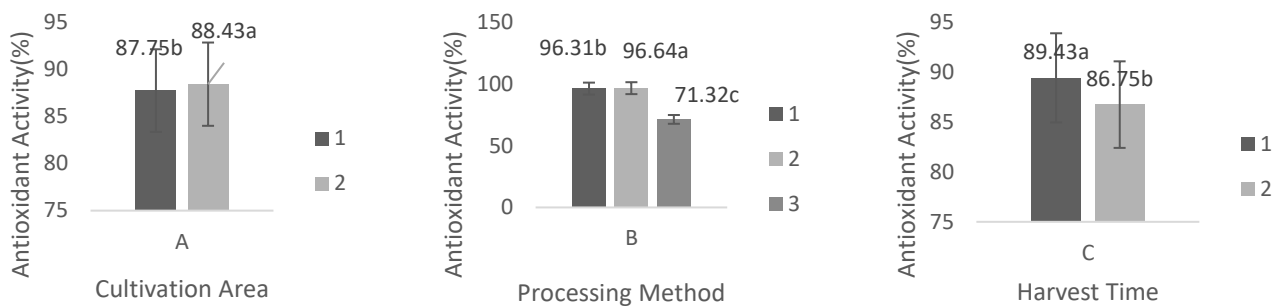


Fig7 The Effect of cultivation area (A), Processing Method (B) and Harvest Time (C) on Antioxidant Content

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

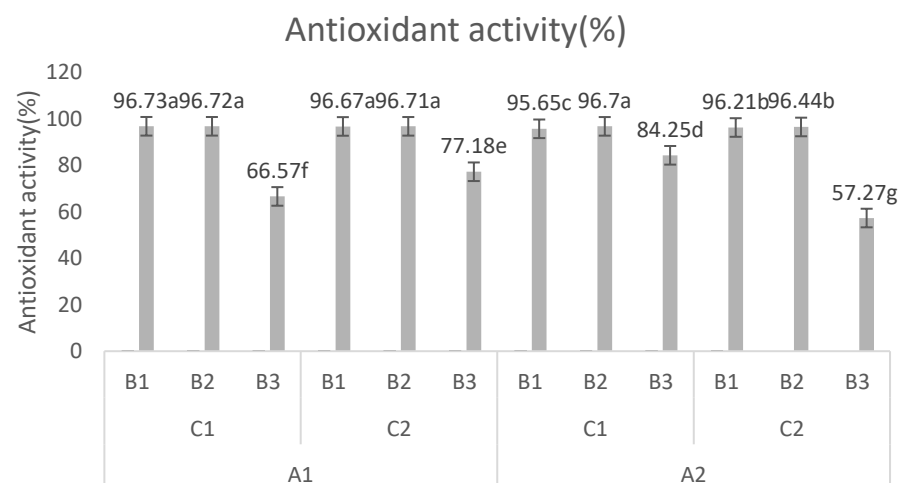


fig8 The Effect of processing method and harvest time on Antioxidant Activity content in two cultivation area (Fouman & Lahijan)

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

(۱۲/۲۹)٪ و کمترین میزان آن در چای سیاه تابستانه لاهیجان

(۶/۰۶)٪ مشاهده گردید (شکل ۱۰). انجام فرایند تخمیر در

فراوری چای سیاه، با توجه به اینکه سبب فعالیت آنزیم های اکسیداتیو و تاثیر آن ها بر روی ترکیبات پلی فنلی و تبدیل آن ها به ترکیباتی که عامل طعم و رنگ می شود، می تواند منجر به کاهش میزان غلظت پلی فنل ها شود. تخمیر یکی از فرایندهای مهم در عمل آوری چای بوده و در طی این مرحله کاتچین ها به وسیله آنزیم های اکسیداتیو شامل پراکسیداز و پلی، فنل اکسیداز به تئافلاوین و تئاروبیجین تبدیل می شوند. در ادامه این واکنش ها تی روبین پلمریزه شده و می تواند عامل

ترکیبات فنلی

براساس بررسی اثرات مستقل، تفاوت معنی دار بین نمونه ها در زمان برداشت، منطقه برداشت و نوع فراوری وجود دارد، به طوریکه بیشترین میزان ترکیبات فنلی در فومن (۱۰/۵۸)٪، چای سبز (۱۱/۴۶)٪ و فصل بهار (۱۱/۴۳)٪ گزارش شده است (شکل ۹). علاوه بر این اثر متقابل نیز تفاوت معنی داری را در میزان درصد پلی فنل پارامترهای اندازه گیری شده نشان می دهد. بیشترین میزان ترکیبات پلی فنلی در نمونه های چای سبز بهار فومن (۱۲/۳۷)٪ و چای سبز تابستانه فومن

نور افزایش و با سایه کاهش پیدا می‌کند که این پدیده به فعالیت فنیل آلانی-امونیا لیاز که آنزیم کلیدی در بیوسنتز حلقه B کاتچین می‌باشد بستگی دارد و وقتی گیاه در سایه و دور از نور قرار می‌گیرد این آنزیم به شدت کاهش پیدا کرده در نتیجه کاتچین کمتری تولید خواهد شد [21]. با توجه به اینکه در چین دوم (تابستانه) ترکیبات حاوی عطر و طعم به دلیل ضعیف بودن برگ سبز و غنچه، کمتر سنتز می‌شود، کاهش ترکیبات پلی‌فنلی، فعالیت مهارکنندگی DPPH نیز قابل توجه می‌باشد. از طرف دیگر نتایج آزمایشات خاک در دو منطقه فومن و لاهیجان نیز موید تفاوت در ترکیبات فنلی در برگ سبز چای حاصل از دو منطقه در دو زمان برداشت می‌باشد. چرا که نمونه برداری از باغات فومن در منطقه کم شیب و مسطح و در لاهیجان از منطقه کوهپایه ای و شیبدار انجام شده است، با توجه به تاثیر شیب بر کاهش مواد غذایی، محتوای پلی فنلی چای در ارتفاع پایین به مراتب بیشتر از ارتفاع بالا است [22, 23].

کاهش میزان ترکیبات پلی‌فنلی شود. در نتیجه پلی‌میریزه شدن تی‌روبین ها و کاهش ترکیبات پلی‌فنلی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز کاهش پیدا می‌کند. امیری و مداح نیز در سال ۱۳۹۴، کاهش ترکیبات فنلی چای و افزایش کافئین را در حین تخمیر گزارش کردند و نشان دادند که انجام عمل تخمیر در عمل‌آوری برگ های سبز چای به چای سیاه بر میزان کافئین و پلی‌فنل کل تاثیرگذار است [20]. همچنین کیم و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند در تخمیر چای، فلاونوئید های مونومریک به ترکیبات تتافلاوین و تتاروییجین پلیمریک تبدیل شده و در مجموع سبب کاهش ترکیبات پلی‌فنلی چای خواهد شد. به طور کلی در هر دو منطقه لاهیجان و فومن با فراوری چای، مقدار ترکیبات پلی‌فنلی کاهش پیدا کرده است که این کاهش در چای سیاه بیشتر از چای سبز می‌باشد. به نظر می‌رسد نور خورشید و دمای هوا عامل مهمی در تولید ترکیبات پلی‌فنلی هستند از این رو در منطقه فومن که میانگین دمایی بالاتری نسبت به منطقه لاهیجان را در سال ۱۴۰۱ در زمان های برداشت دارا بود، دارای غلظت بالاتری از ترکیبات پلی‌فنلی و نتیجتاً میزان بالاتری از درصد مهارکنندگی DPPH است. هارا در سال ۲۰۰۱ نشان داد که تولید کاتچین ها در گیاه چای با شدت

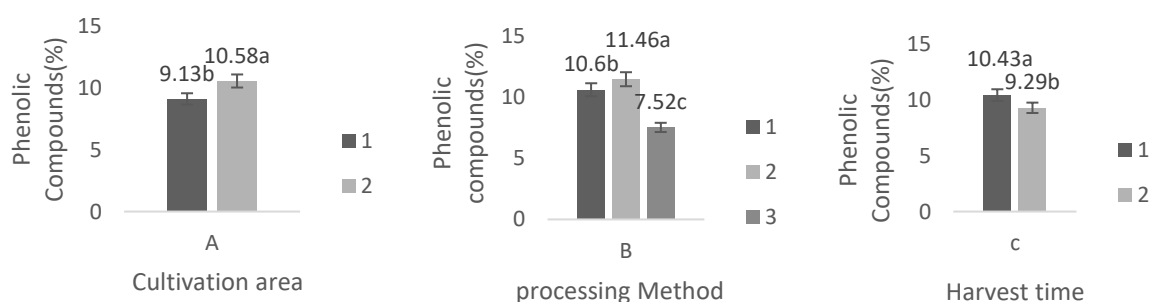


Fig9 The Effect of cultivation area (A), Processing Method (B) and Harvest Time (C) on Phenolic compounds Content

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

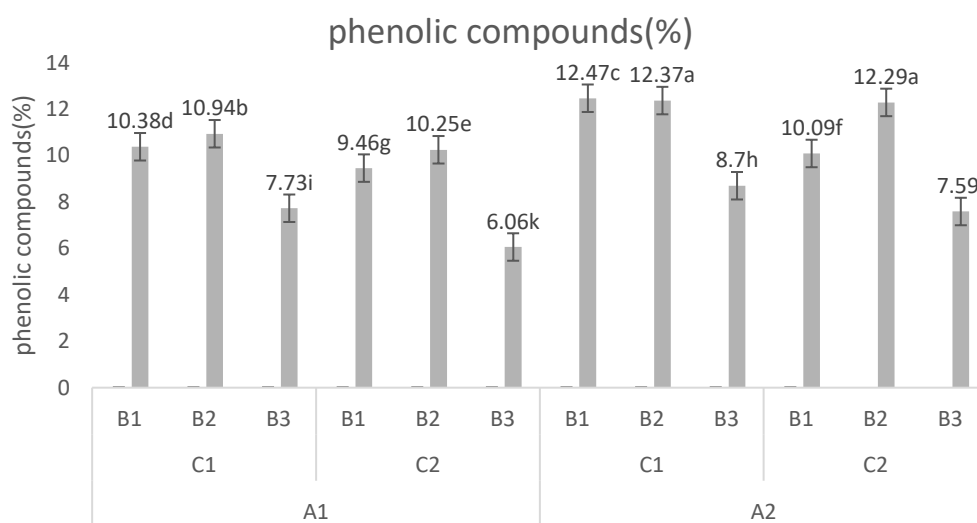


Fig10 The Effect of processing method and harvest time on Phenolic compounds content in two cultivation area (Fouman & Lahijan)

A1:Lahijan, A2:Fouman, B1:green leaves, B2:green tea, B3:black tea, C1:spring, C2:summer

فومن و کمترین میزان آن در چای سبز تابستانه فومن مشاهده گردید به طوریکه بیشترین میزان ترکیبات فنلی در فومن (۱۰/۵۸٪)، چای سبز (۱۱/۴۶٪) و فصل بهار (۱۱/۴۳٪) گزارش شده است و همچنین اثر متقابل نیز تفاوت معنی داری را در میزان درصد پلی فنل پارامترهای اندازه گیری شده نشان می دهد. بیشترین میزان ترکیبات پلی فنلی در نمونه های چای سبز بهار فومن (۱۲/۳۷٪) و چای سبز تابستانه فومن (۱۲/۲۹٪) و کمترین میزان آن در چای سیاه تابستانه لاهیجان (۶/۰۶٪) مشاهده گردید. همچنین بالاترین میزان کافئین در چای سبز بهار فومن و کمترین مقدار آن در برگ سبز تابستانه لاهیجان گزارش گردید. بعلاوه میزان ترکیبات فنلی و به دنبال آن فعالیت انتی اکسیدانی در مناطق مسطح (فومن) بیشتر از مناطق کوهپایه (لاهیجان) اندازه گیری گردید.

۴- نتیجه گیری کلی

با توجه به اهمیت کیفیت چای و تاثیر عوامل متعدد بر آن، این پژوهش برای تعیین تاثیر فراوری (برگ سبز خام، چای سبز و چای سیاه)، تغییرات فصلی (فصل های بهار و تابستان) و مناطق برداشت در ترکیبات شیمیایی چای مانند میزان ماده خشک، کافئین، ترکیبات فنلی، فعالیت آنتی اکسیدانی (مهار DPPH) در دو منطقه شرق گیلان (شهرستان لاهیجان) و غرب گیلان (شهرستان فومن) انجام گرفت. به طور کلی نتایج نشان داد که میزان رطوبت در چای سبز بهار منطقه فومن در بیشترین حالت خود و چای سبز تابستانه منطقه فومن کمترین مقدار را دارا بود. علاوه بر این بیشترین میزان ترکیبات پلی فنلی که ترکیبات عطری و طعم دهنده چای محسوب می شوند، در چای سبز بهار

۵- منابع

[1]Kim Y,Goonder KL,Park JD,Chio J,Talcott ST,2011.Changes in antioxidant phytochemicals and volatile composition of camellia sinensis by oxidation

during tea fermentation.Food chemistry 129:1331-1342.

[2]Hasanpour Asil, M., 1998, Tea Cultivation and Tea Technology, University of Guilan Press.

- [3]Hojtansari, R., Hassanpour Asil, M., Hatamzadeh, A., Rabiei, B., Rufigari Haghighat, S., 2008, Changes in Theaflavin and Tharobigen during Fermentation (Oxidation) and its Effect on Transparency and Total Color in Black Tea, *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*.
- [4]Gulati,A.and Ravindranath,S.D.,1996.Seasonal variations in quality of kangta Tea(*Camellia sinensis*(L.)O Kuntze)in Himachal Pradesh.
- [5]Karori SM,Wachira FN,Wanyoko JK,Negure RM,2007.Antioxidant capacity of different types of tea products.*African Journal of Biotechnology* 6(19)2287-2296.
- [6]Cabrera,C.,Gimenez,R.,Lopez MC,2003.Determination of tea composition with antioxidant activity.*Journal of Agriculture and Food chemistry* 51:4427-4435.
- [7]Juliani,H.R.and Simon,J.E. 2002.Antioxidant activity of Basil.In:Trends in new crops and new uses(Eds.Janick,J.and Whipkey,A.)575-579.American society for Horticultural Science Press,Alexandria.
- [8]Koc WZ,Kalbarczyk J,Influence of storage on the quality of natural antioxidants in fruit beverages.*Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 57(2):223-225.
- [9]Yamauchi,Y.Nakamura,A.Kohno,I.Hatanaka,K.K itai,M.and Tanimoto,T. 2008. Quasi-flow injection analysis for rapid determination of caffeine in tea using the sample pre-treatment method with a cartridge column filled with polyvinylpyrrolidone .*Journal of chromatography* 1177:190-194.
- [10]Wanyika HN,Gatebe EG,Gitu LM,Ngumba EK,Maritim CW,2010.Determination of caffeine content of tea and instant coffee brands found in the Kenyan market.*African Journal of Food Science* 4(6):353-358.
- [11]Siniya VR,Mishra HN,2009.FT-NIR spectroscopy for caffeine estimation in instant green tea powder and granules.*LWT-Food Science and Technology* 42:998-1002.
- [12] Fernandez PL,Martin MJ,Gonzalez AG,Pablo F.2000.HPLC determination of catechins and caffeine in tea differentiation of green.black and instant teas.*The Royal society of chemistry* 125:421-425.
- [13] Nasirirad, R., Haddad Khodaparast, M., Elhamirad, A., Ruffigiri Haghighat, Sh. Investigating the Impact of the Harvest Season and Brewing Conditions on Total Phenolic Compounds of Iranian Green Tea,*Journal of Research in Science and Technology Iranian Food*, Vol. 8, No. 4, Winter, 2012, p. 349.
- [14]Farahmanfar, R. and Aziminezhad, H. 2021. The Effect of Placitation, Rubbing, Fermentation and Drying of Gilani Black Tea on Phenolic Content and Antioxidant Properties. *Journal of Food Science & Technology* , 18(112).
- [۱۵] Yaghmaeian Mahabadi, N. Nobahar Deilami, N. Rahimi Moshkeleh, M. and Fatami Choukani, A. 2020. The Effect of Topography on Soil Properties, Yield and Tea Quality in Lahijan Region. *Journal of Crop Engineering*, 42(4), pp.55-74.
- [16] Lakin, A. 1989. *Food Analysis. Practical Handout*. Reading University, UK.
- [17]ISO/FDIS 14502-1., 2004, Determination of substancescharacteristic of green and black tea.
- [18] Turkmen, N., Sarı, F. and Velioglu, Y.S., 2009. Factors affecting polyphenol content and composition of fresh and processed tea leaves. *Akademik Gıda*, 7(6), pp.29-40.
- [19] Roufigeri Haghighat, S., Sabouri Helestani, p., Cheraghi, K., Shokgar, A.2009.Investigating the effect of harvest time Green Tea Leaf on the Quality of Black Tea, *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, Vol. 13, No. 40
- [20] Raftani Amiri, Z. and Maddah, P., 2015. Investigation on total poly phenols and caffeine contents in green and black tea and instant powder of them. *Journal of Food Technology Research*, Vol. 25, No. 3.
- [21] Hara,Y.,2001.Green tea health benefits and applications.Marcel Dekker Inc,New York.
- [22] Zhang, C., Suen, C.L.C., Yang, C. and Quek, S.Y., 2018. Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade. *Food chemistry*, 244, pp.109-119.
- [23] Okemwa, E.K. and Silvanuss, K.K., 2020. Effects of different fertilizer rates on total polyphenols and catechins of selected clones of green tea (*Camellia sinensis* L.[O] Kuntze). *World J. Appl. Chem*, 5(2), pp.13-19.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The impact of processing, time, and harvesting location on the antioxidant activity and chemical compounds of tea

Negin Samizadegan¹, Mandana Tayefe², Leili Fadaei Eshkiki³, Azin Nasrollahzadeh⁴, Sahar Doaei⁵

1- Graduated in Food Science and and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

*2-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

3-Graduated in Food Science and and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

4-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

5-Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran.

ARTICLE INFO

Article History:

Received:2024/6/25

Accepted:2024/12/1

Keywords:

caffeine,
cultivation region,
polyphenol,
processing method,
tea

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.288.

