

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، صرفا 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 اصولاً 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، ترجیحاً 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- بررسی شرایط استخراج عصاره هسته زیتون با استفاده از ۱
- ۲- فرمولاسیون نوشیدنی ایزوتونیک برپایه ی پرمیت آب پنیر ۱۶
- ۳- بررسی خواص آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافتی با وزن های ۲۹
- ۴- اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M₁ و اکراتوکسین A در نمونه های ۴۲
- ۵- تأثیر پیش تیمار برشته کردن به روش مایکروویو بر راندمان ۵۸
- ۶- بهینه سازی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی ماست ۷۳
- ۷- بررسی تأثیر افزودن شیر سویا، جو و بادام بر ویژگی های ۹۰
- ۸- بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و صمغ عربی حاوی ۱۰۴
- ۹- بررسی اثر نانوذرات سلنیوم بر کیفیت و ماندگاری میوه ۱۲۱
- ۱۰- درک و نگرش مصرف کنندگان نسبت به فرآورده های ۱۳۷
- ۱۱- اثر سرعت اولتراسونیک بر خصوصیات اسانس ۱۵۶
- ۱۲- تولید کیک روغنی حاوی آرد گندم کامل با استفاده از ۱۷۱
- ۱۳- بررسی تأثیر اینولین و کلرید کلسیم بر ویسکوزیته ۱۸۵
- ۱۴- تهیه امولسیون ساختار یافته آب در روغن (W/O) کم - اشباع بدون ۱۹۹
- ۱۵- بررسی ویژگی های بیوشیمیایی و خاصیت ضدقارچی عصاره ۲۲۳
- ۱۶- بررسی تأثیر پیش تیمار اولتراسونیک و آبگیری اسمزی ۲۳۵
- ۱۷- تأثیر عصاره اتانولی دانه خار مریم (*Silybum marianum*) استخراج شده ۲۵۰
- ۱۸- مقایسه وضعیت های بازتابشی و تقابلی طیف سنجی فروسرخ نزدیک ۲۶۵
- ۱۹- بهینه سازی ترکیب ماست همزده پروبیوتیک حاوی سویه ۲۷۸
- ۲۰- ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضدقارچی اسانس زردچوبه ۲۹۷



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی شرایط استخراج عصاره هسته زیتون با استفاده از دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک و ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها

عباس نمدی‌پور^۱، حبیب‌الله میرزایی^{۲*}، محمدعلی سحری^۳، منصوره هوشیار^۴

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

۲- *دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳- استاد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه تربیت مدرس.

۴- دانش آموخته دکتری گروه میکروبیولوژی، دانشگاه شهید بهشتی.

چکیده

اطلاعات مقاله

هدف از مطالعه حاضر بررسی شرایط استخراج عصاره هسته زیتون با استفاده از دستگاه هموژنایزر اولتراسونیک و بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌های دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی بود. طبق نتایج، عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳ دقیقه، دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می‌باشد. نوع حلال و مدت زمان استخراج، دارای تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$)، روی مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های هسته زیتون می‌باشد. همچنین، تیمارهای استخراج شده با حلال (آب) ۰: اتانول (۱۰۰) در هر سه زمان (۱، ۲ و ۳ دقیقه) و سپس تیمارهای استخراج شده با حلال اتانول ۸۰: آب ۲۰ در زمان‌های ۲ و ۳ دقیقه دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی بودند؛ و به عنوان تیمارهای منتخب جهت انجام آزمون‌های میکروبی، انتخاب شدند. در ارتباط با خصوصیات ضد میکروبی، طبق نتایج بدست آمده از آزمون انتشار چاهک، هر سه عصاره اتانولی، دارای خصوصیات ضد میکروبی بودند. از سوی دیگر، در آزمون اندازه‌گیری چگالی نوری که جهت انتخاب تیمار بهینه صورت گرفت، نتایج نشان داد که عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳ دقیقه، دارای بالاترین خاصیت ضد میکروبی می‌باشد؛ در نتیجه این عصاره به عنوان بهترین تیمار انتخاب و ترکیبات فنلی آن بوسیله دستگاه GC-MS اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که، بیشترین درصد فراوانی ترکیب فنلی در این عصاره مربوط به هیدروکسی تایروزول و تایروزول می‌باشد.

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۴/۲۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۱

کلمات کلیدی:

عصاره هسته زیتون،

ترکیبات فنلی،

خصوصیات ضد میکروبی،

GC-MS

DOI:10.22034/FSCT.22.162.1.

* مسئول مکاتبات:

mirzaei Habib1@gmail.com

۱-مقدمه

استفاده زیاد از افزودنی‌های ضد میکروبی شیمیایی مانند سوربات پتاسیم و بنزوات سدیم، سبب ایجاد مشکلات متعدد در سلامت مصرف کنندگان از جمله مسمومیت، اثرات منفی در سلول‌های کبدی، کلیوی و مغزی و در موارد حادتر سرطان، می‌شود؛ به همین دلیل در سالیان اخیر، تقاضا برای استفاده از مواد طبیعی و بیولوژیک، به‌عنوان جایگزین نگهدارنده‌های شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است [1]. از دیگر معایب مواد شیمیایی، می‌توان به محدود بودن، گرانقیمت بودن و همچنین ایجاد مقاومت دارویی در مصرف کنندگان اشاره کرد [2]. از سوی دیگر، عصاره‌ها گیاهی نسبت به مواد شیمیایی، به دلیلی دارا بودن منشا طبیعی، سازش بیشتری با بدن انسان دارند. عدم وجود عوارض جانبی، ارزان بودن و در دسترس بودن از دیگر مزایای استفاده از عصاره‌های گیاهی بجای مواد شیمیایی می‌باشد [3]. در میزان اثر نگهدارنده‌های طبیعی، نوع و مقدار ترکیبات فنلی بسیار مهم می‌باشد. در مطالعات مختلف، مقادیر متفاوتی برای میزان ترکیبات فنلی استخراج شده توسط حلال‌های مختلف ارائه گردیده است. این مقادیر مختلف استخراج، به نوع گیاه و منطقه‌ای که در آن کشت شده و شرایط استخراج بستگی دارد [4]. زیتون^۲ با نام علمی *Olea europaea* به خانواده *Oleaceae* تعلق دارد. میوه زیتون به علت داشتن روغن بسیار با کیفیت و مرغوب، یکی از پرفایده‌ترین میوه‌های مناطق نیمه گرمسیری می‌باشند [5]. ایران با تولید سالانه ۸۵ هزار تن در رتبه ۲۰ دنیا قرار دارد [6]. به دلیل کاربردهای عمده زیتون از جمله تهیه روغن و کنسرو میوه زیتون، در سالیان اخیر توجه زیادی به کاشت و پرورش آن شده است. ضایعات مواد غذایی که در طول تولید، پخش و مصرف مواد غذایی تولید می‌شوند، دارای ویژگی‌های

تغذیه‌ای زیادی بوده؛ که دفع آن‌ها از یک سو باعث هدر رفت مواد مغذی و از سوی دیگر هزینه بر می‌باشد. دفع ضایعات همچنین دارای اثرات مخربی روی محیط زیست می‌باشند. به‌همین دلیل صنعت غذا به دنبال راهکاری برای کاهش این ضایعات غذایی و همچنین استفاده مطلوب از محصولات فرعی بدست آماده در طی زنجیره تولید می‌باشد [7]. ابوالفتح و همکاران (۲۰۲۴) به بررسی متغیرهای مختلف بر خواص ضد باکتریایی برگ زیتون پرداختند. نتایج نشان داد که عصاره‌ی برگ زیتون دارای اثرات معنی داری روی باکتری لیستریا مونوسیتوژنز می‌باشد [8]. تولید میزان زیاد هسته زیتون به‌عنوان ضایعات در صنایع فرآوری زیتون، و با توجه به رشد این صنایع در سالیان اخیر، سبب شده است که راهکارهایی با هدف استفاده بهینه از این ضایعات در صنایع غذایی و دارویی ایجاد شود. هسته زیتون یک ساختار لیگنوسلولزی است که از سلولز، همی سلولز و لیگنین تشکیل شده است. هسته زیتون حاوی پروتئین و پلی فنل‌های زیادی مانند تایروزول، هیدروکسی تایروزول، اولئوروپین می‌باشد [9]. هسته زیتون که ۱۸-۲۲ درصد از وزن زیتون را شامل می‌شود؛ منبع بسیار غنی از ترکیبات مفید و ارزشمند می‌باشد [10]. هسته زیتون حاوی مواد معدنی زیادی مانند منیزیم، کلسیم، پتاسیم، سیلیس و گوگرد زیادی می‌باشد. علاوه بر این، وفور ترکیبات فنلی در هسته زیتون سبب شده است که این محصول فرعی صنایع غذایی، به‌عنوان یک ماده‌ی دارای خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی شناخته شود [11]. ماستری و همکاران (۲۰۱۹) به بررسی ترکیبات هسته زیتون پرداختند. این محققین بیان کردند که هسته زیتون حاوی فیبر رژیمی، لیپید و پروتئین به ترتیب ۴۷، ۳۰ و ۱۷ درصد بر مبنای وزن خشک می‌باشند.

هسته‌های زیتون پس از شستشو، ابتدا در شرایط طبیعی و با استفاده از محیط مناسب و سپس به منظور رسیدن به حد مطلوب خشک شدن (۱۰ درصد) در آن ۴۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت خشک و در ادامه توسط آسیاب صنعتی، آسیاب شد. پودرها تا زمان انجام آزمایشات بعدی در فریزر با دمای منفی ۱۸- قرار داده شد. جهت استخراج عصاره‌ها، برای هر تیمار ۵ گرم پودر هسته با ۱۰۰ میلی لیتر از حلال‌ها (۲) سیستم حلال تک جزیی آب و اتانول و ۳ سیستم حلال دو جزیی آب ۵۰ : اتانول ۵۰، آب ۲۰ : اتانول ۸۰ و آب ۸۰ : اتانول ۲۰) در سه زمان ۱، ۲ و ۳ دقیقه بوسیله‌ی دستگاه سوند هموژنایزر با توان ۱۰۰ وات (نیم ثانیه روشن و نیم ثانیه خاموش) مورد عصاره گیری قرار گیرد. در ادامه، عصاره‌های حاصل با استفاده از قیف بوخنر و کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف و تا انجام آزمایشات بعدی در یخچال با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار داده شدند [13].

۲-۲-۲ اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل عصاره‌ها:

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل موجود در عصاره‌ها بر اساس روش فولین سیوکالته (کاپنسی و همکاران، ۲۰۰۰) انجام گردید [14]. بر اساس این روش، ابتدا ۱ میلی‌لیتر عصاره با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالته که به نسبت ۱ به ۱۰ با آب مقطر دو بار تقطیر رقیق شده، ترکیب گردید. پس از گذشت ۸ دقیقه، ۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵٪ به آن افزوده و به حجم ۵۰ میلی‌لیتر با آب مقطر رسانده شد. ترکیب حاصله به مدت ۰/۵ ساعت در تاریکی قرار داده شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر قرائت گردید. فنل کل، با توجه به معادله‌ی خط بدست آمده از نمودار استاندارد، بر حسب گالیک اسید گزارش گردید:

$$A=0/0011C+0/0196, R^2=0$$

این محققین همچنین میزان ترکیبات فنلی درون عصاره هسته زیتون را ۲۸۰ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک بر حسب گالیک اسید گزارش کردند [12]. تاکنون براساس اطلاعات موجود از آن‌جایی‌که، تحقیقی در زمینه بهینه سازی استخراج عصاره هسته زیتون با روش سوند هموژنایزر صورت نگرفته است؛ لذا در این تحقیق سعی شد که ابتدا، پودرهای هسته زیتون (واريته شنگه) بوسیله‌ی ۵ سیستم حلال (شامل ۲ سیستم حلال تک جزیی آب و اتانول و ۳ سیستم حلال دو جزیی آب ۵۰ : اتانول ۵۰، آب ۲۰ : اتانول ۸۰ و آب ۸۰ : اتانول ۲۰) در سه زمان ۱، ۲ و ۳ دقیقه بوسیله‌ی دستگاه سوند هموژنایزر با توان ۱۰۰ وات (نیم ثانیه روشن و نیم ثانیه خاموش) مورد عصاره گیری قرار گیرد. در ادامه، عصاره‌های حاصل توسط کاغذ واتمن شماره ۴ فیلتر و میزان ترکیبات فنلی آن‌ها ارزیابی گردید. در مرحله بعد، ۵ نمونه دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی انتخاب و خصوصیات ضد میکروبی آن‌ها بررسی شد. در پایان عصاره دارای بالاترین خاصیت ضد میکروبی به عنوان نمونه بهینه انتخاب و ترکیبات فنلی آن بوسیله دستگاه GC-MS اندازه‌گیری گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱ مواد و دستگاه‌ها

هسته زیتون (واريته شنگه)، از کارخانه اسپینو واقع در اطراف تهران، سوش‌های میکروبی از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی، اتانول، فولین سیوکالته و کربنات سدیم، از شرکت سیگما و محیط کشت‌های پوتیتیو دکستروز آگار و مولر هینتون آگار از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲ روش‌ها

۲-۲-۱ بهینه سازی استخراج عصاره هسته زیتون:

A جذب نمونه در ۷۶۰ نانومتر و C غلظت معادل اسید گالیک (میکروگرم بر میلی لیتر) می باشد.

۲-۲-۳- ارزیابی خصوصیات ضد میکروبی نمونه های منتخب:

جهت بررسی خصوصیات ضد میکروبی (آسپیریلوس نایجر PTCC ۵۲۹۸ و اشیریشیا کلی ۱۳۹۹ PTCC) از روش Fasihi و همکاران (۲۰۱۷) با کمی تغییرات استفاده گردید [15]. در هر دو مورد، از سوسپانسیون میکروبی معادل ۰/۵ مک فارلند (هر ۱ سی سی معادل نیم مک فارلند، $10^8 \times 1/5$ سلول باکتری وجود دارد) و از روش انتشار چاهک استفاده گردید. در ارتباط با خصوصیات ضد قارچی، پس از ریختن محیط کشت پوتیتو دکستروز آگار^۳ در پلیت استریل و کشت سطحی کپک آسپیریلوس نایجر، ۳ عدد چاهک به قطر ۵ میلی متر در هر پلیت ایجاد و عصاره به میزان ۵۰ میکرولیتر درون آن ها ریخته و گرمخانه گذاری (۲۵ درجه سلسیوس) انجام شد. اندازه قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک ها، نشان دهنده خصوصیات ضد قارچی عصاره ها بود. در ارتباط با خصوصیات ضد باکتریایی، پس از ریختن محیط کشت مولر هیتون آگار^۴ در پلیت استریل و کشت سطحی باکتری اشیریشیا کلی، ۳ عدد چاهک به قطر ۵ میلی متر در هر پلیت ایجاد و عصاره به میزان ۵۰ میکرولیتر درون آن ها ریخته و گرمخانه گذاری (۳۷ درجه سلسیوس) انجام شد. اندازه قطر هاله عدم رشد اطراف چاهک ها، نشان دهنده خصوصیات ضد باکتریایی عصاره ها بود. در ادامه و جهت اطمینان کامل از صحت انجام کار، از الگوی رشد باکتری در محیط مایع با استفاده از جذب نوری بر اساس روش حبیبی و همکاران

(۱۳۹۷) با کمی تغییرات استفاده گردید [16]. به این صورت که میزان ۱۰۰ میکرولیتر از میکروارگانیسم ها به محیط کشت لوریا براث (LB^۵) حاوی عصاره (۹ سی سی محیط کشت و ۱ سی سی عصاره)، اضافه و رشد میکروارگانیسم در سه روز متوالی در دماهای (۳۷ درجه سلسیوس برای باکتری و ۲۵ درجه سلسیوس برای کپک) بوسیله بررسی میزان جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر، ارزیابی گردید.

۲-۲-۴- شناسایی پروفایل عصاره بهینه:

از دستگاه GC-MS برای شناسایی ترکیبات عصاره بهینه استفاده شد. طول، قطر و ضخامت لایه داخلی ستون استفاده شده به ترتیب، ۳۰ متر، ۰/۲۵ میلی متر و ۲۵ میکرومتر بود. نوع ستون HP-5MS با برنامه دمایی ۲۷۰-۴۰ درجه سلسیوس با سرعت افزایش دمای ۱۰ درجه سانتیگراد در دقیقه بود. گاز هلیوم، نقش گاز حامل با نرخ جریان ۱ میلی لیتر در دقیقه را داشت. شناسایی ترکیبات فنلی عصاره، بوسیله ی مقایسه طیف سنج جرمی و اندیس بازداری آن ها به ترتیب با بانک طیفی و اندیس بازداری استاندارد ترکیبات صورت پذیرفت. میزان ترکیبات از طریق سطح کل پیک ها بوسیله نرم افزار دستگاه انجام گرفت [17].

۲-۲-۵- تجزیه و تحلیل آماری

جهت آنالیز داده ها از طرح کاملاً تصادفی و جهت تعیین اختلاف بین میانگین داده ها پس از آنالیز واریانس ها با روش ANOVA، از آزمون چند دامنه دانکن در سطح ۵ درصد

3 -Potato Dextrose Agar

4 -Mueller Hinton Agar

5 -Luria Broth

استفاده شد. آنالیز آماری نتایج با استفاده از نرم افزار آماری *SPSS* انجام گرفت. برای رسم گراف ها و نمودارها از نرم افزار *Excel* استفاده و تمامی آزمون ها در ۳ تکرار انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ ارزیابی مقدار کل ترکیبات فنلی هسته زیتون استخراج شده بوسیله حلال های مختلف:

مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره های استخراج شده بوسیله ی حلال های مختلف در جدول ۱ آمده است. همان طور که

مشاهده می شود، نوع حلال و مدت زمان استخراج، دارای تاثیر معنی داری ($P < 0.05$)، در مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره های هسته زیتون دارد. به عبارت دیگر، با افزایش زمان استخراج، در تمام تیمارها، یک روند افزایشی در میزان استخراج ترکیبات فنلی مشاهده گردید؛ که در اکثر موارد، این روند معنی دار ($P < 0.05$) بود. در ارتباط با تاثیر نوع حلال، طبق نتایج بدست آمده، تیمارهای استخراج شده با حلال (آب: اتانول ۱۰۰) در هر سه زمان و سپس تیمارهای استخراج شده با حلال اتانول ۸۰: آب ۲۰ در زمان های ۲ و ۳ دقیقه دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی بودند؛ و به عنوان تیمارهای منتخب، انتخاب شدند.

Table 1: Comparison of the average amount of phenolic compounds of extracts extracted with different solvents (mg of gallic acid per 100 grams of dry matter)

run	Time (m)	Solvent type	The amount of phenolic compounds
1	1	Ethanol 0: water 100	^{Hb} 4.11 ± 261.72
2	2	Ethanol 0: water 100	^{Hb} 3.21 ± 263.14
3	3	Ethanol 0: water 100	^{Ga} 1.42 ± 270.12
4	1	Ethanol 20: water 80	^{Hb} 2.36 ± 263.43
5	2	Ethanol 20: water 80	^{Hb} 2.19 ± 265.16
6	3	Ethanol 20: water 80	^{Fa} 6.87 ± 279.22
7	1	Ethanol 50: water 50	^{Gb} 1.83 ± 269.12
8	2	Ethanol 50: water 50	^{Gb} 3.23 ± 271.61
9	3	Ethanol 50: water 50	^{Fa} 2.12 ± 284.23
10	1	Ethanol 80: water 20	^{Fc} 4.22 ± 281.16
11	2	Ethanol 80: water 20	^{Eb} 3.11 ± 290.35
12	3	Ethanol 80: water 20	^{Da} 2.43 ± 303.77
13	1	Ethanol 100: water 0	^{Cc} 2.13 ± 341.91
14	2	Ethanol 100: water 0	^{Bb} 3.22 ± 352.02
15	3	Ethanol 100: water 0	^{Aa} 4.12 ± 384.34

Capital dissimilar letters indicate significant differences between all samples and small dissimilar letters indicate significant differences in each of the samples at different extraction times ($p < 0.05$).

می‌توان به تفاوت در دامنه قطبیت پلی فنل‌ها نسبت داد؛ به همین دلیل انتخاب حلال مطلوب جهت استخراج ترکیبات فنلی، امری می‌باشد [20].

۲-۳ نتایج ارزیابی‌های میکروبی نمونه‌های منتخب:

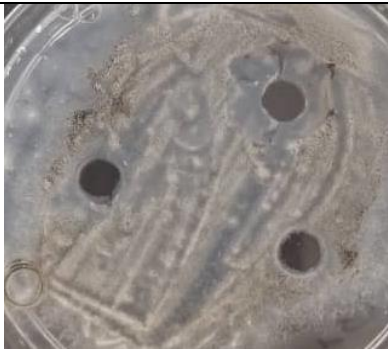
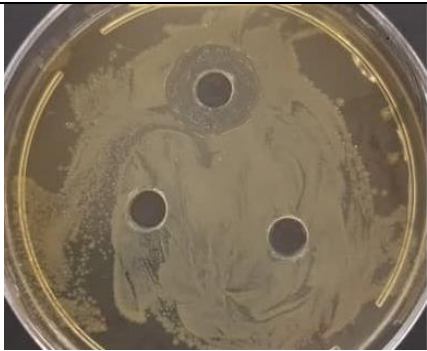
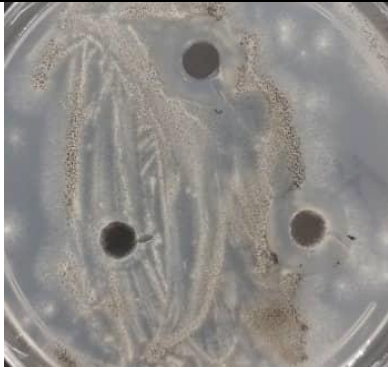
جدول ۲ و شکل‌های ۱ و ۲، نشان دهنده‌ی خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌های منتخب از مراحل قبل (عصاره‌های استخراج شده با حلال اتانولی در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه و همچنین عصاره‌های استخراج شده با حلالی هیدروالکی اتانول ۸۰:۲۰، در زمان‌های ۲ و ۳ دقیقه) می‌باشند. طبق نتایج بدست آمده از آزمون انتشار چاهک، سه عصاره استخراج شده با حلال اتانولی با زمان استخراج ۱، ۲ و ۳ دقیقه دارای خصوصیات ضد میکروبی بودند. لازم به ذکر است که نمونه‌های هیدروالکی خصوصیت ضد میکروبی ناچیزی از خود نشان دادند. از سوی دیگر، در آزمون جذب نوری که جهت کسب اطمینان از نتایج حاصل از آزمون انتشار چاهک و انتخاب تیمار بهینه (از بین عصاره‌های دارای خصوصیت ضد میکروبی در آزمون انتشار چاهک یعنی عصاره‌های اتانولی استخراج شده در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه) انجام گرفت، نتایج نشان داد که عصاره‌های اتانولی استخراج شده در هر سه زمان ۱، ۲ و ۳ دقیقه دارای خصوصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی بودند. نتایج حاکی از آن بود که عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳ دقیقه، دارای خصوصیات ضد میکروبی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌ها بود؛ لذا به‌عنوان تیمار بهینه جهت انجام آزمایشات بعدی انتخاب گردید. مارکین و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌ی آبی برگ زیتون بیان کردند که، این عصاره دارای قدرت مهارکنندگی در برابر

به دلیل ماهیت شیمیایی متفاوت ترکیبات فنلی با منشا گیاهی، این ترکیبات را می‌توان به روش‌های متفاوت و با حلال‌های مختلف استخراج کرد. از جمله عوامل تاثیر گذار در استخراج ترکیبات فنلی، نوع، حجم و اشباعیت حلال، درجه حرارت و تعداد دفعات فرایند استخراج و همچنین نوع و ماهیت گیاه می‌باشند [4]. امواج ایجاد شده در روش سوند هموژنایزر، با تشکیل پدیده کاویتاسیون، سبب تخریب دیواره سلولی و در نتیجه نشت ترکیبات فنلی توسط حلال به محیط می‌شود [18]. کدیر و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی میزان ترکیبات فنلی میوه، برگ و هسته زیتون با استفاده از روش سوکسله به این نتیجه رسیدند که، میزان ترکیبات فنلی درون عصاره‌ی اتانولی میوه زیتون، برگ زیتون و هسته زیتون به ترتیب ۲۷۰، ۲۸۰ و ۳۱۷ میکروگرم بر حسب گالیک اسید می‌باشد. این محققین بیان کردند که هسته زیتون به دلیل دارا بودن ماده لزج روغنی حاوی ترکیبات زیست فعال، غنی از ترکیبات فنلی می‌باشد [9]. نتایج این تحقیق با نتایج بدست آمده در این پژوهش، همخوانی داشت. در یک تحقیق دیگر دات و همکاران (۲۰۱۱) با بهینه سازی شرایط استخراج ترکیبات فنلی هسته زیتون با استفاده از حلال مختلف، گزارش کردند که تیمار بهینه با حلال متانولی، در زمان استخراج ۱۲ ساعت، درجه حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد و ۳ مرحله استخراج بدست خواهد آمد. این محققین بیان کردند که افزایش زمان استخراج، سبب افزایش میزان ترکیبات فنلی عصاره‌ها می‌شود. از سوی دیگر، نتایج بدست آمده توسط این محققین نشان داد که حلال الکی نسبت به آب دارای بازدهی استخراج بیشتری می‌باشد؛ که در هر دو مورد با نتایج این پژوهش مطابقت داشت [19]. اختلاف در میزان ترکیبات فنلی استخراج شده را بوسیله حلال‌های مختلف را

دانستند [24]؛ که با نتایج این پژوهش مطابقت نداشت. از سوی دیگر، نتایج به دست آمده نشان داد که، افزایش میزان ترکیبات فنلی، سبب افزایش خاصیت ضد میکروبی عصاره‌ها می‌گردد. ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ها، از طریق تاثیر روی لایه فسفولیپیدی دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها، سبب تخریب غشا و خروج محتویات و در نتیجه مرگ میکروارگانیسم‌ها می‌شود. از سوی دیگر، ترکیبات فنلی با تاثیر روی آنزیم آمینواسید دکربوکسیلاز میکروارگانیسم‌ها، اثرات ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند [25].

اشریشیا کلای می‌باشد [21]. که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. از دلایل خصوصیات ضد میکروبی این عصاره می‌توان به حضور ترکیبات فنلی مانند اولئوروپین و هیدروکسی تایروزول اشاره کرد [22]. همگ و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره اتانولی برگ زیتون، گزارش کردند که این عصاره دارای خصوصیات ضد میکروبی بالایی در برابر اشریشیا کلای می‌باشد [23]. که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. کدیر و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی خصوصیات ضد میکروبی عصاره اتانولی هسته زیتون واریته هلپالی بیان کردند که عصاره هسته زیتون توانایی مهارکنندگی بالایی در برابر باکتری‌ها و قارچ‌ها دارد [9]؛ که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. از سوی دیگر، یونس و همکاران (۲۰۲۳) با بررسی محتوای فنلی و خصوصیات ضد میکروبی عصاره اتانولی هسته زیتون بیان کردند که این عصاره تاثیر مهار کنندگی روی باکتری گرم منفی اشریشیا کلای ندارد. این محققین عدم وجود کانتچین در این عصاره را دلیل این امر

Table 2 Antimicrobial properties of selected samples

Variable Treatment	Antifungal effects	Antibacterial effects
Ethanol 100: water 0 in 1 minute		
Ethanol 100: water 0 in 2 minutes		
Ethanol 100: water 0 in 3 minutes		

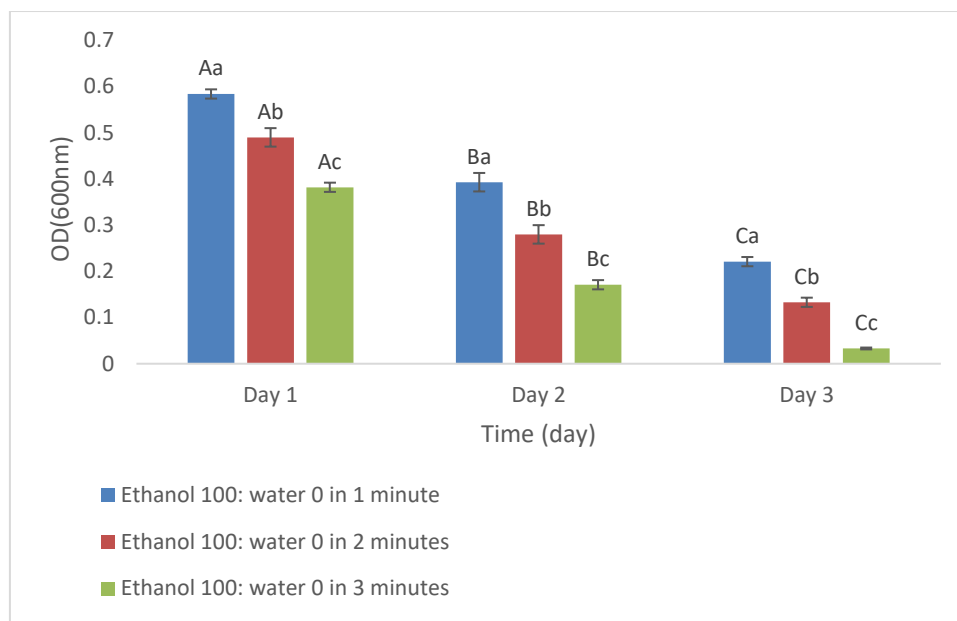


Fig 1: Antibacterial effects of ethanol extracts extracted in 1, 2 and 3 minutes. Capital dissimilar letters indicate significant differences in one sample on different days and small dissimilar letters indicate significant differences between different samples on the same day ($p < 0.05$).

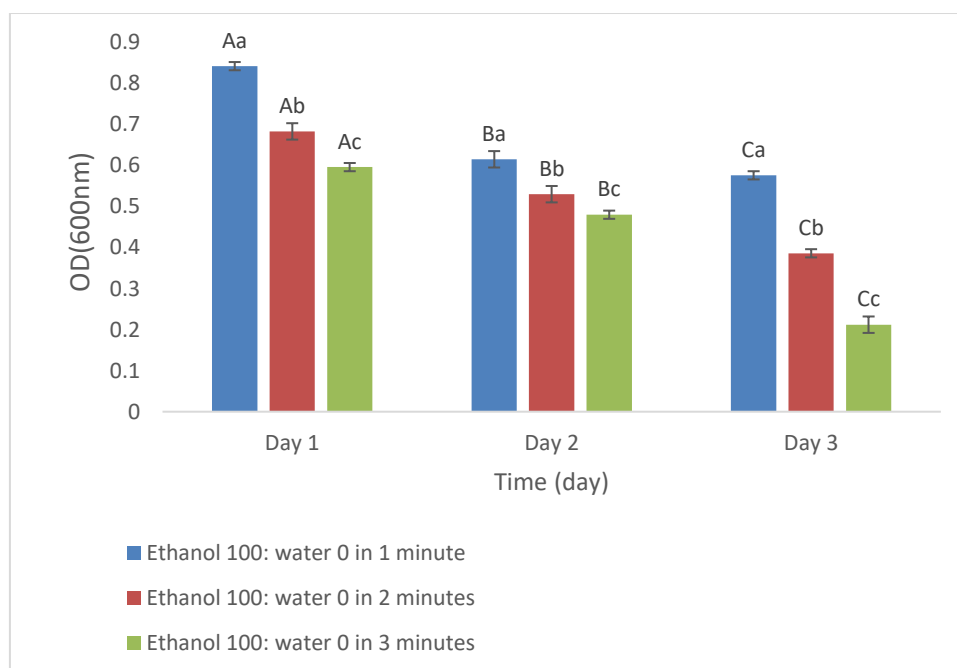


Fig 2: Antifungal effects of ethanol extracts extracted in 1, 2 and 3 minutes. (Capital dissimilar letters indicate significant differences in one sample on different days and small dissimilar letters indicate significant differences between different samples on the same day ($p < 0.05$))

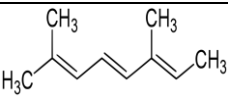
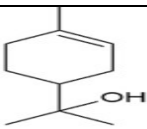
نوع و میزان ترکیبات فنلی موجود در عصاره هسته زیتون در جدول ۳ آورده شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود،

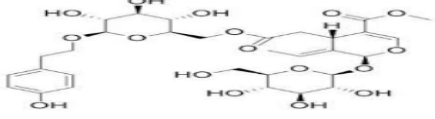
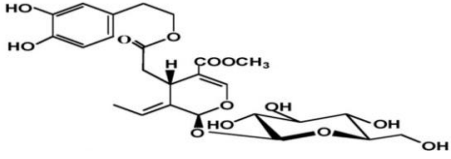
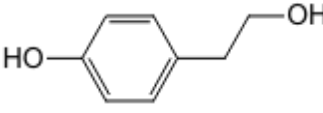
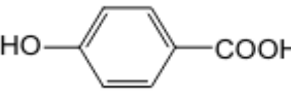
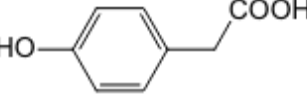
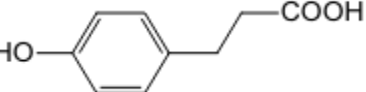
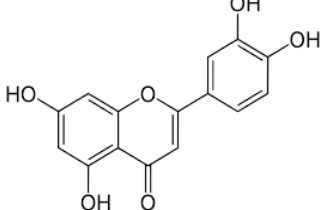
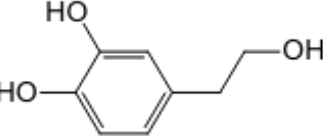
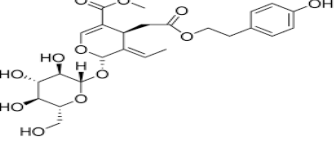
۳-۳ پروفایل ترکیبات فنلی نمونه بهینه:

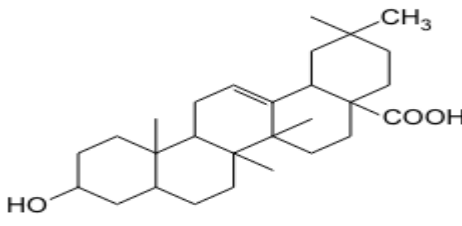
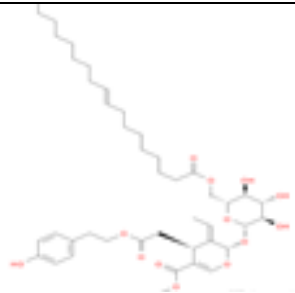
پژوهش حال حاضر همخوانی نداشت. از دلایل این عدم تطابق می‌توان به زیتون انتخاب شده جهت انجام آزمایش اشاره کرد. به عبارت دیگر، برخلاف پژوهش حاضر که از هسته‌ی زیتون پس از فراوری استفاده گردید؛ اما آن محققان از هسته‌ی زیتون روی درخت و قبل از فراوری، جهت انجام آزمایش استفاده کردند. لازم به ذکر است که انجام فرایند سود زنی در کارخانه‌ها سبب تخریب ترکیبات فنلی کمپلکس می‌شود. از دیگر دلایل این امر می‌توان به واریته زیتون و همچنین نوع حلال جهت استخراج اشاره کرد. زیرا این محققین از حلال متانول ۸۰ درصد جهت استخراج ترکیبات فنلی استفاده کردند. از دیگر ترکیبات فنلی موجود در هسته زیتون می‌توان به لیگوستروزیدها اشاره کرد. لیگوستروزیدها یک ترکیب فنلی رایج در تمام بخش‌های زیتون مانند برگ، میوه و هسته زیتون یافت می‌شود؛ اما در هسته زیتون به مراتب کمتر گزارش شده است [31]. در ارتباط با حضور لیگوستروزیدها در هسته زیتون، نتایج این پژوهش با نتایج ماستری و همکاران (۲۰۱۹) مطابقت داشت [9].

۱۳ ترکیب اصلی شناسایی گردید. بیشترین درصد فراوانی مربوط به هیدروکسی تایروزول و تایروزول بود. که با نتایج بوسکو (۲۰۱۰) که روی ترکیبات فنلی عصاره میوه و هسته زیتون‌های کنسروی یونانی بررسی انجام دادند [26]؛ مطابقت داشت. اما میزان این ترکیبات با نتایج حال حاضر متفاوت بود؛ از دلایل این امر، می‌توان به واریته زیتون اشاره کرد. از سوی دیگر، مالیک و بردفورد (۲۰۰۶) گزارش کردند که عمده ترین ترکیب فنلی کمپلکس در میوه، هسته و برگ زیتون، اولئوروپین می‌باشد؛ که در طی بلوغ به ترکیبات فنلی دیگر از جمله، هیدروکسی تایروزول تجزیه می‌گردد [27]؛ که با نتایج این پژوهش همخوانی داشت. نتایج این پژوهش در ارتباط با بیشتر بودن میزان هیدروکسی تایروزول و تایروزول، با نتایج مالاماسی و همکاران (۲۰۲۱) [28] و همچنین گنکالوز و همکاران (۲۰۱۹) [29]؛ همخوانی داشت. در تحقیقی دیگر بن منصور و همکاران (۲۰۱۱)، روی پروفایل ترکیبات فنلی هسته زیتون جمع آوری شده از درختان تونس بررسی انجام دادند؛ نتایج نشان داد که ترکیب فنلی نوژنید دارای بالاترین میزان می‌باشد [30]؛ که با نتایج

Table 3: The type and amount of phenolic compounds of the extracted extracts of the optimal treatment (mg of polyphenol per 100 grams of olive seed)

Run	RT(min)	Amount (%)	Phenolic compound	Chemical structure
1	6.134	0.51	Alloocimene	
2	8.53	0.23	ALPHA. TERPINEOL	

3	11.06	5.52	nuezhenide	
4	11.44	7.34	Oleuropein	
5	14.03	12.65	Tyrosol	
6	15.63	0.49	p-Hydroxy-benzoic acid	
7	17.285	0.57	p-Hydroxyphenylacetic acid	
8	18.5	11.4	Phloretic acid	
9	18.8	2.96	Luteolin	
10	18.92	28.12	Hydroxytyrosol	
11	19.36	0.46	Ligstroside	

12	22.78	8.35	Oleanolic acid	
13	25.596	0.57	Jaspolyanoside	

۴- نتیجه گیری

در این تحقیق به بررسی بهینه سازی استخراج عصاره هسته زیتون با استفاده از حلال‌های مختلف در زمان‌های مختلف با روش سوند هموژنایزر پرداخته شد. نتایج نشان داد که، عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳ دقیقه، دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی می‌باشد. نوع حلال و مدت زمان استخراج، دارای تاثیر معنی‌داری ($P < 0.05$)، در مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره‌های هسته زیتون می‌باشد. به عبارت دیگر، با افزایش زمان استخراج، در تمام تیمارها، یک روند افزایشی در میزان استخراج ترکیبات فنلی مشاهده گردید؛ که در اکثر موارد، این روند معنی‌دار ($P < 0.05$) بود. در ارتباط با تاثیر نوع حلال، طبق نتایج بدست آمده، تیمارهای استخراج شده با حلال (آب: اتانول ۱۰۰) در هر سه زمان و سپس تیمارهای استخراج شده با حلال اتانول ۸۰: آب ۲۰ در زمان‌های ۲ و ۳ دقیقه دارای بالاترین میزان ترکیبات فنلی بودند؛ و به عنوان تیمارهای منتخب، انتخاب شدند. در ارتباط با خصوصیات ضد میکروبی عصاره‌های

منتخب طبق نتایج بدست آمده از آزمون انتشار چاهک، سه عصاره استخراج شده با حلال اتانولی با زمان استخراج ۱، ۲ و ۳ دقیقه دارای خصوصیات ضد میکروبی بودند. لازم به ذکر است که نمونه‌های هیدروالکی خصوصیت ضد میکروبی ناچیزی از خود نشان دادند. از سوی دیگر، در آزمون جذب نوری که جهت کسب اطمینان از نتایج حاصل از آزمون انتشار چاهک و انتخاب تیمار بهینه (از بین عصاره‌های دارای خصوصیت ضد میکروبی در آزمون انتشار چاهک یعنی عصاره‌های اتانولی استخراج شده در زمان‌های ۱، ۲ و ۳ دقیقه) انجام گرفت، نتایج نشان داد که عصاره‌های اتانولی استخراج شده در هر سه زمان ۱، ۲ و ۳ دقیقه دارای خصوصیت ضد قارچی و ضد باکتریایی بودند. لازم به ذکر است که عصاره اتانولی استخراج شده در زمان ۳ دقیقه، به عنوان بهترین تیمار انتخاب و ترکیبات فنلی آن بوسیله دستگاه GC-MS اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که، بیشترین درصد فراوانی مربوط به هیدروکسی تایروزول و تایروزول می‌باشد.

۵- منابع

- [1] Tajkarimi, M., Ibrahim, S., & Cliver, D. (2010). Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 21(9), 1199-1218.
- [2] Kuo L-M Y, Tseng P-Y, Lin Y-C, Liaw C-C, Zhang L-J, Tsai K-C, et al. New hirsutinolide-type sesquiterpenoids from *vernonia cinerea* inhibit nitric oxide production in LPS-stimulated RAW264.7 cells. *Planta Med.* 2018;84(18):1348-1354. doi: 10.1055/a-0647-1901 PMID: 29986352.
- [3] Rad BZ, Mardjanmehr H, Sasani F, Khosravi A, Gharagozlou MJ. Evaluation of skin repairing and antifungal properties of alcoholic extract of laleh abbasi (*mirabilis jalapa*) leaf on induced wounds in laboratory white rat model. *J Vet Res.* 2023;78(1):9-19. doi: 10.22059/jvr.2022.340558.3247 (In Persian).
- [4] Anwar, F., and Przybylski, R. (2012). Effect of Solvents Extraction on Total Phenolics and Antioxidant Activity of Extractions from Flaxseed (*Linum Usitatissimum* L.). *ACTA Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria.* 11(3):293-301.
- [5] Daane, K. M., and Johnson, M. W. (2010). Olive fruit fly: managing an ancient pest in modern times. *Annual review of entomology*, 55, 151-169.
- [6] Jiménez-Díaz, R. M., Cirulli, M., Bubici, G., del Mar Jiménez-Gasco, M., Antoniou, P. P., and Tjamos, E. C. (2012). *Verticillium* wilt, a major threat to olive production: current status and future prospects for its management. *Plant Disease*, 96(3), 304-329.
- [7] Hussein, A.M.S., M.M. Kamil and G.F. Mohamed. (2011). Physicochemical and sensorial quality of semolina defatted guava seed flour composite pasta. *Journal of the American Society.* 7(6): 623-629.
- [8] Abolfath, M., Cheloci, N., Asgari, S., Beladian, E., Ghasemzadeh-mohammadi, V. (2024). Investigating Variables of Time, Extraction Solvent Composition and Ratio of Solvent-to-plant on Antioxidant and Antibacterial Characteristics of *Striata* Plants and Olive Leaves Using Microwave and Ultrasonic Extraction Methods. *Iranian J Nutr Sci Food Technol*; 19 (3) :43-53.
- [9] Kadir, B., Fatümetüzzehra, K., Mehmet, A., A., Selami, G., and Yakup, Y. (2023). Antioxidant and antithrombotic properties of fruit, leaf, and seed extracts of the Halhalı olive (*Olea europaea* L.) native to the Hatay region in Turkey. *Foods and Raw Materials.* 11(1).
- [10] Bianci, G., (2003). Lipids and phenols in table olives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 105, 229–242.
- [11] Mokhtari, M., Ghanadi, A. (2013). The effects Of hydro-alcoholic extract Of olive seed on the levels Of the gonadotropines and ovarian steroids in immature female rat. *Original Research*, 2(6).
- [12] Maestri, D., Barrionuevo, D., Bodoira, R., Zafra, A., Jiménez-López, J., Alché, J., d., D. (2019). Nutritional profile and nutraceutical components of olive (*Olea europaea* L.) seeds. *Journal of Food Science and Technology*, 56(9), 4359–4370. doi:10.1007/s13197-019-03904-5.
- [13] namadipour A, sadeghi mahoona A. 2018. Antioxidant interactions in date palm and zizyphus extracts combination. *FSCT* ; 15 (77) :38-31. URL: <http://fsct.modares.ac.ir/article-7-8029-fa.html>.
- [14] Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M., Parenti, A. (2000). Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry.* 71: 553–562.
- [15] Fasihi, H., Fazilati, M., Hashemi, M. and Noshiravani, N. (2017). Novel Carboxymethyl Cellulose- Polyvinyl alcohol blend films stabilized by Pickering emulsion in corporation method. *Carbohydrate Polymers*, 167, 79-89.
- [16] Habibi, S. A., Soltani, M., Ahmadi Vand, S., and Taheri-Mirghaied, A. (2019). In vitro antibacterial activity of some medical plants against *Streptococcus iniae*. *New Findings in Veterinary Microbiology*, 1(2), 36-46. doi: 10.35066/J040.2018.707.
- [17] Keskes, H., Belhadj, S., Jlal, L., El Feki, A., Damak, M., Sayadi, S. et al., (2017). LC-MS-MS and GCMS analyses of biologically active extracts and fractions from Tunisian *Juniperus phoenicea* leaves. *Pharmaceutical Biology*, 55(1):88-95.
- [18] Karabegovic, I.T., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Todorovic, Z. B., Nikolic, N. C., and Lazic, M. L. (2014). The effect of different extraction techniques on the composition and antioxidant activity of cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaf and fruit extracts. *Industrial Crops and Products*, 54, 142–148.

- [19] Alu'datt, M. H., Alli, I., Ereifej, K., Alhamad, M. N., Alsaad, A., Rababeh, T. (2011). Optimisation and characterisation of various extraction conditions of phenolic compounds and antioxidant activity in olive seeds. *Natural Product Research*, 25(9), 876–889. doi:10.1080/14786419.2010.489048.
- [20] Kchaou, W., Abbas, F., Blecker, C., Attia, H., and Besbes, S. (2013). Effects of extraction solvents on fenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.). *Industrial Crops and Products*. 45:262-269.
- [21] Markín, D., Duek, L., and Berdícovsky, I. (2003). In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses*, 46(3–4), 132–136. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0507.2003.00859.x>.
- [22] Liu, Y., McKeever, L. C., and Malik, N. S. A. (2017). Assessment of the antimicrobial activity of olive leaf extract against foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB), 113. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00113>.
- [23] Hemeg, H.A.; Moussa, I.M.; Ibrahim, S.; Dawoud, T.M.; Alhaji, J.H.; Mubarak, A.S.; Kabli, S.A.; Alsubki, R.A.; Tawfik, A.M.; Marouf, S.A.(2020). Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. *Saudi J. Biol. Sci.* 27, 3221–3227.
- [24] Younis, H., El shalakany, W., Amin, S., Abdel-Reheem, M., and Ibrahima, H. (2023). Biological activities and related phenolic compounds content of olive and plum stones ethanolic extract. *Egyptian Journal of Chemistry*, 66(13), 2307-2330. doi: 10.21608/ejchem.2023.209650.7948.
- [25] Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., and Hosseini, S. M. H. (2010). Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout. *Food Chemistry*, 120(1), 193–198.
- [26] Boskou, G. (2010). Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention || Antioxidant Capacity and Phenolic Profile of Table Olives from the Greek Market., 925–934. doi:10.1016/B978-0-12-374420-3.00099-1.
- [27] Malik, N.S.A. and Bradford, J.M. (2006). Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in a Arbequinaolives. *Scientia Hort.* 110: 274-278.
- [28] Mallamaci, R.; Budriesi, R.; Clodoveo, M.L.; Biotti, G.; Micucci, M.; Ragusa, A.; Curci, F.; Muraglia, M.; Corbo, F.; Franchini, C. (2021). Olive Tree in Circular Economy as a Source of Secondary Metabolites Active for Human and Animal Health Beyond Oxidative Stress and Inflammation. *Molecules* 2021, 26, 1072. <https://doi.org/10.3390/molecules26041072>.
- [29] Gonçalves, A., Silva, E., Brito, C., Martins, S., Pinto, L., Dinis, L., ... Correia, C. M. (2019). Olive tree physiology and chemical composition of fruits are modulated by different deficit irrigation strategies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. doi:10.1002/jsfa.10064
- [30] Ben Mansour, A., Porter, E. A., Kite, G. C., Simmonds, M. S. J., Abdelhedi, R., Bouaziz, M. (2015). Phenolic Profile Characterization of Chemlali Olive Stones by Liquid Chromatography-Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(7), 1990–1995. doi:10.1021/acs.jafc.5b00353.
- [31] Michel, T., Khelif, I., Kanakis, P., Termentzi, P., Allouche, N., Halabalaki, M., Skaltsouni, A. (2015). UHPLC–DAD–FLD and UHPLC–HRMS/MS based metabolic profiling and characterization of different *Olea europaea* organs of Koroneiki and Chetoui varieties. *Phytochem Lett* 11:424–439.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the extraction conditions of olive kernel extract using a Ultrasonic Homogenizer and evaluating their antimicrobial properties

Namadpour, A.¹, Mirzaei, H. A.^{2*}, Sahari, M.A.³, Hooshiyar, M.⁴

1. P.H.D. Student, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
2. Associate Professor, Dept. of Food Science & Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences & Natural Resources, Gorgan, Iran.
3. Professor, Dept. of Food Science & Technology, College of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.
4. Former PhD Student, Department of Microbiology, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/7/18 Accepted: 2024/12/11	The aim of the present study was to investigate the extraction conditions of olive kernel extract using an ultrasonic homogenizer and to investigate the antimicrobial properties of the extract with the highest amount of phenolic compounds. According to the results, the ethanolic sample which was extracted in 3 minutes has the highest amount of phenolic compounds. The kinds of solvent and extraction time have significant effects ($P < 0.05$) on the amount of the sample phenolic compounds. The treatments extracted with solvent (water 0: 100 ethanol) in all three times (1, 2 and 3 minutes) and then the treatments extracted with solvent ethanol 80: water 20 in 2 and 3 minutes had the highest amount of phenolic compounds thus as the treatment for performing microbial tests were selected. In relation to antimicrobial properties, according to the results obtained from the well diffusion test, all three ethanolic extracts had antimicrobial properties. Also, the optical density measurement test (OD or OD600) was done to choose the optimal treatment. The results showed that the ethanolic extract in 3 minutes has the highest antimicrobial properties, thus this extract was selected as the best treatment and its phenolic compounds were measured by GC-MS. The results showed that the highest percentage of phenolic compounds in this extract is related to hydroxytyrosol and tyrosol.
Keywords: Olive kernel extract, Phenolic compound, antimicrobial properties, GC-MS	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.1. *Corresponding Author E- mirzaei Habib1@gmail.com	



فرمولاسیون نوشیدنی ایزوتونیک برپایه ی پرمیت آب پنیر حاوی پروبیوتیک و پپتیدهای آب پنیر انکپسوله شده در آلژینات

مریم سلطانی^۱، محمد ربانی^{۱*}، وحید مفید^۲، سید امیر محمد مرتضویان^۲

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	این تحقیق با هدف فرموله کردن یک نوشیدنی ورزشی ایزوتونیک فراسودمند برپایه ی
تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۳	پرمیت آب پنیر حاوی پروبیوتیک ها و پپتیدهای آب پنیر انکپسوله شده توسط آلژینات
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۴	انجام شد. اثر پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی و پروتئین های
کلمات کلیدی:	آب پنیر به عنوان پوشش میکروکپسول ها در نوشیدنی فرموله شده مورد بررسی قرار
پرمیت آب پنیر،	گرفت. انکپسول پروبیوتیک ها و پپتیدهای آب پنیر به بهبود خواص مکانیکی کپسول،
پروتئین هیدرولیز شده،	فعالیت تخمیری و بقای پروبیوتیک ها در طول ۲۸ روز نگهداری کمک کردند. کپسول
آنتی اکسیدان،	های آلژینات پوشش داده شده با پروتئین آب پنیر کارایی کپسولاسیون، فاکتور کروی بودن
انکپسولاسیون	و ظرفیت آنتی اکسیدانی بهتری را قبل و بعد از تخمیر نسبت به کپسول های بدون پوشش
	نشان دادند. هیدرولیز پروتئین تأثیر مثبتی بر خواص آنتی اکسیدانی و زنده ماندن باکتری
	های پروبیوتیک نوشیدنی در طول ۲۸ روز نگهداری داشت. نوشیدنی ورزشی فرموله شده
	بر پایه آب پنیر می تواند بعنوان یک جایگزین طبیعی و فراسودمند برای نوشیدنی های
	تجاری موجود باشد.
DOI:10.22034/FSCT.22.162.16.	
* مسئول مکاتبات:	
mhd-rabani@yahoo.com	

۱-مقدمه

نوشیدنی‌های ورزشی برای بهبود هیدراتاسیون با تحریک مصرف مایعات، بازجذب و احتباس مایعات طراحی شده‌اند. نوشیدنی ایزوتونیک مبتنی بر آب پنیر به دلیل غلظت الکترولیت بالاتر و محتوای کربوهیدرات مشابه، به عنوان یک منبع هیدراتاسیون جایگزین برای نوشیدنی‌های ورزشی پیشنهاد شده است. آب پنیر، محصول جانبی حاصل از فرآیند اولترافیلتراسیون آب پنیر شیرین، حاوی لاکتوز (به عنوان ماده اصلی تشکیل دهنده) به علاوه چندین ویتامین محلول در آب است که آن را از نظر تغذیه‌ای مهم می‌کند [۱].

تخمیر یک روش مؤثر برای تولید هیدرو الکترولیت‌های کاربردی بر پایه ی پرمیت آب پنیر^۱ است که می‌تواند همزمان به عنوان یک حامل مهم برای پروبیوتیک‌ها باشد. علاوه بر این، باکتری‌های اسید لاکتیک مواد بازدارنده مختلفی تولید می‌کنند که می‌توانند ماندگاری محصولات تخمیر شده را افزایش دهند [۲].

پیشرفت‌های اخیر در تولید محصولات تخمیری با ارزش افزوده و افزایش آگاهی مصرف‌کنندگان درباره استفاده از مواد طبیعی به جای مواد شیمیایی، نشان‌دهنده پتانسیل بالای مواد طبیعی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای تولید نوشیدنی‌های فراسودمند است. این نوع از نوشیدنی‌ها نه تنها می‌توانند از نظر ایمنی مواد غذایی بسیار مفید باشند، بلکه همچنین می‌توانند ارزش غذایی محصولات غذایی را با استفاده از مزایای آنتی‌اکسیدانی این مواد بالا ببرند [۳].