*Corresponding Author E-

m.tayefe@yahoo.com

ABSTRACT

Tea, after water, is one of the most consumed beverages in the world due to its chemical compounds such as polyphenols, antioxidant compounds, and caffeine, which are beneficial. Factors such as tea leaf processing, harvest time, and cultivation region can affect the composition of tea leaves. This research was conducted in a factorial design and as a completely randomized design, with independent variables including raw green tea leaves, processed green tea, and black tea, and dependent variables in this design include measuring the amount of polyphenols, antioxidant activity, and The amount of caffeine and soil properties have been carried out in two harvest seasons: spring (May) and summer (July) and two cultivation zones in the east of Guilan (Lahijan) and west of Guilan (Fouman). According to the results, the interaction effects were, the moisture content of spring green tea in Fouman region (78.83%) was at its highest and summer green tea in Fouman region (6.22%) had the lowest value. The highest amount of solid matter was reported in summer green tea from the Fuman region (93.76%), while the lowest amount was found in spring green tea leaves from Fuman (21.20%) Additionally, the highest caffeine content was observed in spring green tea from Fuman (2.65%), and the lowest amount was in summer green tea leaves from Lahijan (1.87%) The highest and lowest levels of antioxidant compounds were also seen in both spring and summer green tea leaves from Lahijan, as well as in summer black tea from Fuman (57.27%). Furthermore, the highest amount of polyphenols was observed in the spring green tea from Fouman (12.37%), while the lowest amount was found in the summer green tea from Fouman (12.29%).



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

امکان استفاده از داربست‌های هوشمند متشکل از موسیلاژ دانه به و کاپاکاراگینان به عنوان داربست سلولی در شرایط

نرمال فیزیولوژیکی و تغییر pH

ندا فرهادی^۱، نفیسه سلطانی زاده^{۲*}، الهه مسائلی^۳، محسن ربانی

۱- دانشجوی دکتری، دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- دانشیار، دانشکده مهندسی کشاورزی، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران

۳- استادیار، پژوهشگاه علوم سلولی، موسسه علمی-پژوهش رویان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲

کلمات کلیدی:

داربست هوشمند،

کاپاکاراگینان،

موسیلاژ دانه به،

تغییر pH

زنده‌مانی

DOI:10.22034/FSCT.22.159.301.

* مسئول مکاتبات:

هدف از پژوهش حاضر بررسی قابلیت رشد سلولی بر روی داربست های هوشمند کاراگینان (Carr) و ترکیب کاراگینان و موسیلاژ دانه به (Carr:Quc) به منظور تولید گوشت آزمایشگاهی می‌باشد. در این پژوهش، دو هیدروژل کاپاکاراگینان با غلظت ۱/۵٪ و کاپاکاراگینان و موسیلاژ دانه به با نسبت ۱:۱ و غلظت نهایی ۱/۵٪ با کمک محلول کلرید پتاسیم ۵٪ تشکیل شدند. سپس توانایی پاسخ‌دهی این دو داربست به تغییر pH محیط مورد ارزیابی قرار گرفت و زنده‌مانی رده سلولی C2C12 در pH ۷/۴ و در هنگام تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵ بررسی شد. بررسی تغییر تورم با تغییر pH محیط (pH ۷-۱) نشان داد که برای داربست Carr بیشترین میزان تورم در pH ۵ و برابر با ۱۴۵٪ به دست آمد که با میزان تورم در سایر pH ها تفاوت معنی داری نشان داد ($P<0/05$). بیشترین میزان تورم برای داربست Carr:Quc نیز در pH ۵ و به میزان ۴۲۸٪ مشاهده شد که با میزان تورم در سایر pH ها تفاوت معنی داری نشان داد ($P<0/05$). همچنین تغییر تورم داربست‌ها با تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵ ارزیابی شد. داربست Carr هیچ تغییر توری در زمان‌های مورد مطالعه نشان نداد در حالی که تغییر تورم داربست Carr:Quc بعد از قرار گرفتن در pH ۵/۵ به مدت ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۸۰ و ۳۶۰ دقیقه نسبت به pH ۷/۴ تفاوت معنی داری داشت ($P<0/05$). ارزیابی زنده‌مانی سلول‌های C2C12 نیز بر روی داربست Carr:Quc در شرایط نرمال و تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵ نشان داد که زنده‌مانی سلول‌ها در شرایط نرمال بیشتر بود. بررسی زنده‌مانی و رشد سلول‌ها در داربست Carr:Quc به مدت ۱۵ روز نشان داد که داربست مورد نظر سمیتی اعمال نکرد و سلول‌ها زنده‌مانی خود را در طول کشت حفظ کرده و در روزهای ۱۴ و ۱۵ کشت، تمایل تشکیل به توده‌های سلولی سه‌بعدی (اسفروئید) نشان دادند. یافته‌های این تحقیق می‌تواند راه‌گشای طراحی داربست‌های متشکل از بیوپلیمرهای خوراکی برای تسهیل مهندسی بافت گوشت آزمایشگاهی باشد.

۱-مقدمه

در دنیای به سرعت در حال تکامل امروزی، یکی از چالش‌های مهمی که با آن روبرو هستیم، نیاز فوری به یک منبع پروتئین سالم است که عوارض زیست محیطی تولید آن نسبت به تولید گوشت سنتی به شدت کاهش یابد. با رشد روزافزون جمعیت و تشدید نگرانی‌های زیست محیطی، روش‌های سنتی تولید پروتئین، از جمله کشتار حیوانات به طور فزاینده‌ای باعث تخریب محیط زیست می‌شوند. یکی از راه حل‌های نوآورانه در این راستا تولید گوشت آزمایشگاهی است که پایداری محیط زیست، سلامت انسان و ملاحظات اخلاقی را در اولویت قرار خواهد داد (۱ و ۲). این روند نیازمند توسعه‌ی تکنولوژی‌های نوین مانند داربست‌های هوشمند است که بتوانند به بهبود کیفیت بافت‌های تولیدی کمک کرده و در عین حال پاسخگوی تغییرات محیطی باشند. داربست‌های هوشمند با ویژگی‌های خاص خود، می‌توانند نقش مهمی در رشد و تکثیر سلول‌ها ایفا کنند و به بهینه‌سازی بافت‌های تولیدی کمک کنند (۳ و ۴). از آن جایی که سلول‌های بنیادی، میوبلاست‌ها و یا سایر سلول‌های پیش‌ساز گوشت، متکی به لنگرگاه هستند، می‌بایست داربست یا بستری جهت وقوع تکثیر و تمایز این سلول‌ها در نظر گرفت. چنین بستری باید دارای خصوصیات مناسبی باشد تا فرایند رشد سلولی به درستی هدایت شود. داربست‌ها در شکل، ترکیبات تشکیل‌دهنده و سایر خصوصیات فیزیکی و مکانیکی با یکدیگر متفاوت هستند؛ به این ترتیب می‌توان داربستی را انتخاب کرد که توسط آن بتوان مورفولوژی بافت و یا سلول عضلانی را بهینه نمود. داربست‌های متخلخل خوراکی و هوشمند که به تغییر شرایط محیطی حساس می‌باشند، همراه با تغییر pH و یا دما، حداقل ۱۰٪ تغییر در ناحیه سطحی آن‌ها رخ می‌دهد که این موضوع باعث بهبود چسبندگی، تکثیر و تمایز سلول‌ها خواهد شد. به طور کلی مکانیسم این عمل به درستی مشخص نیست اما تغییرات سطحی و به تبع آن تحریکات مکانیکی که ایجاد می‌شوند باعث بهبود رشد سلول‌ها خواهند شد (۳). در واقع، کشش مکانیکی که به صورت

دوره‌ای در این هیدروژل‌ها ایجاد می‌شود علاوه بر تأثیر در روند فرآیند رشد و تکثیر سلولی، بیان پروتئین‌هایی مانند الاستین و کلاژن نیز تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. هم‌چنین در برخی مواقع فسفریلاسیون کیناز خارج سلولی تسریع شده که این موضوع به خودی خود بر روند تکثیر سلولی اثر قابل‌توجهی دارد (۵، ۶ و ۷). بیوپلیمرهای هوشمند، در زمینه‌هایی مانند مهندسی بافت و پزشکی ترمیمی توجه زیادی را به خود جلب کرده‌اند. ویژگی پاسخ‌دهی به آن‌ها به شرایط محیطی، اجازه می‌دهد که به طور مؤثر با سیستم‌های بیولوژیکی تعامل داشته باشند که این موضوع برای کاربردهای پزشکی و کشت سلولی بسیار حیاتی است. در واقع، این بیوپلیمرها قادرند که ماتریس خارج سلولی (ECM) را شبیه‌سازی کنند و محیطی حمایتی برای چسبیدن و رشد سلول‌ها ایجاد کنند که این فرایند روندی تسهیلی در جهت تجدید بافت‌ها محسوب می‌شود (۸). در زمینه تولید گوشت آزمایشگاهی نیز، ویژگی پاسخ‌دهی این بیوپلیمرها می‌تواند در پیشگیری از آتروفی در کشت سلولی مؤثر باشد. در تولید گوشت آزمایشگاهی، جلوگیری از آتروفی و حفظ سلامت و رشد سلول‌ها از جمله چالش‌های اساسی در فرآیند کشت سلولی است که استفاده از بیوپلیمرهای حساس به تغییرات محیطی، می‌تواند نقش مهمی در بهینه‌سازی این فرآیند ایفا کند. در واقع، انقباض در محیط کشت سلولی به دلیل توانایی پاسخ‌دهی، می‌تواند به تولید میوفیبرهای سالم کمک کرده و از آتروفی جلوگیری کند. این انقباضات مکانیکی در محیط کشت سلولی موجب تحریک و تقویت رشد سلول‌های عضلانی می‌شود که در نهایت به بهبود کیفیت و کارایی تولید گوشت کشت‌شده می‌انجامد (۳).

در این میان پلیمرهایی که به تغییرات pH حساس هستند، می‌توانند به طور خاص در بهبود ساختار داربست‌ها و رشد سلول‌های عضلانی مؤثر باشند. این بیوپلیمرها متشکل از گروه‌های عاملی قابل یونیزاسیون می‌باشند. در واقع این دسته از بیوپلیمرها دهنده و یا گیرنده هیدروژن هستند. به عنوان

pH حساس می‌باشد. گزارش شده است که صمغ دانه به در $\text{pH} = 1/2$ کمترین میزان تورم را نشان می‌دهد اما در $\text{pH} 7/4$ = بیشترین میزان تورم را دارد (۱۶ و ۱۷). ترکیب کاپاکاراگینان و موسیلاژ دانه به نیز هیدروژلی را ایجاد می‌کند که دربرگیرنده گروه‌های سولفات و کربوکسیلیک اسید بوده و بنابراین خصوصیت پاسخ به تغییر pH محیط را دارا می‌باشد. در مطالعات مختلفی به این نکته اشاره شده است که داربست‌های متشکل از آلژینات، کیتوزان و سلولز و یا کلاژن که با تغییر کمی در دما و یا pH حداقل ۱۰٪ تغییر در اندازه سطح آن‌ها ایجاد می‌شود، استرس مکانیکی را در محیط کشت سلولی ایجاد می‌کنند که اگر این استرس به صورت دوره‌ای اعمال شود، باعث بهبود چسبندگی و تکثیر سلول‌ها می‌شود (۳).

بنابراین، هدف این مطالعه بررسی اثر تغییر pH بر تغییر تورم (کشش مکانیکی) داربست هوشمند کاپاکاراگینان (Carr) و داربست هوشمند ترکیبی موسیلاژ دانه به و کاپاکاراگینان (Carr:Quc) است. سپس زنده‌مانی میوبلاست‌های موشی (C2C12) بر روی داربست‌ها در شرایط نرمال (۷/۴) و سپس در محدوده تغییر فیزیولوژیک (۷/۴-۵/۵) مورد ارزیابی قرار می‌گیرد تا اثر این داربست‌های هوشمند بر تکثیر سلول‌ها مشخص شود. هم‌چنین زنده‌مانی و رشد سلول‌ها در داربست Carr:Quc به مدت ۱۵ روز بررسی می‌شود تا قابلیت داربست Carr:Quc به عنوان یک داربست جدید در جهت تولید گوشت آزمایشگاهی آشکار گردد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

دانه به از یک داروخانه گیاهی در اصفهان تهیه شد. پودر کاپاکاراگینان با برند BLG، کره جنوبی مورد استفاده قرار گرفت. کلرید پتاسیم، بافر فسفات سدیم و اسید کلریدریک از شرکت مرک آلمان خریداری شدند. رده سلولی C2C12 از ACCT، آمریکا تهیه شد. مواد مورد نیاز در کشت سلول شامل محیط کشت پایه (DMEM)، سرم جنین گاوی، محلول فسفات بافر، آنزیم تریپسین، آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین از شرکت Gibco، آمریکا به دست آمد. مواد

مثال پلیمرهای آنیونی که دارای گروه‌های اسیدی مانند کربوکسیلیک (COOH) و یا سولفات (SO_3^-) هستند، در pH پائین هیدروژن دریافت می‌کنند و در pH بالا هیدروژن از دست می‌دهند؛ بنابراین با افزایش pH متورم می‌شوند (۹ و ۱۰). در واقع با افزایش pH، یونیزاسیون گروه‌های کربوکسیلیک اسید، باعث ایجاد دافعه الکتروستاتیک در بین زنجیره‌های پلیمری شده و بدین ترتیب پیوندهای هیدروژنی شکسته می‌شوند؛ در نهایت ساختار باز شده و نفوذ آب بیشتر می‌شود (۱۱).

در این رابطه، پلی‌ساکاریدهای طبیعی هوشمند بسیار مورد توجه هستند. به خصوص پلی‌ساکاریدهایی که از منابع دریایی استخراج می‌شوند به دلیل سمیت کم و سازگاری زیستی به طور گسترده‌ای در صنایع غذایی، دارویی و بیوپزشکی استفاده می‌شوند. به عنوان مثال، کاراگینان که از نوعی جلبک قرمز استخراج می‌شود و متعلق به خانواده‌ی رودوفیسا می‌باشد، پلی‌ساکاریدی با ساختار و عملکرد قابل ملاحظه به شمار می‌آید. در بین انواع کاراگینان، کاپاکاراگینان مصرف گسترده‌ای در صنعت غذا و دارو به خود اختصاص داده است. کاپاکاراگینان (یک گالاکتان سولفات)، به طور گسترده در صنایع غذایی به عنوان یک عامل ژله کننده استفاده می‌شود. تشکیل یک ژل برگشت‌پذیر حرارتی در هنگام خنک شدن محلول کاپاکاراگینان، مربوط به تبدیل حالت کویل به مارپیچ می‌باشد. دما و محتوای یونی، این تغییر ساختاری و در نتیجه تشکیل ژل پایدار را کنترل می‌باشد (۱۱، ۱۲ و ۱۳).

به همین ترتیب پلی‌ساکاریدهای حاصل از دانه‌های گیاهی به دلیل زیست‌سازگاری بالایی که دارند در حوزه‌های مختلف مهندسی بافت و کپسوله‌سازی سلولی مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۴ و ۱۵). در این خصوص، موسیلاژ دانه به، به دلیل خصوصیتی همچون زیست تخریب‌پذیری، زیست سازگاری، غیر سمی بودن و دسترسی زیستی مورد توجه علوم پزشکی قرار گرفته است. به دلیل حضور میزان قابل‌توجهی اورونیک اسید در ساختار موسیلاژ دانه به، این صمغ یک بیوپلیمر هوشمند تلقی شده که نسبت به تغییرات

قرار داده شدند. هیدروژل‌های حاصله در آون خلا تحت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شده و جهت ارزیابی‌های بعدی مورد استفاده قرار گرفتند (۱۹).

۲-۴- بررسی تغییر تورم داربست‌ها با تغییر pH

تغییر تورم داربست‌ها در pH های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ اندازه‌گیری شد. هیدروژل‌ها پس از تهیه، تحت خلا خشک شدند و سپس در بافرهایی با pH مورد نظر به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از توزین (w1)، مجدداً به مدت ۲۴ ساعت در آون تحت دمای ۵۰ درجه سلسیوس خشک شده و وزن آن‌ها ثبت شد (w2). میزان تورم هیدروژل‌ها توسط رابطه ۱ اندازه‌گیری شد (۱۳).

$$\text{رابطه (۱)} \quad \text{تورم (\%)} = \frac{w1-w2}{w2}$$

۲-۵- بررسی تغییر تورم داربست‌ها با تغییر pH ۵/۵ و ۷/۴

بدین منظور، هیدروژل‌های Carr و Carr:Quc تهیه شده و تحت خلا خشک شدند. سپس هیدروژل‌ها (۸ گروه متفاوت از هر دو هیدروژل) به مدت ۲۴ ساعت در بافر فسفات سدیم در pH ۷/۴ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. پس از ۲۴ ساعت، هیدروژل‌ها خارج شده و توزین شدند. بعد از آن بلافاصله در مدت زمان‌های متفاوت شامل ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۸۰، ۳۶۰ و ۴۸۰ دقیقه در بافر فسفات سدیم با pH ۵/۵ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند. سپس در فواصل زمانی ذکر شده خارج شده و مجدداً توزین شدند تا مشخص شود در کدام گروه میزان تورم، افزایش داشته است. جدول ۱ بیانگر شرایط ۸ تیمار متفاوت برای هر دو هیدروژل است.

جدول ۱- شرایط تغییر pH برای تیمارهای مختلف

Treatment	Conditions
TRT1	24 h in pH 7.4 and 5 min in pH 5.5
TRT2	24 h in pH 7.4 and 15 min in pH 5.5
TRT3	24 h in pH 7.4 and 30 min in pH 5.5
TRT4	24 h in pH 7.4 and 45 min in pH 5.5
TRT5	24 h in pH 7.4 and 60 min in pH 5.5
TRT6	24 h in pH 7.4 and 180 min in pH 5.5
TRT7	24 h in pH 7.4 and 360 min in pH 5.5

مورد نیاز در رنگ آمیزی سلول‌ها شامل کلسین ای ام، ایتیدیوم بروماید، پارافورمالدئید، تریتون ایکس ۱۰۰، دیپی، فالوئیدین و هوکست با برند Thermo Fisher Scientific، آمریکا استفاده شدند.

۲-۲- استخراج موسیلاژ دانه به

استخراج موسیلاژ دانه به توسط آب گرم دیونیزه انجام شد. دانه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در معرض آب گرم با دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و همزده شدند تا موسیلاژ خارج شود و سپس موسیلاژ به توسط اکستراکتور آزمایشگاهی از دانه جدا شد. موسیلاژ حاصله توسط خشک‌کن انجمادی خشک (دنا و کیوم، ایران) و سپس آسیاب شد (۱۸).