مطالعات فراوانی در رابطه با خواص مرتبط با سلامتی پپتیدهای پروتئین آب پنیر وجود دارد که از جمله آنها میتوان به خواص آنتی‌اکسیدانی، تنظیم سیستم ایمنی، ضدسرطانی و افزایش دسترسی بیولوژیکی مواد معدنی اشاره کرد.

پروتئین‌های آب پنیر می‌توانند در طی فرآیندهای تولیدی نظیر تخمیر و هیدرولیز تغییراتی را تجربه کنند که به واسطه این تغییرات، فعالیت بیولوژیکی و خواص آنتی‌اکسیدانی آن‌ها تقویت می‌شود. در این فرآیند پیچیده، عوامل متعددی بر تولید پپتیدهای زیست فعال تأثیر می‌گذارند. عموماً شرایط بهینه برای تخمیر و رشد باکتری‌ها، شرایط ایده‌آلی برای دستیابی به درجه هیدرولیز مورد نیاز برای تولید این پپتیدها نیست. به همین دلیل، برخی تولیدکنندگان ترجیح می‌دهند به جای تولید پپتیدها در فرایند ساخت، از پپتیدهای زیست فعال آماده استفاده کنند. به همین علت، در برخی محصولات، پروتئین‌ها و پپتیدها در طول یا پس از تولید به منظور افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی اضافه می‌شوند [۴].

مشکل مهم دیگری که محصولات پروبیوتیک را تحت تأثیر قرار می‌دهد، زنده‌مانی کم پروبیوتیک‌ها در طول ذخیره‌سازی و هضم است. به نظر می‌رسد کپسوله کردن^۲ یک راه عالی برای محافظت از میکروارگانیسم‌ها در برابر شرایط محیطی باشد. هیدروژل‌های آلژینات به دلیل سهولت در کاربرد، غیرسمی بودن و هزینه کم به طور گسترده برای درون پوشانی سلولی استفاده می‌شوند. از طرف دیگر، دانه‌های آلژینات به محیط اسیدی مانند معده یا برخی از محصولات لبنی حساس هستند و حتی در حضور برخی یون‌ها یا ترکیباتی که کمپلکس‌های شلاته کننده را تشکیل می‌دهند، مانند لاکتات و فسفات، ناپایدار هستند.

برای حل این مشکل، پوشش‌های پروتئینی آب پنیر می‌توانند با افزایش یکپارچگی ساختاری میکروکپسول‌های آلژینات و محافظت از آن‌ها در برابر عوامل خارجی به عنوان یک راه حل مؤثر در این زمینه عمل می‌کند. تعامل الکتروستاتیکی بین پروتئین آب پنیر و آلژینات به چسبندگی و پایداری

۱۰^۹CFU/ml*۱ و محیط کشت MRS^۶ آگار توسط از شرکت Ibersco (تهران، ایران) تهیه شد.

۲-۱- هیدرولیز ایزوله پروتئین آب پنیر^۸ (WPH)

HWPI با حل کردن WPI در بافر فسفات ۱۰ میلی مولار (pH = 7)، با غلظت ۵ درصد (وزنی/حجمی) تهیه شد. سپس سوسپانسیون هم زده شده و به مدت ۳۰ دقیقه تا هیدراته شدن و رسیدن به دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در محیط آزمایشگاه نگهداری شد. سپس سوسپانسیون ها برای pH آنزیم پپسین (pH = 2.6) با HCl و NaOH ۲ مولار تنظیم شدند. سپس آنزیم با نسبت ۱:۴۰ به سوبسترا اضافه شد. پس از هیدرولیز، pH سوسپانسیون با سود ۲ مولار به حالت خنثی تنظیم شد. در نهایت دمای ۹۰ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه برای غیرفعال کردن آنزیم ها استفاده شد. درجه هیدرولیز (DH) با روش OPA که توسط Petersen, Nielsen و Dammann در سال (۲۰۰۱) ارائه شده است، تعیین شد [۷].

۲-۲- ظرفیت آنتی اکسیدانی WPH

پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده برای ظرفیت آنتی اکسیدانی با روشی که توسط Lowry و همکاران در سال (۱۹۵۱) ارائه شد، اندازه گیری شد [۸].

۲-۳- تلقیح

کشت پروبیوتیک مخلوط لاکتوباسیلوس پلانتراریوم و لاکتوباسیلوس کازئی در آبگوشت MRS تلقیح شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و در محلول ۰.۸۵٪

پوشش کمک می کند و در نتیجه عملکرد سیستم انکپسولاسیون را بهبود می بخشد. افزون بر این، پوشش پروتئینی آب پنیر نه تنها پایداری و قابلیت زنده ماندن مواد کپسوله شده را افزایش می دهد، بلکه به عنوان یک منبع پروتئین اضافی نیز عمل کرده و می تواند ارزش تغذیه ای محصول نهایی را ارتقا دهد.

هدف این مطالعه فرمولاسیون یک نوشیدنی هیدروالکترولیتی بر پایه ی پرمیت آب پنیر با ظرفیت آنتی اکسیدانی بهبود یافته، قابلیت زنده ماندن طولانی تر پروبیوتیک ها و ویژگی های حسی بهینه بود. برای دستیابی به این هدف، پپتیدهای پروتئین آب پنیر و پروبیوتیک ها به طور مشترک در حامل های مبتنی بر آلژینات انکپسوله شدند و کنسانتره پروتئین آب پنیر برای پوشش دادن میکرو کپسول ها با هدف حفاظت بیشتر بکار گرفته شد.

۲- مواد و روش ها

پودر پروتئین آب پنیر خالص شده^۳ (WPI) حاوی (< ۹۰ درصد پروتئین) از شرکت غذایی Ocean Protein خریداری شد. آب پنیر و پرمیت آب پنیر (فرآورده اولترافیلتر شده و تغلیظ شده از شیر بدون چربی گاو با روش اسمز معکوس) از شرکت لبنیات رامک کرج تهیه شد. آلژینات سدیم با ویسکوزیته متوسط، پپسین (EC 3.4.23) و تمام محلول ها از شرکت سیگما آلدריך^۴ خریداری شد. استارتر لاکتوباسیلوس پلانتراریوم^۵ (PTCC 1058) و لاکتوباسیلوس کازئی^۶ (PTCC 1608) از شرکت تک ژن زیست (تهران، ایران) با تعداد سلول های زنده اولیه

6- L. casei

7- De Man-Rogosa-Sharpe

8- Hydrolyzed Whey Protein

3 -Whey Protein Isolate

4 -Sigma- Aldrich

5 -L. Plantarum

NaCl شسته شد. پس از سانتریفیوژ کردن و شستشو با بافر فسفات (۱۰ میلی مولار، pH = 7) برای به دست آوردن محلولی حاوی حدود 1.5×10^9 CFU/ml مجدداً در محلول نمکی سوسپانسیون شدند [۹].

۲-۴-۱- انکپسولاسیون کشت استارتر پروبیوتیک

میکروکپسول های آلژینات (ALG) با روش اکستروژن الکترواستاتیکی به دست آمدند. محلول های آلژینات سدیم در آب مقطر (۱/۵ درصد وزنی) حل شده و در حمام آب در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه پاستوریزه شدند. پروتئین آب پنیر ایزوله در آب دیونیزه (۱۰ درصد وزنی) با هم زدن مغناطیسی ملایم به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق و پس از تنظیم pH در ۷.۰، در دمای ۷۸ درجه سانتی - گراد به مدت ۴۵ دقیقه پاستوریزه شد تا پروتئین ها به طور کامل دناتوره شوند. محلول ها به مدت یک شب در دمای اتاق سرد شدند. کشت پروبیوتیک در محلولی از مخلوط آب پنیر، آلژینات سدیم و پروتئین آب پنیر هیدرولیز شده رقیق شد. سلول های باکتریایی کپسوله شده با استفاده از یک کپسولاتور (Dottikon Inotech AG، سوئیس)، مجهز به یک نازل ۸۰ میکرومتری تهیه شدند. دستگاه با سرعت تغذیه ۵ میلی لیتر در دقیقه تنظیم شد. در نهایت ریز کپسول های تولید شده در ۲۰۰ میلی لیتر از محلول ۰.۵ مولار CaCl_2 جمع آوری و بعد از ۳۰ دقیقه جامد شدند. در نهایت، سوسپانسیون های حاوی کپسول ها در فلاسک های استریل جمع آوری و شسته شده و با آب دیونیزه فیلتر شدند. در انتها در ۱۰۰ میلی لیتر بافر فسفات (۱۰ میلی مولار pH = 7) مجدداً حل شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند [۱۰].

۲-۵- پوشش میکروکپسول ها

میکروکپسول ها با غوطه ور شدن در ایزوله پروتئین آب پنیر پوشش دهی شدند. به این منظور میکروکپسول های آلژینات بدست آمده از محلول CaCl_2 به مدت ۱۰ دقیقه در محلول WPI دناتوره شده (۱۰٪ وزنی / وزنی) هم زده شده و به محلول ۰.۱ مولار CaCl_2 منتقل شدند. در انتها میکروکپسول ها جمع آوری و با آب دیونیزه شسته شدند.

۲-۶- بازدهی انکپسولاسیون (EE)

میزان پروبیوتیک های انکپسوله شده در طول فرآیند بر اساس معادله (۱) محاسبه شد.

$$EE\% = (N / N_0) \times 100$$

N تعداد سلول های زنده ($\log \text{CFU/g}$) آزاد شده از کپسول ها و N_0 تعداد سلول های زنده آزاد ($\log \text{CFU/g}$) در محلول سوسپانسیون قبل از فرآیند کپسوله کردن است [۱۱].

۲-۷- ویژگی های میکروذرات

مورفولوژی ریزذرات با استفاده از یک میکروسکوپ نوری (Oberkochen، آلمان) ارزیابی شد [۱۲].

اندازه قطر ذرات و توزیع اندازه ذرات با استفاده از دستگاه اندازه گیری ذرات (Malvern) Mastersizer 3000، آلمان بدست آمد [۱۳].

۲-۸- تولید نوشیدنی های تخمیری

پرمیت آب پنیر اولترافیلتر شده غلیظ در فلاسک های ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتری قرار داده شدند. تیمارها شامل نمونه های تلقیح شده با پروبیوتیک ها و WPH انکپسوله شده در Alginate ۱٪ وزنی / وزنی، پروبیوتیک ها و WPH انکپسوله شده در Alginate و پوشش دهی شده با WPI بودند. همه نمونه ها در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد انکوبه

نوشیدنی‌های تخمیرشده در فواصل ۷ روزه برای یک دوره ۲۸ روزه نمونه‌برداری شدند و از نظر تعداد سلول زنده، مقدار pH و اسیدیته آنالیز شدند. مقدار pH با استفاده از pH متر (Wellheim, WTW82362، آلمان) در دمای اتاق اندازه‌گیری شد. اسیدیته قابل تیتراسیون با روش سوکسله-هنکل تعیین شد. تعداد سلول‌های باکتری‌های پروبیوتیک با روش شمارش کلی بر روی MRS آگار تعیین شد. تعداد سلول‌ها در $\log_{10}$ CFU/mL برای سلول‌های آزاد و $\log_{10}$ CFU/g برای دانه‌ها بیان شد. سلول‌های کپسوله‌شده با افزودن ۱ گرم از کپسول‌ها در ۹ میلی‌لیتر سیرات سدیم ۰.۲٪ (وزنی / حجمی) از کپسول‌ها آزاد شدند [۱۶].

۳- تجزیه و تحلیل آماری

طراحی آزمایش‌ها با استفاده از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح تصادفی در سه تکرار انجام شد. جهت پیدا کردن تفاوت معنادار میان میانگین داده‌های حاصل‌شده، از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA)، تست چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. در تمام آنالیزهای آماری، سطح معنی‌داری ($p < 0.05$) در نظر گرفته شد.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- بازدهی انکپسولاسیون (EE/%)، اندازه و مورفولوژی میکروکپسول‌ها

مورفولوژی میکروکپسول‌های ALG بدون پوشش و پوشش‌داده‌شده با WPI در (شکل ۱) نشان داده شد. اندازه تعیین‌شده توسط تصاویر میکروسکوپ نوری برای میکروکپسول‌های بدون پوشش تقریباً دو برابر قطر نازل تغذیه مورد استفاده در این آزمایش‌ها بود. آنها به صورت

شدند. زمان انکوباسیون ۴-۵ ساعت برای کاهش pH تا ۵ در نظر گرفته شد. سپس محصولات در دمای کمتر از ۵ درجه سانتی‌گراد در یخچال و به مدت ۲۸ روز نگهداری شدند [۱۴].

۲-۹- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نوشیدنی بر پایه ی پریمیت آب پنیر

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها قبل و بعد از تخمیر و همچنین در طی ۲۸ روز نگهداری (هر ۷ روز) تعیین شد. برای این منظور، نوشیدنی مبتنی بر آب پنیر از طریق غشایی با منافذی به اندازه ۰.۷ میلی‌متر فیلتر شده و محلول تراوش (سوبسترا) نمونه‌برداری و برای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنالیز شد. محلول به‌دست آمده توسط DPPH آنالیز شد. ظرفیت مهار رادیکال با استفاده از روش مهار رادیکال آزاد DPPH تعیین شد. نمونه‌ها با متانول در نسبت ۱:۴ مخلوط شده و با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از سانتریفیوژ، ۱ میلی‌لیتر مایع رویی با ۱ میلی‌لیتر متانول و ۱ میلی‌لیتر محلول رادیکال آزاد DPPH مخلوط شد. مخلوط‌ها به مدت ۱۰ ثانیه ورتکس شدند تا همگن شوند و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی باقی ماندند تا واکنش دهند. میزان جذب نمونه با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico, S 2100 SUV, NJ) در طول موج ۵۱۵ نانومتر تعیین شد. تمام آنالیزها در سه تکرار انجام شد. درصد فعالیت مهار رادیکال DPPH به صورت زیر محاسبه شد:

$$\text{DPPH} \% = \frac{\text{Abs}}{\text{Abs}} \times 100 \quad (\text{Abs} = \text{نمونه} \quad \text{Abs} = \text{کنترل})$$

که در آن Abs شاهد و Abs نمونه مقادیر جذب نمونه خالی و محلول سنجش DPPH به ترتیب در طول موج ۵۱۵ نانومتر هستند. اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام شد [۱۵].

۲-۱۰- پایداری نوشیدنی تخمیری

نتایج مربوط به راندمان انکپسولاسیون پروبیوتیک ها در میکروکپسول های بدون پوشش و پوشش داده شده در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که پوشش با ایزوله پروتئین آب پنیر باعث افزایش بازدهی کپسولاسیون شد. این نتایج با مطالعه Doherty و همکاران در سال ۲۰۱۱ همخوانی دارد که پوشش پروتئین آب پنیر، با خواص عملکردی مربوط به خود، تأثیر مستقیم بر راندمان کپسولاسیون می گذارد و آن را افزایش می دهد. [۱۸].

میکروکپسول های کروی نزدیک با سطح فشرده مشاهده شدند. پوشش میکروکپسول های ALG با ایزوله پروتئین آب پنیر حدود ۵۰ میکرومتر به قطر اضافه کرد (جدول ۱) و سطح با پوشش یکنواختی فراهم کرد. برای محافظت مناسب از پروبیوتیک ها بدون تأثیر بر ویژگی های حسی مواد غذایی، میکروکپسول باید قطری مابین ۴۰ تا ۱۰۰ میکرومتر داشته باشند. با این حال، برای محافظت از پروبیوتیک ها در حین انتقال از طریق دستگاه گوارش در pH شیر معده، تنها کپسول های با قطر بیش از ۱۰۰ میلی متر موثر هستند [۱۷].

Table 1. Encapsulation Efficiency and Mean Diameter of the alginate (ALG) and WPI coated alginate (WPI/ALG) beads

Treatments	Diameter (μm)	EE (%)
ALG bead	170 ^a	88.05 $\pm$ 1.05
WPI coated ALG bead	250 ^b	91.85 $\pm$ 0.08

Means followed by different lowercase letters differ statistically in column ($p < 0.05$). The values obtained are the means $\pm$ standard deviation of triplicates.

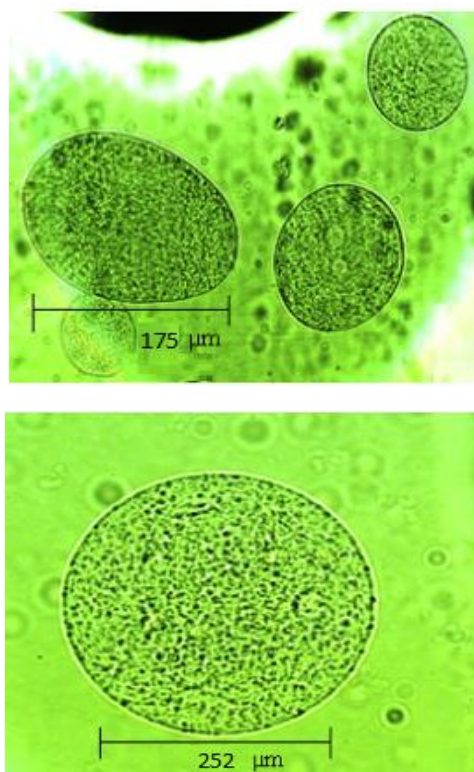


Figure 1. Encapsulated and coated probiotics under microscope

۴-۲- ظرفیت آنتی اکسیدانی، pH و اسیدیتة نوشیدنی

تخمیر شده

ظرفیت آنتی اکسیدانی میکروکپسول ها و بستر برپایه ی پرمیت آب پنیر در (شکل ۲) برای نمونه های حاوی میکروکپسول های ALG بدون پوشش و پوشش داده شده با WPI نشان داده شده است. ظرفیت آنتی اکسیدانی در هر دو میکروکپسول پوشش داده شده و بدون پوشش در طول تخمیر کاهش یافت، اما میکروکپسول ها ALG پوشش داده شده در مقایسه با بدون پوشش، کاهش کمتری در فعالیت آنتی اکسیدانی نشان دادند. این می تواند به این دلیل باشد که پپتیدهای فعال زیست فعال و اسیدهای آمینه کپسوله شده تا حدی از طریق سطح متخلخل میکروکپسول ها به بستر مهاجرت کرده اند و تا حدی برای رشد باکتری در داخل میکروکپسول ها در طول تخمیر استفاده شده اند. پوشش دهی با WPI منجر به آزادسازی کنترل شده تر مولکول های فعال زیستی در مقایسه با بدون پوشش شد. علاوه بر این، کشت پروبیوتیک، مولکول های زیست فعال مختلفی را با فعالیت آنتی اکسیدانی در طی تخمیر تولید می کند، اما کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی حامل ها نشان می دهد که تولید این مولکول ها کمتر از مصرف پپتید با ظرفیت آنتی اکسیدانی توسط کشت و مهاجرت آن پپتیدها به بستر بوده است. در طول ذخیره سازی، ظرفیت مهار DPPH کپسول های پوشش داده شده و بدون پوشش برای ۱۴ روز اول ذخیره سازی افزایش یافت، سپس تا ۲۸ روز ذخیره سازی کاهش یافت. میکروکپسول های بدون پوشش کاهش بیشتری در ظرفیت آنتی اکسیدانی

نشان دادند. دلیل آن می تواند تغییر در ساختار حامل ناشی از فعالیت متابولیک باکتری و انتشار ماده بین کپسول ها و بستر در طول ذخیره سازی باشد [۱۱]. پوشش میکروکپسول ها با WPI باعث بهبود آزادسازی کنترل شده مولکول های فعال زیستی با افزایش تخلخل ماتریکس کپسول و کاهش سرعت انتشار شد.

ظرفیت آنتی اکسیدانی سوپسترای حاوی میکروکپسول های ALG در طی تخمیر و ۷ روز اول نگهداری به طور معنی داری بیشتر از نمونه حاوی میکروکپسول های پوشش داده شده بود، اما پس از ۲۸ روز نگهداری به طور معنی داری کاهش یافت. دلیل این امر می تواند نرخ آزادسازی بیشتر پپتیدهای زیست فعال از میکروکپسول های بدون پوشش به بستر در مقایسه با میکروکپسول های پوشش داده شده در طی تخمیر و ۷ روز اول ذخیره سازی باشد. سوپسترای حاوی میکروکپسول های پوشش دار، ظرفیت آنتی اکسیدانی بالاتری در مقایسه با میکروکپسول های بدون پوشش پس از ۲۸ روز نگهداری نشان داد. این تفاوت به دلیل انتشار تأخیری و کنترل شده پپتیدهای فعال زیستی و اسیدهای آمینه می باشد.

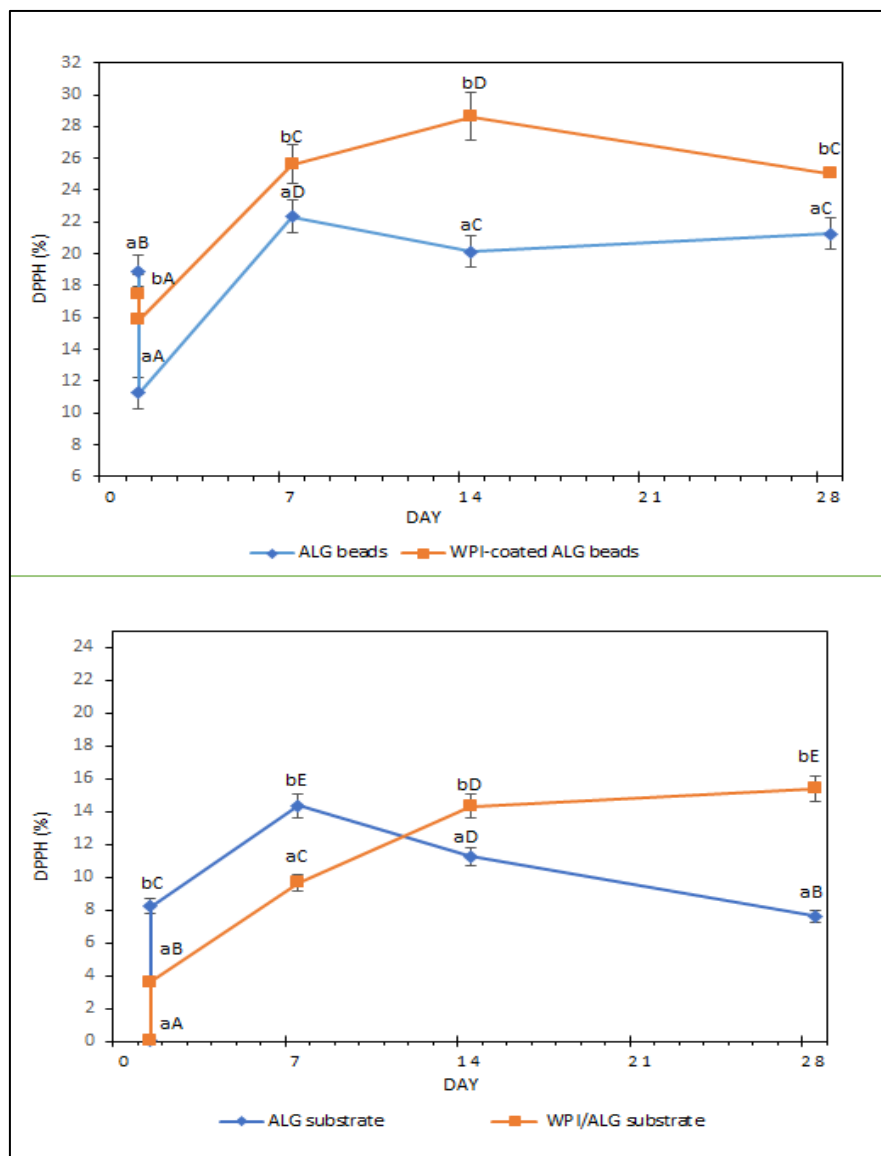


Figure 2. Antioxidant capacity (DPPH) of beads and substrate for sport drink samples with alginate (ALG) and WPI-coated alginate (WPI/ALG) beads, during fermentation and 28 days of storage at 4 °C. Means in a column shown with different lowercase letters are significantly different ($p < 0.05$). Means in a row shown with different uppercase letters are significantly different a row ($p < 0.05$).

تولید اسید لاکتیک توسط کشت استارتر، pH در طول دوره نگهداری کاهش یافت. در پایان دوره نگهداری، نوشیدنی-های تخمیرشده حاوی میکروکپسول های پوشش دهی شده، مقدار pH بالاتری نسبت به نمونه حاوی میکروکپسول آلژینات نشان دادند. تفاوت معنی داری در اسیدیته بین نمونه-ها وجود نداشت ($p < 0.05$). علی رغم اسیدیته بالای نمونه های حاوی میکروکپسول های پوشش داده شده WPI،

در مطالعه حاضر، تفاوت معنی داری در pH نوشیدنی حاوی میکروکپسول های ALG بدون پوشش و پوشش داده شده مشاهده نشد (جدول ۲). نتایج مشابهی توسط مطالعات دیگر گزارش شده است. Peiris و همکاران در مطالعه ای در سال ۲۰۱۹ هیچ تفاوتی بین نمونه ماست کنترل و ماست حاوی بیفیدوباکتریوم کپسوله شده در ماتریکس آلژینات / شیربز / اینولین پیدا نکردند [۱۹]. در تمام نمونه ها به دلیل

pH در محدوده ۴-۴.۵ در نتیجه خاصیت بافری پیتیدهای

آب پنیر و اسیدهای آمینه باقی ماند.

Table 2. pH and titratable acidity values of sport drink samples containing Alginate (ALG) and WPI coated alginate (WPI/ALG) beads during refrigerated storage.

Treatment	Storage	ALG	WPI Coated ALG
pH	1 st day	4.81 ± 0.02 ^d	4.84 ± 0.19 ^d
	7 st day	4.69 ± 0.15 ^c	4.72 ± 0.12 ^c
	14 st day	4.61 ± 0.06 ^{bc}	4.69 ± 0.23 ^b
	21 st day	4.42 ± 0.06 ^b	4.51 ± 0.06 ^b
	28 st day	4.10 ± 0.12 ^a	4.21 ± 0.15 ^a
Acidity (%Acid lactic)	1 st day	1.21 ± 1.09 ^a	1.24 ± 1.09 ^a
	7 st day	1.31 ± 0.09 ^{ab}	1.29 ± 0.08 ^{ab}
	14 st day	1.35 ± 0.03 ^{ab}	1.32 ± 0.15 ^{ab}
	21 st day	1.66 ± 0.03 ^b	1.70 ± 0.15 ^b
	28 st day	2.54 ± 0.10 ^c	2.51 ± 0.10 ^c

Numbers are expressed as mean ± standard deviation. Means in a column shown with different lowercase letters are significantly different ($p < 0.05$).