۲-۳- تهیه هیدروژل کاپاکاراگینان (Carr) و هیدروژل متشکل از کاپاکاراگینان و موسیلاژ دانه به (Carr:Quc)

جهت تهیه هیدروژل کاپاکاراگینان، مقدار معینی از پودر کاپاکاراگینان در آب دیونیزه حل شد تا محلول ۱/۵ درصد وزنی-حجمی (w/v) حاصل شود. برای تهیه هیدروژل Carr:Quc، پودر کاپاکاراگینان و موسیلاژ به، به نسبت ۱:۱ با غلظت نهایی ۱/۵ درصد وزنی-حجمی با یکدیگر ترکیب شده و در آب دیونیزه حل شدند تا یک محلول کلئیدی ایجاد شود. سپس محلول‌های حاصله در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه همزده شد تا توزیع یکنواختی از ذرات به دست آید. محلول‌های داغ Carr و Carr:Quc به صورت جداگانه در قالب‌های دایره‌ای شکل با قطر ۱۷ میلی-متر از جنس پلی‌متیل متاکریلات ریخته شدند و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای محیط سرد شد. سپس جهت تشکیل ژل، هیدروژل‌های کاپاکاراگینان در حمام کلرید پتاسیم (KCl) ۵ درصد وزنی-حجمی به مدت یک ساعت و در دمای محیط

۶-۲- بررسی زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست‌ها با

تغییر pH

بدین منظور سلول‌ها به تعداد ۱,۰۰۰,۰۰۰، بر روی هیدروژل Carr:Quc کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تکثیر با pH ۷/۴ قرار گرفتند. سپس محیط کشت تعویض شد و محیط رشد با pH ۵/۵ به مدت ۱۵ دقیقه اضافه شد. جهت کاهش pH محیط کشت از اسیدکلریدریک ۱ نرمال استفاده شد. پس از ۱۵ دقیقه، محیط کشت خارج شد و داربست‌ها با نمک فسفات بافر شستشو داده شدند و سپس محیط رشد معمولی با pH ۷/۴ اضافه شد و داربست‌ها به مدت ۲۴ ساعت دیگر در شرایط نرمال تکثیر قرار گرفتند. هیدروژل‌های Carr:Quc شاهد نیز به مدت ۴۸ ساعت در شرایط نرمال تکثیر قرار گرفتند. در نهایت، برای بررسی زنده‌مانی سلول‌ها از رنگ‌آمیزی کلکسین ای ام و ایتیدیوم بروماید استفاده شد و سپس از میکروسکوپ فلورسانس (Echo revolution آمریکا) جهت تصویربرداری استفاده شد (۲۰).

۷-۲- بررسی زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست

Carr:Quc در شرایط نرمال

بدین منظور جهت بررسی چسبندگی سلول‌ها، هسته سلول و پروتئین اکین رشته‌ای به ترتیب با دی‌پی و فالوئیدین رنگ‌آمیزی شدند. بدین ترتیب که تعداد ۱,۰۰۰,۰۰۰ سلول بروی داربست‌ها کشت داده شد و ۱ روز پس از کشت سلولی، سلول‌ها توسط پارافورمالدهید ۴ درصد به مدت ۱۵ دقیقه تثبیت شدند. بعد از آن داربست‌ها با فسفات بافر (PBS) شستشو شده و به منظور نفوذپذیر کردن غشای سلولی، محلول ۰/۱ درصد تربتون ایکس ۱۰۰ اضافه شد. مجدداً پس از شستشو با PBS رنگ فالوئیدین به مدت یک ساعت افزوده شد و داربست‌ها با PBS شستشو داده شدند. سپس رنگ دی‌پی اضافه شد و بعد از ده دقیقه داربست‌ها با PBS شسته شده و جهت تصویربرداری سلول‌ها از میکروسکوپ کانفوکال (ZEISS، آمریکا) استفاده شد. بعلاوه، جهت بررسی زنده‌مانی سلول‌ها طی ۱۵ روز، از رنگ آمیزی کلکسین ای ام و ایتیدیوم بروماید استفاده شد و سپس از میکروسکوپ فلورسانس جهت تصویربرداری استفاده شد. هم‌چنین رنگ‌آمیزی کلکسین ای ام و هوکست در روزهای ۱ و ۱۴ کشت سلول انجام شد. بدین ترتیب که محلول ۱ میلی مولار

کلکسین ای ام و ۲۰ میلی مولار هوکست به نسبت ۱:۱۰۰۰ با محیط کشت کامل رقیق شده و به محیط رشد سلول اضافه شدند. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سلسیوس و غلظت ۵٪ CO₂ انکوبه شدند. سلول‌ها با استفاده از میکروسکوپ کانفوکال تصویربرداری شدند. جهت بررسی مورفولوژی سلول توسط میکروسکوپ SEM (ZEISS، آلمان) ۱۴ روز پس از کشت، داربست مورد نظر از محیط کشت خارج شده و با PBS شسته و قبل از تصویربرداری توسط خشک‌کن انجمادی خشک شد و سپس تصویر نمونه مورد نظر در بزرگنمایی ۱۰ میکرومتر گرفته شد (۲۱).

۸-۲- آنالیز آماری

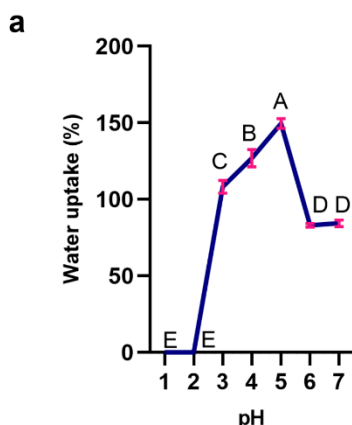
تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SAS صورت گرفت. با توجه به نوع آزمایش، برای ارزیابی تغییرات تورم در pHهای مختلف از آزمون t-Student و در آزمایش بررسی تورم داربست از آنالیز واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) بر مبنای حداقل تفاوت معنی‌دار استفاده شد. جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار GraphPad Prism استفاده شد. نمودارها به صورت گراف‌های میله‌ای و بر اساس انحراف معیار (s.d.) حداقل ۳ تکرار ترسیم شدند. معنی‌داری نمونه‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ به دست آمد.

۳- نتایج و بحث

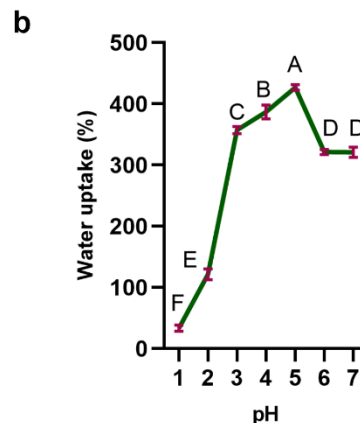
۳-۱- بررسی اثر تغییر pH بر تغییر تورم داربست‌ها

شکل ۱-ا روند تغییر تورم هیدروژل Carr را نسبت به تغییر pH نشان می‌دهد. هیدروژل‌ها به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس در pHهای مورد نظر قرار گرفتند. همان‌طور که مشاهده می‌شود در pH ۱ و ۲، افزایش تورمی دیده نمی‌شود و این هیدروژل توانست آب جذب کند. اما با افزایش pH، روند افزایشی در جذب آب دیده شد. میزان تورم در pH=۳ به میزان ۱۰۸٪، در pH=۴ برابر با ۱۲۶٪ و در pH=۵ به صورت میانگین ۱۴۵٪ بود. اما با افزایش pH، روند کاهشی مشاهده شد و در pH=۷ میزان تورم به حدود ۹۰٪ رسید. به همین ترتیب شکل ۱-ب روند افزایش تورم هیدروژل Carr:Quc را با تغییر pH نشان می‌دهد. در مورد هیدروژل Carr:Quc نیز روند مشابه تقریباً مشاهده شد. با این تفاوت که این هیدروژل در pH=۱ به تورمی

pH رسید. اما با افزایش pH، تورم کاهش یافت تا به تورمی در حدود ۳۲۵٪ در pH=۷ رسید.



در حدود ۳۵٪ و در pH=۲ به تورمی در حدود ۱۲۵٪ رسید. روند تورم، تا pH=۵ افزایشی بود تا به تورمی در حدود ۴۲۸٪ در این



شکل ۱- تغییر تورم داربست Carr (a) و داربست Carr:Quc (b) با تغییر pH. حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

مورد بیوپلیمرهای هوشمند و حساس به تغییر pH و کاربرد آن‌ها به خصوص در سیستم‌های تحویل دارویی وجود دارد. به عنوان مثال لوهانی و همکاران (۲۰۱۶)، از ترکیب کاپاکاراگینان و سدیم کربوکسی متیل سلولز، شبکه هیدروژل حساس به pH ساختند. آن‌ها رهایش داروی ایبuprofen را از این شبکه در دو ۷/۴ و ۱/۲ pH بررسی نمودند. نتایج نشان دادند که این هیدروژل در pH=۷/۴ حدود ۷۰۰ درصد اما در pH=۱/۲ حدود ۲۰۰ درصد تورم داشت. در pH=۷/۴ به دلیل یونیزاسیون گروه‌های کربوکسیلیک اسید و نفوذ بیشتر آب به داخل ساختار و باز شدن شبکه، رهایش به طور کامل صورت گرفت اما در pH=۲ میزان رهایش کمتر بود (۲۲). هم‌چنین در مطالعه دیگری از شبکه هیدروژل کاپاکاراگینان و کربوکسی متیل سلولز جهت تولید سیستم تحویل دارویی پروبیوتیک استفاده شد. در این مطالعه هدف، تحویل باکتری پروبیوتیک *لاکتوباسیلوس پلاتناروم* در محل کلون بود. میزان تورم شبکه و رهایش دارو در دو ۷/۴ و ۱/۲ pH بررسی شد. نتایج نشان دادند که تورم در pH=۷/۴ و به تبع آن رهایش دارو در این pH به طور قابل ملاحظه‌ای بیشتر بود و به ۶۰۰ CFU/g رسید در حالی که در pH=۱/۲ به علت بسته شدن شبکه رهایش دارو ۱۸۰ CFU/g گزارش شد (۱۲).

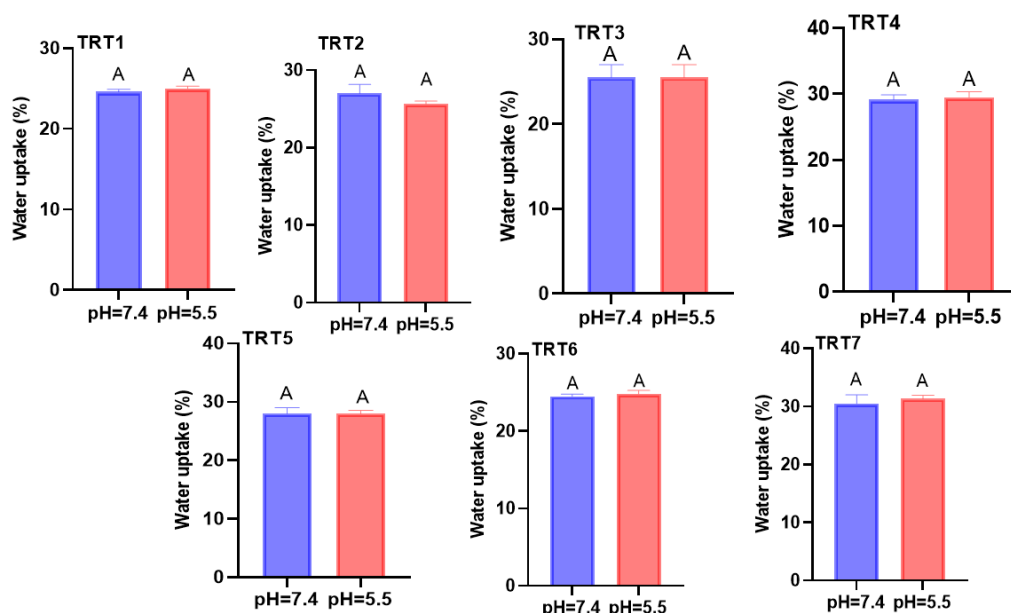
۳-۲- بررسی تغییر تورم داربست‌ها در اثر تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵

روند تغییر تورم و یا درصد جذب آب داربست‌های Carr و Carr:Quc، مطابق با مکانیسمی است که در مطالعات مختلف به آن اشاره شده است. هر دو هیدروژل دربرگیرنده پلیمرهای آنیونی هستند. بنابراین در ساختار خود گروه‌های عاملی اسیدی مانند کربوکسیلیک اسید و یا سولفات دارند. این گروه‌ها در pH های اسیدی، هیدروژن را در ساختار خود حفظ می‌کنند و به شکل COOH و OSO_3H هستند و بالعکس در pH بالاتر شروع به از دست دادن الکترون کرده و به COO^- و OSO_3^- تبدیل می‌شوند. با افزایش یونیزاسیون گروه‌های کربوکسیلیک اسید و سولفات، دافعه الکتروستاتیک در بین زنجیره‌های پلیمری بیشتر شده و بدین ترتیب پیوندهای هیدروژنی شکسته می‌شوند، در نهایت ساختار باز شده و نفوذ آب بیشتر می‌شود (۱۲).

روند جذب آب در pH=۱-۷ نشان داد که هر دو داربست Carr و Carr:Quc در pH ۵ میزان جذب آب بیشتری نسبت به pH ۷ داشتند. با توجه به اینکه در بیوپلیمرهای حساس به pH، یونیزاسیون گروه‌های اسیدی و یا بازی موجود در ساختار هیدروژل‌ها تعیین کننده میزان جذب آب آن بیوپلیمر است، انتظار می‌رود که در مورد هیدروژل‌های Carr و Carr:Quc، یونیزاسیون گروه‌های عاملی اسیدی و به تبع آن دافعه الکتروستاتیک در pH=۵ بیشتر از pH=۷ صورت گرفته باشد. بنابراین برقراری پیوندهای آبدوست بین COO^- و SOO_3^- با مولکول‌های آب منجر به جذب میزان زیاد آب شده است. گزارشات متعددی در

به مدت ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۱۸۰، و یا ۳۶۰ دقیقه در $pH=5/5$ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و سپس تورم اندازه گیری شد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، افزایش تورم معنی‌داری برای هیچ کدام از تیمارها مشاهده نشد. شکل ۳ نیز به همین صورت تغییر تورم را برای داربست Carr:Quc نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در همه تیمارها به غیر از ۵ دقیقه در $pH=5/5$ (TRT1)، افزایش تورم معنی‌داری از $pH=7/4$ به $pH=5/5$ مشاهده شد. طبق نتایج به دست آمده در این بخش، جهت بررسی زنده‌مانی سلول‌ها در شرایط تغییر pH از $7/4$ به $5/5$ ، فقط داربست Carr:Quc مورد ارزیابی قرار گرفت. به دلیل این‌که در تغییر pH از $7/4$ به $5/5$ در مورد Carr تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

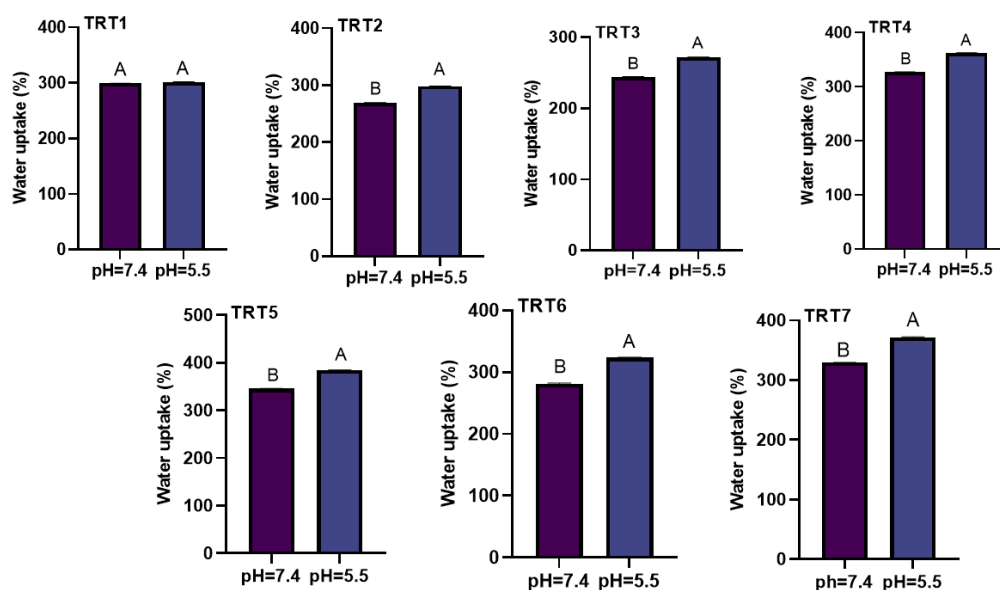
با توجه به نتایج بخش قبل، دو $7/4$ و $5/5$ pH به عنوان نقاطی برای تغییر pH در نظر گرفته شد. $pH=7/4$ تا $5/5$ بازه pH فیزیولوژیک در نظر گرفته می‌شود. $pH=7/4$ شرایط نرمال فیزیولوژیک و بهینه کشت سلولی است در حالی‌که در شرایط غیرنرمال فیزیولوژیکی مانند پاسخ‌های تورمی و ایجاد زخم، pH ناحیه مورد نظر ممکن است تا $5/5$ کاهش یابد. بنابراین با توجه به نتایج مرحله قبل که بیشترین تورم در $pH=5$ حاصل شد و همچنین با توجه به بازه pH فیزیولوژیک، دو $7/4$ و $5/5$ pH به عنوان نقاط تغییر pH در نظر گرفته شد. شکل ۲، تغییر تورم از $pH=7/4$ به $5/5$ را برای داربست Carr در شرایط زمانی متفاوت نشان می‌دهد. همگی تیمارها ۲۴ ساعت در $pH=7/4$ و دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار گرفتند و بعد از آن



شکل ۲- تغییر تورم از $pH=7/4$ به $pH=5/5$ برای داربست Carr. حروف مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0/05$).

دست آمده در این بخش، جهت بررسی زنده‌مانی سلول‌ها در شرایط تغییر pH از $7/4$ به $5/5$ ، فقط داربست Carr:Quc مورد ارزیابی قرار گرفت. به دلیل این‌که در تغییر pH از $7/4$ به $5/5$ در مورد Carr تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

شکل ۳ نیز به همین صورت تغییر تورم را برای داربست Carr:Quc نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود در همه تیمارها به غیر از ۵ دقیقه در $pH=5/5$ (TRT1)، افزایش تورم معنی‌داری از $pH=7/4$ به $5/5$ مشاهده شد. طبق نتایج به



شکل ۳- تغییر تورم از pH ۷/۴ به pH ۵/۵ برای داربست Carr:Quc. حروف متفاوت بیانگر تفاوت معنی‌دار بین تیمارها است ($p < 0.05$).