باعث شده تعداد سلول‌های زنده در میکروکپسول‌ها ی پوشش‌داده‌شده با WPI افزایش یافت. افزودن پوشش WPI منجر به ماتریکس پایدارتر با میزان کاهش کمتر سلول‌ها می‌شود و این به دلیل تحمل محیط اسیدی و خواص بافری بالای WPI می‌باشد. در پایان ذخیره‌سازی، همه نمونه‌ها، حاوی پروبیوتیک بالاتر از میزات توصیه‌شده $6(\log \text{CFU/g})$ بودند. بالاترین تعداد پروبیوتیک پس از ۲۸ روز در نمونه حاوی پروبیوتیک‌های کپسوله‌شده و پوشش‌داده‌شده با پروتئین آب پنیر مشاهده شد. نتایج ما مطابق با مطالعات مشابه بود. Krasaekoopt و همکاران در سال ۲۰۱۴ گزارش کردند که کاهش لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس کپسوله شده با آلژینات، کیتوزان و گالاتالیکوساکارید پس از ۲۸ روز نگهداری در دمای ۴

۴-۳- زنده‌مانی پروبیوتیک‌های کپسوله‌شده در طول ذخیره‌سازی

رشد کشت پروبیوتیک کپسوله‌شده در آلژینات طی ۷ روز اول نگهداری افزایش یافت (شکل ۳). رشد کشت بالاتر در میکروکپسول‌های حاوی WPH مشاهده شد که نشان دهنده تأثیر مصرف پیتیدهای فعال زیستی بر رشد باکتری هاست. تفاوت در زنده‌مانی پروبیوتیک‌های کپسوله شده و پوشش دهی شده با WPI و بدون پوشش می‌تواند مربوط به انتشار مولکول زیست‌فعال در میکروکپسول‌های بدون پوشش باشد که می‌تواند منجر به اثر حفاظتی کمتر برای سلول‌های پروبیوتیک شود [۱۶]. نرخ آزادسازی کم پیتیدهای زیست-فعال از میکروکپسول‌های پوشش‌داده‌شده با WPI در مقایسه با کپسول‌های بدون پوشش در طول ذخیره‌سازی

درجه سانتیگراد $\log \text{CFU/mL}$ ۱.۸ بود [۲۰]. کیتوزان در ماست را پس از ۳۵ روز نگهداری $\log$ Brinques و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش تعداد لاکتوباسیلوس پلانتاریوم پوشش داده شده با آلژینات و

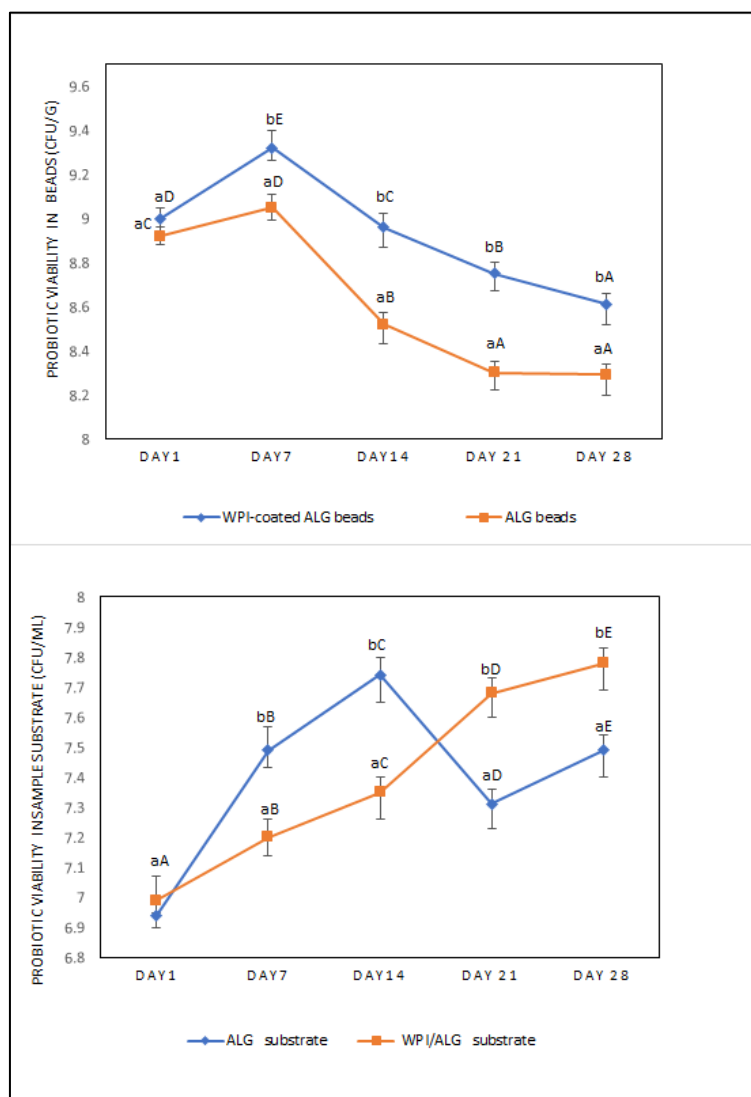


Figure ۳. Viability of probiotic bacteria for encapsulated cells (Log cfu/g) and released cells (Log cfu/ml) in sport drink samples with alginate (ALG) and WPI-coated alginate (WPI/ALG) beads, during 28 days of storage at 4 °C. Means in a column shown with different lowercase letters are significantly different ($p < 0.05$). Means in a row shown with different uppercase letters are significantly different a row ($p < 0.05$).

ورزشی بر پایه ی پرمیت آب پنیر بکار رفتند. انکپسولاسیون و پوشش دهی پپتیدهای زیست فعال و باکتری های پروبیوتیک جهت بهبود بقای پروبیوتیک ها و کاهش سرعت رهاسازی پروبیوتیک ها و پپتیدهای زیست فعال در محصول موفق بود و محصول نهایی بعد از ۲۸ روز نگهداری در سطح قابل قبولی از میزان پپتیدهای زیست فعال و پروبیوتیک

۵- نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، WPH به عنوان آنتی اکسیدان طبیعی به همراه باکتری های پروبیوتیک شامل لاکتوباسیلوس پلانتاریوم و لاکتوباسیلوس کازئی در ماتریکس آلژینات انکپسوله شدند و بعد از پوشش دهی با WPI در نوشیدنی

باکتری ها قرار داشت. با توجه به علاقه گسترده جهانی به مصرف غذاهای کاربردی با ارزش افزوده، این محصول می تواند به عنوان بعنوان یک نوشیدنی ورزشی پروبیوتیک و فراسودمند مطرح شود.

ه-منابع

- [1] Nyanzi, Richard, Piet J. Jooste, and Elna M. Buys., 2021. Invited review: Probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects. *Journal of Dairy Science* 104.1: 1-19.
- [2] Shi, Qilong, Zhongxiang Fang, and Bhesh Bhandari., 2013. Effect of addition of whey protein isolate on spray-drying behavior of honey with maltodextrin as a carrier material. *Drying Technology* 31.13-14: 1681-1692.
- [3] Ribeiro, Daiany Alves, et al., 2014. Potencial terapêutico e uso de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais* 16: 912-930.
- [4] Krunic, Tanja Ž., Nataša S. Obradović, and Marica B. Rakin., 2019. Application of whey protein and whey protein hydrolysate as protein based carrier for probiotic starter culture." *Food Chemistry* 293: 74-82.
- [5] Ryder, Kate, Alaa El-Din Bekhit, Michelle McConnell, and Alan Carne., 2016. Towards generation of bioactive peptides from meat industry waste proteins: Generation of peptides using commercial microbial proteases. *Food Chemistry* 208: 42-50.
- [6] Gbassi, Gildas K., and Thierry Vandamme., 2012. Probiotic encapsulation technology: from microencapsulation to release into the gut. *Pharmaceutics* 4, no. 1: 149-163.
- [7] Nielsen, P. M., D. Petersen, and C. J. J. O. F. S. Dambmann., 2001. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of food science* 66, no. 5: 642-646
- [8] Xia, Ting, Bo Zhang, Wenhui Duan, Jin Zhang, and Min Wang., 2020. Nutrients and bioactive components from vinegar: A fermented and functional food. *Journal of Functional Foods* 64: 103681.
- [9] Gamage, S. M., M. K. S. Mihirani, O. D. A. N. Perera, and HL Darshani Weerahewa., (2016). Development of synbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic *Lactobacillus Casei* 431. *Ruhuna Journal of Science* 7, no. 2 December.
- [10] Varga, László., 2006. Effect of acacia (*Robinia pseudo-acacia* L.) honey on the characteristic microflora of yogurt during refrigerated storage. *International journal of food microbiology* 108, no. 2: 272-275
- [11] De Prisco, Annachiara, Diamante Maresca, Duncan Ongeng, and Gianluigi Mauriello., 2015. Microencapsulation by vibrating technology of the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 to enhance its survival in foods and in gastrointestinal environment. *LWT-Food Science and Technology* 61, no. 2: 452-462.
- [12] Lowry, Oliver H., Nira J. Rosebrough, A. Lewis Farr, and Rose J. Randall., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of biological chemistry* 193: 265-275.
- [13] Krunic, Tanja Ž., Nataša S. Obradović, and Marica B. Rakin., 2019. Application of whey protein and whey protein hydrolysate as protein based carrier for probiotic starter culture. *Food Chemistry* 293: 74-82.
- [14] Ramos, Jose, Jacqueline Forcada, and Roque Hidalgo-Alvarez., 2014. Cationic polymer nanoparticles and nanogels: from synthesis to biotechnological

applications. *Chemical reviews* 114, no. 1: 367-428.

[15] Lee, Dong-Hoon, Bong-Hwa Jin, Yong-Il Hwang, and Seung-Cheol Lee., 2000. Encapsulation of bromelain in liposome. *Preventive Nutrition and Food Science* 5, no. 2: 81-85.

[16] Krunic, Tanja, Marica Rakin, Maja Bulatovic, and Danica Zaric., 2018. The contribution of bioactive peptides of whey to quality of food products. In *Food processing for increased quality and consumption*, pp. 251-285. Academic Press.

[17] Vargas, Sara A., et al., 2021. High-intensity ultrasound pretreatment influence on whey protein isolate and its use on complex coacervation with kappa carrageenan: Evaluation of selected functional properties. *Ultrasonics sonochemistry* 70: 105340.

[18] Doherty, S. B., V. L. Gee, R. P. Ross, C. Stanton, G. F. Fitzgerald, and A. Brodkorb., 2011. Development and characterisation of whey

protein micro-beads as potential matrices for probiotic protection. *Food Hydrocolloids* 25, no. 6: 1604-1617.

[19] Peiris, K. R. M., Prasanna, P. H. P., Chandramali, D. V. P., Gunasekara, D. C. S., & Madhusanka, P. M. V., 2019. Effect of Incorporation of Kithul Flour on Physical, Microbiological and Sensory Attributes of Probiotic Set Yogurt.

[20] Krasaekoopt, Wunwisa, and S. Watcharapoka., 2014. Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT-Food Science and Technology* 57.2: 761-766.

[21] Brinques, Graziela Brusch, and Marco Antônio Záchia Ayub., 2011. Effect of microencapsulation on survival of *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, and yogurt. *Journal of food engineering* 103.2: 123-128.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Whey permeate-based isotonic beverage formulation containing whey protein probiotic and peptides Co-encapsulated in alginate Matrix

Maryam Soltani ¹, Mohammad Rabbani ^{1*}, Vahid Mofid², Seyed Amir Mohammad Mortazavian ²

1- Department of Food Science and Industry, Islamic Azad University, Science and Research Unit, Tehran, Iran.

2- Department of Food Science and Industry, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2023/5/24 Accepted:2024/12/24	This study aimed to formulate a functional isotonic sports drink based on whey permeate containing probiotics and whey peptides encapsulated by alginate. The effect of hydrolyzed whey production as a natural antioxidant and whey as a coating of microcapsules in the formulated drink was investigated. Encapsulation of probiotics and whey peptides helped to improve the mechanical properties of the capsule, fermentation activity and survival of probiotics during 28 days of storage. Alginate capsules coated with whey culture showed better encapsulation efficiency, sphericity factor and antioxidant composition before and after fermentation compared to uncoated capsules. Hydrolysis had a positive effect on the antioxidant properties and viability of probiotic bacteria during 28 days of storage. Formulated whey-based sport drink can be a natural and functional alternative to existing commercial drinks.
Keywords: Whey permittivity, Hydrolyzed protein, Antioxidant, Encapsulation	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.16. *Corresponding Author E- mhd-rabani@yahoo.com	



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی خواص آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافتی با وزن های مولکولی مختلف حاصل از ضایعات کفال ماهیان دریای

خزر

سید محمود ربیعی^۱، سکینه یگانه^{۲*}، مینا اسمعیلی خاریکی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد فرآوری محصولات شیلاتی، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۲- استاد، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۳- استادیار، گروه شیلات، دانشکده علوم دامی و شیلات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲۹

کلمات کلیدی:

مهار رادیکال آزاد،

ضایعات،

کفال ماهیان،

وزن مولکولی،

الترافیلتر

مدیریت ضایعات آبیان از طریق تولید محصولات دارای ارزش افزوده از اهمیت زیادی برخوردار است. از جمله محصولات دارای ارزش افزوده با خواص بسیار متعدد (از جمله خواص کف زایی، امولسیفایری، آنتی اکسیدانی، ضد باکتریایی و ...) می توان به پروتئین های آبکافتی اشاره کرد. عوامل مختلفی از جمله وزن مولکولی و غلظت پروتئین های آبکافتی می توانند بر خواص مذکور تاثیرگذار باشند. لذا در پژوهش حاضر خواص آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافتی حاصل از ضایعات کفال ماهیان دریای خزر در محدوده های مختلف وزن مولکولی و غلظت های مختلف مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ابتدا آبکافت ضایعات ماهی با آلکالاز (غلظت ۱٪) در دمای ۵۵ درجه سانتی گراد و به مدت $pH=8$ به مدت ۱۲۰ دقیقه انجام شد (شرایط بهینه بر اساس پیش آزمون). سپس محلول پروتئین آبکافت شده با الترافیلترهای ۳ و ۱۰ کیلودالتون به وزن های مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ تا ۱۰ و بیشتر از ۱۰ کیلودالتون تقسیم گردید. به منظور ارزیابی تأثیر وزن مولکولی و غلظت بر فعالیت آنتی اکسیدانی پروتئین آبکافتی، از شاخص های قدرت مهار رادیکال های آزاد DPPH، ABTS و قدرت کاهندگی یون فریک استفاده شد. سنجش قدرت مهار رادیکال های آزاد DPPH و ABTS نشان داد که بین وزن های مولکولی مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد و بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون ثبت شد ($p<0/05$). کمترین میزان IC_{50} برای قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS نیز برای نمونه با وزن مولکولی بین ۳ تا ۱۰ کیلودالتون محاسبه گردید ($p<0/05$). قدرت مهار رادیکال های آزاد و قدرت کاهندگی آهن با افزایش غلظت، در تمامی وزن های مولکولی بیشتر شدند ($p<0/05$). در بین فرکشن های مختلف نیز نمونه با وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون بیشترین قدرت کاهندگی آهن را نشان داد ($p<0/05$). با توجه به نتایج، می توان اظهار داشت پروتئین آبکافتی تولید شده در این تحقیق، به عنوان یک ترکیب آنتی اکسیدانی (به ویژه در وزن مولکولی ۳-۱۰ کیلودالتون) قابل استفاده می باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.29.

* مسئول مکاتبات:

skyeganeh@gmail.com;
s.yeganeh@sanru.ac.ir

۱-مقدمه

خواص عملکردی و فعالیت آنتی اکسیدانی این پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار دهند.

به دلیل وجود پیوندهای دوگانه در بافت و به خصوص در روغن ماهی، این ماده غذایی به شدت مستعد فساد اکسیداسیونی می‌باشد. از جمله ترکیبات حاصل از فساد اکسیداسیونی می‌توان به رادیکال‌های آزاد و اکسیژن فعال اشاره کرد. این رادیکال‌ها منجر به واکنش‌های شیمیایی نامطلوب و بیولوژیکی می‌شوند. امروزه جلوگیری از اکسیداسیون لیپیدها، بیش‌ترین نگرانی را در صنایع محصولات غذایی به وجود آورده و این امر به مساله‌ای بسیار حائز اهمیت بدل شده است [۱۴]. محصولات اکسیداسیون چربی به‌طور بالقوه برای سلامتی انسان مضر هستند و مصرف مکرر از این مواد غذایی ممکن است منجر به سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و آلزایمر شوند. استفاده از آنتی-اکسیدان‌های طبیعی به منظور جلوگیری از فساد اکسیداتیو و کاهش بیماری‌های ناشی از این فرآیند در محصولات غذایی به یکی از اهداف مهم صنعت مواد غذایی تبدیل شده است [۱۵]. بنابراین کنترل مؤثر و حذف سریع رادیکال‌های آزاد اضافی برای حفظ سلامتی موجود زنده و بهبود عملکرد آن بسیار حیاتی است. مکمل‌های غذایی با خصوصیات آنتی-اکسیدانی می‌توانند موجب بهبود سلامتی موجود زنده شوند [۹].

از آنجا که یکی از اهداف تولید این پروتئین‌ها، تولید موادی با ارزش افزوده بالا است، بنابراین به منظور تجاری-سازی و کاهش هزینه‌های تولید، انتخاب نوع سویسترا بسیار مهم است. معمولاً برای چنین اهدافی بسته به نوع کارائی مورد نظر، از ضایعات پروتئینی استفاده می‌کنند. بر اساس سالنامه آماری شیلات ایران (۱۳۹۷-۱۴۰۱) در سه استان شمالی ایران در سال ۱۴۰۱ مجموع آمار صید ۳۲۵۱۵ تن بوده است و ۱۳۳۹۶ تن آن را ماهیان استخوانی تشکیل می‌دهند که کفال ماهیان بخشی از این صید را شامل می‌شوند [۱۷]. کفال ماهیان دارای دو گونه حائز اهمیت به نام‌های

پروتئین‌ها یکی از ترکیبات اساسی و ضروری بافت‌های موجودات زنده هستند که در فعالیت‌های زیستی و فرآیندهای فیزیولوژیک مرتبط با سلول‌ها نقش عمده‌ای را ایفا می‌کنند [۱]. در مواد غذایی نیز پروتئین‌ها یک درشت مغذی مهم به‌عنوان منبع انرژی و اسیدهای آمینه مطرح هستند. بسیاری از خواص فیزیولوژیک و کارکردی پروتئین‌ها با پپتیدهای زیست فعال موجود در ساختارشان مرتبط است. تحقیقات نشان داده است که بیش‌تر پپتیدهای زیست فعال در توالی پروتئین اصلی خود غیر فعال هستند [۲] اما پس از آزادشدن طی فرآیند هضم گوارشی یا با استفاده از روش‌های مختلف فرآوری، فعالیت فیزیولوژیک خود را نمایان می‌سازند [۳]. پروتئین‌های آبکافتی حاصل از آبکافت (شیمیایی، بیوشیمیایی و اتولیز) سویستراهای پروتئینی هستند. یکی از کارآمدترین تکنیک‌ها به منظور تولید این ترکیبات، روش آبکافت آنزیمی است که از تکنیک‌های جالب توجه در جهت اصلاح پروتئین‌ها است [۴]. به طور کلی، آنزیم‌هایی با منشاء میکروبی نسبت به سایر آنزیم‌ها، دارای مزایای بیشتری هستند که از آن‌جمله می‌توان به پایداری بیشتر در حرارت و pH بالا و خصوصیات مناسب پروتئولیتیکی اشاره نمود [۵]. پروتئین‌های ناشی از این روش مخلوطی از قسمت‌های مختلف پپتیدی (دی، تری و الیگوپپتید) با محدوده متنوعی از وزن‌های مولکولی می‌باشند که با تولید گروه‌های آلدوست باعث افزایش حلالیت پروتئین می‌شوند و در نتیجه خواص کارکردی و زیست فعالی پروتئین را بهبود می‌بخشند. پروتئین‌های آبکافتی دارای خواص عملکردی (حلالیت، شاخص فعالیت امولسیفایری و پایداری امولسیون، ظرفیت کف‌زایی و پایداری کف، ظرفیت جذب روغن و ظرفیت نگهداری آب) و فعالیت آنتی اکسیدانی هستند [۶ و ۷]. عوامل مختلفی از جمله نوع منبع پروتئینی و آنزیم [۶ و ۸]، نسبت آنزیم به سویسترا، دما، زمان [۹] درجه آبکافت [۸، ۱۰ و ۱۱]، وزن مولکولی پپتیدهای حاصله [۱۲ و ۱۳] و pH می‌توانند

دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند. مقدار آنزیم آلکالاز (2.4 L, Novozymes, Denmark) ۱/۵ درصد (حجمی/وزنی)، دما ۵۵ درجه سانتی‌گراد، pH معادل ۸ و زمان ۱۲۰ دقیقه (شرایط واکنش آبکافت بر اساس حد بهینه مشخص شده در مطالعه قبلی نویسندگان (۱۹)) در نظر گرفته شد. پس از پایان واکنش آبکافت، نمونه‌ها به منظور غیر فعال‌سازی آنزیم آلکالاز، به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آبی (Memmert WNB 29, Germany) در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. نمونه‌ها به منظور جداسازی مواد غیر محلول از پروتئین‌های محلول، تحت عمل سانتریفوژ (۲۰ دقیقه با دور ۸۰۰۰g) در دستگاه سانتریفوژ یخچال‌دار (Sigma, 2-16KL) قرار داده شدند و نهایتاً مایعات رویی به وسیله سمپلر جدا و برای آنالیزهای مربوطه در فریزر -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند [۱۹]. میزان پروتئین محلول و درجه آبکافت پروتئین آبکافتی به ترتیب $0.58 \pm$ و 18.73 میلی‌گرم/میلی‌لیتر و 0.72 ± 37.53 درصد محاسبه شدند. محصول آبکافت، با استفاده از الترافیلترهای ۳ و ۱۰ کیلودالتون (Amicon Centrifugal Filter, Merck) به بخش‌های کوچکتر از ۳ کیلو دالتون، بین ۳ الی ۱۰ کیلودالتون و بزرگتر از ۱۰ کیلودالتون تقسیم‌بندی شدند. بدین منظور ابتدا محلول پروتئین آبکافت شده بوسیله‌ی الترافیلترهای ۱۰ کیلودالتون و با استفاده از سانتریفیوژ یخچال‌دار (۵۰۰۰g، دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۴۰ دقیقه) فیلتر شد. محلول باقی مانده در بالای فیلتر به عنوان نمونه بیشتر از ۱۰ کیلودالتون در نظر گرفته شد. محلول عبور کرده از فیلتر مجدداً با الترافیلتر ۳ کیلودالتون و به روش ذکر شده در بالا جداسازی شد. محلول باقی مانده در بالای فیلتر به عنوان فرکشن ۳ تا ۱۰ کیلودالتون در نظر گرفته شد و محلول رد شده از فیلتر به عنوان نمونه کمتر از ۳ کیلودالتون جداسازی شد. و سپس سنجش فعالیت آنتی-اکسیدانی به روش‌های مختلف برای هر کدام از فرکشن‌ها انجام شد.

۲-۳- سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد

DPPH

کفال پوزه باریک (*Liza saliens*) و کفال طلایی (*Liza aurata*) هستند که در مدت مهر تا فروردین صید می‌شوند [۱۸]. لذا حجم زیادی از ضایعات از مصرف این ماهیان تولید می‌شود که استفاده بهینه از آن‌ها بسیار حائز اهمیت است. با توجه به توضیحات ارایه شده تحقیقی با هدف بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تهیه شده از ضایعات کفال ماهیان دریای خزر انجام شد که در آن، بر اساس درجه آبکافت و خواص آنتی‌اکسیدانی، بهترین زمان برای آبکافت ضایعات این ماهیان با آنزیم آلکالاز، ۱۲۰ دقیقه به دست آمد (۱۹). و تحقیق حاضر در ادامه‌ی تحقیق ذکر شده با هدف بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی پروتئین آبکافتی تهیه شده از ضایعات کفال ماهیان دریای خزر در اوزان مولکولی و غلظت‌های مختلف انجام شد.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی ضایعات ماهیان کفال

۲۰ قطعه ماهی کفال (*Liza saliens* و *Liza aurata*) با میانگین وزنی 50 ± 300 گرم از بازار ماهی‌فروشان شهرستان بابل تهیه و در جعبه‌های یونولیتی به همراه یخ (۱:۳ وزنی/وزنی) به سرعت به آزمایشگاه محل انجام تحقیق منتقل گردید. پس از شستشو با آب سرد (جهت برطرف کردن آلودگی‌ها و موکوس از سطح ماهیان)، سر زنی، دم‌زنی و تخلیه محتویات درون شکم ماهیان صورت گرفت. در این تحقیق از سر، باله و محتویات درون شکم ماهی کفال به عنوان ضایعات ماهی در ادامه مراحل تحقیق استفاده شد. ضایعات ماهیان با چرخ گوشت به طور کامل چرخ شده و پس از بسته‌بندی، در دمای فریزر (-۲۰ درجه سانتی‌گراد) تا روز آزمایش نگهداری شدند.

۲-۲- آبکافت ضایعات ماهیان کفال

به‌منظور آماده‌سازی نمونه‌ها، ابتدا برای هر تیمار مقدار ۱۰۰ گرم ضایعات چرخ‌شده کفال‌ماهیان در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجمادزدایی و با آب مقطر با نسبت ۱:۲ (v/w) مخلوط و با هم‌زن به مدت ۲ دقیقه هم‌وزن شدند. جهت غیر فعال‌کردن آنزیم‌های داخلی، نمونه‌ها در حمام آب داغ در

ابتدا بر اساس غلظت پروتئین محلول، غلظت‌های مختلفی (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر) از نمونه پروتئین آبکافتی تهیه شد و برای انجام این آزمایش به حجم معینی از محلول نمونه، همان میزان از محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH در متانول اضافه گردید. مخلوط حاصل به خوبی تکان داده و به مدت ۱۵ الی ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. سپس جذب مخلوط به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر (Spectrophotometer UV-M51 UV/Vis, Italy) در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد مهار رادیکال طبق رابطه زیر محاسبه گردید [۹] که در این رابطه Ab جذب شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر و As جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر می باشد.

$$DPPH (\%) = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100$$

۴-۲- سنجش قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی

ابتدا بر اساس غلظت پروتئین محلول، غلظت‌های مختلفی (۱، ۲ و ۳ میلی گرم در میلی لیتر) از نمونه پروتئین آبکافتی تهیه گردید و برای بررسی این ویژگی، ۱ میلی لیتر پروتئین آبکافتی با غلظت‌های مختلف با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (با pH=۶/۶) و ۲/۵ میلی لیتر محلول پتاسیم فری-سیناید ۱ درصد مخلوط شد. سپس ترکیب بدست آمده ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد انکوبه و متعاقباً ۲/۵ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به آن اضافه گردید. در مرحله بعد این محلول ۱۰ دقیقه با گردش ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و فاز رویی با ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر و ۲/۵ میلی لیتر محلول فریک کلرید ۰/۱ درصد ترکیب شد. جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت گردید. هر چه جذب بیشتر باشد قدرت کاهندگی پروتئین آبکافتی نیز بیشتر است [۲۲].