۳-۳- بررسی زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست

Carr:Quc در شرایط نرمال و تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵

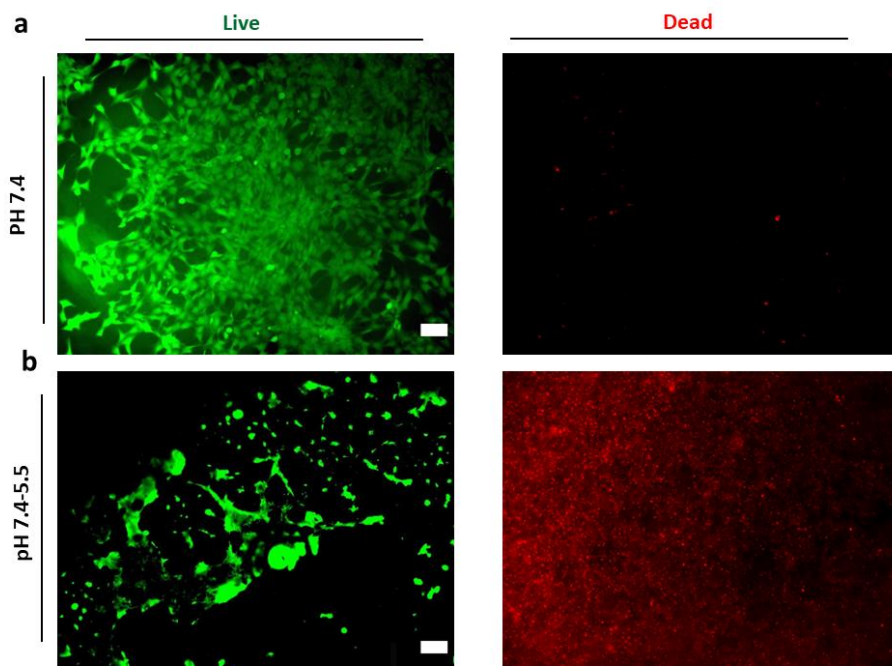
شکل ۴- a و b سلول‌های زنده (سبز) و مرده (قرمز) را ۴۸ ساعت پس از کشت در pH=۷/۴ و تغییر pH از ۷/۴ به ۵/۵ نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌شود، سلول‌ها در شرایط نرمال (شکل ۴-a)، به خوبی رشد کردند و تعداد کمی از سلول‌ها مردند. اما وقتی تغییر pH در محیط کشت انجام شد (شکل ۴-b) و سلول‌ها تنها به مدت ۱۵ دقیقه در شرایط اسیدی و در pH=۵/۵ قرار گرفتند، بخش بیشتری از سلول‌ها مردند و زنده‌مانی سلول‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت.

در مطالعات متعددی گزارش شده است که تغییر pH محیط در مورد داربست‌های حساس به تغییر pH، می‌تواند موجب بهبود فرایند تکثیر، جهت‌گیری و تمایز سلول‌ها شود. به عنوان مثال در مطالعه‌ای هیدروژل سنتزی حساس به تغییر pH، متشکل از دی متیل آمینواتیل متاکریلات (DMAEMA)-۲/ هیدروکسی اتیل متاکریلات به نسبت‌های ۷۰/۳۰، ۸۰/۲۰ و ۹۰/۱۰ ساخته شد و زنده‌مانی و تکثیر سلول‌های فیروبلست موشی (NIH/3T3) در شرایط

اسیدی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان دادند وقتی pH محیط رشد سلول در طول ۳ روز کاهش یافت و به حدود ۵/۵ یا ۶ رسید، سلول‌ها تکثیر بیشتری نسبت به pH نرمال داشتند. به دلیل این‌که داربست‌های هوشمند به تغییرات pH پاسخ داده و متورم شدند؛ در نتیجه، انتقال اکسیژن و مواد مغذی به مرکز داربست افزایش یافته و این موضوع باعث افزایش تکثیر سلول‌ها شده بود. مخصوصاً نسبت ۷۰/۳۰ پاسخ بهتری به تغییرات pH نشان داد (۲۳). اما در مطالعه پیش رو، در مورد هیدروژل Carr:Quc این مورد مشاهده نشد و بالعکس با تغییر شرایط بهینه رشد سلولی، تعداد زیادی از سلول‌ها مردند. وقتی سلول‌ها به دلیل تغییرات pH در محیط کشت سلولی می‌میرند، نشان می‌دهد که داربست‌های پاسخ‌دهنده به pH به طور بهینه عمل نمی‌کنند یا محدوده pH خارج از تحمل سلول‌هاست که عوامل متعددی در این مورد دخالت دارند. به عنوان مثال اگر تغییرات pH بیش از حد شدید باشد، می‌تواند منجر به مرگ سلول شود. بیشتر سلول‌ها در محدوده pH ۷/۲ تا ۷/۴ رشد می‌کنند. انحراف از این محدوده می‌تواند باعث استرس سلولی شود و به آپوپتوز یا نکروز منجر شود. بعلاوه نوسان

مشاهده شد، در بخش کشت سلول، سلول‌ها قادر به تحمل pH خارج از بازه نرمال فیزیولوژیک نبوده و این موضوع منجر به آپوپتوز سلول‌ها شد. اما با توجه به نتایج حاصله و در نظر گرفتن این نکته که داربست‌ها در $pH=1$ تقریباً شبیه بسته خود را حفظ می‌کنند و در $pH=7$ تورم آن‌ها چندین برابر شده و کاملاً باز می‌شوند، می‌توانند به صورت میکرو حامل‌هایی برای استفاده در سیستم‌های تحویل دارویی خوراکی مورد استفاده قرار گیرند.

pH می‌تواند باعث ایجاد یک محیط ناپایدار شود در حالی که سلول‌ها به یک محیط پایدار برای رشد و تکثیر نیاز دارند. همچنین تورم و یا انقباض سریع داربست‌ها می‌تواند استرس اسمزی ایجاد کند و به غشای سلولی آسیب برساند. به علاوه، اگر داربست‌ها به درستی انتشار مواد مغذی و اکسیژن را تسهیل نکنند، سلول‌های مرکزی ممکن است به اندازه کافی مواد مغذی و اکسیژن دریافت نکنند که منجر به مرگ سلول می‌شود. بنابر آنچه گفته شد، اگرچه که داربست Carr:Quc به تغییر pH به خوبی پاسخ داد و تغییر تورم در اثر تغییر pH



شکل ۴- تصاویر فلورسانس از سلول‌های زنده (سبز) و مرده (قرمز) بر روی داربست Carr:Quc (a) در $pH 7/4$ و (b) تغییر از $7/4$ به $5/5$. نوار مقیاس ۱۰۰ میکرومتر.

شکل ۵ چسبندگی و توزیع سلول را در هیدروژل Carr:Quc یک روز پس از کشت نشان می‌دهد. شکل a-۵ بیانگر چسبندگی مناسب سلول‌ها به سطح داربست و تشکیل اکتین رشته‌ای می‌باشد. شکل b-۵ نیز لایه‌های مختلف داربست را همراه با سلول در قسمت درونی داربست نشان می‌دهد. در واقع، این شکل حالت‌های مختلف هسته و اکتین رشته‌ای را در هر لایه در طول محور Z نمایش می‌دهد. اکتین رشته‌ای از مهم‌ترین پروتئین‌های اسکلت سلولی محسوب می‌شود و در فرایندهای متفاوت از جمله مهاجرت سلولی، چسبندگی و سیگنال‌دهی نقش مهمی ایفا می‌کند (۲۴). ترکیب و

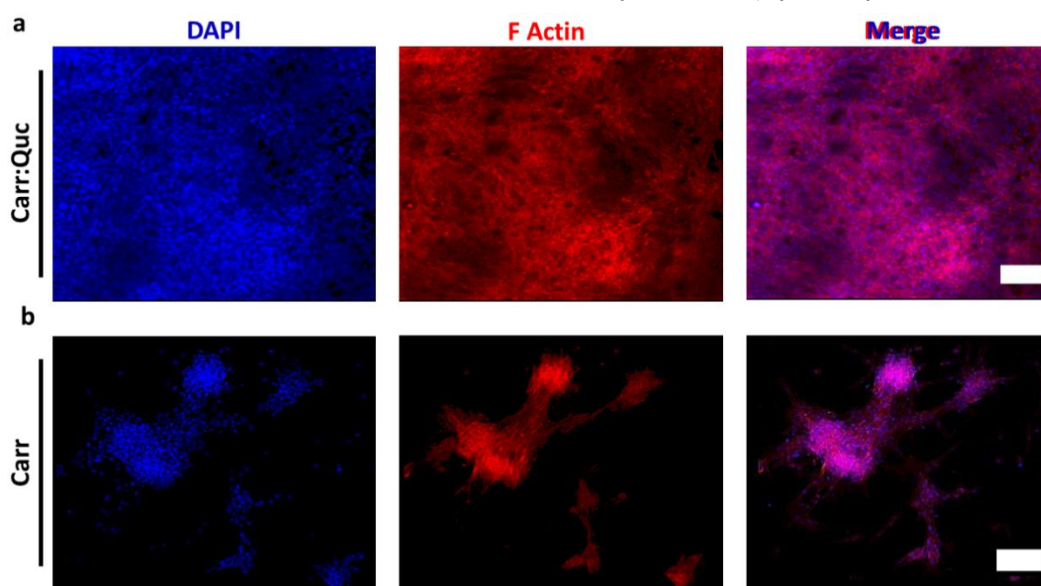
با توجه به اینکه هدف این مطالعه بررسی قابلیت استفاده از داربست‌های ساخته شده به خصوص داربست جدید Carr:Quc برای تولید گوشت آزمایشگاهی می‌باشد، در ادامه توانایی زنده‌مانی و تکثیر سلول‌ها بر روی داربست Carr:Quc در مدت ۱۵ روز در شرایط نرمال بررسی شد تا قابلیت چسبندگی و رشد سلول‌های عضلانی بر روی داربست مورد نظر مورد ارزیابی قرار گیرد.

۳-۴- بررسی زنده‌مانی سلول‌ها بر روی داربست

Carr:Quc در شرایط نرمال

بازسازی سلولی، تشکیل اسکلت سلولی را امکان‌پذیر می‌سازد. بعلاوه، ساختار سه بعدی ماتریس هیدروژل‌ها بر نحوه تعامل سلول‌ها با محیط اطراف خود تأثیر می‌گذارد. یک هیدروژل با ساختار مناسب می‌تواند مهاجرت و ایجاد ساختارهای غنی از اکتین رشته‌ای را تسهیل کند. این مطالب بیانگر این موضوع است که هیدروژل Carr:Quc توانسته است ساختار مناسبی جهت تشکیل اسکلت سلولی، در اختیار سلول‌ها قرار دهد.

خصوصیات هیدروژل‌ها از جمله خواص مکانیکی، سختی و زیست‌سازگاری آن‌ها می‌تواند روند تشکیل اکتین رشته‌ای را تحت تأثیر قرار دهند. در واقع سلول‌ها واکنش‌های متفاوتی به هیدروژل‌های متفاوت نشان می‌دهند و طراحی مناسب هیدروژل‌ها می‌تواند بازآرایی اسکلت سلولی را بهبود بخشد (۱). هم‌چنین سرعت تخریب هیدروژل‌ها عامل بسیار مهم دیگری است. اگر هیدروژل خیلی سریع تجزیه شود، ممکن است ساختار پایدار برای سازماندهی اکتین رشته‌ای را فراهم نکند. اما یک هیدروژل با سرعت تخریب مطابق با ظرفیت



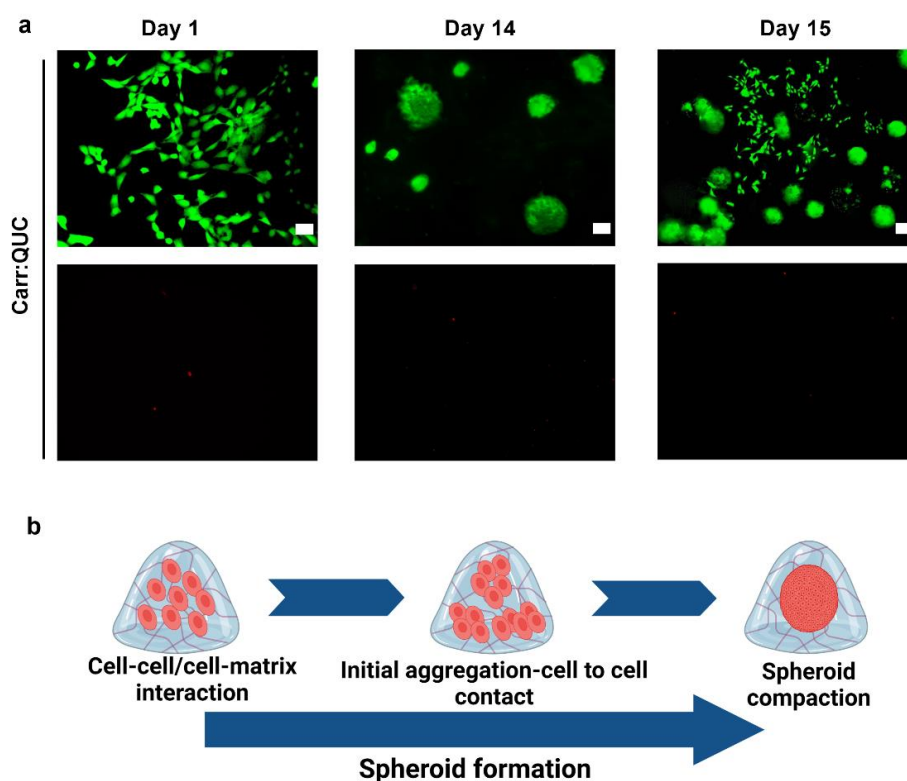
شکل ۵- (a) تصاویر میکروسکوپی کانفوکال از سلول‌ها ۱ روز پس از کشت روی Carr:Quc. (b) هسته و پروتئین اکتین در لایه‌های مختلف داربست. نوار مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر.

کنش اینتگرین و ماتریس خارج سلولی منجر به تنظیم بیان کاده‌رین می‌شود. سپس به دلیل تجمع سلولی و برخوردهای سلولی، تجمع کاده‌رین رخ می‌دهد. در نهایت، ماتریس خارج سلولی ساخته شده و شکل متراکمی از کره‌های سلولی ظاهر می‌شود. در واقع، در یک اسفروئید متراکم، مورفولوژی سلول منفرد قابل تشخیص نمی‌باشد (۲۵ و ۲۶).

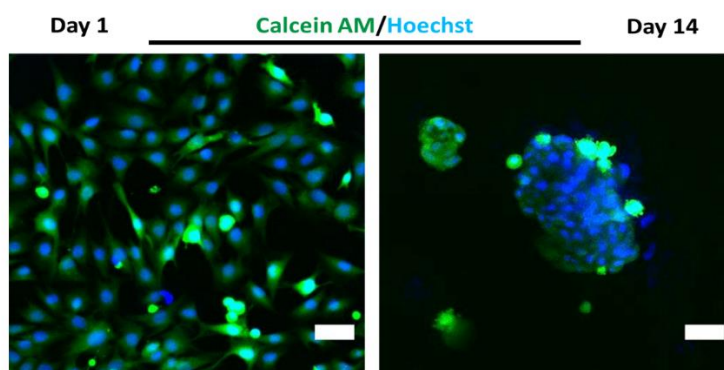
هم‌چنین شکل ۷، تصاویر کانفوکال سلول‌ها را که توسط کلسین ای ام و هوکست رنگ آمیزی شدند، ۱ و ۱۴ روز پس از کشت بر روی هیدروژل Carr:Quc نشان می‌دهد. یک روز پس از کشت سلول‌ها با مورفولوژی کشیده و پهن مشاهده شدند اما بعد از گذشت ۱۴ روز، سلول‌ها تشکیل اسفروئید دادند که این نتایج،

بعلاوه، شکل ۶-a زنده‌مانی و رشد سلول‌ها را به مدت ۱۵ روز بر روی داربست نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است سلول‌ها زنده‌مانی خود را در طول کشت بر روی داربست مورد مطالعه حفظ کردند و در هفته دوم کشت، تمایل به تشکیل کره‌های سلولی با نام اسفروئید نشان دادند. در روز اول، سلول‌ها با مورفولوژی کشیده و پهن، پراکنده شده و توزیع یافتند. پس از ۱۴ روز، تشکیل کره‌های سلولی مشاهده شد و در نهایت در روز ۱۵، اسفروئیدهای مجزا بدون تشخیص مورفولوژی سلول منفرد تشکیل شدند. مراحل تشکیل اسفروئید در بستر هیدروژل‌های طبیعی در شکل ۶-b به صورت شماتیک نشان داده شده است. برهم-

مشاهدات مربوط به شکل ۷ را تایید می‌کنند. شکل ۸ نیز تصویر SEM از تشکیل اسفروئید فشرده، ۱۴ روز پس از کشت سلول را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود، در این تصویر نیز مورفولوژی سلولی در قالب سلول منفرد مشخص نیست.



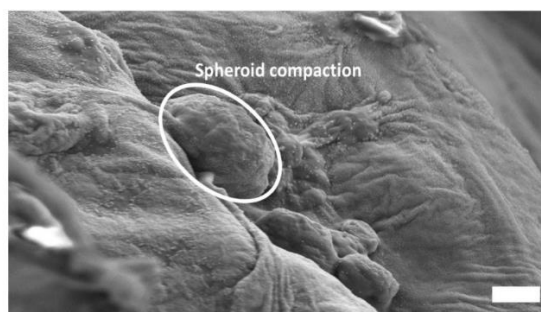
شکل ۶- (a) تصاویر فلورسانس از سلول‌های زنده (سبز) و مرده (قرمز) بر روی داربست Carr:Quc. نوار مقیاس ۱۰۰ میکرومتر. (b) مراحل تشکیل اسفروئید در بستر هیدروژل



شکل ۷- مورفولوژی سلول و روند تشکیل اسفروئید ۱ و ۱۴ روز پس از کشت در داربست Carr:Quc. نوار مقیاس ۱۰۰ میکرومتر.

این نتایج نشان دادند که سلول‌ها در طول دو هفته در بستر هیدروژل قادر به رشد بودند و هیدروژل مورد مطالعه هیچ گونه سمیتی از خود نشان نداد. بعلاوه، سلول‌ها بعد از دو هفته در محیط کشت اسفروئید تشکیل دادند. تشکیل اسفروئید در ساختار هیدروژل‌ها و پلیمرهای طبیعی همچون کلاژن، هیالورونیک اسید، کیتوزان و ماتریژل نیز گزارش

شده است (۲۷، ۲۸ و ۲۹). در واقع عوامل متعددی در روند تشکیل اسفروئید در بستر هیدروژل نقش دارند که عبارتند از (۳۰ و ۳۱):



شکل ۸- تصویر SEM از اسفروئید تشکیل شده ۱۴ روز پس از کشت در داربست Carr:QSM. نوار مقیاس: ۱۰۰ میکرومتر.

۱- برهم‌کنش سلول-سلول: ماتریس هیدروژل برهم‌کنش سلول-سلول را با فراهم آوردن شرایطی برای نزدیک شدن سلول‌ها به یکدیگر، تقویت می‌کند. این امر باعث تجمع سلولی و تشکیل ساختارهای چند سلولی می‌شود.

۲- برهم‌کنش سلول-ماتریس: سلول‌ها از طریق مولکول‌های چسبنده مختلف موجود در ماتریس هیدروژل با ماتریس تعامل می‌کنند. این تعامل، رفتار سلول‌ها را از جمله مهاجرت و تجمع تحت تأثیر قرار می‌دهد و به تشکیل اسفروئید منجر می‌شود.

۴- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه، نشان دادند که داربست متشکل از کاپاکاراگینان و صمغ دانه به، پتانسیل مناسبی برای استفاده در کشت سلولی و کشاورزی سلولی دارد. به دلیل اینکه سلول‌ها در شرایط نرمال و کشت طولانی مدت قادر به تکثیر بر روی این داربست و تشکیل اسفروئید بودند، این داربست می‌تواند به عنوان گزینه مناسبی برای تولید گوشت آزمایشگاهی در نظر گرفته شود.

۵- تقدیر و تشکر

این اثر تحت حمایت مادی صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برگرفته شده از طرح شماره ۴۰۳۲۹۵ انجام شده است.

۳- ساختار ماتریس: ویژگی‌های فیزیکی هیدروژل مانند سفتی، تخلخل و نوع و اندازه تخلخل‌ها، نیز نقش مهمی در این زمینه ایفا می‌کند. یک بستر زیست‌تقلیدپذیر با خواص مکانیکی مناسب، محیطی مناسب برای تجمع سلول‌ها و تشکیل اسفروئید فراهم می‌کند.

۴- گرادیان اکسیژن و مواد مغذی: با افزایش اندازه اسفروئید، گرادیان‌های مواد مغذی و اکسیژن در داخل ماتریس هیدروژل شکل می‌گیرند. این موضوع می‌تواند منجر به ایجاد میکرومحیطی شود که شرایط فیزیولوژیک را به صورت بهتری تقلید کند و نیجتا رفتار سلول‌ها و مورفولوژی اسفروئید را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

۶- منابع

[1] Ben-Arye, T., Shandalov, Y., Ben-Shaul, S., Landau, S., Zagury, Y., Ianovici, I., Lavon, N., &

Levenberg, S. (2020). Textured soy protein scaffolds enable the generation of three-

- dimensional bovine skeletal muscle tissue for cell-based meat. *Nature Food*, 1(4), 210–220. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0046-5>
- [2] Kumar, P., Sharma, N., Sharma, S., Mehta, N., Kumar Verma, A., Chemmalar, S., & Qurni Sazili, A. (2021). *In-vitro* meat: a promising solution for sustainability of meat sector. *Journal of Animal Science and Technology*, 63(4), 693–724. <https://doi.org/10.5187/jast.2021.e85>
- [3] Bhat, Z. F., & Fayaz, H. (2011). Prospectus of cultured meat - Advancing meat alternatives. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 48, Issue 2, pp. 125–140). <https://doi.org/10.1007/s13197-010-0198-7>
- [4] Zhang, K., Wang, S., Zhou, C., Cheng, L., Goa, X., Xie, X., Sun, J., Wang, H., Weir, M., Reynold, M., & Zhang, N. (2023). Advanced smart biomaterials and constructs for hard tissue engineering and regeneration, *bone research*, 6(31). <https://www.nature.com/articles/s41413-018-0032-9#citeas>
- [5] Ashraf, M. U., Hussain, M. A., Muhammad, G., Haseeb, M. T., Bashir, S., Hussain, S. Z., & Hussain, I. (2017). A superporous and superabsorbent glucuronoxylan hydrogel from quince (*Cydonia oblonga*): Stimuli responsive swelling, on-off switching and drug release. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 138–144. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.057>
- [6] Nagai, Y., Yokoi, H., Kaihara, K., & Naruse, K. (2012). The mechanical stimulation of cells in 3D culture within a self-assembling peptide hydrogel. *Biomaterials*, 33(4), 1044–1051. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.10.049>
- [7] Tseng, L.-F., Mather, P. T., & Henderson, J. H. (2013). Shape-memory-actuated change in scaffold fiber alignment directs stem cell morphology. *Acta Biomaterialia*, 9(11), 8790–8801. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.06.043>
- [8] Khan, F., & Tanaka, M. (2018). Designing smart biomaterials for tissue engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1). <https://doi.org/10.3390/ijms19010017>
- [9] Hoare, T. R., & Kohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*, 49(8), 1993–2007. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.01.027>
- [10] Li, X., Liu, X., Yu, Y., Qu, X., Feng, Q., Cui, F., & Watari, F. (2009). Recent patents on polymeric scaffolds for tissue engineering. *Recent Patents on Biomedical Engineering (Discontinued)*, 2(1), 65–72. <http://dx.doi.org/10.2174/1874764710902010065>
- [11] Hezaveh, H., & Muhamad, I. I. (2013). Modification and swelling kinetic study of kappa-carrageenan-based hydrogel for controlled release study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(2), 182–191. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.10.011>
- [12] Dafe, A., Etemadi, H., Zarredar, H., & Mahdavinia, G. R. (2017). Development of novel carboxymethyl cellulose/k-carrageenan blends as an enteric delivery vehicle for probiotic bacteria. *International Journal of Biological Macromolecules*, 97, 299–307. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.016>
- [13] Santo, V. E., Frias, A. M., Carida, M., Cancedda, R., Gomes, M. E., Mano, J. F., & Reis, R. L. (2009). Carrageenan-based hydrogels for the controlled delivery of PDGF-BB in bone tissue engineering applications. *Biomacromolecules*, 10(6), 1392–1401. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm8014973>
- [14] Demir, D. (2024). Potential use of extracted flax seed mucilage in the construction of macroporous cryo-scaffolds. *Biomedical Materials*, 19(5), 055002. <https://doi.org/10.1088/1748-605x/ad5bad>
- [15] Soukoulis, C., Gaiani, C., & Hoffmann, L. (2018). Plant seed mucilage as emerging biopolymer in food industry applications. *Current Opinion in Food Science*, 22, 28–42. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.004>
- [16] Ashraf, M. U., Hussain, M. A., Bashir, S., Haseeb, M. T., & Hussain, Z. (2018). Quince seed hydrogel (glucuronoxylan): Evaluation of stimuli responsive sustained release oral drug delivery system and biomedical properties. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 45, 455–465. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.04.008>
- [17] Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., & Koocheki, A. (2014b). Optimization of extraction, antioxidant activity and functional properties of quince seed mucilage by RSM. *International Journal of Biological Macromolecules*, 66, 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.02.026>
- [18] Jouki, M., Mortazavi, S. A., Yazdi, F. T., & Koocheki, A. (2014a). Characterization of antioxidant-antibacterial quince seed mucilage films containing thyme essential oil. *Carbohydrate Polymers*, 99, 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.08.077>
- [19] Popa, E., Reis, R., & Gomes, M. (2012). Chondrogenic phenotype of different cells encapsulated in κ -carrageenan hydrogels for cartilage regeneration strategies. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 59(2), 132–141. <https://doi.org/10.1002/bab.1007>
- [20] Haghniaz, R., Ankit Gangrade, A., Montazerian, H., Zarei, F., Menekse Ermis, M., Li, Z., Du, Y., Khosravi, S., Barros, N., Mandal, K., Rashad, A., Zehtabi, F., Li, J., Dokmeci, M., Kim, H.,

- Khademhosseini, A., & Yangzhi, Z. (2023). An All-In-One Transient Theranostic Platform for Intelligent Management of Hemorrhage, *Advanced Science*, 10, 2301406. <https://doi.org/10.1002/advs.202301406>
- [21] Anowar H. Khan, A., Zhou, S., Moe, M., Ortega Quesada, B., Bajgirani, K., Lassiter, H., & Melvin, A. (2022). Generation of 3D Spheroids Using a Thiol–Acrylate Hydrogel Scaffold to Study Endocrine Response in ER⁺ Breast Cancer, *Biomaterials Science & Engineering*, 8, 9. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsbiomaterials.2c00491>
- [22] Lohani, A., Singh, G., Bhattacharya, S. S., Hegde, R. R., & Verma, A. (2016). Tailored-interpenetrating polymer network beads of κ -carrageenan and sodium carboxymethyl cellulose for controlled drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 31, 53–64. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2015.11.005>
- [23] You, J.-O., Rafat, M., Almeda, D., Maldonado, N., Guo, P., Nabzdyk, C. S., Chun, M., LoGerfo, F. W., Hutchinson, J. W., & Pradhan-Nabzdyk, L. K. (2015). pH-responsive scaffolds generate a pro-healing response. *Biomaterials*, 57, 22–32. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.04.011>
- [24] Stricker, J., Falzone, T., & Gardel, M. L. (2010). Mechanics of the F-actin cytoskeleton. *Journal of Biomechanics*, 43(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2009.09.003>
- [25] Ryu, N.-E., Lee, S.-H., & Park, H. (2019). Spheroid culture system methods and applications for mesenchymal stem cells. *Cells*, 8(12), 1620. <https://doi.org/10.3390/cells8121620>
- [26] Zhang, K., Yan, S., Li, G., Cui, L., & Yin, J. (2015). In-situ birth of MSCs multicellular spheroids in poly (L-glutamic acid)/chitosan scaffold for hyaline-like cartilage regeneration. *Biomaterials*, 71, 24–34. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.08.037>
- [27] Italo Rodrigo Calori, I., Rodrigues Alves, S., Bi, H., & Claudio Tedesco, A. (2022). Type-I Collagen/Collagenase Modulates the 3D Structure and Behavior of Glioblastoma Spheroid Models. *Applied Bio Materials*, 5, 2. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsabm.1c01138>
- [28] Polez, R., Huynh, N., Pridgeon, C., Valle-Delgado, J., Harjumaki, R., & Osterberg, M. (2024). Insights into spheroids formation in cellulose nanofibrils and Matrigel hydrogels using AFM-based techniques, *Materials Today Bio*, 26, 1010165. <https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2024.101065>
- [29] Shim, H., Kim, Y., Park, K., Park H., Moo Hu, K., & Kang, S. (2024). Enhancing cartilage regeneration through spheroid culture and hyaluronic acid microparticles: A promising approach for tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 323, 121734. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121734>
- [30] Cui, X., Hartanto, Y., & Zhang, H. (2017). Advances in multicellular spheroids formation. *Journal of the Royal Society Interface*, 14(127), 20160877. <https://doi.org/10.1098/rsif.2016.0877>
- [31] Su, C., Chuah, Y. J., Ong, H. B., Tay, H. M., Dalan, R., & Hou, H. W. (2021). A facile and scalable hydrogel patterning method for microfluidic 3D cell culture and spheroid-in-gel culture array. *Biosensors*, 11(12), 509. <https://doi.org/10.3390/bios11120509>



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The potential of smart scaffolds containing quince seed mucilage and kappa-carrageenan for cell culture under normal physiologic conditions and varying pH levels

Neda Farhadi¹, Nafiseh Soltanizadeh^{*2}, Elahe Masaali^{*3}, Mohsen Rabbani⁴

- 1- Ph.D. candidate, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
- 2- Associate professor, Department of Food Science and Technology, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Animal Biotechnology, Cell Science Research Center, Royan Institute for Biotechnology, ACECR, Isfahan, Iran
- 4- Assistant Professor, Department of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, University of Isfahan, Isfahan, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/9/3 Accepted:2024/12/22	The purpose of this study is to investigate the ability of smart scaffolds of Kappa-carrageenan (Carr) and the combination of Kappa-carrageenan and quince seed mucilage (Carr:Quc) to support C2C12 viability and growth for cultured meat production. Carr and Carr:Quc with a final concentration of 1.5% (v/w) were developed using a 5% potassium chloride solution. The capability of the scaffolds to respond to the pH change of the environment was evaluated, and the viability of C2C12 at normal pH (7.4) and varying pH levels (7.4-5.5) was assessed. The evaluation of swelling changes with varying pH (pH 1-7) showed that for the Carr scaffold, the highest swelling was observed at pH 5, reaching 145%, which showed a significant difference compared to swelling at other pH levels ($p < 0.05$). The highest swelling for the Carr:Quc scaffold was also observed at pH 5, reaching 428%, with a significant difference compared to swelling at other pH levels ($p < 0.05$). Moreover, the change in the swelling behavior of the scaffolds was evaluated by changing the pH from 7.4 to 5.5. Carr did not show any swelling change, while Carr:Quc demonstrated a significant change in swelling after exposure to pH 5.5 for 30, 45, 60, 180, and 360 min. On Carr:Quc, C2C12 showed higher viability in normal conditions compared to varying pH levels from 7.4 to 5.5. Furthermore, after culturing on Carr:Quc, C2C12 maintained their viability throughout the culture period for 15 days at pH 7.4 and showed the potential for spheroid formation. The findings of this study could pave the way for the design of scaffolds made of edible biopolymers to facilitate tissue engineering of cultured meat
Keywords: Smart Scaffold, Kappa-carrageenan, Quince seed mucilage, pH change, Cell Viability.	
DOI: 10.22034/FSCT.22.159.301. *Corresponding Author E-	



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی اثر روش سرخ کردن و فرمولاسیون خمیرابه بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ناگت مرغ

زلیخا فحیمی واجارگاهی^۱، محسن اسمعیلی^{۲*}، آرش قیطران‌پور^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی دانشگاه ارومیه - ایران

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۲۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۱

کلمات کلیدی:

خمیرابه بدون گلوتن،

ناگت مرغ،

سرخ کن عمیق،

سرخ کن هوای داغ،

ویژگی فیزیکوشیمیایی

DOI:10.22034/FSCT.22.159.316.

* مسئول مکاتبات:

m.esmaili@urmia.ac.ir

ناگت مرغ بعنوان یکی از پرطرفدارترین غذاهای آماده مصرف، به روش عمیق سرخ می شود. به دلیل غوطه وری محصول در روغن، محتوای چربی آن افزایش می یابد در نتیجه می تواند باعث ایجاد چاقی و بیماری های مرتبط با آن شود. به همین دلیل کاهش چربی محصول با حفظ خواص ارگانولپتیکی بسیار مورد توجه و بررسی محققان قرار گرفته است. در این مطالعه ناگت های مرغ با فرمولاسیون متفاوت خمیرابه (آرد گندم، آرد برنج و آرد کینوا) به دو روش (عمیق و هوای داغ) سرخ شدند و از نظر محتوای رطوبت، محتوای روغن، کاهش وزن، میزان جذب خمیرابه، درصد چسبندگی، رنگ، بافت، قطر و ارزیابی حسی مورد بررسی قرار گرفتند. محتوای روغن، رطوبت و درصد چسبندگی پوشش به بستر محصول به روش سرخ کردن عمیق بیشتر از سرخ کردن هوای داغ بود. بافت ناگت های مرغ سرخ شده به روش عمیق دارای سفتی کمتری بودند. نتایج نشان داد که نمونه های پوشش داده شده با آرد کینوا محتوای رطوبت و جذب خمیرابه بالاتری نسبت به نمونه های پوشش داده شده با آرد برنج و گندم داشتند، در حالیکه محتوای روغن، کاهش وزن و چسبندگی پوشش به بستر آنها کمتر بود. از نظر رنگ، پوشش خمیرابه کینوا L^* ، b^* ، زاویه Hue پایین تر و a^* بالاتری را نشان داد. میزان سفتی ناگت های مرغ پوشش داده شده با خمیرابه کینوا پایین تر از دو نمونه دیگر بود. نتایج نشان داد که سرخ کردن هوای داغ به طور کلی روش سالمی برای تولید ناگت مرغ و جایگزین ارزشمندی برای تولید غذاهای پروتئینی سرخ شده است. خمیرابه آرد کینوا بعنوان غله ی فاقد گلوتن با ارزش تغذیه ای بالا می تواند جایگزینی برای گندم بوده و در کاهش محتوای روغن فرآورده های سرخ شده موثر باشد.

۱-مقدمه

تغییر سبک زندگی امروزه منجر به تغییر الگوهای غذایی و استفاده از غذاهای آماده مصرف (Fast-food) به علت سرعت تهیه و عرضه شده است. غذاهای آماده مصرف جزء دسته‌ای از محصولات در نظر گرفته می‌شوند که دارای ویژگی‌های منحصر به فرد و پذیرش بالا هستند. این خواص به مواد اولیه متنوع و نوع تکنولوژی که ماده غذایی از آن تهیه می‌گردد، مرتبط می‌شوند [۱-۳]. ناگت مرغ یکی از قابل‌قبول‌ترین غذاهای آماده مصرف سرخ‌شده در جهان است که به روش سرخ کردن عمیق تهیه می‌شود و به عنوان یکی از اجزای اصلی رژیم غذایی تبدیل شده است [۴ و ۵]. سرخ کردن عمیق، یکی از محبوب‌ترین روش‌های فرآوری مواد غذایی در سراسر جهان است که ویژگی‌های حسی و تغذیه‌ای را در نتیجه فعل و انفعالات پیچیده بین غذا و روغن تغییر می‌دهد. معمولاً غذاها در روش سرخ کردن عمیق با فرو بردن آنها در روغن/چربی تهیه می‌شوند. این امر منجر به محتوای چربی بالای محصول می‌شود. از آنجایی که مصرف غذاهای سرخ‌شده اجتناب‌ناپذیر است، بنابراین کاهش چربی و حفظ خواص ارگانولپتیکی غذاهای سرخ‌شده به دلیل افزایش نرخ چاقی و بیماری‌های قلبی و عروقی به یک ضرورت و یکی از رویدادهای تحقیقات کنونی در صنایع غذایی تبدیل شده است [۶-۱۲].

مطالعات انجام گرفته به دو روش مهم برای کاهش مقدار روغن در غذاهای سرخ‌شده اشاره دارد: اصلاح روش سرخ کردن، تغییر ویژگی‌های سطح محصول [۱۲ و ۱۳]. در اصلاح روش سرخ کردن، مجموعه‌ای از گزینه‌ها با هدف جایگزینی فرآیند سرخ کردن عمیق با سیستم‌هایی که بتوانند کیفیت غذایی بالاتری را فراهم کنند، پیشنهاد شده است. بر اساس این ایده، فناوری سرخ کردن با هوای داغ در بازار ظهور کرد [۹]. در این روش روغن بر روی ماده غذایی پاشیده می‌شود و محصول به جای این که در روغن غوطه‌ور شود، هوای داغ آن را در بر می‌گیرد [۱۸-۱۴]. بعبارتی محصول نسبت به روش عمیق با محتوای روغن کمتری در تماس است. بنابراین، بعد از فرآیند سرخ شدن میزان ناچیزی روغن در

سطح فرآورده باقی می‌ماند. در نتیجه جذب روغن در مرحله سرد کردن قابل چشم‌پوشی است [۱۰ و ۱۷]. بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و طعم ناگت مرغ در طی سرخ کردن هوای داغ و عمیق نیز نتایج نشان داده‌اند که سرخ کردن در هوای داغ محتوای چربی کمتر نسبت به عمیق دارد اما نیاز به زمان بیشتری برای داشتن ویژگی‌های کیفی مشابه سرخ کردن عمیق خواهد داشت [۱۹ و ۲۰].