۴-۲-۵ سنجش قدرت فعالیت مهارکنندگی رادیکال

ABTS

ابتدا بر اساس غلظت پروتئین محلول، غلظت (۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی گرم در میلی لیتر) میلی گرم در میلی لیتر از نمونه پروتئین آبکافتی تهیه و به منظور سنجش فعالیت مهارکنندگی از روش Alemán و همکاران (۲۰۱۱) استفاده شد [۲۳]. محلول ۷ میلی مولار ABTS در پتاسیم پرسولفات ۲/۴۵ میلی مولار تهیه و به مدت ۱۶ ساعت در دمای محیط و در مکان تاریک نگهداری گردید. پس از طی زمان مورد نظر، رقیق سازی با آب مقطر تا رسیدن به میزان جذب 0.7 ± 0.2 در طول موج ۷۳۴ نانومتر انجام شد. سپس ۲۰ میکرولیتر نمونه با ۹۸۰ میکرولیتر محلول رقیق سازی شده ABTS مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در مکان تاریک و دمای ۳۰ درجه سانتی گراد انکوبه گردید. پس از طی زمان مورد نظر، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۳۴ نانومتر قرائت شد. به منظور مقایسه نیز از غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید استفاده و درصد مهارکنندگی رادیکال ABTS بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید که در این رابطه Ab جذب شاهد در طول موج ۷۳۴ نانومتر و As جذب نمونه در طول موج ۷۳۴ نانومتر می باشد.

$$ABTS (\%) = \frac{Ab - As}{Ab} \times 100$$

۴-۲-۶ تجزیه و تحلیل آماری

تحقیق حاضر در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. تمام شاخص‌ها حداقل با سه تکرار تعیین شدند و پس از بررسی نرمال بودن داده‌ها با آزمون شاپیرو-ویلک، مقایسه میانگین‌ها برای تعیین تاثیر محدوده وزن مولکولی بر فعالیت آنتی-اکسیدانی پروتئین آبکافتی با آنالیز واریانس یک طرفه و برای بررسی تفاوت معنی دار بین میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد استفاده گردید. تمامی تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 20 انجام شد.

۳- نتایج

۳-۱- قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH

معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین و کمترین میزان به ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون مشاهده شد ($p < 0.05$). در غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر، بین تیمارهای با وزن مولکولی ۳-۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$).

نتایج سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH در وزن‌های مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ الی ۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون نشان داد (جدول ۱) که با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز در تمامی وزن‌ها افزایش می‌یابد ($p < 0.05$). در تمامی غلظت‌ها، بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت

Table1: DPPH radical scavenging activity (%) of protein hydrolysate in different molecular weight

Molecular weight (kDa)	Concentration (mg/ml)				
	0.5	1	1.5	2	2.5
<3	15.05±0.61 ^{Aa}	42.70±1.23 ^{Ba}	55.29±1.27 ^{Ca}	62.31±1.71 ^{Da}	78.48±1.06 ^{Ea}
3-10	27.92±0.88 ^{Ac}	50.20±1.03 ^{Bb}	70.37±0.63 ^{Cc}	80.65±0.61 ^{Dc}	97.06±2.97 ^{Ec}
>10	25.04±0.34 ^{Ab}	50.73±0.53 ^{Bb}	62.94±0.61 ^{Cb}	73.98±0.46 ^{Db}	90.12±1.39 ^{Eb}

Different uppercase and lowercase letters in each row and column show significant difference among different concentrations and molecular weight, respectively ($p < 0.05$).

به IC_{50} به ترتیب در وزن مولکولی ۳ تا ۱۰ کیلودالتون و کمتر از ۳ کیلودالتون ثبت شد ($p < 0.05$).

نتایج محاسبه IC_{50} نشان داد (جدول ۲) که بین وزن‌های مولکولی مختلف اختلاف معنی‌داری وجود داشت، به طوری که کمترین و بیشترین مقدار پروتئین مورد نیاز برای رسیدن

Table 2: IC_{50} value for DPPH radical scavenging activity

Molecular weight (kDa)	>10	3-10	<3
IC_{50} (mg/ml)	0.99±0.010 ^b	0.90±0.007 ^a	1.27±0.020 ^c

Different letters show significant difference ($p < 0.05$).

بیشترین میزان در غلظت ۳ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد ($p < 0.05$). در تمامی غلظت‌ها نیز بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و با افزایش وزن مولکولی، قدرت کاهندگی به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین مقدار در وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون به دست آمد ($p < 0.05$).

۲-۳- قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی (یون

فریک)

نتایج سنجش قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی در جدول ۳ نشان داده شده است. مطابق این جدول با افزایش غلظت، قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی در تمامی وزن‌های مولکولی افزایش معنی‌داری پیدا کرد، به طوریکه

Table 3: ferric ion (Fe^{+3}) reduction power of protein hydrolysate in different molecular weight

Molecular weight (kDa)	Concentration (mg/ml)		
	1	2	3
<3	0.160±0.003 ^{Aa}	0.262±0.008 ^{Ba}	0.323±0.011 ^{Ca}
3-10	0.267±0.004 ^{Ab}	0.354±0.004 ^{Bb}	0.432±0.003 ^{Cb}

>10

0.283±0.003^{Ac}0.367±0.007^{Bc}0.493±0.008^{Cc}

Different uppercase and lowercase letters in each row and column show significant difference among different concentrations and molecular weight, respectively ($p<0.05$).

میزان در غلظت ۲/۵ میلی گرم بر میلی لیتر مشاهده شد (۰/۰۵< p). در تمامی غلظت‌ها نیز بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی داری مشاهده شد و بیشترین قدرت مهارکنندگی به ترتیب در وزن مولکولی ۳-۱۰ و کمتر از ۳ کیلودالتون ثبت شد (۰/۰۵< p).

۳-۳- فعالیت مهارکنندگی رادیکال ABTS

نتایج سنجش قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS در وزن‌های مولکولی کمتر از ۳، بین ۳ الی ۱۰ و بالای ۱۰ کیلودالتون نشان داد (جدول ۴) که با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز در تمامی وزن‌ها افزایش پیدا کرد و بیشترین

Table 4: ABTS radical scavenging activity (%) of protein hydrolysate in different molecular weight

Molecular weight (kDa)	Concentration (mg/ml)				
	0.5	1	1.5	2	2.5
<3	3.39±0.92 ^{Aa}	24.93±0.71 ^{Ba}	34.66±2.00 ^{Ca}	54.17±1.08 ^{Da}	70.09±0.56 ^{Ea}
3-10	13.88±0.43 ^{Ac}	38.68±0.70 ^{Bc}	62.48±0.08 ^{Cc}	76.14±2.88 ^{Dc}	82.94±1.41 ^{Ec}
>10	9.20±0.57 ^{Ab}	30.79±0.43 ^{Bb}	54.45±0.07 ^{Cb}	68.11±0.85 ^{Db}	77.60±1.27 ^{Eb}

Different uppercase and lowercase letters in each row and column show significant difference among different concentrations and molecular weight, respectively ($p<0.05$).

نتایج بررسی میزان IC_{50} نشان داد که بین وزن‌های مولکولی مختلف اختلاف معنی دار وجود دارد (۰/۰۵< p) و برای رسیدن به IC_{50} را دارا بود (جدول ۵).

Table 5: IC_{50} value for ABTS radical scavenging activity

Molecular weight (kDa)	>10	3-10	<3
IC_{50} (mg/ml)	1.35±0.01 ^b	1.10±0.01 ^a	1.78±0.02 ^c

Different letters in each row show significant difference ($p<0.05$).

اسیدهای آمینه آزاد و پپتیدهای کوچک بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی تاثیر می گذارد. پپتیدهای با اندازه کوتاه تر تاثیر گسترده تری بر فعالیت آنتی اکسیدانی دارند و با درجه آبکافت بیشتر این امر حاصل می گردد. ولی در نهایت توالی پپتیدها، ترکیب و درصد آنگریز بودن آن‌ها خصوصیات آنتی اکسیدانی پپتیدهای جدا شده را مشخص می کند [۲۵-۲۷]. همانطور که در نتایج حاصل از سنجش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در اوزان مختلف مولکولی مشاهده شد، با افزایش غلظت، قدرت مهارکنندگی نیز در تمامی وزن‌ها افزایش پیدا کرد. همچنین در وزن مولکولی بین ۳-۱۰ کیلودالتون کمترین

۴- بحث

حذف رادیکال آزاد توسط آنتی اکسیدان‌ها انجام می گیرد. بنابراین اندازه گیری مقدار آن می تواند نشان دهنده وضعیت آنتی اکسیدانی یک ترکیب باشد. DPPH یک رادیکال آزاد پایدار بوده و زمانی که از یک آنتی اکسیدان الکترون دریافت کند مهار خواهد شد [۲۴]. بنابراین انتظار می رود در صورت عملکرد پروتئین آبکافتی ضایعات کفال به عنوان آنتی-اکسیدان، با افزایش غلظت پروتئین آبکافتی در تحقیق حاضر میزان قدرت مهارکنندگی DPPH افزایش و مقدار رادیکال آزاد DPPH کاهش یابد. تغییر در اندازه، مقدار و ترکیب

عنوان کردند که نشان‌دهنده ویژگی‌های مختلف پپتیدها در وزن‌های مولکولی مختلف می‌باشد [۳۴].

یون آهن فرو گونه‌ی کلیدی فعال مسئول تشکیل اکسیدان-ها در سلول‌ها می‌باشد که منجر به افزایش سطوح پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود [۳۵]. گروه‌های کربوکسیل و آمین پپتیدها در پروتئین‌های آبکافتی با کلاته کردن یون فلزی از جمله یون آهن فرو از اکسیداسیون لیپید جلوگیری کرده و از تشکیل اکسیدان‌ها ممانعت بعمل می‌آورند [۳۶]. قدرت کاهندگی یک ترکیب می‌تواند شاخص قابل توجهی به منظور نشان‌دادن پتانسیل آنتی‌اکسیدانی آن ترکیب باشد. قدرت کاهندگی آهن III (فریک) توانایی اهدای الکترون توسط پروتئین آبکافتی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان به منظور پایداری رادیکال‌های آزاد را نشان می‌دهد [۳۶]. بنابراین قدرت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای پروتئین آبکافتی از طریق تبدیل آهن III به آهن II قابل بررسی است [۳۸]. ویژگی‌های پپتیدهای حاصل از آبکافت به دلیل شرایط آبکافت و نوع آنزیم به کار رفته متغیر هستند. همچنین فعالیت ضد اکسیدانی پروتئین آبکافتی وابسته به چندین عامل از جمله نوع آنزیم، درجه هیدرولیز، حلالیت پروتئین‌ها، پپتیدها و حضور اسید آمینه‌های آزاد است [۳۹]. بنابراین، ممکن است فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوتی در تحقیقات مختلف مشاهده گردد. افزایش میزان آبکافت همیشه به افزایش خواص آنتی‌اکسیدانی منجر نخواهد شد و علت کاهش ظرفیت کاهندگی فریک با کاهش وزن مولکولی در مطالعه‌ی حاضر احتمالاً به مقدار بیش از حد اسید آمینه آزاد مرتبط می‌باشد. زیرا پپتیدها اثربخشی بیشتری نسبت به اسید آمینه آزاد دارند و با افزایش تبدیل پپتیدها طی فرآیند آبکافت به اسید آمینه آزاد این اثربخشی کاهش می‌یابد. خصوصیات پپتیدهای جدا شده از پروتئین آبکافتی مانند توالی و ترکیب آن‌ها در آبکافت‌های مختلف متغیر بوده و ممکن است خاصیت کلاته‌کنندگی یون فلزی از طریق هیدروژن یا دادن الکترون را نداشته باشد. به عنوان مثال اسید آمینه‌های آگریز از جمله هیستیدین، پرولین، متیونین، سیستین، تیروزین و فنیل‌آلانین فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدها را بهبود می‌بخشند

پروتئین مورد نیاز برای رسیدن به IC_{50} وجود داشت. در مطالعه‌ای بر روی پروتئین آبکافتی پولاک آلاسکا مشخص شد که بین وزن‌های مختلف مولکولی زیر ۱، ۱ الی ۳، ۳ الی ۵، ۵ الی ۱۰ و ۱۰ الی ۳۰ کیلودالتون خاصیت آنتی‌اکسیدانی حذف رادیکال آزاد در وزن زیر ۱ کیلودالتون بیشترین مقدار است [۲۸]. در تحقیق Gbogouri و همکاران (۲۰۰۴) در آبکافت سر ماهی سالمون با استفاده از آلکالاز، وزن مولکولی پپتیدها ویژگی آنتی‌اکسیدانی را تحت تاثیر قرار داد و به طور کلی اوزان ۴/۲ الی ۱۳/۲ کیلودالتون به عنوان وزن بهینه گزارش شد [۲۹]. در آبکافت پروتئین گندم، بررسی مهار رادیکال DPPH نشان داد با افزایش زمان آبکافت و کاهش اندازه پپتیدهای تولید شده، بر قابلیت حذف رادیکال‌های آزاد پپتیدها افزوده شد [۳۰]. در مطالعه Lahart و همکاران (۲۰۱۱) در مورد آبکافت کازئین نیز با پیشرفت آبکافت، وزن مولکولی پروتئین آبکافتی حاصل کاهش یافت و با کاهش وزن مولکولی فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر شد [۳۱]. آنزیم‌های مختلف پیوندهای مختلفی را می‌شکنند و توان ایجاد وزن مولکولی مختلفی را دارند و در نهایت اوزان مختلف اثر مختلفی را بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی خواهند گذاشت که متاثر از خواص پپتیدهای حاصل از آبکافت می‌باشد [۳۱]. به عنوان مثال در تحقیق Li و همکاران (۲۰۰۸) وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون بیشترین خاصیت آنتی-اکسیدانی از جمله مهار رادیکال آزاد را داشتند [۳۲]. در مطالعه Bougatef و همکاران (۲۰۰۹) بین اوزان کمتر از ۳۵۰۰، ۶۵۰۰ الی ۱۲۲۰۰ و بیشتر از ۱۲۲۰۰ دالتون پپتیدهای حاصل از آبکافت پروتئین عضله کوسه وزن مولکولی ۳۵۰۰ دالتون بهترین وضعیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد [۳۳]. علاوه بر این موارد، در مطالعه Dong و همکاران (۲۰۱۳) سه وزن مولکولی کمتر از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون از پروتئین آبکافتی ماهی کپور نقره‌ای استخراج و مشخص شد وزن مولکولی بالاتر از ۵ کیلودالتون بیشترین قدرت مهار رادیکال آزاد DPPH را دارد. آنها همچنین وزن‌های مختلفی را به عنوان وزن بهینه جهت شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف از قبیل مهار رادیکال ABTS و قدرت کاهندگی آهن

از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون، وزن ۱ الی ۵ کیلودالتون را وزن بهینه به منظور افزایش قدرت کاهندگی آهن گزارش کردند [۳۴]. این تحقیقات این موضوع را تایید می‌کنند که وزن‌های مولکولی مختلف پپتیدها، ویژگی‌های مختلفی را ایجاد کرده که در نهایت منجر به بروز خاصیت آنتی اکسیدانی متفاوت می‌گردد.

شاخص مهار رادیکال آزاد ABTS به منظور تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی آنتی اکسیدان‌های دهنده هیدروژن (مهار رادیکال‌های فاز آبی) و شکستن زنجیره آنتی اکسیدان‌ها (مهار رادیکال‌های پروکسیل چربی) مورد استفاده قرار می‌گیرد [۴۵]. با توجه به نتایج پژوهش حاضر، وزن مولکولی ۳ تا ۱۰ کیلودالتون بیشترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد ABTS را نشان داد و با افزایش و کاهش وزن مولکولی پپتید، در قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS، کاهش مشاهده شد. همچنین کمترین پروتئین مورد نیاز برای رسیدن به IC_{50} در همین بازه وزنی مشاهده گردید که نشان‌دهنده محدوده وزن مولکولی بهینه پروتئین آبکافتی حاصل از آبکافت ضایعات کفال توسط آنزیم آلکالاز جهت استفاده به عنوان آنتی-اکسیدان می‌باشد. در مطالعه حاضر افزایش قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS تحت تاثیر غلظت‌های بالاتر پروتئین آبکافتی می‌تواند به این دلیل باشد که با افزایش دسترسی و در معرض قرار گرفتن گروه‌های آبدوست کربوکسیلی و آمینی پروتئین‌ها با مولکول‌های آب، میزان پیوندهای بیشتری بین پپتیدها و آب تشکیل می‌شود و در نهایت حلالیت پروتئین نیز افزایش پیدا می‌کند. این نتایج با نتایج مطالعه Nahvi و همکاران (۲۰۱۷) مطابقت داشت به طوری که در این تحقیق نیز با افزایش غلظت پروتئین آبکافت‌شده ماهی کیلکا تا ۵ میلی گرم در میلی لیتر، درصد مهار رادیکال ABTS افزایش پیدا کرد [۴۲]. پروتئین آبکافتی با ترکیب‌شدن با رادیکال‌های آزاد و تبدیل آن‌ها به محصولات بی‌خطر و همچنین با شکستن برخی واکنش‌ها، از سلول‌ها در مقابل اکسیداسیون محافظت می‌کند [۴۶]. در تحقیق Ramezanzadeh و همکاران (۲۰۱۶) ژلاتین پوست ماهی

[۲۰، ۲۵، ۲۷ و ۴۰]. از دلایل دیگر کاهش ظرفیت آنتی-اکسیدانی، کوچک‌شدن بیش از اندازه پپتیدها می‌باشد که در این تحقیق به آن اشاره شد اما به طور کلی تحقیق حاضر با نتایج پژوهش Bakhshan و همکاران (۲۰۱۴) مغایرت داشت [۴۱]. Nahvi و همکاران (۲۰۱۷) به طور مشابه با تحقیق حاضر نشان دادند با افزایش میزان غلظت پروتئین آبکافتی، قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی در شرایط یکسان آبکافت افزایش می‌یابد [۴۲]. همچنین Dey و Dora (۲۰۱۱) ضایعات میگو را آبکافت کردند و نشان دادند ترکیبات آنتی-اکسیدانی موجود در پروتئین آبکافتی حاصل، در غلظت‌های بالاتر قدرت کاهندگی بیشتری از خود نشان می‌دهند [۱۴]. نتایج مطالعه Suetsuna (۲۰۰۰) که طی آن عضله میگو با استفاده از پروتئاز آبکافت شد نیز با نتایج این مطالعات همسو و تاییدی بر این موضوع بود [۴۳]. پروتئین آبکافتی شامل مجموعه‌ای از پپتیدها و یا پروتئین‌هاست و با اهداء هیدروژن و واکنش با رادیکال‌ها آن‌ها را به محصولات پایدار تبدیل می‌کند. در نتیجه واکنش زنجیره‌ای رادیکال متوقف می‌گردد [۴۴]. در قدرت کاهندگی یون آهن سه ظرفیتی در تحقیق حاضر در تمامی غلظت‌ها بین وزن‌های مختلف مولکولی تفاوت معنی‌داری مشاهده شد و با افزایش وزن مولکولی، این شاخص به طور معنی‌داری افزایش یافت. وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون در شاخص قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی مناسب‌تر بود. Bougatef و همکاران (۲۰۱۰) عنوان کردند اندازه پپتیدهای پروتئین آبکافتی ساردین قدرت کاهندگی را تحت تاثیر قرار می‌دهند [۳۸]. در تحقیق Li و همکاران (۲۰۰۸) مشخص شد وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون بیشترین قدرت کاهندگی را دارد [۳۲]. همچنین در مطالعه Bougatef و همکاران (۲۰۰۹) بین اوزان ۳۵۰۰، ۶۵۰۰ الی ۱۲۲۰۰ و ۱۲۲۰۰ دالتون پپتیدهای حاصل از آبکافت پروتئین عضله کوسه، وزن مولکولی ۳۵۰۰ دالتون بالاترین قدرت کاهندگی آهن را نشان داد [۳۳]. Dong و همکاران (۲۰۱۳) در مقایسه پروتئین آبکافتی ماهی کپور نقره‌ای در سه دامنه‌ی وزن مولکولی کمتر

شد و نتایج نشان داد وزن مولکولی ۳ الی ۱۰ کیلودالتون قدرت بیشتری برای مهار رادیکال آزاد ABTS دارد [۵۱]. Dong و همکاران (۲۰۱۳) نیز در مقایسه فعالیت مهار ABTS بین سه وزن مولکولی کمتر از ۱، ۱ الی ۵ و بالاتر از ۵ کیلودالتون از پروتئین آبکافتی ماهی کپور نقره‌ای، وزن کمتر از ۱ کیلودالتون را وزن بهینه به منظور افزایش قدرت مهار ABTS گزارش نمودند [۳۴].

۵- نتیجه‌گیری

از آنجایی که دامنه وزن مولکولی و اندازه پپتیدهای حاصل از آبکافت از اهمیت بالایی برخوردار بوده و مرتبط با میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی است، در این مطالعه پروتئین آبکافتی حاصل از ضایعات کفال‌ماهیان دریای خزر با استفاده از الترافیلترهای مختلف به محدوده‌های مختلف وزن مولکولی دسته‌بندی و سپس ارزیابی شد. مقایسه خواص آنتی-اکسیدانی پروتئین آبکافتی با وزن‌های مولکولی مختلف نشان داد که وزن مولکولی ۳ الی ۱۰ کیلودالتون در مورد دو شاخص حذف رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS و وزن مولکولی بیش از ۱۰ کیلودالتون در شاخص قدرت کاهندگی آهن سه ظرفیتی مناسب‌تر بودند. همچنین فعالیت آنتی-اکسیدانی تمامی نمونه‌ها وابسته به غلظت بوده و با افزایش غلظت روند افزایشی مشاهده گردید. در مجموع به نظر می‌رسد استفاده از پروتئین آبکافتی حاصل از ضایعات کفال ماهیان دریای خزر بویژه با وزن مولکولی ۳ الی ۱۰ کیلودالتون بتواند به استفاده بهینه از ضایعات این ماهیان منجر شود.

قرل‌آلا با استفاده از آنزیم آلکالاز آبکافت شد و بین غلظت-های ۱، ۲، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، غلظت ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر پروتئین آبکافتی حاصله به عنوان غلظت بهینه از لحاظ خاصیت مهارکنندگی رادیکال ABTS پیشنهاد گردید [۴۷] که با سایر تحقیقات از جمله Pires و همکاران (۲۰۱۳) [۴۸]، Godinho و همکاران (۲۰۱۳) [۴۹] و Intarasirisawat و همکاران (۲۰۱۲) [۵۰] مشابهت داشت. پپتیدهای مختلف با اندازه مولکولی و توالی‌های آمینواسیدی متفاوت، ممکن است فعالیت آنتی‌اکسیدانی متفاوتی نیز از خود نشان دهند [۱۳]. از طریق فرآیند الترافیلتراسیون می‌توان توالی آمینواسیدها را بر اساس وزن مولکولی جدا کرد. درجه آبکافت بالاتر نشان‌دهنده این است که پیوندهای پپتیدی بیشتری شکسته شده و پپتیدهایی با وزن مولکولی پایین‌تر تولید شده است. در نهایت افزایش درجه آبکافت منجر به افزایش سر آزاد گروه‌های آلدوست کربوکسیلی و آمینی می‌شود که حلالیت بیشتر پپتیدها را بدنبال دارد. اگرچه در تحقیق حاضر با کاهش وزن مولکولی به کمتر از ۳ کیلودالتون قدرت مهار رادیکال آزاد ABTS کاهش یافت. بنابراین با توجه به این نتیجه می‌توان در شرایط موجود در مطالعه حاضر اظهار داشت که کاهش وزن مولکولی پپتیدی به معنای اثربخشی مناسب‌تر نمی‌باشد و پپتیدها در محدوده وزنی به خصوصی، اثرات آنتی‌اکسیدانی مطلوب‌تری را نشان می‌دهند.

بنابراین تفاوت قدرت احیا کنندگی، شلاته کنندگی و مهارکنندگی رادیکال‌ها بین پروتئین‌های آبکافتی را می‌توان به دلیل حضور پپتیدهای خاص با توالی آمینواسیدی خاص و وزن مولکولی معین دانست. به عنوان مثال گزارش شده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدها با وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون قوی‌تر از پپتیدها با وزن مولکولی بالاتر از وزن مولکولی ۱۵۰۰ و پپتیدهای پایین‌تر از ۵۰۰ دالتون می‌باشد [۳۲]. در مطالعه Chai و همکاران (۲۰۱۵) فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS در وزن‌های ۳ الی ۱۰، کمتر از ۳ و بیشتر از ۱۰ کیلودالتون در پپتیدهای حاصل از آبکافت ماهی Blue spotted stingray (*Taeniura lymma*) ارزیابی

ه-منابع

- [1] Bhaskar, N., and Mahendrakar, N. S. Protein hydrolysate from visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*): Optimization of hydrolysis conditions for a commercial neutral protease. *Bioresource Technology*. 2008; 99(10), 4105-4111.
- [2] Kim, J.-A. and Kim, S.-K. Bioactive peptides from marine sources as potential anti-inflammatory therapeutics. *Current Protein and Peptide Science*. 2013; 14(3), 177-182.
- [3] Ahn, C.B., Lee, K.H. and Je, J.Y. Enzymatic production of bioactive protein hydrolysates from tuna liver: effects of enzymes and molecular weight on bioactivity. *International Journal of Food Science and Technology*. 2010; 45(3), 562-568.
- [4] Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R. and Motamedzadegan, A. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) head using Alcalase and Protamex. *International Aquatic Research*. 2010; 2, 87-95.
- [5] Diniz A.M. and Martin A.M. Optimization of nitrogen recovery in the enzymatic hydrolysis of dogfish (*Squalus acanthias*) protein: Composition of the hydrolysates. *International Journal of Food Science and Nutrition*. 1997; 48, 191– 200.
- [6] Elavarasan, K., Naveen Kumar, V. and Shamasundar, B.A. Antioxidant and functional properties of fish protein hydrolysates from fresh water carp (*Catla catla*) as influenced by the nature of enzyme. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2014; 38(3), 1207-1214.
- [7] Klonpong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. and Shahidi, F. Antioxidant activity and functional properties of protein hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*. 2007; 102, 1317-1327.
- [8] Reyhani Poul, S., Jafarpour, S.A. and Safari, R. Evaluation of oil fatty acid profile, functional properties and antioxidants activity of hydrolyzate produced from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) viscera by application of protamex and neutrase enzymes. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*. 2018; 14(1), 162-176 [In Persian].
- [9] Yeganeh, S., Esmaili Kharyeki, M. and Ahamdi, H. Effect of hydrolysis time on the antioxidant activity of Common carp (*Cyprinus carpio*) head protein hydrolysate. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2021; 29(6), 29-42 [In Persian].
- [10] Souissi, N., Bougatef, A., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M. Biochemical and functional properties of sardinella (*Sardinella aurita*) by-product hydrolysates. *Food Technology and Biotechnology*. 2007; 45(2), 187.
- [11] Yeganeh, S. and Reyhani Poul, S. Nanoencapsulation of bioactive peptides from shrimp wastes enzymatic hydrolysis with combined coating of nanoliposome-chitosan and evaluation of antibacterial, antioxidant and antihypertensive activity of the product. *Iranian Scientific Fisheries Journal*. 2022; 30(6), 83-95 [In Persian].
- [12] Wu, H.C., Chen, H.M. and Shiau, C.Y. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*. 2003; 36(9-10), 949-957.
- [13] Nalinanon, S., Benjakul, S., Kishimura, H. and Shahidi, F. Functionalities and antioxidant properties of protein hydrolysates from the muscle of ornate threadfin bream treated with pepsin from skipjack tuna. *Food Chemistry*. 2011; 124(4), 1354-1362.
- [14] Dey, S.S. and Dora, K.C. Antioxidative activity of protein hydrolysate produced by alcalase hydrolysis from shrimp waste (*Penaeus monodon* and *Penaeus indicus*). *Journal of Food Science and Technology*. 2014; 51(3), 449-457.
- [15] Surai, P.F. Selenium in poultry nutrition. Antioxidant properties, deficiency and toxicity. *World's Poultry Science Journal*. 2002; 58(3), 333-347.
- [16] Castex, M., Lemaire, P., Wabete, N. and Chim, L. Effect of probiotic *Pediococcus acidilactici* on antioxidant defences and oxidative stress of *Litopenaeus stylirostris* under *Vibrio nigripulchritudo* challenge. *Fish and Shellfish Immunology*. 2010; 28(4), 622-631.
- [17] Statistical Year Book of the Fisheries Organization. 2018-2022. Deputy Director of Planning and Planning Management. Pp, 33 [In Persian].
- [18] Bamshad, M., Askari Hesni, M., Teimory, A. and Madjdzadeh, S.M. Morphology of the sagittal otolith in *Liza aurata* (Risso, 1810) from coastal habitats of Caspian Sea southern basin. *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology*. 2016; 4(1), pp.33-48 [In Persian].
- [19] Rabiei, S.M., Yeganeh, S. and Esmaili Kharyeki, M. Investigation of antioxidant properties of protein hydrolysate derived from Caspian Sea Mullet by-products. *Journal of Marine Science and Technology*. 2021; 22(4), pp. 44-56 [In Persian].
- [20] Esmaili Kharyeki, M., Rezaei, M., Khodabandeh, S. and Motamedzadegan, A.

- Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate in Skipjack tuna Head. *Journal of Fisheries Science and Technology*. 2018; 7(1), 57-64 [In Persian].
- [21] Mishra, K., Ojha, H. and Chaudhury, N.K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food Chemistry*. 2012; 130, 1036-1043.
- [22] Oyaizu, M. Studies on products of browning reactions: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*. 1986; 44(6), 307-315.
- [23] Alemán, A., Giménez, B., Montero, P., and Gómez-Guillén, M. C. Antioxidant activity of several marine skin gelatins. *LWT-Food Science and Technology*. 2011; 44(2), 407-413.
- [24] Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. Antioxidative properties of xanthan on the autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1992; 40(6), 945-948.
- [25] Je, J.Y., Qian, Z.J., Byun, H.G., and Kim, S.K. Purification and characterization of an antioxidant peptide obtained from tuna backbone protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry*. 2007; 42(5), 840-846.
- [26] Jun, S.Y., Park, P.J., Jung, W.K. and Kim, S.K. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Food Research and Technology*. 2004; 219(1), 20-26.
- [27] Ren J., Zhao, M., Shi, J., Wang, J., Jiang, Y., Cui, C., Kakuda, Y. and Xue, S.J. Purification and identification of antioxidant peptides from grass carp muscle hydrolysates by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2008; 108: 727-736.
- [28] Je, J.-Y., Park, P.-J. and Kim, S.-K. Antioxidant activity of a peptide isolated from Alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. *Food Research International*. 2005; 38, 45-50.
- [29] Gbogouri, G.A., Linder, M., Fanni, J. and Parmen, A.M. Influence of hydrolysis degree on the functional properties of salmon byproducts hydrolysates. *Journal of Food Science*. 2004; 69, 615-622.
- [30] Karami, Z., Peighambaroust, S.H., Hesari, J. and Akbari-Adergani, B. Isolation and Identification of Antioxidant Peptides from Wheat Germ Protein by Pepsin Enzyme. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*. 2019; 13(4), 39-50 [In Persian].
- [31] Lahart, N., O'Callaghan, Y., Aherne, S.A., O'Sullivan, D., FitzGerald, R.J. and O'Brien, N.M. Extent of hydrolysis effects on casein hydrolysate bioactivity: Evaluation using the human Jurkat T cell line. *International Dairy Journal*. 2011; 21 (10), 777-82.
- [32] Li, X.-X., Han, L.-J. and Chen, L.-J., C. In vitro antioxidant activity of protein hydrolysates prepared from corn gluten meal. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2008; 88(9), 1660-6.
- [33] Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., and Nasri, M. Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*. 2009; 114(4), 1198-1205.
- [34] Dong, S.-Y., Zhao, Y.-H., Xu, D.-X., Liu, Z.-Y. and Zeng, M.-Y. Assessing the antioxidant activity of the ultrafiltration fractions from silver carp protein hydrolysate by different antioxidant methods. *Journal of Aquatic Food Product and Technology*. 2013; 22(6), 573-583.
- [35] Huang, X., Dai J., Fournier J., Ali A.M., Zhang Q. and Frenkel K. Ferrous ion autoxidation and its chelation in iron-loaded human liver HepG2 cells. *Free Radical Biology and Medicine*. 2002; 32(1), 84-92.
- [36] Saiga, A., Tanabe, S. and Nishimura, T. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003; 51(12), 3661-3667.
- [37] Kumar, N.S.S, Nazeer, R.A. and Jaiganesh, R. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Magalaspis cordyla*) viscera protein. *Peptides*. 2011; 32(7), 1496-1501.
- [38] Bougatef, A., Nedjar-Arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D. and Nasri, M. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chemistry*. 2010; 118, 559-565.
- [39] Galla, N.R., Pamidighantam, P.R., Akula, S. and Karakala, B. Functional properties and in vitro antioxidant activity of roe protein hydrolysates of *Channa striatus* and *Labeo rohita*. *Food Chemistry*. 2012; 135(3), 1479-1484.
- [40] You, L., Zhao, M., Regenstien, J. M. and Ren, J. Purification and identification of antioxidative peptides from loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry. *Food Research International*. 2010; 43, 1167-1173.
- [41] Bakhshan, A.V., Alizadeh Doughikollae, E. and Taheri, A. Investigation of antioxidative properties of protein hydrolysate obtained from waste, in the Salmon (*Salmo salar*) filleting operation. *Journal of Comparative Pathobiology*. 2014; 11(44), 1143 - 1152 [In Persian].

- [42] Nahvi, Z., Hosseini, S.F. and Zandi, M. Production of hydrolyzed protein from Kilka by enzymatic hydrolysis and evaluation of its bioactive properties. *Journal of Aquatic Physiology and Biotechnology*. 2017; 5(3), 39-58 [In Persian].
- [43] Suetsuna, K. Antioxidant peptides from the protease digest of prawn (*Penaeus japonicus*) muscle. *Marine Biotechnology*. 2000; 2(1), 5-10.
- [44] Khantaphant, S., and Benjakul, S. Comparative study on the proteases from fish pyloric caeca and the use for production of gelatin hydrolysate with antioxidative activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B. Biochemistry and Molecular Biology*. 2008; 151 (4), 410-419.
- [45] Leong, L.P. and Shui, G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chemistry*. 2002; 76(1), 69-75.
- [46] Ovissipour, M., Safari, R., Motamedzadegan, A. and Shabanpour, B. Chemical and biochemical hydrolysis of Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) visceral protein. *Food and Bioprocess Technology*. 2012; 5(2), 460-465.
- [47] Ramezanzadeh, L., Hosseini, S. F. and Nikkhah, M. Enzymatic hydrolysis of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) skin gelatin and evaluation of its antioxidant properties. *Fisheries Science and Technology*. 2016; 5(2), 29-44.
- [48] Pires, C., Clemente, T., and Batista, I. Functional and antioxidative properties of protein hydrolysates from Cape hake by-products prepared by three different methodologies. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013; 93(4), 771-780.
- [49] Godinho, I.S.M. Production of fish protein hydrolysates by a marine proteolytic strain, Lisboa: ISA, 87 p. 2013.
- [50] Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Visessanguan, W. and Wu, J. Antioxidative and functional properties of protein hydrolysate from defatted skipjack (*Katsuwonus pelamis*) roe. *Food Chemistry*. 2012; 135(4), 3039-3048.
- [51] Chai, T.T., Tong, S.R., Law, Y.C., Ismail, N.I.N. and Wong, F.C. Anti-oxidative, metal chelating and radical scavenging effects of protein hydrolysates from blue-spotted
- [52] stingray. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2015; 14(8), 1349-1355.



Scientific Research

Investigating the antioxidant properties of hydrolyzed protein with different molecular weights obtained from Caspian Sea mullet wastes

Seyed Mahmoud Rabiei¹, Sakineh Yeganeh^{2*}, Mina Esmacili Kharyeki³

- 1- M.Sc. graduated, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 2- Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
- 3- Assistant Professor, Department of Fisheries, Faculty of Animal Science and Fisheries, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/12/3 Accepted: 2025/1/18 Keywords: Free radical scavenging, Waste, Mullet Fish, Molecular weight, Ultrafilter DOI: 10.22034/FSCT.22.162.29. *Corresponding Author E- skyeganeh@gmail.com; s.yeganeh@sanru.ac.ir	Aquatic wastes management through the production of value-added products is very important. Among these products with many properties (including foaming, emulsifying, antioxidant, antibacterial, etc.), hydrolyzed proteins can be mentioned. Various factors, including molecular weight and concentration of hydrolyzed proteins, can affect the mentioned properties. Therefore, in the present study, the antioxidant properties of hydrolyzed protein obtained from Caspian Sea mullet wastes were investigated in different ranges of molecular weight and different concentrations. For this purpose, fish waste was first hydrolyzed with alcalase (1% concentration) at 55°C and pH = 8 for 120 minutes (Optimum conditions based on pre-test). Then, the hydrolyzed protein solution was divided into molecular weights of less than 3, between 3 and 10 kDa, and more than 10 kDa with 3 and 10 kDa ultrafilters. In order to evaluate the effect of molecular weight and concentration on the antioxidant activity of hydrolyzed protein, the indices of DPPH and ABTS free radicals scavenging power and ferric ion reducing power were used. Evaluation of DPPH and ABTS radicals scavenging activities showed that there is a significant difference between different molecular weights, and the highest and lowest values were recorded in molecular weights of 3-10 and less than 3 kDa, respectively ($p < 0.05$). The lowest IC₅₀ values for DPPH and ABTS radicals scavenging power were also obtained for sample with molecular weight between 3 and 10 kDa ($p < 0.05$). The free radical scavenging power and the ferric ion reduction power increased with increasing concentration in all molecular weights ($p < 0.05$). Among the different fractions, the sample with a molecular weight of more than 10 kDa showed the highest ferric ion reducing power ($p < 0.05$). According to the results, it can be stated that hydrolyzed protein produced in this research can be used as an antioxidant compound (especially in the molecular weight of 3-10 kDa).



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

اندازه گیری میزان آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A در نمونه های شیر پاستوریزه و بررسی تاثیر امواج مایکروویو در کاهش غلظت آنها

اکبر بدلی^۱، افشین جوادی^{۳*}، محمدرضا افشار مقدم^۴، زهره مشاک^۵

۱- گروه علوم و صنایع غذایی، واحد ممقان، دانشگاه آزاد اسلامی، ممقان، ایران.

۲- گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۳- مرکز تحقیقات ارتقاء سلامت، واحد علوم پزشکی تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۴- مرکز تحقیقات ایمنی غذا و دارو، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۵- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۵/۲۸

کلمات کلیدی:

استخراج فاز جامد پخشی،

امواج مایکروویو،

میکرواستخراج مایع-مایع پخشی،

کروماتوگرافی مایع با کارائی بالا،

شیر پاستوریزه

با توجه به گستردگی استفاده از محصولات لبنی مانند شیر پاستوریزه، این محصولات باید عاری از هر گونه آلاینده مانند باقیمانده دارو، آفت کش، میکوتوکسین و غیره باشند. میکوتوکسین ها (مانند آفلاتوکسین ها، اکراتوکسین A و غیره) دسته ای از مواد سمی و آلاینده مواد غذایی، خوراک دام و طیور هستند که به طور طبیعی از انواع خاصی از قارچ ها تولید می شوند. حضور میکوتوکسین ها در شیر برای سلامتی مصرف کننده بسیار خطرناک است. بنابراین توسعه روش های سریع، کارآمد و آسان برای بررسی حضور میکوتوکسین هایی مانند آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A در مواد غذایی بسیار حائز اهمیت می باشد. در این کار پژوهشی یک روش تجزیه ای کارآمد مبتنی بر استخراج فاز جامد پخشی ترکیب شده با میکرواستخراج مایع-مایع پخشی برای استخراج آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A از نمونه های شیر پاستوریزه و آنالیز آنها با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به دتکتور فلورسانس ارائه شده است. تحت شرایط بهینه حدود تشخیص و اندازه گیری به ترتیب در محدوده های ۰/۲۹-۰/۲۳ و ۰/۹۷-۰/۷۷ نانوگرم بر لیتر حاصل شدند. همچنین فاکتور تغلیظ و راندمان استخراج به ترتیب در محدوده های ۲۴۹-۲۳۲ و ۸۹-۸۳ بدست آمدند. در تعدادی از نمونه ها نیز آفلاتوکسین M_1 (در ۷۰ درصد از نمونه های شیر بررسی شده) و اکراتوکسین A (در ۱۰ درصد از نمونه های شیر بررسی شده) یافت شد. همچنین با توجه به نتایج بدست آمده، تابش مایکروویو می تواند میزان آفلاتوکسین M_1 (در محدوده ۲۷/۶ تا ۳۳/۵ درصد) و اکراتوکسین A (در محدوده ۱۷/۳ تا ۲۰/۸ درصد) کاهش دهد.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.42.

* مسئول مکاتبات:

Javadi@iaut.ac.ir

۱-مقدمه

به متولیان تغذیه و سلامت کشور و عموم مردم بسیار حائز اهمیت است.

مهمترین چالش پیشروی صنایع غذایی و لبنی کاهش یا حذف آلاینده های مواد غذایی می باشد. تا به حال برای رسیدن به این هدف، از فرآیندهای مختلفی مانند تابش دهی با پرتو گاما، اشعه ماورابنفش، اشعه مایکروویو، حرارت، اکسیداسیون و کمپوست استفاده شده است [۶، ۷]. استفاده از این روش ها می تواند از طریق تغییر و تخریب ساختار مولکولی آلاینده ها، سبب مهار انتقال و کاهش قابلیت دسترسی آن ها به بافت هدف و حذف آن ها گردد.

در بسیاری از موارد با توجه به حساسیت بالا از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا^۱ به عنوان ابزار تجزیه ای برای آنالیز انواع مختلف مایکوتوکسین ها استفاده می شود [۸]. اما متأسفانه آنالیز مستقیم مایکوتوکسین ها بدون استفاده از روش های آماده سازی به دلیل پیچیدگی ماتریکس نمونه ها و مقادیر غلظتی پایین در آن ها امکان پذیر نیست [۹]. بنابراین، توسعه و استفاده از روش های آماده سازی آسان و کارا قبل از آنالیز نمونه ها بسیار حائز اهمیت می باشد. تاکنون روش های متنوعی جهت آماده سازی نمونه ها استفاده شده که از این جمله می توان به استخراج مایع-مایع، استخراج فاز جامد، استخراج فاز جامد پخشی^۲ و میکرواستخراج مایع-مایع پخشی^۳ اشاره کرد.

استخراج فاز جامد پخشی یکی از پرکاربردترین روش های آماده سازی نمونه بوده و در آن ذرات جاذب بطور مستقیم با محلول نمونه در تماس می باشند. ذرات جاذب براساس گروه عاملی شان می توانند ترکیبات موجود در بافت نمونه را جذب کنند [۱۰]. در مرحله ی بعد ذرات جامدی که آنالیت ها را جذب کرده اند به وسیله ی سانتریفیوژ از محلول آزمایشی جدا شده و به وسیله ی یک حلال مناسب

امروزه، گسترش و بروز انواع مختلف سرطان که تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند ایمنی مواد غذایی قرار دارد سلامت جوامع بشری را به طور جدی تهدید می کند. شیر و فرآورده های آن به دلیل دارا بودن مواد مغذی نقش موثری در سبد غذایی مردم سراسر جهان دارند. با توجه به این نکته، شیر و فرآورده های آن باید عاری از هرگونه آلودگی مانند آفت کش، مایکوتوکسین، فلزات سنگین و غیره باشد [۱]. مایکوتوکسین ها بسیار خطرناک بوده و جزو شناخته شده ترین آلاینده ها می باشند. این ترکیبات به طور طبیعی از رشد انواع خاصی از قارچ ها حین تولید، نگهداری و انبار نمودن مواد غذایی در شرایط گرم و مرطوب تولید می شوند [۲]. از جمله مایکوتوکسین های شناخته شده می توان به آفلاتوکسین ها و اکراتوکسین A اشاره کرد [۳]. مایکوتوکسین ها می توانند به طور مستقیم (از طریق مصرف مواد غذایی آلوده) و یا غیر مستقیم (از طریق مصرف فرآورده های حیوانات در معرض مایکوتوکسین ها مانند شیر) وارد بدن انسان شوند. این ترکیبات جزو مواد سرطان زا بوده و طی فرایندهای تولید غذا، انجماد و پختن از بین نمی روند. امروزه بیشتر از ۱۷ نوع آفلاتوکسین در طبیعت شناخته شده است که چهار نوع اصلی آن شامل G1، G2، B1 و B2 می باشند [۴]. در میان این موارد، آفلاتوکسین B1 و متابولیت هیدروکسیله آن (آفلاتوکسین M1) از سمی ترین افلاتوکسین ها می باشند [۵]. اکراتوکسین A دیگر مایکوتوکسین سمی است که اولین بار از سویه اسپرژیلوس اکراسیوس استخراج و خالص سازی شد. با در نظر گرفتن این نکات، پایش مقدار مایکوتوکسین ها در نمونه های مواد غذایی مانند شیر جهت آگاهی بخشی

3- Dispersive liquid-liquid microextraction

1- High Performance Liquid Chromatography

2 -Dispersive solid phase extraction

از نمونه ها که فاقد آنالیت های مورد مطالعه بود به عنوان بلانک انتخاب شد و در بهینه سازی روش پیشنهادی مورد استفاده قرار گرفت. تمامی آزمایش ها در دانشکده شیمی دانشگاه تبریز انجام شد.

۲-۲- مواد شیمیائی

استاندارد آفاتوکسین M_1 ، اکراتوکسین A و سه نوع مایع یونی مغناطیسی شامل ۱-هگزیل-۳-متیل ایمیدازولیوم تتراکلورفات ($[C_6MIM][FeCl_4]$)، ۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیوم تتراکلورفات ($[C_4MIM][FeCl_4]$) و ۱-بوتیل-۳-متیل ایمیدازولیوم دی برومو دی کلورفات ($[C_4MIM][FeCl_2 Br_2]$) از شرکت سیگما (Sigma, USA)، $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ، ۱-۴-بنزن دی کربوکسیلیک اسید، دی متیل فرمامید، استون، متانول، ایزوپروپانول، تری کلرو استیک اسید، سدیم کلرید، سدیم هیدروکسید از شرکت مرک (Merck, Germany)، استونیتریل و آب با درجه HPLC-grade از شرکت کم کب (ChemLab, Belgium) خریداری شدند.

۲-۳- شرایط آنالیز با دستگاه کروماتوگرافی

بهینه سازی شرایط آنالیز و پارامترهای دخیل در فرآیند جداسازی با دستگاه HPLC، منجر به افزایش قابلیت جداسازی سیستم کروماتوگرافی می شود. شرایط بهینه HPLC مجهز به FLD برای آنالیز آفاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A در جدول یک ذکر گردیده است.

جهت واجذب آنالیت ها شسته می شوند. بنابراین در این روش، انتخاب جاذب مناسب بیش ترین تاثیر را دارد. چارچوب های آلی-فلزی^۱، نسل جدیدی از نانو جاذب ها هستند که با توجه به ظرفیت بالای جذب، تخلخل بسیار بالا، مساحت سطح بالا، پایداری مکانیکی و حرارتی بالا و روش های سنتز ساده بسیار مورد توجه قرار گرفته اند [۱۱].

در این کار پژوهشی از تلفیق روش DSPE و DLLME مبتنی بر استفاده از مایع یونی مغناطیسی برای استخراج آفاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A از نمونه های شیر پاستوریزه و سپس آنالیز این ترکیبات به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا مجهز به دتکتور فلورسانس^۲ استفاده شد. همچنین در این کار پژوهشی برای اولین بار تاثیر استفاده از امواج فرابنفش در کاهش محتوای آنالیت های مورد مطالعه در نمونه های شیر پاستوریزه مورد بررسی قرار گرفت.

۲-۲- مواد و روش ها

۲-۱- نمونه برداری

۳۱ نمونه شیر پاستوریزه گاو در زمستان ۱۴۰۰ که توسط تولید کنندگان محلی در سطح استان آذربایجان شرقی تولید شده بودند از شرکت پگاه تبریز تهیه شدند. این نمونه ها تا زمان آنالیز در ظروفی از جنس پلی اتیلن ترفتالات در داخل یخچال (با دمای ۴ درجه سانتیگراد) نگهداری شدند. یکی

Table 1. Optimal condition of HPLC-FLD

Type of column	Gemini C ₁₈ , length: 150 mm, ID: 4.6 mm, particle size: 5 μ m
Mobile phase	Acetonitrile: water (35:65 v/v), flow rate: 1.1 ml/min
Injector	40 °C, loop: 20 μ L
Wavelength of Emission	360 nm for Aflatoxin M ₁ and 333 nm for Ochratoxin A
Wavelength of Excitation	430 nm for Aflatoxin M ₁ and 470 nm for Ochratoxin A

برای سنتز چارچوب آلی-فلزی (MIL-88B(Fe) [۱۲]، مخلوطی از ۵۵ میلی لیتر دی متیل فرمامید و ۴.۴ میلی لیتر

۲-۴- سنتز MOF

مایکروویو (از میان توان های ۰، ۹۰، ۱۸۰، ۲۷۰ و ۳۶۰ و ۴۵۰ وات) نیز مورد بررسی قرار گرفت. جهت ارزیابی فاکتورهای موثر در روش ارائه شده از روش "یک پارامتر در یک زمان" استفاده شد. تاثیر این عوامل با مقایسه سطح زیر پیک حاصل از آنالیت ها در شرایط مختلف مورد ارزیابی قرار گرفته اند.

۶-۲- مشخصات تجزیه ای

جهت اعتبارسنجی روش ارائه شده در این کار پژوهشی، پس از رسم منحنی کالیبراسیون برای هر کدام از آنالیت ها، محدوده خطی روش (Linear range)، حد تشخیص (Limit of detection)، حد اندازه گیری (Limit of quantitation)، مجذور ضریب همبستگی، تکرارپذیری (RSD%)، راندمان و فاکتور تغلیظ بررسی و محاسبه شدند.

۷-۲- روش استخراج

در این کار پژوهشی یک روش آماده سازی مبتنی بر تلفیق روش های DSPE و DLLME برای استخراج آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A از نمونه های شیر پاستوریزه توسعه داده شد. بدین منظور، ۷ میلی لیتر نمونه شیر پاستوریزه برداشته شده و پس از افزودن ۱۲۵ میلی گرم تری کلرو استیک اسید مخلوط مذکور به مدت ۳ دقیقه ورتکس شد. پس از سانتریفیوژ (با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه) فاز رویی برداشته شده و با ۵۰ میلی گرم از جاذب سنتز شده مخلوط شد. در ادامه مخلوط مذکور به مدت ۴ دقیقه ورتکس شد. پس از سانتریفیوژ (با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه) فاز رویی دور ریخته شده و ۱ میلی لیتر استونیتریل بر روی ذرات جاذب اضافه شد. این مخلوط به مدت ۴ دقیقه ورتکس شده و دوباره پس از سانتریفیوژ (با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۵ دقیقه)، فاز آلی حاوی آنالیت های استخراج شده برداشته شده و پس از اختلاط با ۵۵ میکرولیتر از مایع یونی مغناطیسی $[C_6MIM][FeCl_4]$ به داخل ۵ میلی لیتر آب دیونیزه تزریق شد. سپس در حضور آهنربا، مایع یونی مغناطیسی حاوی آنالیت های استخراج شده در داخل لوله

محلول سدیم هیدروکسید (۲ مولار) به یک لیوان شیشه ای اضافه و مخلوط مذکور تا زمان دستیابی به یک محلول همگن همزده شد. در ادامه ۱/۸۲ گرم ۴-بنزن دی کربوکسیلیک اسید و ۲/۹۷ گرم $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ به داخل مخلوط مذکور اضافه و مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه همزده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد اتوکلاو گردید. در ادامه، رسوب به دست آمده با استفاده از کاغذ صافی فیلتر و در دمای اتاق خشک شد. در ادامه پودر جامد به ۲۰۰ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه و به مدت یک روز همزده شد. در نهایت محلول صاف گردیده و MOF به مدت ۱ ساعت در ۱۵ میلی متر جیوه خشک شد. لازم به ذکر است که خواص MOF سنتز شده در کار قبلی گروه ما به طور کامل مورد بحث قرار گرفته است [۱۲].

۵-۲- بهینه سازی شرایط استخراج

برای رسیدن به راندمان های استخراج بالا، تاثیر پارامترهای مختلف مانند مقدار تری کلرو استیک اسید (از بین مقادیر ۷۵ تا ۱۵۰ میلی گرم)، مدت زمان ورتکس (از میان مدت زمان های ۱ تا ۵ دقیقه)، مقدار جاذب (از بین مقادیر ۲۵ تا ۱۰۰ میلی گرم)، مدت زمان جذب (از میان زمان های ۱ تا ۵ دقیقه)، اثر نمک زنی (با افزودن محدوده ۰/۰ تا ۱۰ درصد وزنی/ حجمی از نمک سدیم کلرید)، نوع (از بین چهار حلال استون، متانول، ایزوپروپانول و استونیتریل) و حجم (از بین حجم های ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ میلی لیتر) حلال شوینده/پخش کننده (از بین چهار حلال استون، متانول، ایزوپروپانول و استونیتریل)، مدت زمان واجذب (از میان مدت زمان های ۱ تا ۵ دقیقه) و نوع (از میان سه مایع یونی مغناطیسی $[C_4MIM][FeCl_4]$ ، $[C_6MIM][FeCl_4]$ ، $[C_4MIM][FeCl_2Br_2]$) و حجم (از بین حجم های ۵۵، ۶۰، ۶۵ و ۷۰ میکرولیتر) حلال استخراج کننده مورد بررسی قرار گرفتند. جهت دستیابی به ماکزیمم کاهش محتوای آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A در نمونه ها اثر مدت زمان قرار گرفتن نمونه در معرض امواج مایکروویو (۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵، ۹۰ و ۱۲۰ ثانیه) و قدرت

نتایج به دست آمده نشان داد که افزایش نمک موجب کاهش کارایی استخراج آنالیت های مورد مطالعه می شود و لذا مراحل بعدی بدون افزایش نمک صورت گرفت.

۶-۱-۳- نوع حلال شوینده

نتایج به دست آمده در نمودار ۳ نشان می دهد که در بین حلال های مورد بررسی استونیتریل دارای بیشترین کارایی در استخراج آنالیت های مورد مطالعه بوده و به عنوان حلال بهینه برای مراحل بعدی انتخاب شد.

۷-۱-۳- حجم استونیتریل

با توجه به نتایج به دست آمده (نمودار ۴) با افزایش حجم استونیتریل تا ۱ میلی لیتر، راندمان های استخراج افزایش یافته و بعد از آن با افزایش بیشتر حجم، کاهش می یابند. در نتیجه ۱ میلی لیتر استونیتریل به عنوان حجم بهینه برای مطالعات بعدی انتخاب شد.

۳-۱-۸- مدت زمان واجذب

با توجه به نتایج، با افزایش مدت زمان ورتکس مخلوط حلال واجذب کننده و ذرات جاذب تا ۴ دقیقه راندمان استخراج افزایش یافته و پس از آن ثابت می ماند.

۹-۱-۳- نوع حلال استخراج کننده

همان طور که در نمودار ۵ مشاهده می شود از مایع یونی مغناطیسی $[FeCl_4]$ $[C_6MIM]$ کارایی استخراج بالاتری نسبت به سایر حلال های مورد استفاده داشته و به عنوان حلال بهینه برای مراحل بعدی انتخاب شد.

۱۰-۱-۳- حجم حلال استخراج کننده

با توجه به نتایج در طول فرآیند DLLME، با افزایش حجم حلال استخراج کننده، تغییر چندانی در راندمان استخراج آنالیت های مورد مطالعه مشاهده نمی شود. بنابراین، ۵۵ میکرولیتر به عنوان حجم بهینه انتخاب شد.

۱۱-۱-۳- اثر مدت زمان میکروویو در کاهش غلظت آنالیت ها

با توجه به نتایج بدست آمده در نمودار ۶ الف، غلظت آنالیت ها در نمونه شیر تا مدت زمان ۹۰ ثانیه کاهش یافته و پس از آن کاهشی در غلظت آنالیت ها مشاهده نمی شود.

جمع شده و جهت آنالیز کمی به دستگاه HPLC-FLD تزریق شد.

۸-۲- بررسی تاثیر امواج میکروویو بر محتوی مایکوتوکسین ها

در این راستا، ۷ میلی لیتر از نمونه شیر برداشته شده و با مایکوتوکسین های مورد مطالعه آلوده شدند (۲۰۰ نانوگرم بر لیتر). سپس نمونه به دست آمده تحت امواج میکروویو قرار گرفت. در ادامه نمونه ها با روش اشاره شده در بالا استخراج شدند.

۳- نتایج

۳-۱-۱- نتایج بهینه سازی عوامل موثر در استخراج

۳-۱-۱- مقدار تری کلرو استیک اسید

با توجه به نتایج بدست آمده در نمودار ۱، با افزایش مقدار تری کلرو استیک اسید تا ۱۲۵ میلی گرم، راندمان استخراج آنالیت های مورد مطالعه افزایش یافته و پس از آن ثابت می ماند. در نتیجه ۱۲۵ میلی گرم به عنوان مقدار بهینه تری کلرو استیک اسید انتخاب شد.

۳-۱-۲- مدت زمان ورتکس

مطابق نتایج بدست آمده، با افزایش مدت زمان ورتکس تا ۳ دقیقه راندمان استخراج افزایش یافته و بعد از آن ثابت می ماند.

۳-۱-۳- مقدار جاذب

نتایج به دست آمده در نمودار ۲ نشان می دهد که با افزایش مقدار جاذب (MOF) استفاده شده تا ۵۰ میلی گرم راندمان استخراج آنالیت های مورد مطالعه افزایش یافته و پس از آن ثابت می ماند.

۴-۱-۳- مدت زمان جذب

با در نظر گرفتن نتایج بدست آمده، با افزایش مدت زمان ورتکس مخلوط نمونه و ذرات جاذب تا ۴ دقیقه راندمان استخراج افزایش یافته و پس از آن ثابت می ماند.

۵-۱-۳- اثر نمک زنی

نمونه ها در معرض میکروویو ۹۰ ثانیه) غلظت آنالیت ها در نمونه شیر کاهش یافته و پس از آن کاهشی در غلظت آنالیت ها مشاهده نمی شود.

۱۲-۱-۳- اثر قدرت میکروویو در کاهش غلظت آنالیت ها

همان طور که در نمودار ۶ ب مشاهده می شود، با افزایش قدرت میکروویو تا ۳۶۰ وات (مدت زمان قرار گرفتن

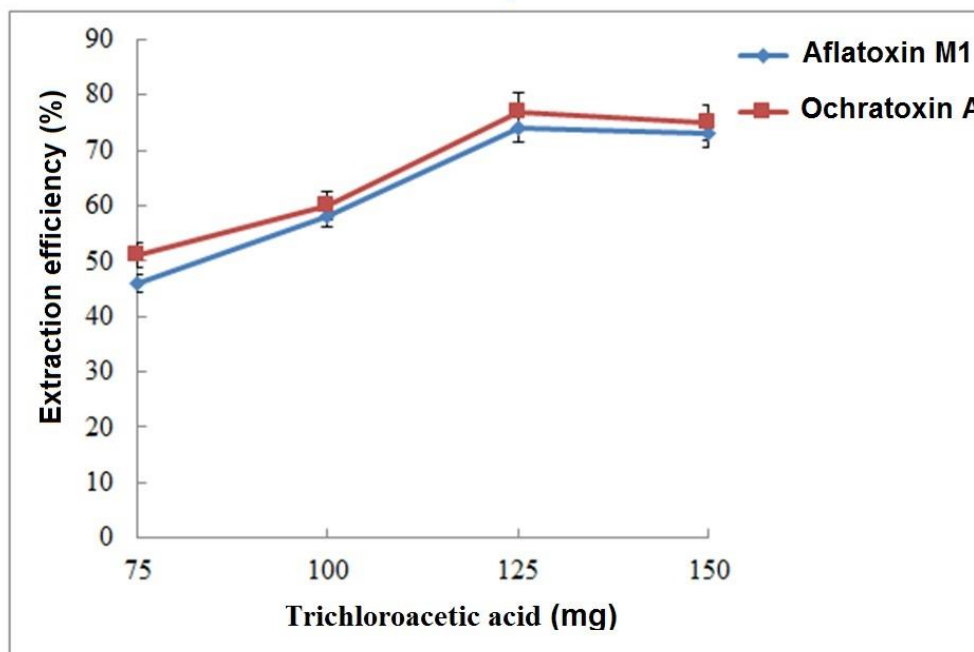


Figure 1. Optimizing the amount of trichloroacetic acid

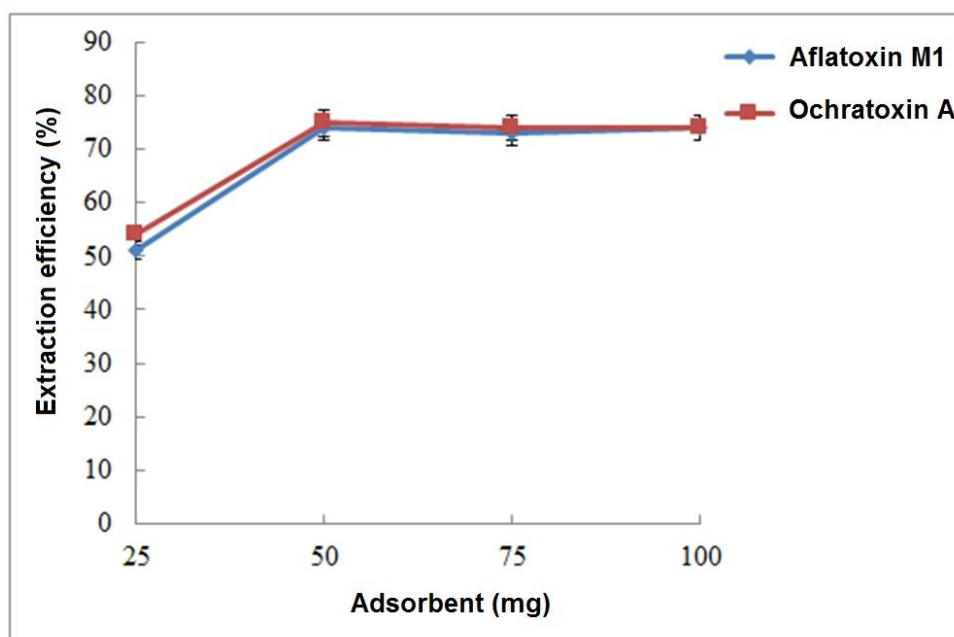


Figure 2. Optimizing the amount of adsorbent

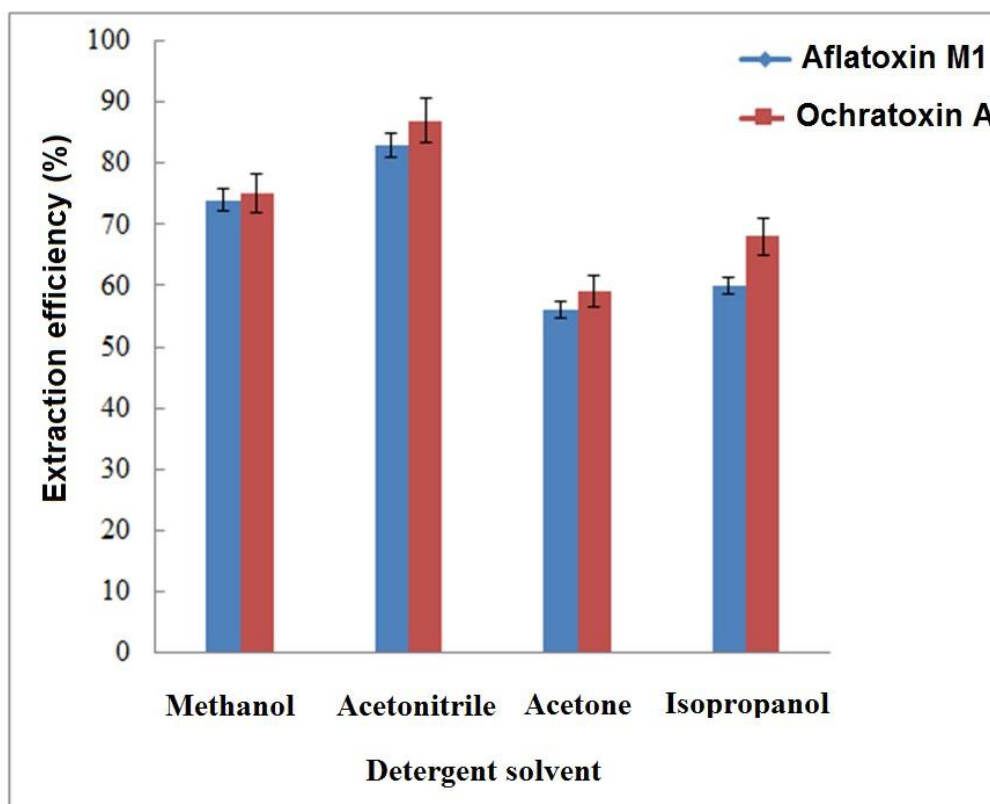


Figure 3. Optimizing the type of detergent solvent

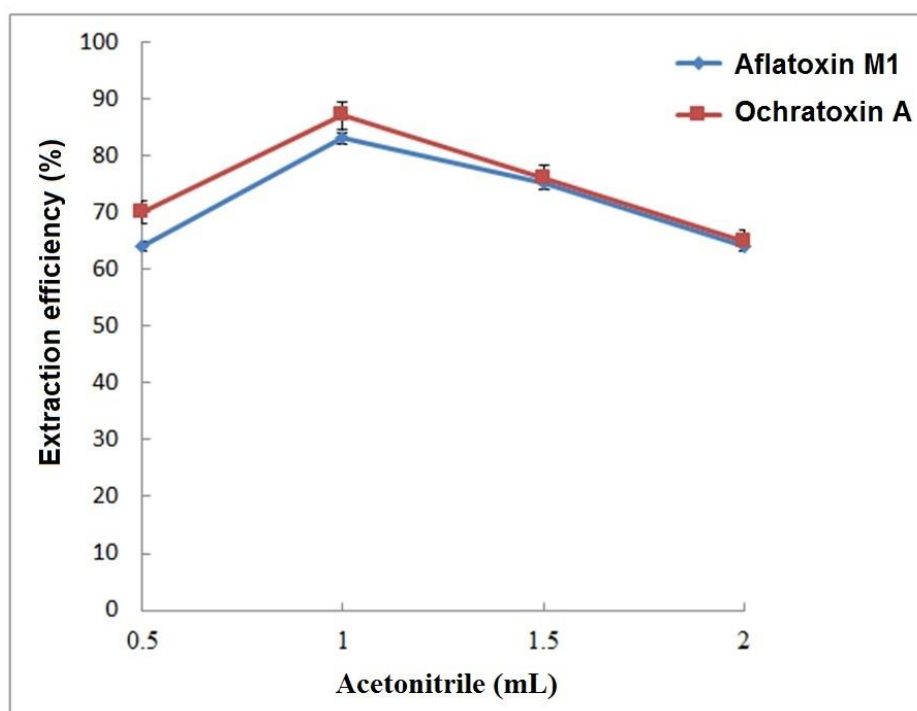


Figure 4. Optimizing the volume of acetonitrile

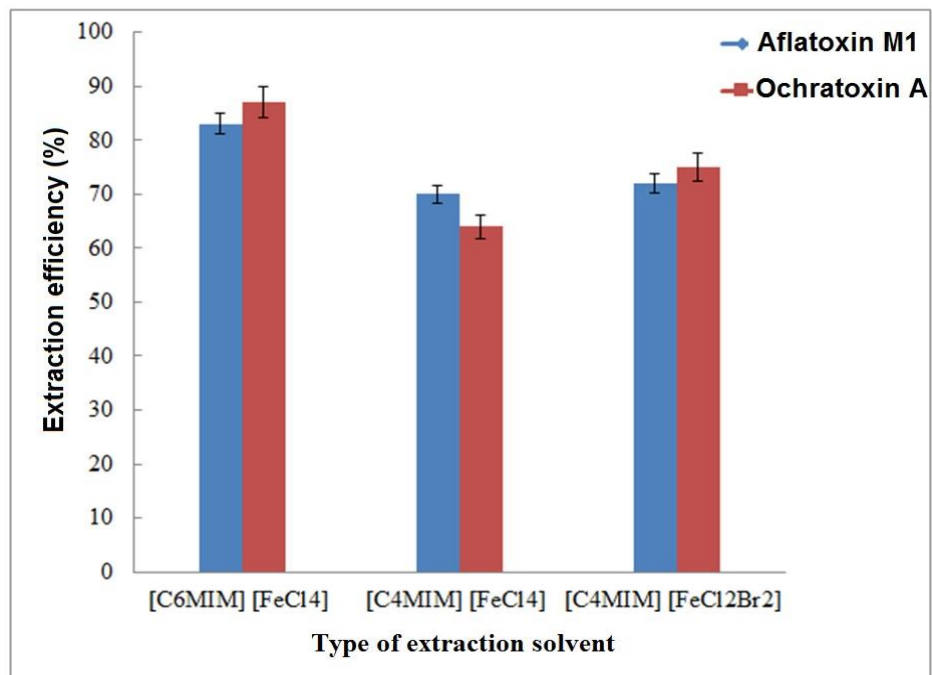


Figure 5. Optimizing the type of extraction solvent

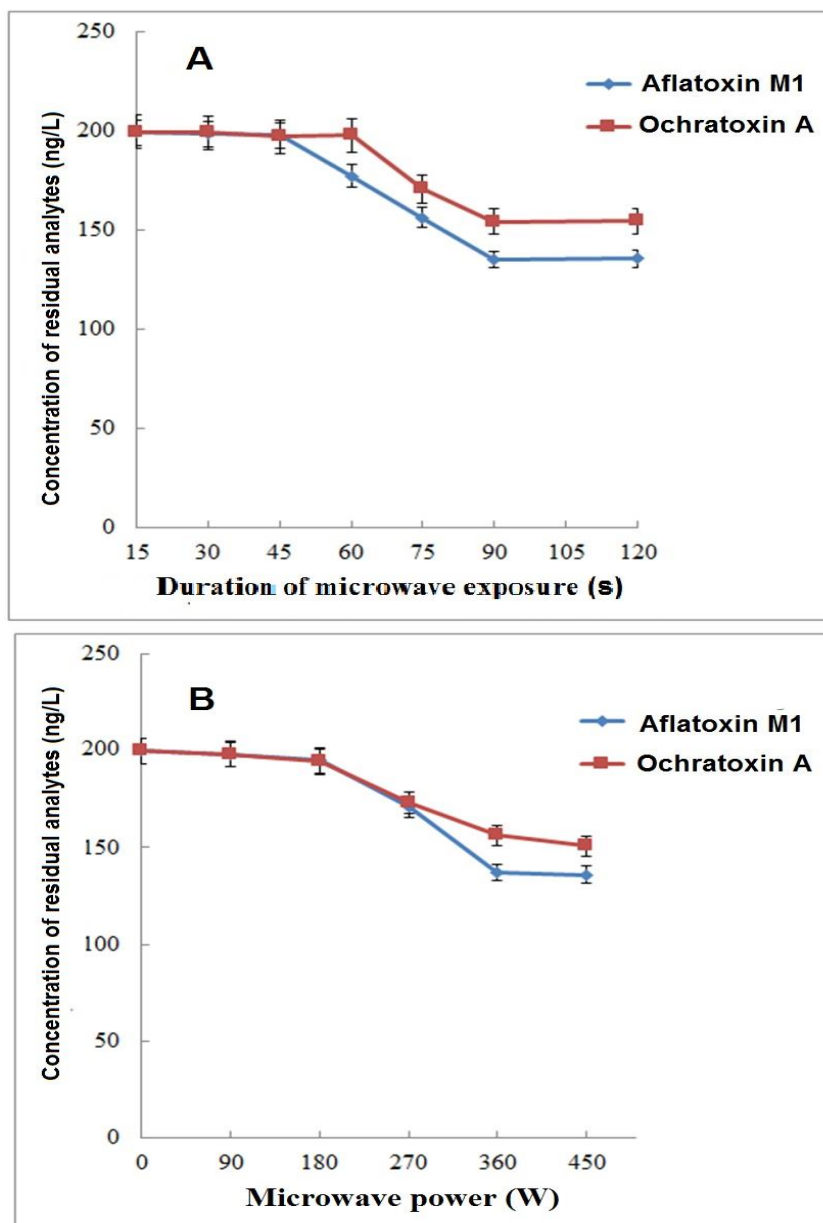


Figure 6. Optimizing microwave exposure time (a) and microwave power (B) in reducing the concentration of studied analytes

۳-۲- نتایج مشخصات تجزیه‌ای

ارقام شایستگی روش ارائه شده تحت شرایط بهینه بدست آمدند. از رسم نمودار کالیبراسیون برای هر یک از آنالیت‌ها، مقادیر مجذور ضریب همبستگی (r^2) و محدوده خطی روش (LR) بدست آمد. جهت ارزیابی تکرارپذیری و دقت روش از انحراف استاندارد نسبی (RSD%) استفاده شد. حد

تشخیص (LOD) و حد اندازه‌گیری (LOQ) به ترتیب برابر غلظت‌هایی در نظر گرفته شدند که در آن‌ها نسبت سیگنال به نویز ۳ و ۱۰ می‌باشد. محاسبه فاکتور تغلیظ از مقایسه مساحت زیرپیک آنالیت‌های محلول استاندارد با مساحت پیک آنالیت‌های موجود در نمونه شیر پس از اجرای روش ارائه شده و استخراج صورت گرفت. ارقام شایستگی روش ارائه شده در جدول ۱ ارائه شده است.

Table 2. Figure of merits of the presented method

Analyte	Linear range (ng/L)	Limit of Detection (ng/L)	Limit of Quantification (ng/L)	Correlation coefficient	Relative Standard Deviation (%)	Extraction efficiency $\pm$ SD (n=3)	Enrichment factor $\pm$ SD (n=3)
Aflatoxin M ₁	0.97-10 ⁵	0.29	0.97	0.997	3.9	83 $\pm$ 3	232 $\pm$ 8
Ochratoxin A	0.77-10 ⁵	0.23	0.77	0.998	4.2	89 $\pm$ 4	249 $\pm$ 11

ترتیب ۹۰ ثانیه و ۳۶۰ وات). با توجه به نتایج بدست آمده، تابش میکروویو می‌تواند میزان آفلاتوکسین M₁ را در محدوده ۲۷/۶ تا ۳۳/۵ درصد و اکرآتوکسین A را در محدوده ۱۷/۳ تا ۲۰/۸ درصد کاهش دهد.

۳-۴- بررسی اثر ماتریکس در نمونه‌های حقیقی

جهت ارزیابی اثر ماتریکس در نمونه‌های شیر بررسی شده، همه نمونه‌ها و نمونه بلانک با آفلاتوکسین M₁ و اکرآتوکسین A به غلظت‌های ۱۰ و ۱۵ نانوگرم در لیتر آلوده شدند. مقادیر بازیابی‌های نسبی به‌دست آمده در جدول ۲ (در محدوده ۸۹ تا ۱۰۳ درصد) نشان می‌دهند که ماتریکس نمونه‌های حقیقی تأثیر چندانی بر عملکرد روش پیشنهادی ندارند.

Table 3. Examination of the matrix effect of pasteurized milk samples

Relative recovery $\pm$ standard deviation (n = 3)					
Analyte	Sample 1	Sample 2	Sample 3	Sample 4	Sample 5
Spiked samples containing each of the analytes at a concentration of 10 ng/L					
Aflatoxin M ₁	89 $\pm$ 3	87 $\pm$ 4	99 $\pm$ 2	100 $\pm$ 2	91 $\pm$ 3
Ochratoxin A	88 $\pm$ 2	94 $\pm$ 3	101 $\pm$ 5	103 $\pm$ 5	102 $\pm$ 3
Spiked samples containing each of the analytes at a concentration of 50 ng/L					
Aflatoxin M ₁	93 $\pm$ 2	90 $\pm$ 2	101 $\pm$ 3	98 $\pm$ 4	95 $\pm$ 3
Ochratoxin A	93 $\pm$ 3	96 $\pm$ 4	103 $\pm$ 3	100 $\pm$ 2	103 $\pm$ 4

HPLC-FLD آنالیز شدند. همچنین در این کار پژوهشی تأثیر استفاده از امواج فرابنفش در کاهش محتوای آنالیت‌های مورد مطالعه در نمونه‌های شیر پاستوریزه مورد بررسی قرار گرفت.

با توجه به ماتریکس پیچیده نمونه شیر، استفاده از عوامل رسوب دهنده و انجام فرایند ترسیب پروتئین در آن قبل از ارائه روش تجزیه ای امری ضروری است. تری کلرواستیک

۳-۳- نتایج آنالیز نمونه‌های حقیقی

با آنالیز نمونه‌های حقیقی کاربرد روش ارائه شده در تعیین کمی مایکوتوکسین‌های مورد مطالعه مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. برای این منظور، نمونه‌های شیر آماده شده در شرایط بهینه مورد استخراج قرار گرفته و با HPLC-FLD آنالیز شدند. با توجه به نتایج بدست آمده در ۲۱ نمونه از ۳۰ نمونه شیر بررسی شده آفلاتوکسین M₁ با غلظت ۲۳ تا ۱۹۶ نانوگرم در لیتر یافت شد. در ۳ نمونه شیر نیز اکرآتوکسین A در محدوده غلظتی ۳۰ تا ۴۸ نانوگرم در لیتر یافت شد. در ادامه، نمونه‌های بررسی شده برای ارزیابی تأثیر مایکروویو در کاهش محتوای آنالیت‌ها در معرض تابش مایکروویو قرار گرفتند (زمان و توان مایکروویو به

۴- بحث

در این کار پژوهشی، یک روش آماده سازی نمونه مبتنی بر ترکیب روش‌های DSPE و DLLME مبتنی بر استفاده از مایع یونی مغناطیسی بهینه سازی شده و برای استخراج آفلاتوکسین M₁ و اکرآتوکسین A از نمونه‌های شیر پاستوریزه استفاده شد. آنالیت‌های استخراج شده با

دهد که منجر به کاهش راندمان استخراج می شود. هر کدام از اثرات بر دیگری برتری داشته باشد در این صورت تأثیر آن عامل غالب خواهد بود [۱۵]. لذا یکی از پارامترهای مهم در اکثر روش های استخراج که نیاز به بررسی و بهینه سازی دارد مقدار نمک می باشد.

در این روش حلال پخش کننده در مرحله میکرواستخراج مایع-مایع پخشی به عنوان حلال شوینده آنالیت های مورد بررسی از جاذب در مرحله استخراج فاز جامد پخشی می باشد. از این رو انتخاب نوع حلال پخش کننده از اهمیت زیادی برخوردار می باشد. حلال پخش کننده در روش پیشنهادی باید قابلیت شویش آنالیت های جذب شده از جاذب را داشته و قابل امتزاج با آب باشد [۱۶]. فلذا انتخاب حلال مناسب بسیار ضروری است.

حجم استونیتریل استفاده شده برای شویش آنالیت ها از جاذب پارامتر بسیار مهمی در روش پیشنهادی می باشد. با افزایش حجم حلال شوینده/پخش کننده آنالیت ها در فاز شوینده رقیق بوده و در مرحله DLLME آنالیت ها بیشتر در فاز آبی حل شده و کارایی روش کم می شود. از طرف دیگر با کاهش حجم حلال شوینده/پخش کننده کارایی مرحله DLLME کم می شود چون حلال استخراج کننده به صورت قطرات کاملاً ریزی پخش نمی گردد. تشکیل حالت ابری موجب افزایش سطح تماس حلال استخراج کننده با فاز آبی و تسریع استخراج آنالیت ها به درون حلال استخراج کننده می شود [۱۶]. به همین دلیل حجم حلال شوینده/پخش کننده بایستی مورد بهینه سازی قرار گیرد.

پس از افزودن حلال شوینده/پخش کننده بر روی ذرات جاذب حاوی آنالیت های جذب شده، مخلوط حاصل برای مدتی ورتکس می شود تا فرآیند واجذب تسریع شود. بنابراین، مدت زمان ورتکس در این مرحله را زمان واجذب نامیده شده و نیاز به بهینه سازی دارد.

در روش DLLME، انتخاب حلال استخراج کننده مناسب مهم ترین مرحله ای است که می تواند کارایی روش را به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار دهد [۱۷]. برای

اسید با توجه به مزیت هایی که دارد به طور گسترده ای به عنوان عامل رسوب دهنده استفاده می گردد [۱۳]. با توجه به این که مقدار کم تری کلرو استیک اسید قادر به رسوب دهی تمام پروتئین ها نیست و مقدار زیاد آن می تواند ماهیت نمونه را تغییر دهد بهینه سازی مقدار آن حائز اهمیت می باشد.

مدت زمان تماس عامل رسوب دهنده (تری کلرواستیک اسید) با نمونه شیر دیگر پارامتر مهمی است که می تواند کارایی روش ارائه شده را تحت تأثیر قرار دهد [۱۳]. در این کار پژوهشی از ورتکس برای افزایش سطح تماس بین عامل رسوب دهنده و نمونه شیر جهت تسریع و بهبود فرآیند ترسیب پروتئین نمونه شیر استفاده شد. فلذا مدت زمان ورتکس در این مرحله نیاز به بهینه سازی دارد.

مقدار جاذب در روش استخراج فاز جامد پخشی از مهم ترین پارامترهای موثر در کارایی روش می باشد. این تأثیر در کارایی استخراج، به نسبت فاز جامد جاذب به حجم محلول نمونه مرتبط می باشد. در مقادیر کم از جامد نسبت فاز کم بوده و راندمان استخراج پایین می باشد ولی با افزایش مقدار جاذب نسبت فازها افزایش یافته و راندمان استخراج افزایش می یابد [۱۴]. از این رو مقدار جاذب باید بهینه گردد.

در روش حاضر از ورتکس به منظور افزایش سطح تماس آنالیت های مورد بررسی با جاذب و افزایش میزان جذب آنالیت ها توسط جاذب استفاده شده است [۱۲]. از این رو مدت زمان ورتکس در کارایی روش پیشنهادی موثر بوده و نیاز به بهینه سازی دارد.

عموماً در روش های استخراج، افزایش نمک بر محلول های آبی دو اثر متقابل دارد. اول این که حضور نمک باعث افزایش نیروی یونی فاز آبی شده و باعث کاهش حلالیت آنالیت ها در فاز آبی و افزایش انتقال آن ها به سطح جاذب می شود در نتیجه راندمان استخراج افزایش می یابد. دوم این که افزایش نمک باعث افزایش ویسکوزیته فاز آبی شده و ضریب انتشار آنالیت را در فاز آبی تحت تأثیر قرار می

بهینه‌سازی این پارامتر، مایعات یونی مغناطیسی به دلیل سمیت کمتر آن‌ها انتخاب شدند.