سرخ کردن یک پدیده سطحی است [۲۱]. بنابراین جذب روغن عمدتاً در پوسته انجام می‌شود. به همین دلیل ویژگی‌های پوسته ماده غذایی در جذب محتوای روغن تأثیر بسزایی خواهد داشت. استفاده از خمیرآبه قبل از سرخ کردن محصول به دلیل مزایایی مانند: هزینه کم، عملکرد ساده و نیاز به تجهیزات کم در دهه‌های گذشته مورد توجه قرار گرفته است [۱۲ و ۱۳]. آرد گندم اصلی‌ترین جزء تشکیل دهنده خمیرآبه و تعیین کننده خواص عملکردی آن می‌باشد. این خواص عملکردی به اجزاء و نسبت نشاسته و پروتئین آرد بستگی دارد. بنابراین هرگونه تغییر در میزان گلوتن یا افزودن پروتئین‌های دیگر می‌تواند باعث تغییر در رئولوژی خمیر و در نهایت کیفیت محصول گردد [۲۲].

گلوتن به دلیل خواص ویسکوالاستیک منحصربه‌فرد، نقش‌های متعددی در اکثر محصولات پخته ایفا می‌کند. ولی خوردن غذاهای حاوی گلوتن برای بیماران سلیاک می‌تواند عوارض پزشکی جدی به همراه داشته باشد. بنابراین مطالعات اخیر به دنبال نوع خاصی از فرمولاسیون خمیرآبه برای پوشش دهی است که علاوه بر فاقد گلوتن بودن دارای خصوصیات تغذیه‌ای و ارگانولپتیکی شبیه هم‌تایان حاوی گلوتن خود باشند [۲۶-۲۳].

کینوا بعنوان غله فاقد گلوتن به علت ارزش غذایی بالا (داشتن اسید آمینه‌های ضروری، داشتن کیفیت پروتئینی برابر با کازئین شیر) و همچنین سیرکنندگی به علت تخلخل بالا به عنوان جایگزینی مناسب برای گندم مورد استفاده محققان قرار گرفته است [۲۷]. مطالعه حاضر جهت افزایش تنوع

نمونه‌ها داخل توری در سبد داخل سرخ‌کن به مدت شش دقیقه قرار گرفتند تا سرخ شوند. در پایان بلافاصله از سرخ‌کن خارج و توسط کاغذ جاذب روغن، روغن موجود در سطح آنها گرفته شد. قبل از آنالیز به نمونه‌ها اجازه داده شد تا در دمای محیط خنک شوند.

۲-۳- عملیات سرخ کردن هوای داغ

برای سرخ کردن هوای داغ، از سرخ‌کن مدل (Philips, HD9248, China) با توان ۱۳۰۰ وات استفاده شد (شکل ۲-۳) که قبل از آزمایش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۱۸۰ درجه سانتیگراد بدون افزودن نمونه، گرم شد. ناگت‌های مرغ به محفظه هوا اضافه شده و بعد از ۱۸ دقیقه از سرخ‌کن خارج شد [۱۹].

۲-۴- تجزیه و تحلیل فیزیکوشیمیایی

۲-۴-۱- اندازه‌گیری محتوای روغن و رطوبت
از دست دادن آب WL^1 ناگت‌ها با روش خشک کردن آون با اندازه‌گیری مقادیر (گرم) آب همان ناگت‌ها قبل از سرخ کردن (W_1) و بعد از آن (W_2) تعیین شد. روش اندازه‌گیری میزان روغن طبق روش نگادی و همکاران، استخراج سوکسله بود. با اندازه‌گیری مقادیر (گرم) چربی همان ناگت-ها قبل از سرخ کردن (W_1) و بعد از سرخ کردن (W_2) بر اساس روش $AOAC^2$ تعیین شد [۲۸ و ۳۲].

- 1) $WL (g\ 100g^{-1}\ nugget) = (W_1 - W_2)/W * 100$
- 2) $OAC (g\ 100g^{-1}\ nugget) = (W_2 - W_1)/W * 100$

۲-۴-۲- کاهش وزن کل

ناگت‌های مرغ با ترازوی دیجیتالی مدل (HS-300S) قبل W_i و بعد W_f از سرخ کردن برای محاسبه کاهش وزن کل، وزن شدند.

کاهش وزن کل (LT^3) با استفاده از معادله (۳) محاسبه شد [۳۳]:

$$3) LT = \frac{W_i - W_f}{W_i} * 100$$

۲-۴-۳- جذب خمیرابه

فرآورده‌های بدون گلوتن به بررسی اثر فرمولاسیون خمیرابه و روش سرخ کردن بر ویژگی فیزیکوشیمیایی ناگت مرغ پرداخته است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی خمیرابه و ناگت مرغ

مواد خشک برای خمیرابه هر فرمولاسیون (گندم، برنج، کینوا)، آرد (۹۸/۵ درصد وزنی/وزنی)، نمک (۱/۵ درصد وزنی/وزنی) تهیه شد. ماده خشک با آب (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) به نسبت ۳ به ۵ وزنی/وزنی مخلوط شدند. در تهیه ناگت مرغ، سینه مرغ با استفاده از دستگاه چرخ گوشت ناسیونال خرد شده و به ازای (۹۲ درصد وزنی/وزنی) گوشت، (۶ درصد وزنی/وزنی) پیاز، (۱/۵ درصد وزنی/وزنی) نمک و (۰/۵ درصد وزنی/وزنی) چاشنی (فلفل قرمز، پودرسیر، پاپریکا) اضافه شد و به مدت دو دقیقه با هم مخلوط شدند. این مخلوط به شکل مکعب ($1 \times 2 \times 4$) سانتیمتر شکل گرفته و تا دمای زیر ۱۰- درجه سانتیگراد منجمد شد. قطعات یخ زده به مدت ۱۵ ثانیه در خمیرابه غوطه‌ور شدند. سپس به مدت ۳۰ ثانیه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتیگراد) قرار گرفتند تا خمیرابه اضافه از خمیر خارج شود. قطعات در سینی پلاستیکی قرار گرفته و تا زمان سرخ شدن در دمای ۱۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند [۲۸-۳۰].

۲-۲- عملیات سرخ کردن عمیق

در این تحقیق از روش سرخ کردنی که قبلاً توسط Cao و همکاران (۲۰۲۰) و Faloye و همکاران (۲۰۲۱)، گزارش شده بود استفاده شد [۱۹ و ۳۱]. برای سرخ کردن عمیق از سرخ‌کن برقی (Princess, NL-5015BH, Tilburg) با توان ۱۸۰۰ وات استفاده شد. در ابتدا با حدود دو و نیم لیتر روغن مایع سرخ کردنی پر شده و به مدت یک ساعت حرارت داده شد تا به دمای مورد نیاز (۱۸۰ درجه سانتیگراد) برسد. بعد

از دستگاه سنجش بافت (مدل TAXTPLUS) برای اندازه-گیری شاخص سفتی و فاصله شکست قطعات ناگت مرغ از جمله پوسته استفاده شد. حداکثر مقدار نیرو به عنوان شاخص سفتی در نظر گرفته شد. شیب منحنی به عنوان شاخص استحکام و فاصله از نقطه اولیه تا نقطه حداکثر نیرو به عنوان نشانگر جابجایی (فاصله شکست) استفاده شد [۳۸].

۲-۴-۷- تغییر حجم

تغییرات ابعاد ناگت‌های مرغ قبل و بعد از سرخ کردن با تصویر برداری و آنالیز تصویر با نرم افزار Image J اندازه-گیری شد و

تغییرات حجم با استفاده از معادله ۹ محاسبه شد [۳۹ و ۴۰]:

$$9] \Delta V(\%) = \frac{V_0 - V_t}{V_0} * 100$$

۲-۵- تحلیل آماری

کلیه آزمون‌ها در سه تکرار یا بیشتر انجام گردید و به صورت میانگین بیان شد. داده‌های حاصله با طرح فاکتوریل مورد آنالیز قرار گرفتند. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها از نظر آماری با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و (Paired sample T test) همراه با آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از SPSS 27 انجام شد. معنی‌داری آماری در سطح $(P < 0.05)$ بیان شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه و تحلیل فیزیکی و شیمیایی

۳-۱-۱- اندازه‌گیری محتوای روغن و رطوبت
روش سرخ کردن و فرمولاسیون مختلف خمیرابه اثر معنی-داری $(P < 0.05)$ بر محتوای رطوبت ناگت‌های مرغ داشتند (شکل ۱).

بیشترین محتوای رطوبت مربوط به ناگت‌های مرغ پوشش داده شده با آرد کینوا بود. این امر را می‌توان به ضخامت بیشتر پوسته ناگت‌های پوشش داده شده با آرد کینوا مرتبط دانست که باعث حفظ رطوبت ناگت‌های مرغ می‌شود. نتیجه مشابهی توسط Chayawat and Rumpagaporn (۲۰۲۰)، بر روی ناگت مرغ با پوشش سبوس برنج به دست آمد [۳۷]. همچنین El-Sohaimy و همکاران (۲۰۲۲) قابلیت جذب آب بالایی کینوا را مانع خروج محتوای رطوبت و در نتیجه

اندازه‌گیری فاکتور جذب خمیرابه (به عنوان شاخصی از میزان چسبندگی و ویسکوزیته خمیر)، با استفاده از اختلاف وزن نمونه ناگت مرغ (W_n)، قبل و بعد از پوشش‌دهی (W_d) از رابطه ۴ محاسبه شد [۳۴ و ۳۵].

$$4) \quad \frac{\text{Wet Pickup}}{\text{coated chicken nugget} - \text{Non coated chicken nugget}} * 100 = \frac{\text{Non coated chicken nugget}}{\text{Non coated chicken nugget}}$$

۲-۴-۴- درصد چسبندگی پوشش به سطح محصول

برای ارزیابی درصد چسبندگی (C.P)، ناگت‌های مرغ سرخ شده با استفاده از یک کارد از طول به دو قسمت تقسیم و با استفاده از دوربین از قسمت برش خورده عکس‌برداری گردید. درصد چسبندگی با استفاده از پردازش تصویر با نرم افزار ایمج جی و بر اساس فرمول (۵) ارائه شده توسط آلبرت و همکاران (۲۰۰۹) محاسبه شد [۳۶].

$$5) \quad C.P = (A/T) \times 100$$

A: سطحی از ماده غذایی که توسط پوشش احاطه شده و T: سطح کل ماده غذایی.

۲-۴-۵- ارزیابی رنگ

یک رنگ سنج (CR400 Chroma Meter, Minolta Corporation; Ramsey, NJ, USA) برای اندازه‌گیری مقادیر رنگ با استفاده از سیستم (L^* , a^* and b^*) استفاده شد که مقدار (L^*) معیاری از روشنایی از سیاه (۰) به سفید (۱۰۰)، مقدار (a^*)، رنگ قرمز ($+a^*$) و سبز ($-a^*$) و مقدار (b^*)، زرد ($+b^*$) و آبی ($-b^*$) را توصیف می‌کند. تمام اندازه‌گیری-ها در سه تکرار انجام شد. علاوه بر این، کروما (C^*)، زاویه Hue (بیانگر رنگ غالب است و هر چه این زاویه به صفر نزدیک تر باشد، بیانگر قرمز رنگ بودن نمونه است) و تغییر رنگ کلی (ΔE) با توجه به معادله ۶، ۷ و ۸ محاسبه شد [۳۷]:

$$6) \quad C^* = [(a^*)^2 + (b^*)^2]^{1/2}$$

$$7) \quad H^* = \arctan(b^*/a^*)$$

$$8) \quad \Delta E = \sqrt{(L^*_{\text{Sample}} - L^*_{\text{Control}})^2 + (b^*_{\text{Sample}} - b^*_{\text{Control}})^2 + (a^*_{\text{Sample}} - a^*_{\text{Control}})^2}$$

۲-۴-۶- ارزیابی بافت

حفظ رطوبت دانستند [۳۰]. ناگت‌های سرخ شده به روش عمیق نیز دارای رطوبت بیشتری بودند. نتیجه مشابه توسط Ghaitaranpour و همکاران (۲۰۱۸)، در سرخ کردن دونات به دست آمد [۴۰].

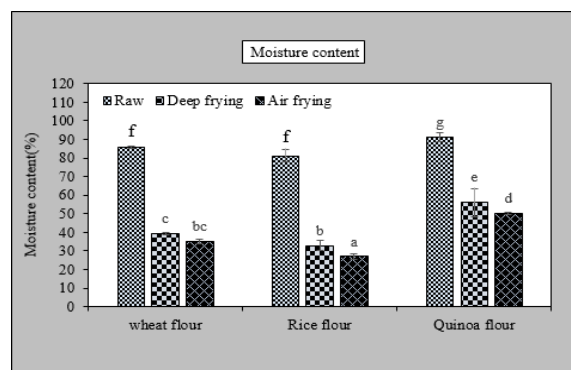


Figure 1: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on Moisture content (%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

از ۱۲ دقیقه در ناگت‌های مرغ سرخ شده نشان دادند و بیان کردند که بعد از ۱۲ دقیقه محتوای رطوبت بیشتر کاهش می‌یابد [۲۰]. از آنجایی که زمان سرخ کردن در روش هوا داغ در مطالعه حاضر ۱۸ دقیقه می‌باشد، بنابراین می‌توان دلیل کاهش محتوای رطوبت را با این موضوع مرتبط دانست.

۳-۲- محتوای روغن

شکل ۲ نشان می‌دهد که فرمولاسیون خمیرابه و روش سرخ کردن تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر محتوای روغن نیز دارند. محتوای روغن ناگت‌های مرغ سرخ شده هوای داغ به طور معنی‌داری کمتر از روش عمیق است.

اما نتایج سایر پژوهشگران متفاوت با نتیجه حاضر بود. از جمله، Cao و همکاران (۲۰۲۰) که محتوای رطوبت ناگت‌های مرغ سرخ شده به روش هوای داغ را بیشتر گزارش کردند. آنها علت را نرخ انتقال حرارت کمتر در سرخ کردن هوا دانستند [۱۹]. Santos و همکاران (۲۰۱۷) و Teruel و همکاران (۲۰۱۵)، نیز در مطالعه‌ای بر روی سیب زمینی سرخ شده به نتیجه مشابه دست یافتند [۴۳ و ۴۲]. علت این اختلاف با پژوهش حاضر را می‌توان با توجه به مطالعه Castro-López و همکاران (۲۰۲۳)، به زمان بیشتر فرآیند سرخ کردن هوای داغ نسبت داد آنان از دست دادن رطوبت بیشتر را پس

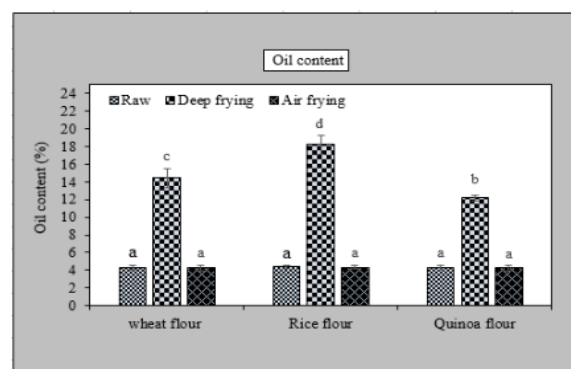


Figure 2: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on Oil content (%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

با نتایج مطالعات پیشین [۱۷، ۱۹، ۴۳ و ۴۵] مطابقت دارد. نمونه‌های پوشش داده شده با آرد کینوا نیز به طور معنی‌داری محتوای روغن کمتری داشتند (۱۲.۱٪). علت آن میزان رطوبت بالای نمونه‌های پوشش داده شده با آرد کینوا نسبت

دلیل این امر تماس کمتر ناگت مرغ با روغن در طی سرخ کردن هوای داغ است که باعث عدم تجمع یا حضور بسیار ناچیز روغن در سطح ناگت مرغ می‌شود در نتیجه از جذب آن در مرحله سرد شدن چشم پوشی می‌شود [۱۷]. این نتیجه

۳-۱-۳- کاهش وزن

شکل ۳ روش سرخ کردن و فرمولاسیون‌های خمیرابه بر کاهش وزن را نشان می‌دهد. نمونه پوشش داده شده با آرد کینوا به صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) کاهش وزن کمتری دارد. دلیل این پدیده را می‌توان به ضخامت بیشتر و قابلیت جذب آب بالایی ناگت‌های پوشش داده شده با آرد کینوا نسبت داد که در هنگام سرخ کردن باعث نفوذ حرارت کمتر و در نتیجه مانع خروج رطوبت و در نهایت کاهش وزن پخت می‌گردد [۳۰].

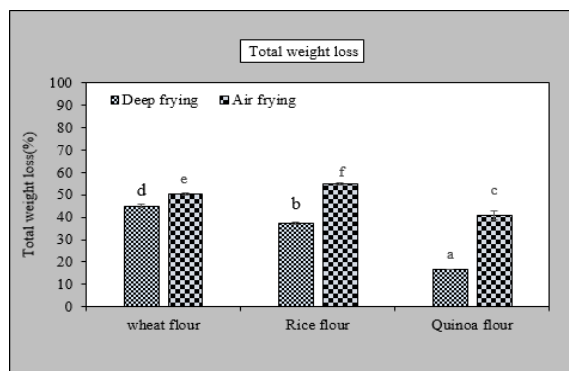


Figure 3: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on Total weight loss (%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

۳-۱-۴- جذب خمیرابه

فرمولاسیون‌های مختلف خمیرابه به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) بر شاخص جذب پوشش بر سطح ناگت‌های مرغ تأثیرگذار بودند (شکل ۴). خمیرابه آرد کینوا بیشترین جذب در پوشش ناگت مرغ داشت. دلیل آن را منطبق با مطالعه El-Sohaimy و همکاران (۲۰۲۲)، می‌توان به ظرفیت جذب آب بالای کینوا نسبت داد که باعث افزایش ویسکوزیته خمیرابه و در نتیجه افزایش جذب خمیرابه می‌شود [۳۰].

داده شده است، زیرا میزان رطوبت ماده غذایی یک عامل مهمی در جذب روغن سرخ کردنی در فرآیند سرخ کردن می‌باشد. به طور کلی جذب روغن بیشتر در نمونه‌های با میزان رطوبت پایین‌تر مشاهده می‌شود. این نتایج رابطه‌ی بین حذف رطوبت و جذب روغن را تایید می‌کند. نتایج مشابهی توسط بسیاری از پژوهشگران از جمله Chayawat and Rumpagaporn (۲۰۲۰) و Pinkaew. and Naivikul (۲۰۱۹) به دست آمده است [۳۴ و ۳۷].

روش سرخ کردن هوای داغ نیز اثر معنی‌داری بر افت پخت ناگت مرغ نشان می‌دهد. که خلاف نتایج Castro-López و همکاران (۲۰۲۳) است که بر روی ناگت مرغ سرخ شده به روش هوای داغ و عمیق داشتند [۲۰]. دلیل این اختلاف همانطور که در بخش محتوای رطوبت بیان شد می‌توان به زمان بیشتر فرآیند سرخ کردن هوای داغ نسبت داد. چون از دست دادن رطوبت بیشتر پس از ۱۲ دقیقه در ناگت‌های مرغ سرخ شده رخ می‌دهد. از آنجایی که زمان سرخ کردن در روش هوا داغ در مطالعه حاضر ۱۸ دقیقه می‌باشد، بنابراین می‌توان دلیل کاهش محتوای رطوبت و در نتیجه کاهش وزن بیشتر را با این موضوع مرتبط دانست.

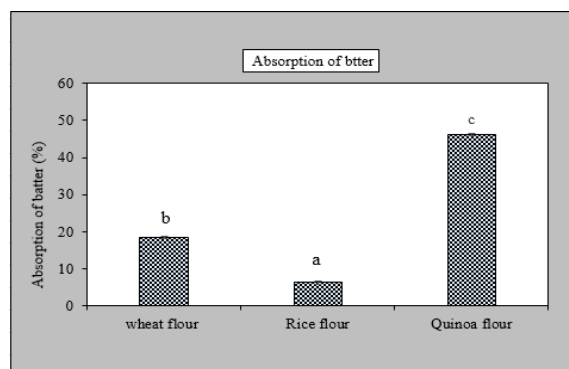


Figure 4: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on Absorption of batter (%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

شرایط سرخ کردن بر درصد چسبندگی پوشش به سطح محصول که با استفاده از پردازش تصویر و معادله ۵ بدست آمده است را نشان می‌دهد. هر دو متغیر اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) بر درصد چسبندگی پوسته به سطح محصول دارند.

۳-۱-۵- درصد چسبندگی پوشش به سطح محصول

چسبندگی پوشش به سطح محصول یکی از عوامل کلیدی در ارزیابی کیفیت نهایی محصولات پوشش داده شده است. شکل ۵ نتایج ارزیابی اثر فرمولاسیون مختلف خمیرابه و

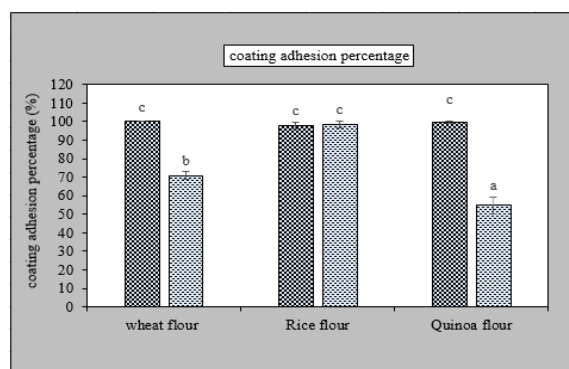


Figure 5: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on coating adhesion percentage(%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

تغییرات ساختاری ناگت بوقلمون در حین سرخ کردن داشتند [۴۰] می‌توان چنین توضیح داد که لایه تشکیل شده توسط خمیرابه از خروج رطوبت در حین سرخ کردن ممانعت می‌کند این پدیده منجر به افزایش فشار بخار در لایه زیرین پوسته شده و باعث جدا شدن پوسته از سطح ماده غذایی و در نتیجه کاهش چسبندگی پوشش می‌شود.

به صورت کلی، روش سرخ کردن هوای داغ و استفاده از آرد کینوا در خمیرابه به طور قابل توجهی چسبندگی پوسته به هسته را کاهش داد (شکل ۶). دلیل این امر را می‌توان به ضخامت پوشش با آرد کینوا و حفظ رطوبت در نمونه‌ها نسبت داد. زیرا با توجه به مطالعه که Ghaitaranpour و همکاران (۲۰۲۴)، درباره تأثیر فرمولاسیون پوشش بر

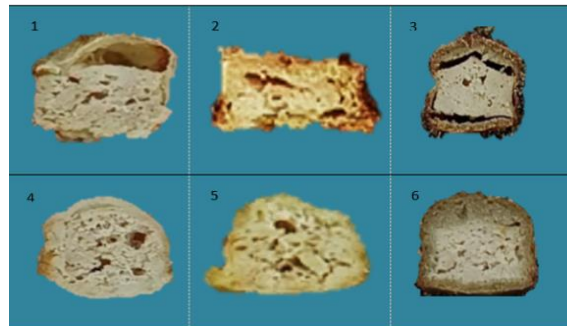


Figure 6: The effect of frying method (hot air and deep) and formulation batter (wheat flour, rice flour, quinoa (%). 1(hot air frying wheat), 2(hot air frying rice), 3(hot air frying flour) on coating adhesion percentage quinoa), 4(deep frying wheat), 5(deep frying rice), 6(deep frying quinoa).

۳-۱-۶- رنگ

در مطالعه حاضر فرمولاسیون خمیرابه و روش سرخ کردن اثر معنی‌دار ($P < 0.05$) بر پارامترها رنگ داشت (جدول ۱). ناگت‌های پوشش داده شده با خمیرابه آرد کینوا L^* ، b^* ، زاویه Hue پایین‌تر و a^* ، ΔE بالاتری را نشان داد. که با توجه به نتیجه مطالعه Jan و همکاران (۲۰۱۸) می‌توان به محتوای پروتئین بالای کینوا نسبت داد زیرا محتوای پروتئین بالای کینوا باعث افزایش واکنش قندهای کاهنده و اسیدهای آمینه و در نتیجه تیره‌تر شدن محصول می‌گردد [۴۷ و ۴۹]. از نظر روش سرخ کردن نیز به طور کلی روش سرخ کردن هوای داغ با زمان ۱۸ دقیقه در مقایسه با روش عمیق با زمان ۶ دقیقه دارای L^* ، a^* ، زاویه Hue، ΔE بالاتر و b^* ، شاخص C^* پایین‌تری بود که علت آن بر اساس مطالعه Castro-López و همکاران (۲۰۲۳)، زمان سرخ کردن بیشتر ناگت-های مرغ سرخ شده به روش هوای داغ مرتبط است [۲۰]، زیرا واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی در طی سرخ کردن هوا بسیار کندتر از سرخ کردن عمیق رخ می‌دهد. Cao و همکاران (۲۰۲۰)، به نتایج مشابهی اشاره کردند [۱۹].

رنگ محصول سرخ شده یکی از عوامل مهمی است که علاوه بر مقبولیت مصرف کننده نقش مهمی در تعیین کیفیت نهایی محصولات پخته شده دارد [۴۵]. تغییرات مختلفی مانند از دست دادن رطوبت، مهاجرت روغن، دمای سرخ کردن، زمان سرخ کردن و واکنش مایلارد، رنگ محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهند و در تغییر ظاهر اولیه غذا موثر هستند [۲۰]. اندازه‌گیری مقادیر رنگ با استفاده از سیستم (L^* ، a^* and b^*) به دست آمد. مقادیر L^* که بین ۰ سیاه و ۱۰۰ سفید است عمدتاً با واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی مرتبط است [۴۶] و مقادیر پایین L^* نشانه‌ی تیرگی محصول است که اساساً با واکنش‌های قهوه‌ای شدن همبستگی دارد. پارامتر b^* از مقادیر $-b^*$ به مقادیر $+b^*$ بیانگر تغییر رنگ از آبی به زرد است. a^* یکی دیگر از کانال‌های رنگی در فضایی رنگی $L^* a^* b^*$ است. مقادیر $+a^*$ و $-a^*$ به ترتیب بیانگر رنگ قرمز و سبز است. این پارامتر مستقیماً تحت تأثیر فرآیند قهوه‌ای شدن است [۴۸-۴۶].

Table 1: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on color parameters of the chicken nuggets. The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

Frying method	Type of batter	L^*	a^*	b^*	H^*	C^*	ΔE
Deep	wheat flour	57.61 $\pm$ 3.4 ^b	1.13 $\pm$ 1.9 ^a	30.62 $\pm$ 0.8 ^d	87.87 $\pm$ 3.6 ^c	30.68 $\pm$ 0.7 ^c	28.11 $\pm$ 3.1 ^b

	Rice flour	62.74±2.08 ^b	3.24±0.7 ^{abb}	30.62±0.7 ^d	83.96±1.2 ^{bc}	30.74±0.8 ^c	21.47±0.7 ^{ab}
	Quinoa flour	35.04±1.5 ^a	10.27±0.4 ^c	25.34±0.8 ^{bc}	67.08±1 ^a	27.34±1 ^b	65.93±0.4 ^c
	wheat flour	63.52±7.8 ^b	1.25±0.3 ^a	30.49±2.9 ^d	92.67±9.6 ^c	20.53±2.9 ^a	21.03±9.5 ^{ab}
hot air	Rice flour	55.14±7.6 ^b	7.07±4.6 ^{bc}	27.87±1.5 ^{cd}	76.21±8.6 ^{ab}	28.97±2.4 ^{bc}	18.96±1.4 ^a
	Quinoa flour	38.53±3.4 ^a	10.42±2.6 ^c	24.22±.6 ^a	68.81±6.6 ^a	26.44±1.2 ^b	64.71±3.7 ^c

کمتری (0.30 ± 0.1) را نشان دادند که این امر را در هر دو متغیر می‌توان به زمان سرخ کردن و مقدار رطوبت ناگت‌های مرغ در طی فرآیند سرخ کردن مرتبط دانست [۲۰ و ۴۳]. همچنین با توجه به مطالعه ای که Chayawat, & Rumpagaporn (۲۰۲۰)، بر روی ناگت مرغ با سبوس برنج داشتند می‌توان اینگونه بیان کرد که محصولاتی دارای پوشش ضخیم، بافت نرم‌تری به علت حفظ رطوبت دارند [۳۷].

۳-۱-۷- بافت

تبخیر آب، دنا توره شدن پروتئین، ژلاتینه شدن نشاسته و سایر واکنش‌ها عواملی هستند که بر تغییرات بافتی محصولات در طی فرآیند سرخ کردن تأثیر می‌گذارند [۱۹]. براساس جدول ۲، روش سرخ کردن و فرمولاسیون خمیرابه بر سختی و صمغیت بافت ناگت مرغ اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) داشتند. ناگت‌های سرخ شده با پوشش آرد کینوا و روش عمیق سفتی

Figure 7: The effect of frying method (deep fat-frying and air frying) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on Textural attributes of the chicken nuggets. The results were expressed as mean $\pm$ standard deviation. Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

Frying method	Type of batter	Hardness	cohesiveness	Gumminess
Deep fat frying	wheat flour	1.17±0.3 ^{cd}	0.75±0.08 ^b	0.88±0.3 ^{bc}
	Rice flour	0.65±0.2 ^{abc}	0.80±0.07 ^b	0.52±0.2 ^{ab}
	Quinoa flour	0.30±0.1 ^a	0.84±0.03 ^b	0.25±0.3 ^a
Hot air frying	Wheat flour	1±0.3 ^{bcd}	0.54±0.1 ^a	0.55±0.2 ^{ab}
	Rice flour	1.45±0.5 ^d	0.80±0.04 ^b	1.19±0.5 ^d
	Quinoa flour	0.51±0.4 ^{ab}	0.86±0.02 ^b	0.44±0.2 ^{ab}

سرخ شده به روش عمیق و پوشش آرد کینوا ارتباط داد. Ghaitaranpour و همکاران (۲۰۲۴) در بررسی اثر پوشش بر روی ناگت مرغ نیز بیان کردند که در طی فرآیند سرخ کردن اندازه ماده غذایی به دلیل تبخیر رطوبت کاهش می‌یابد و این امر منجر به اختلال ساختاری و در نتیجه تغییرات ابعاد ماده غذایی می‌شود [۴۰].

۳-۱-۸- تغییرات حجم

روش سرخ کردن و فرمولاسیون‌های مختلف خمیرابه اثر معنی‌داری ($p < 0.05$) بر تغییرات حجم دارند (شکل ۷). ناگت‌های سرخ شده به روش عمیق و پوشش داده شده با خمیرابه کینوا کمترین تغییرات حجم (۴.۵٪) را نشان می‌دهند علت را می‌توان به محتوای رطوبت ناگت‌های مرغ

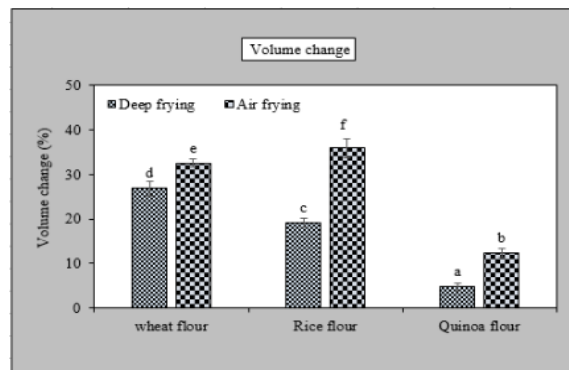


Figure 7: The effect of frying method (deep and hot air) and formulation batter (wheat, Rice, quinoa) on volume change (%) of the chicken nuggets, Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

و فرمولاسیون خمیرابه بر ارزیابی حسی (رنگ، ظاهر، طعم، بافت و پذیرش کلی) ناگت مرغ مورد بررسی قرار گرفته است. همانطور که مشاهده می‌شود روش سرخ کردن و فرمولاسیون‌های مختلف خمیرابه اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) در ارزیابی ویژگی‌های حسی داشتند (شکل ۸).

۳-۱-۹- ارزیابی حسی

ویژگی‌های حسی ماده غذایی مانند رنگ، شکل ظاهری، طعم، بافت در میزان پذیرش محصول سرخ شده توسط مصرف کننده مؤثر است. بنابراین، ارزیابی حسی نمونه‌ها بسیار ضرورت دارد. در مطالعه حاضر اثر روش سرخ کردن

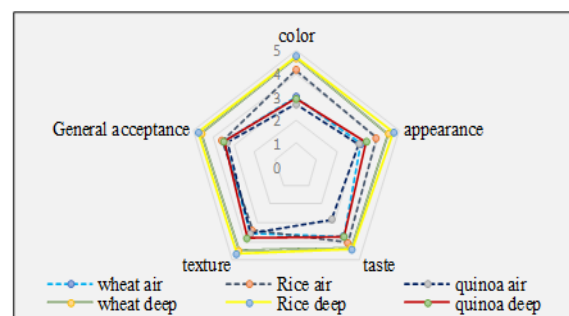


Figure 8: Effect of frying method (deep fat-frying and air frying) and different batter (wheat, Rice, quinoa) on chicken nuggets sensorial characteristics. Different letters indicate significant difference ($p < 0.05$).

کمترین پذیرش را داشت که این امر نیز می‌تواند به دلیل تیرگی محصول پوشش داده شده با آرد کینوا باشد. نتایج مشابه توسط محققان دیگر گزارش شده است [۵۱ و ۵۰].

۴- نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد اگرچه ناگت-های مرغ سرخ شده به روش هوای داغ محتوای روغن کمتری نسبت به عمیق داشتند اما برای داشتن ویژگی‌های کیفی مشابه سرخ کردن عمیق به زمان بیشتری نیاز خواهند داشت. همچنین این مطالعه نشان داد استفاده از فرمولاسیون خمیرابه بدون گلوتن (کینوا) علاوه بر فاقد گلوتن بودن توانست به طور چشمگیری محتوای روغن را نیز کاهش

ناگت‌های مرغ سرخ شده به روش عمیق پذیرش بیشتری را نشان دادند. به عبارت دیگر محتوای روغن در میزان پذیرش مصرف کننده مؤثر است. روغن باعث رنگ و ظاهری درخشانده، طعمی خوش، بافتی مطلوب و به صورت کلی پذیرش مثبت توسط مصرف کننده می‌گردد. این تغییرات در خواص محصولات از جمله ناگت‌های مرغ را می‌توان به تغییرات فیزیکی و شیمیایی که در طول فرآیند سرخ کردن عمیق رخ می‌دهد نسبت داد. نتایج مشابه توسط محققان دیگر به دست آمده است [۲۰، ۳۳ و ۴۳]. اثر معنی‌داری ($P < 0.05$) فرمولاسیون بر رنگ، ظاهر و طعم نمونه‌های پوشش داده شده مشاهده شد. ناگت‌های پوشش داده شده با آرد کینوا

هوای داغ پذیرش کمتری داشت اما با توجه به تاثیری که بر روی جذب روغن دارد می‌تواند روش سالم‌تری برای تولید ناگت مرغ و جایگزین ارزشمندی برای تولید غذاهای پروتئینی سرخ شده باشد.

۵- قدردانی

بدینوسیله در پایان این پروژه، از معاونت پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، به خاطر حمایت و همکاری در انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌گردد.

دهد. که این امر به علت تشکیل پوسته ضخیم ناگت مرغ توسط آرد کینوا و همچنین جذب بالای آب کینوا بود که باعث حفظ رطوبت و جلوگیری از ورود روغن می‌شود. از نظر ارزیابی حسی، کمترین پذیرش کلی در بین فرمولاسیون خمیرابه مربوط به ناگت‌های پوشش داده شده با آرد کینوا بود که این را می‌توان به استفاده کمتر مصرف کننده‌گان از محصولات حاوی کینوا مرتبط دانست که با آموزش و مصرف بیشتر محصولات بدون گلوتن از جمله کینوا در جامعه می‌توان ذائقه مصرف کنندگان را به سمت این محصول سوق داد. در روش سرخ کردن نیز سرخ کردن

۶- منابع

- [1] Zsaszimova, L., 2022. The association between fast-food consumption and job-related factors among Russian adults. *Economics & Human Biology*, p.101147.
- [2] Nemati, A., Matin, S., Sadegh-Hoseini, M., Alipanah-Moghadam, R. and Mohajeri, M., 2020. Is there any difference in fast food consumption between children with different obesity status in Ardabil-Iran? *Obesity Medicine*, 20, p.100293.
- [3] Oniszczyk, T., Kasprzak-Drozd, K., Olech, M., Wójtowicz, A., Nowak, R., Rusinek, R., Szponar, J., Combrzyński, M. and Oniszczyk, A., 2021. The Impact of Formulation on the content of phenolic compounds in snacks enriched with *Dracocephalum moldavica* L. seeds: introduction to receiving a new functional food product. *Molecules*, 26(5), p.1245.
- [4] Ozen, E. and Singh, R.K., 2020. Heat transfer in breaded and non-breaded chicken nuggets baked in a pilot-scale radiant wall oven. *LWT*, 124, p.109107.
- [5] deShazo, R.D., Bigler, S. and Skipworth, L.B., 2013. The autopsy of chicken nuggets reads "chicken little". *The American Journal of Medicine*, 126(11), pp.1018-1019.
- [6] Ağcam, E., 2022. Modeling of the changes in some physical and chemical quality attributes of potato chips during frying process. *Applied Food Research*, 2(1), p.100064.
- [7] Pirs, S. and Hafezi, K., 2023. Hydrocolloids: Structure, preparation method, and application in food industry. *Food Chemistry*, 399, p.133967.
- [8] Ghaitaranpour, A., Mohebbi, M., Koocheki, A. and Ngadi, M.O., 2020. An agent-based coupled heat and water transfer model for air frying of doughnut as a heterogeneous multiscale porous material. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 61, p.102335.
- [9] Zaghi, A.N., Barbalho, S.M., Guiguer, E.L. and Otoboni, A.M., 2019. Frying process: From conventional to air frying technology. *Food Reviews International*, 35(8), pp.763-777.
- [10] Wang, Y., Wu, X., McClements, D.J., Chen, L., Miao, M. and Jin, Z., 2021. Effect of new frying technology on starch food quality. *Foods*, 10(8), p.1852.
- [11] Oke, E.K., Idowu, M.A., Sobukola, O.P., Adeyeye, S.A.O. and Akinsola, A.O., 2018. Frying of food: a critical review. *Journal of Culinary Science & Technology*, 16(2), pp.107-127.
- [12] Liberty, J.T., Dehghannya, J. and Ngadi, M.O., 2019. Effective strategies for reduction of oil content in deep-fat fried foods: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 92, pp.172-183.
- [13] Xie, D., Guo, D., Guo, Z., Hu, X., Luo, S. and Liu, C., 2022. Reduction of oil uptake of fried food by coatings: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(6), pp.3268-3277.
- [14] Dehghannya, J. and Ngadi, M., 2021. Recent advances in microstructure characterization of fried foods: Different frying techniques and process modeling. *Trends in Food Science & Technology*, 116, pp.786-801.
- [15] Devi, S., Zhang, M., Ju, R. and Bhandari, B., 2021. Recent development of innovative methods for efficient frying technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(22), pp.3709-3724.
- [16] Gouyo, T., Rondet, É., Mestres, C., Hofleitner, C. and Bohuon, P., 2021. Microstructure analysis of crust during deep-fat or hot-air frying to understand French fry texture. *Journal of Food Engineering*, 298, p.110484.

- [17] Ghaitaranpour, A., Mohebbi, M. and Koocheki, A., 2021. An innovative model for describing oil penetration into the doughnut crust during hot air frying. *Food Research International*, 147, p.110458.
- [18] Negara, B.F.S.P., Lee, M.J., Tirtawijaya, G., Cho, W.H., Sohn, J.H., Kim, J.S. and Choi, J.S., 2021. Application of deep, vacuum, and air frying methods to fry chub mackerel (*Scomber japonicus*). *Processes*, 9(7), p.1225.
- [19] Cao, Y., Wu, G., Zhang, F., Xu, L., Jin, Q., Huang, J. and Wang, X., 2020. A comparative study of physicochemical and flavor characteristics of chicken nuggets during air frying and deep frying. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 97(8), pp.901-913.
- [20] Castro-López, R., Mba, O. I., Gómez-Salazar, J. A., Cerón-García, A., Ngadi, M. O., & Sosa-Morales, M. E. (2023). Evaluation of chicken nuggets during air frying and deep-fat frying at different temperatures. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 31, 100631.
- [21] He, D.B., Xu, F.E.I., Hua, T.C. and Song, X.Y., 2013. Oil absorption mechanism of fried food during cooling process. *Journal of Food Process Engineering*, 36(4), pp.412-417.
- [22] Fiszman, S.M. and Salvador, A., 2003. Recent developments in coating batters. *Trends in food science & technology*, 14(10), pp.399-407.
- [23] Krupa-Kozak, U., Troszyńska, A., Bączek, N. and Soral-Śmietana, M., 2011. Effect of organic calcium supplements on the technological characteristic and sensory properties of gluten-free bread. *European food research and technology*, 232(3), pp.497-508.
- [24] GIRI, N.A., Sheriff, J.T., Sajeev, M.S. and Pradeepika, C., 2016. Development and physico-nutritional evaluation of sweet potato flour based gluten free cookies. *Journal of Root Crops*, 42(1), pp.74-81.
- [25] Gupta, M. and Bansal, V., 2021. Development of gluten free snacks using chickpea flour and flax seeds for celiac patients. *Journal of Emerging Technologies and Innovative Research*, 8, pp.223-238.
- [26] Puerta, P., Laguna, L., Villegas, B., Rizo, A., Fiszman, S. and Tárrega, A., 2020. Oral processing and dynamics of texture perception in commercial gluten-free breads. *Food Research International*, 134, p.109233.
- [27] Kahlon, T.S., Avena-Bustillos, R.J. and Chiu, M.C.M., 2016. Sensory evaluation of gluten-free quinoa whole grain snacks. *Heliyon*, 2(12), p.e00213.
- [28] Sabikun, N., Bakhsh, A., Rahman, M.S., Hwang, Y.H. and Joo, S.T., 2021. Evaluation of chicken nugget properties using spent hen meat added with milk fat and potato mash at different levels. *Journal of food science and technology*, 58(7), pp.2783-2791.
- [29] Pinkaew, P. and Naivikul, O., 2019. Development of gluten-free batter from three Thai rice cultivars and its utilization for frozen battered chicken nugget. *Journal of food science and technology*, 56(8), pp.3620-3626.
- [30] El-Sohaimy, S.A., El-Wahab, A., Miral, G., Oleneva, Z.A. and Toshev, A.D., 2022. Physicochemical, Organoleptic Evaluation and Shelf Life Extension of Quinoa Flour-Coated Chicken Nuggets. *Journal of Food Quality*, 2022.
- [31] Faloye, O.R., Sobukola, O.P., Shittu, T.A. and Bakare, H.A., 2021. Influence of frying parameters and optimization of deep fat frying conditions on the physicochemical and textural properties of chicken nuggets from FUNAAB-alpha broilers. *SN Applied Sciences*, 3(2), pp.1-17.
- [32] AOAC (2000) Official methods of analysis of the association of analytical chemists. AOAC, Washington, DC
- [33] Rahimi, D., Hasani, M. and Kashaninejad, M., 2021. Effects of Infrared cooking techniques and Balangu (*Lallemantia royleana*) gum concentration on quality characteristics and stress relaxation of chicken nugget. *Journal of Food and Bioprocess Engineering*, 4(1), pp.26-36.
- [34] Pinkaew, P. and Naivikul, O., 2019. Development of gluten-free batter from three Thai rice cultivars and its utilization for frozen battered chicken nugget. *Journal of food science and technology*, 56(8), pp.3620-3626.
- [35] Akdeniz, N., Sahin, S., Sumnu, G. 2006. Functionality of batters containing different gums for deep-fat frying of carrot slices. *J Food Eng*, 75:522–6.
- [36] Albert, A., Perez-Munuera, I., Quiles, A., Salvador, A., Fiszman, S.M., and Hernando, I. 2009. Adhesion in fried battered nuggets: Performance of different hydrocolloids as preducts using three cooking procedures. *Food Hydrocolloids*, 23: 1443–1448
- [37] Chayawat, J. and Rumpagaporn, P., 2020. Reducing chicken nugget oil content with fortified defatted rice bran in batter. *Food Science and Biotechnology*, 29(10), pp.1355-1363.
- [38] Udomkun, P., Niruntasuk, P. and Innawong, B., 2019. Impact of novel far-infrared frying technique on quality aspects of chicken nuggets and frying medium. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(5), p.e13931.
- [39] Vélez-Ruiz, J. F., & Sosa-Morales, M. E. (2003). Evaluation of physical properties of dough of donuts during deep-fat frying at different temperatures. *International Journal of Food Properties*, 6(2), 341-353.
- [40] Ghaitaranpour, A., Mohebbi, M., & Oleyaei, S. A. (2024). Effects of coating formulation on structural changes of turkey nugget during frying:

- MRI evaluation. *Journal of Future Foods*, 4(2), 142-148.
- [41] Ghaitaranpour, A., Koocheki, A., Mohebbi, M. and Ngadi, M.O., 2018. Effect of deep fat and hot air frying on doughnuts physical properties and kinetic of crust formation. *Journal of Cereal Science*, 83, pp.25-31.
- [42] Santos, C. S., Cunha, S. C., & Casal, S. (2017). Deep or air frying? A comparative study with different vegetable oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(6), 1600375.
- [43] Teruel, M. D. R., Gordon, M., Linares, M. B., Garrido, M. D., Ahromrit, A., & Niranjana, K. (2015). A comparative study of the characteristics of french fries produced by deep fat frying and air frying. *Journal of Food Science*, 80(2), E349-E358.
- [44] Andrés, A., Arguelles, A., Castelló, M. L., & Heredia, A. (2013) Mass transfer and volume changes in French fries during air frying. *Food and Bioprocess Technology*, 6:1917–1924. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0861-2>.
- [45] Conte, P., Pulina, S., Del Caro, A., Fadda, C., Urgeghe, P. P., De Bruno, A., ... & Piga, A. (2021). Gluten-free breadsticks fortified with phenolic-rich extracts from olive leaves and olive mill wastewater. *Foods*, 10(5), 923.
- [46] Pan, G., Ji, H., Liu, S., & He, X. (2015). Vacuum frying of breaded shrimps. *LWT-Food Science and Technology*, 62(1), 734-739.
- [47] Jan, K. N., Panesar, P. S., & Singh, S. (2018). Textural, in vitro antioxidant activity and sensory characteristics of cookies made from blends of wheat-quinoa grown in India. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(3), e13542.
- [48] Sansano, M., Juan-Borrás, M., Escriche, I., Andrés, A., & Heredia, A. (2015). Effect of pretreatments and
- [49] air-frying, a novel technology, on acrylamide generation in fried potatoes. *Journal of food science*, 80(5), T1120-T1128.
- [50] Manjunatha, S. S., Ravi, N., Negi, P. S., Raju, P. S., & Bawa, A. S. (2014). Kinetics of moisture loss and oil uptake during deep fat frying of Gethi (*Dioscorea kamoensis* Kunth) strips. *Journal of food science and technology*, 51, 3061-3071.
- [51] Moss, R., & McSweeney, M. B. (2022). Effect of quinoa, chia and millet addition on consumer acceptability of gluten-free bread. *International Journal of Food Science & Technology*, 57(2), 1248-1258.
- [52] Gostin, A. I. (2019). Effects of substituting refined wheat flour with wholemeal and quinoa flour on the technological and sensory characteristics of salt-reduced breads. *LWT*, 114, 108412.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the effect of frying method and batter formulation on the physicochemical characteristics of chicken nuggets

Zoleykha Fahimi Vajargahi¹, Mohsen Esmaili^{2*}, Arash Ghaitaranpour²

1_Master of science student, Department of food industry science and engineering, Urmia University - Iran

2 Department of Science and Food Industry Engineering, University of Urmia, Iran

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received:2024/9/15

Accepted:2024/12/11

Keywords:

gluten-free batter,
chicken nuggets,
deep fryer,
hot air fryer,
physicochemical properties

DOI: 10.22034/FSCT.22.159.316.

*Corresponding Author E-

m.esmaili@urmia.ac.ir

As one of the most popular fried ready-to-eat foods in the world, chicken nuggets are deep fried. Due to the immersion of the product in this method, the oil content increases, thus causing obesity and related diseases. For this reason, reducing the fat of the product while maintaining the organoleptic properties has been given much attention and research. In this study, chicken nuggets with different batter formulations (wheat flour, rice flour, and quinoa flour) were fried by two methods (deep and hot air) in terms of moisture content, oil content, weight loss, batter absorption rate, and stickiness percentage, color, texture, viscosity, diameter and sensory evaluation were investigated. The oil content, moisture content and percentage of adhesion of the coating to the core were higher in deep frying than in hot air frying. Texture, deep fried chicken nuggets had less firmness and gumminess. The results also showed that the samples coated with quinoa flour had higher moisture content, batter pickup and oil content while they experienced lower cooking loss and coating adhesion to the core. In terms of color, the coating of quinoa dough showed lower L*, b*, and higher a*. The hardness of the nuggets coated with quinoa paste was lower than the other two samples. The results show that hot air frying is generally a healthy method for producing chicken nuggets and a valuable alternative for producing fried protein foods. As a gluten-free grain with high nutritional value, quinoa flour paste can be a good substitute for wheat in reducing the oil content of fried products.

Journal of food science and technology(Iran)

Properietor:	Food Science & Technology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University Association of Food Science & Technology (Iran)
Excutive Manager:	Dr. E. Sharifi Al Agha
Editors-in-Chief:	Dr. M. H. Azizi

Editorial Board: (Alphabetical order)

Azizi, M. H. Prof.
Abbasi. S. Associate Prof.
Ahmadi, H. Assistant Prof.
Hamidi Esfahani, Z. Associate Prof.
Hossaini, M. Assistant Prof.
Sahari, M. A. Prof.
Mohammadamin, M. Assistant Prof.
Vosoughi, M. Prof.
Rashidinejad, A. Rashidinejad

Editorial Secretary:	Neda Azizi
Literature and Technical Editor (Persian):	M. A. Sahari
Literature and Technical Editor (English):	M. H. Azizi
Layout:	Neda Azizi
Lithography & Print:	Center for Academic Publication

Address:	Food Science & Technology Department, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University P.O.Box: 14115-336, Tehran, I. R. Iran. Web site: www.fsct.ir Tel:+98-21-48292475 Fax: +98-21-44180539
-----------------	---

**Instructions for Contributors to the
Journal of food science and technology(Iran)**

General

IJFST publishes the results of research in the various aspects of Science applying to the different areas of Food Science and Technology from all over the world. Four copies of the manuscript, not already sent for publication should be forwarded to the Editorial Office, Journal of Food Science and Technology, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, P.O.Box.14115-336, Tehran, Iran.

PREPARATION OF THE MANUSCRIPTS

Manuscripts must be typed, double-spaced, line numbered, with margins on good grade A4 paper. The heading of each manuscript should include the title, author's name(s) and complete address(es).

The manuscript should usually be divided into the following sections: Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion and finally Reference. An abstract not exceeding 300 words should cite the reasons for doing work; objectives and topics covered brief description of methods used, result and conclusions.

Introduction should be short and include a brief statement of the problem that specifies the work, the finding of others and an explanation of the general approach and objectives, Methods should be based on experimental and survey data and should give sufficient details. Tables, figures and other illustrations in the results section should provide a clear understanding of the representative data obtained from the experiments.

Discussion section should interpret the data presented in the results section, giving particular attention to the problems presented in the introduction. Acknowledgement(s) should precede the references.

In references section, the author(s) is (are) encouraged to cite only the published, significant and up-to-date reference. References should be numbered sequentially in the order that they are cited in the text. The numbers should be enclosed in square brackets e.g. Glenn et al. [1]. References are collected in numerical order at the end of the manuscript under the heading "References"

JOURNAL ARTICLES

[1] Glenn, G.M., Younce, F.L. and Pitts, M.J.1991. Fundamental physical properties characterizing the hardness of wheat endosperm. *Journal of Cereal Science* 13: 179-194.

[2]Clark, A.H. 1987. The application of network theory to food systems. In "Food structure and Behavior", (J. M. V. Blanshard and P. Eillford, eds). Academic Press, London, pp: 13-34.

The manuscripts should also include a condensed running title (not exceeding 50 characters including spaces), a list of three to five keywords and a Persian abstract for non-Iranian authors the abstract will be converted into Persian by the journal's editor.

MANUSCRIPTS ON DISK

Office tools (Microsoft Word) should be used to prepare the final revised materials. The final revised manuscript saved on a 3 1/2 floppy disk along with its hard copy is required for final submission.

UNITS OF MEASUREMENT

The SI system is adopted as standard. As for abbreviations. If any non-standards are to be used, they should be defined in the text.

TABLES

Tables should be numbered in Arabic, each submitted on a separate sheet with an appropriate legend at top. First mention of tables in text must be in sequential order. Indicate first mention of each table in the margin of manuscript.

ILLUSTRATIONS

Figures are of two kinds: line drawings and photographs. Line drawings must be drawn using intense black on white: photographs must be of good contrast and sharp focus throughout. In addition to the usual line-drawn graphs, treat complicated formulas, flow diagrams, metabolic schemes and large or complex tables as figures. First mention of figures in text must be in sequential order. Indicate first mention of each figure in the margin of text. Use [] to indicate the number of formulas.

Figures are photographically reproduced, nearly always at a reduced size from the material provided by the authors. Plan for maximum reduction wherever possible, figures will be reduced to fit one journal column(69mm). All letters, numbers and symbols, thus, must be large enough in original to be at least 1.5mm high after reduction.

PREPARATION FOR PUBLICATION

Page author proofs will be sent to the authors for checking before publication. Alterations other than the correction of printers error will be allowed only at the editor's discretion. Manuscripts after being corrected must be returned to the editorial office within 15 days. Otherwise the editor reserves the right to correct the proofs himself and to send the material for publication.

Web site: www.fsct.ir

Contents

1- Improving the oxidative stability	1
2- An overview of the application of.....	27
3- Investigating the chemical and antimicrobial.....	43
4- Investigating the antioxidant potential.....	55
5- Optimizing reaction conditions for.....	65
6- Optimizing reaction conditions for.....	92
7- The Effect of Hot Chocolate Powder.....	122
8- Microencapsulation of <i>Lactobacillus acidophilus</i> La5.....	133
9- Coriander seed (<i>Coriandrum sativum</i>) essential.....	144
10- Evaluating the effect of solvents and.....	157
11- Investigating The Performance Of The.....	169
12- Detoxification of heavy metals by probiotic.....	195
13- Analyzing the purchase behavior of shrimp.....	207
14- Image processing of chia seed mucilage film.....	221
15- Effect of chitosan-gelatin edible coating.....	232
16- Investigating the characteristics of pectin.....	251
17- The study of physicochemical, textural, and.....	267
18- The impact of processing, time, and harvesting.....	288
19- The potential of smart scaffolds containing.....	301
20- Investigating the effect of frying method.....	316