حجم حلال استخراج‌کننده پارامتر دیگری است که می‌تواند راندمان استخراج را تحت تاثیر قرار دهد [۱۷]. اگر حجم اولیه حلال بیشتر باشد در این صورت حجم فاز جمع شده پس از استخراج نیز بیشتر می‌شود و فاکتور تغلیظ کاهش یافته و سیگنال‌های تجزیه‌ای نیز کاهش خواهند یافت. از طرفی با کاهش حجم حلال، کارایی استخراج و تکرارپذیری کاهش می‌یابد لذا حجم حلال استخراج‌کننده باید بهینه سازی شود.

مدت زمان قرارگرفتن در معرض امواج میکروویو و توان میکروویو نیز پارامترهایی هستند که می‌توانند غلظت باقیمانده آفلاتوکسین M_1 واکراتوکسین A را در نمونه شیر تحت تاثیر قرار دهند. افزایش مدت زمان و توان امواج میکروویو می‌تواند بر تخریب و تغییر شکل ترکیبات هدف موثر باشد و منجر به کاهش غلظت باقیمانده آفلاتوکسین M_1 واکراتوکسین A شود.

تا به امروز روش‌های استخراج مختلفی برای اندازه‌گیری آفلاتوکسین M_1 واکراتوکسین A در نمونه‌های مختلف استفاده شده اند. برای ارزیابی عملکرد و میزان موفقیت روش پیشنهادی، پارامترهای تجزیه ای مربوط به آن اعم از LOD، LR، RSD و LOQ، با پارامترهای تجزیه ای سایر روش‌های به کار رفته برای تعیین آفلاتوکسین M_1 واکراتوکسین A مقایسه شدند. با توجه به داده های جدول ۳، روش پیشنهادی LOD و LOQ پایین تر از سایر روش ها است که بیانگر حساس تر بودن روش پیشنهادی می باشد. همچنین روش ارائه شده دارای RSD های پایین تر بوده و تکرار پذیر می باشد. محدوده خطی روش پیشنهادی نیز در مقایسه با سایر روش ها وسیعتر است. این نتایج حاکی از قابلیت بالای روش پیشنهادی در اندازه گیری آفلاتوکسین M_1 واکراتوکسین A می باشد.

Table 4. Comparison of the efficiency of the proposed method with other methods

Sample	Analyte	Relative standard deviation (%)	Limit of Detection (ng/L)	Limit of Quantification (ng/L)	Linear range (ng/L)	Method	Reference
Red wine	Ochratoxin A	≤ 16.9	130	410	-	a	[18]
Mother milk	Aflatoxin M_1	≤ 5.9	10	30	100-15000	b	[19]
	Ochratoxin A	≤ 17.3	10	30	100-15000		
Milk	Aflatoxin M_1	12.3	60	210	210-5000	c	[20]
	Aflatoxin M_1	3.9	0.29	0.97	$0.97-10^5$	Present work	Present work
	Ochratoxin A	4.2	0.23	0.77	$0.77-10^5$		

a) Solid phase extraction coupled with liquid chromatography equipped with a sequential mass detector

b) Liquid-liquid extraction coupled with liquid chromatography equipped with a fluorescence detector

c) Liquid phase microextraction with hollow fiber coupled with liquid chromatography equipped with a sequential mass detector

۵- نتیجه گیری کلی

در مطالعه حاضر، از ترکیب روش های DSPE و DLLME به عنوان یک روش آماده سازی جدید و کارآمد برای استخراج آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A از نمونه های شیر پاستوریزه استفاده شد. روش پیشنهادی سریع و دوستدار محیط زیست بوده و با توجه به نتایج بدست آمده قابلیت بالایی در استخراج آفلاتوکسین M_1 و اکراتوکسین A از نمونه های شیر پاستوریزه (راندمان استخراج بالا، حدود تشخیص و اندازه گیری پایین و تکرار پذیری مناسب) دارد. همچنین علیرغم حضور انواع ترکیبات آلی و معدنی در بافت

شیر، ماتریکس نمونه تاثیر محسوسی بر کارایی روش پیشنهادی ندارد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچگونه تعارض منافی ندارند.

۶- منابع

- [1] Aytenfsu, S., Mamo, G., and Kebede, B., 2016. Review on chemical residues in milk and their public health concern in Ethiopia. *Journal of Nutrition & Food Sciences*. 6(4), p.524.
- [2] Binder, E.M., 2007. Managing the risk of mycotoxins in modern feed production. *Food Science & Technology*. 133(1-2), pp.149-166.
- [3] Chan, D., MacDonald, S.J., Boughtflower, V., and Brereton, P., 2004. Simultaneous determination of aflatoxins and ochratoxin A in food using a fully automated immunoaffinity column clean-up and liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*. 1059(1-2), pp.13-16.
- [4] Herzallah, S.M., 2009. Determination of aflatoxins in eggs, milk, meat and meat products using HPLC fluorescent and UV detectors. *Food Chemistry*. 114(3), 1141-1146.
- [5] Afshar, P., Shokrzadeh, M., Raeisi, S.N., Ghorbani-Hasan, Saraei, A., Nasiraii, L.R., 2020. Aflatoxins biotransformation strategies based on probiotic bacteria. *Toxicon*. 30, pp.50-58.
- [6] Rahmani, A., Mehralipour, J., Shabanlo, A. and Majidi, S., 2015. Efficiency of ciprofloxacin removal by ozonation process with calcium peroxide from aqueous solutions. *Journal of Qazvin University of Medical Sciences*. 19(2), pp.55-64 (In persian).
- [7] Nascimento, U.M. and Azevedo, E.B., 2013. Microwaves and their coupling to advanced oxidation processes: Enhanced performance in pollutants degradation. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 48(9), pp.1056-1072.
- [8] OwusuKyei-Baffour, V., Kongor, J.E., Anyebuno, G., Budu, A.S., Firibu, S.K., and Afoakwa, E.O., 2021. A validated HPLC-FLD method for the determination of mycotoxin levels in sun dried fermented cocoa beans: Effect of cola nut extract and powder. *LWT*, 148, p.111790.
- [9] Turner, N.W., Subrahmanyam, S., and Piletsky S.A., 2009. Analytical methods for determination of mycotoxins: A review. *Analytica Chimica Acta*. 632(2), pp.168-180.
- [10] Jakubus, A., Godlewska, K., Gromelski, M., Jagiello, K., Puzyn, T., Stepnowski, P., and Paszkiewicz, M., 2019. The possibility to use multi-walled carbon nanotubes as a sorbent for dispersive solid phase extraction of selected pharmaceuticals and their metabolites: Effect of extraction condition. *Microchemical Journal*. 146, pp.1113-1125.
- [11] Bazargan, M., Ghaemi, F., Amiri, A., and Mirzaei, M., 2021. Metal-organic framework-based sorbents in analytical sample preparation. *Coordination Chemistry Reviews*. 445, p.214107.
- [12] Pezhhanfar, S., Farajzadeh, M.A., Mohsen Daraei, N., Taghipour BaghaliNobar, N., Hosseini-Yazdi, S.A., and Afshar Mogaddam, M.R., 2022. Introduction of an exclusive, highly linear, and matrix-effectless analytical method based on

- dispersive micro solid phase extraction using MIL-88B(Fe) followed by dispersive liquid-liquid microextraction specialized for the analysis of pesticides in celery and tomato juices without dilution. *Microchemical Journal*. 183, pp.107967.
- [13] Mohebbi, A., Nemati, M., Afshar Mogaddam, M.R., Farajzadeh, M.A., and Lotfipour, F., 2022. Dispersive micro-solid-phase extraction of aflatoxins from commercial soy milk samples using a green vitamin-based metal-organic framework as an efficient sorbent followed by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination. *Journal of Chromatography A*. 1673, p.463099.
- [14] Jamali, M.R., Firouzjah, A., and Rahnama, R., 2013. Solvent-assisted dispersive solid phase extraction. *Talanta* 116, pp.454-459.
- [15] Mohebbi, A., and Farajzadeh, M.A., 2020. Chemical synthesis-free and facile preparation of magnetized polyethylene composite and its application as an efficient magnetic sorbent for some pesticides *Journal of Chromatography A*. 1625, pp.461340.
- [16] Wu, Q., Wang, C., Liu, Z., Wu, C., Zeng, X., Wen, J., and Wang, Z., 2009. Dispersive solid-phase extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of some sulfonylurea herbicides in soil by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 1216(29), pp.461340.
- [17] Daghi, M.M., Nemati, M., Abbasalizadeh, A., Farajzadeh, M.A., Afshar Mogaddam, M.R., and Mohebbi, A., 2022. Combination of dispersive solid phase extraction using MIL-88A as a sorbent and deep eutectic solvent-based dispersive liquid-liquid microextraction for the extraction of some pesticides from fruit juices before their determination by GC-MS. *Microchemical Journal*. 183, pp.107984.
- [18] Mariño-Repizo, L., Kero, F., Vandell, V., Senior, A., Sanz-Ferramola, M. I., Cerutti, S., and Raba, J., 2015. A novel solid phase extraction-ultra high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the quantification of ochratoxin A in red wines. *Food Chemistry*. 172, pp.663-668.
- [19] Andrade, P.D., Gomesda Silva, J.L., and Caldas, E.D., 2013. Simultaneous analysis of aflatoxins B1, B2, G1, G2, M1 and ochratoxin A in breast milk by high-performance liquid chromatography/fluorescence after liquid-liquid extraction with low temperature purification (LLE-LTP). *Journal of Chromatography A*. 1304, pp.61-68.
- [20] Huang, S., Hu, D., Wang, Y., Zhu, F., and Ouyang, G., 2015. Automated hollow fiber liquid-phase microextraction coupled with liquid chromatography/tandem mass spectrometry for the analysis of aflatoxin M1 in milk. *Journal of Chromatography A*. 1416, pp.137-140.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Determination of aflatoxin M₁ and ochratoxin A in pasteurized milk and evaluation the effect of microwave irradiations on their reduction

Akbar Badali¹, Afshin Javadi^{*2,3}, Mohammad Reza Afshar Mogaddam⁴, Zohreh Mashak⁵

1- Department of Food Science and Technology, Mamaghan Branch, Islamic Azad University, Mamaghan, Iran.

2- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary, Tabriz Medical Science, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

3- Health Promotion Research Center, Tabriz Medical Sciences, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.

4- Food and Drug Safety Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

5- Department of Food Hygiene, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2023/12/24 Accepted: 2024/8/18 Keywords: DSPE, Microwave irradiation, DLLME, HPLC, Pasteurized milk. DOI: 10.22034/FSCT.22.162.42. *Corresponding Author E- Javadi@iaut.ac.ir	Due to the extensive use of dairy-products like pasteurized milk, these products should be free of any contaminants such as drug residues, pesticides, mycotoxins, and etc. Mycotoxins (such as aflatoxins, ochratoxin A, and etc.) are a group of toxic and pollutant substances in foodstuffs, animal and poultry feed that are naturally produced from certain types of fungi. The presence of mycotoxins in milk is very dangerous for the health of the consumer. Therefore, the development of fast, efficient and easy methods for investigating the presence of mycotoxins such as aflatoxin M₁ and ochratoxin A in foodstuffs is of great importance. In this research, an efficient analytical method based on the combination of dispersive solid phase extraction and dispersive liquid-liquid microextraction has been proposed for the extraction of aflatoxin M₁ and ochratoxin A from pasteurized milk samples and analyzing them with high-performance liquid chromatography equipped with a fluorescence detector. Under the optimum condition, limits of detections and quantifications within the ranges of 0.23–0.29 and 0.77–0.97 ng L⁻¹ were obtained, respectively. Enrichment factors and extraction recoveries has been obtained in the ranges of 232–249 and 83–89%, respectively. Aflatoxin M₁ (in 70% of the examined milk samples) and ochratoxin A (in 10% of the -examined milk samples) were found in a number of samples. Also, according to the obtained results, microwave radiation can reduce the amount of aflatoxin M₁ (in the range of 27.6 to 33.5%) and ochratoxin A (in the range of 17.3 to 20.8%).



تأثیر پیش تیمار برشته کردن به روش مایکروویو بر راندمان استخراج و ویژگی‌های کیفی روغن پسته

بی‌تا فرج‌پور^۱، صدیقه سلیمانی فرد^{۲*}، سید محمد احمدی^۳، سمیه نیک نیا^۴، علی دینی^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل.

۲- *دکتری، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل.

۳- دکتری، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل.

۴- دکتری، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل.

۵- دکتری، استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، سرپرست مدیریت نظارت بر فرآورده‌های خوراکی، آشامیدنی، آرایشی و بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۰/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۱

کلمات کلیدی:

پایداری حرارتی،

اکسایش،

آنیزیدین،

روغن پسته.

روغن مغز پسته، روغنی مقاوم به اکسایش و دارای خواص درمانی است. با توجه به اینکه فرایند پیش تیمار مایکروویو در شرایط بهینه می‌تواند سبب افزایش راندمان و کیفیت روغن استحصالی شود. لذا در این پژوهش تأثیر فرایند پیش تیمار برشته کردن پسته با استفاده از مایکروویو در توان‌های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات در سه سطح رطوبت ۰/۵، ۲ و ۳/۵ درصد انجام شد. راندمان استخراج روغن و هم‌چنین پارامترهای کیفی از جمله میزان پلی‌فنل‌ها، کلروفیل و کاروتنوئیدها، آزمون مهارکنندگی DPPH، عدد پراکسید، عدد آنیزیدین، میزان کل ترکیبات قطبی و پایداری حرارتی اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمایش کورت خرد شده در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی با نرم افزار SAS نسخه ۹/۴ و مقایسه میانگین صفات با استفاده از روش دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد آنالیز شد. نتایج نشان داد که با افزایش توان مایکروویو و مقدار رطوبت راندمان استحصال روغن افزایش می‌یابد، میزان پلی‌فنل‌ها، کلروفیل، کاروتنوئیدها، میزان کل ترکیبات قطبی و هم‌چنین فعالیت مهارکنندگی رادیکال DPPH با افزایش توان و کاهش رطوبت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. نتایج هم‌چنین آشکار کرد اگرچه افزایش توان و کاهش رطوبت باعث افزایش عدد پراکسید تیمارهای مورد بررسی شد، اما عدد آنیزیدین و پایداری حرارتی به‌طور معنی‌داری به ترتیب کاهش و افزایش یافت. این نتایج حکایت از پایداری اکسیداتیو بیش‌تر روغن پسته استحصالی در توان‌های بالاتر مایکروویو داشت. بالاترین میزان شاخص پایداری حرارتی به نمونه‌های تیمار شده با توان ۹۰۰ وات و محتوی رطوبت ۰/۵ درصد تعلق داشت.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.58.

* مسئول مکاتبات:

s.soleimanifard@uoz.ac.ir

۱-مقدمه

جدید و مهم در زمینه فرایند مواد غذایی، استفاده از مایکروویو است.

امواج مایکروویو، تشعشعات الکترومغناطیسی هستند که تحت تأثیر خواص دی الکتریک و مغناطیسی مواد تبدیل به گرما می شوند. در واقع گرمایش مایکروویو نتیجه جذب انرژی مایکروویو توسط ماده ای است که در معرض میدان الکترومغناطیسی قرار می گیرد [۷]. از مزایای مایکروویو می توان به کاهش هزینه های فراوری، کیفیت بهتر، تولید محصولات جدید، بهبود سلامت انسان، کاهش آسیب های زیست محیطی در مقایسه با روش های معمول ذکر نمود [۸ و ۹]

هو و همکاران (۲۰۱۸) به طور کلی پیش تیمار مایکروویو را یک روش مطمئن برای بهبود میزان استحصال روغن، ارتقاء کیفی روغن بادام زمینی با ماندگاری بالاتر و طعم بهتر معرفی کردند [۱۰]. هم چنین کارایی استفاده از مایکروویو در بهبود راندمان استخراج، ارزش تغذیه ای، خواص فیزیکی و شیمیایی و حسی روغن های کلزا، نخل، سویا، سبوس برنج، پنبه دانه، دانه مورینگا اولیفر، سیاه دانه، دانه چیا، و فندق شیلیایی را نشان دادند

شاهی چهرخ و همکاران (۲۰۲۲) بیان کردند که می توان از امواج مایکروویو به عنوان پیش تیمار جهت افزایش راندمان استحصال روغن از دانه های روغنی استفاده کرد، نتایج نشان داد که استفاده از این امواج کم ترین اثرات نامطلوب را بر روغن استحصالی داشته و هم چنین باعث بهبود کیفیت کنجاله شده است [۸].

با توجه به بررسی منابع انجام شده، از آنجا که پژوهشی در خصوص تأثیر تابش مایکروویو بر کیفیت روغن پسته انجام نشده است، هدف از این پژوهش، بررسی تأثیر پیش تیمار

پسته از خانواده *Anacardiaceae*^۱ و جنس *Pistacia*^۲ است که منشأ آن به آسیای مرکزی و جنوب غربی برمی گردد. مغز پسته واریته های بومی استان کرمان، حاوی حدود ۵۰ درصد چربی است. روغن مغز پسته حاوی مقادیر قابل توجهی اسیدهای اولئیک، لینولئیک و لینولنیک می باشد که دارای خواص درمانی مهمی هم چون کاهش دهنده میزان تری آسید گلیسرول ها، کلسترول دانسیته پائین، کلسترول کل و شاخص گلاسمی است [۱]. روغن پسته به دلیل داشتن محتوای بالای اسید اولئیک و مقادیر کم اسیدهای چرب چند غیراشباع، روغن مقاوم در برابر اکسایش محسوب می شود و می تواند روغن مناسبی برای پخت و پز و سرخ کردن باشد. علاوه بر این دارای ویتامین های محلول در چربی (A و E) و مقادیر قابل توجهی ترکیبات فنولی از جمله آنتوسیانین ها، فلاونوئیدها و پروآنتوسیانیدین ها است [۲] و حاوی توکوفرول ها و استرول ها نیز می باشد [۳]. از آنجا که مقدار روغن پسته و اثرات سلامت بخشی آن به دلیل ترکیبات موجود در آن، بسیار زیاد است، استخراج روغن پسته می تواند بسیار کارآمد و مفید باشد.

یکی از فرایندها قبل از استخراج روغن مغز انواع آجیل، برشته کردن است. فرایند برشته کردن به دلیل ایجاد عطر و طعم خاص، که عامل تعیین کننده در پذیرش مصرف کننده می باشد، از اهمیت بسیار بالایی برخوردار است [۴]. برشته کردن هم چنین باعث تسهیل استخراج روغن، غیر فعال سازی آنزیم ها و تجزیه مواد آلرژی زا می شود [۵]. فرایند برشته کردن آجیل ها با استفاده از روش های مختلفی شامل: استفاده از هوای گرم، مایکروویو، اشعه مادون قرمز و روش های ترکیبی هوای گرم با مایکروویو و مادون قرمز انجام می شود [۶] که در این بین، یکی از تکنولوژی های

میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد وزنی-حجمی) به محتوای لوله آزمایش افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن درون حمام آب با دمای ۴۰ درجه سلسیوس قرار گرفت و پس از گذشت ۳۰ دقیقه، میزان جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر (CARY 100 Scan) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی کالیبراسیون، اسید گالیک با غلظت های ۰/۰۴ تا ۰/۴ میلی گرم تهیه شد و جذب نمونه‌ها در ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. مقدار کل فنول موجود در روغن پسته، به صورت میلی گرم اسید گالیک بر گرم روغن بیان شد [۱۲ و ۱۳].

۲-۳- محتوای رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید

در این روش، ۷/۵ گرم روغن دقیقاً وزن شد، در سیکلوهگزان حل و به حجم نهایی ۲۵ میلی لیتر رسید. سپس میزان جذب محلول حاصل برای تعیین کلروفیل و کاروتنوئید به ترتیب در طول موج‌های ۶۷۰ و ۴۷۲ نانومتر اندازه گیری شد و بر حسب میلی گرم در کیلوگرم روغن، با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد:

$$CCh_{tot} = \frac{A_{472} \times 10^6}{613 \times 100 \times d} \quad (1)$$

$$CCa_{tot} = \frac{A_{670} \times 10^6}{2000 \times 100 \times d} \quad (2)$$

در این رابطه CCh_{tot} و CCa_{tot} به ترتیب میزان کل کاروتنوئید و کلروفیل (ppm/kg oil)، A_{472} و A_{670} ، به ترتیب میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۲ و ۶۷۰ نانومتر می باشد [۱۴].

۲-۴- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH^۲

برای انجام این آزمون، ۰/۲ میلی لیتر از نمونه روغن پسته به ۴ میلی لیتر از محلول متانولی 10^{-5} مولار

مایکروویو با شدت توان‌ها و رطوبت های مختلف بر ویژگی های کیفی روغن پسته بود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی نمونه های پسته و استخراج روغن

دانه های پسته احمد آقایی انس ۲۵ و برداشت سال ۱۴۰۱، از پژوهشکده پسته دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان خریداری شد. دانه های پسته پس از پوست گیری اولیه در معرض آفتاب تا رطوبت ۴٪، خشک و تا زمان انجام آزمایشات در ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد. سپس پسته ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند و نمونه ها به مدت ۸ دقیقه در آب نمک ۱۷٪ قرار گرفتند و به مدت ۵ دقیقه آبگیری شدند و با رطوبت ۱۲٪ بر مبنای ماده خشک به دستگاه مایکروویو برای برشته کردن منتقل شدند. فرایند برشته کردن در مایکروویو در ۳ توان (۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات) و تا رسیدن به رطوبت ۰/۵٪ انجام شد. نمونه های پسته برشته تا فرایند روغن گیری در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید. استخراج روغن نمونه های پسته پس از پوست گیری و خرد شدن با هاون به صورت مکانیکی توسط اعمال فشار با استفاده از دستگاه روغن گیری خانگی (مدل GOL SIRU) انجام شد [۱۱].

۲-۲- محتوای فنل کل

مقدار کل ترکیبات فنلی موجود در روغن پسته از طریق اسپکتروفتومتری به روش کولین - سیوکالچو اندازه گیری شد. اساس کار احیای معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است. در این روش، ۲۰ میکرولیتر از روغن پسته درون لوله آزمایش با ۱/۱۶۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین - سیوکالچو مخلوط شد. بعد از گذشت حداکثر ۸ دقیقه، ۳۰۰

اندازه گیری شد. نتایج بر اساس معادله ذیل و به صورت میلی اکی والان اکسیژن در کیلوگرم روغن گزارش شد:

$$PV = \frac{(A_s - A_b) \times 40.39}{55.84 \times W \times 2} \quad (۴)$$

که A_s ، A_b ، W و m به ترتیب نشان گر میزان جذب نمونه و شاهد، وزن نمونه و شیب منحنی استاندارد هستند [۱۶].

۷-۲- عدد پارا آنیزیدین^۶

در ابتدا ۱/۶ - ۰/۲ گرم از نمونه روغن پسته در یک بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین شد و با محلول ایزو اکتان به حجم رسید. سپس ۵ میلی لیتر از نمونه رقیق شده با ایزو اکتان در یک بالن شیشه ای ۱۰ میلی لیتری درب دار و ۱ میلی لیتر از معرف پارا آنیزیدین ۲/۵ گرم در لیتر اسید استیک اضافه شد. پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در تاریکی، جذب نمونه در طول موج ۳۵۰ نانومتر قرائت شد. مقدار عدد پارا آنیزیدین با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$P - A.V = \frac{10 \times 1.2 A_s - A_b}{m} \quad (۵)$$

در رابطه فوق: m وزن نمونه، Ab نشان دهنده جذب نمونه روغن رقیق شده در ایزو اکتان، As جذب نمونه در طول موج ۳۵۰ نانومتر پس از افزودن معرف پارا آنیزیدین است [۱۷].

۸-۲- پایداری حرارتی

برای تعیین پایداری اکسایشی روغن پسته از دستگاه رنسیمت (Metrohm، مدل ۷۴۳) استفاده گردید. برای انجام آزمایش مقدار ۲/۵ گرم از نمونه های روغن در ظروف آزمایش دستگاه رنسیمت به دقت توزین شد. نمونه ها در دمای ۱۱۰ درجه سلسیوس و سرعت جریان هوای ۱۵ لیتر

رادیکال آزاد DPPH افزوده شد و جذب نمونه ها پس از سپری شدن زمان گرمخانه گذاری ۶۰ دقیقه ای در دمای اتاق و در تاریکی، در مقابل نمونه شاهد در طول موج ۵۱۷ نانومتر و با استفاده از اسپکتروفتومتر (CARY 100 Scan) قرائت شد. اثر ممانعت کنندگی با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$\%RSA = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{A_{control}} \times 100 \quad (۳)$$

که A_{Sample} و $A_{Control}$ به ترتیب میزان جذب نمونه و شاهد و RSA درصد مهار رادیکال آزاد است [۱۵].

۵-۲- محتوای کل ترکیبات قطبی

جهت اندازه گیری کل ترکیبات قطبی مقدار ۱۰ میلی لیتر از نمونه روغن در لوله های آزمایش ریخته شد و تا دمای ۷۰ درجه سلسیوس حرارت داده شد. سپس با قرار دادن سنسور دستگاه TESTO 270 در نمونه آماده شده، مقدار کل ترکیبات قطبی اندازه گیری شد [۱۵].

۶-۲- عدد پراکسید^۷

عدد پراکسید با استفاده از روش اسپکتروفتومتری معرفی شده توسط شانته^۷ و همکاران تعیین شد. برای این کار مقدار ۰/۰۱ - ۰/۰۳ گرم از نمونه روغن با ۹/۸ میلی لیتر مخلوط متانول و کلروفرم (۳:۷ حجمی/حجمی) به مدت ۲ تا ۴ ثانیه ورتکس شدند. پس از آن تیوسیانات آمونیوم و ۵۰ میلی لیتر کلرید آهن ۲ به ترتیب اضافه گردیدند و بعد از افزودن هر کدام نمونه ها به مدت ۲ تا ۴ ثانیه ورتکس شدند. سپس جذب نمونه ها بعد از ۵ دقیقه گرمخانه گذاری در دمای اتاق

۳-۱- استخراج روغن

همانگونه که شکل ۱ نشان می‌دهد با افزایش توان مایکروویو، راندمان استحصال روغن تیمارهای مورد بررسی به طور معنی‌داری (جدول ۱) افزایش یافت. علت این امر اثر تابشی مایکروویو است که باعث دنا توره شدن پروتئین‌ها و بالتبع تغییراتی در دیواره سلولی حاوی چربی می‌شود که عبور روغن را از غشای سلولی تقویت کرده و منجر به بهبود راندمان آزادسازی روغن در طول فرآیند استخراج می‌شود [۹]. علاوه بر این، با افزایش توان مایکروویو، گرمای ایجاد شده در نمونه افزایش یافته که منجر به افزایش ضریب انتقال جرم و بالتبع آن افزایش راندمان استخراج روغن می‌شود [۱۸]. این یافته‌ها با نتایج شاهی چهرق (۲۰۲۲) مطابقت داشت.

بر ساعت در معرض اکسایش قرار گرفتند. نتایج به دست آمده تحت عنوان دوره القاء^۷ (بر حسب ساعت) که زمان مورد نیاز برای شکستن پراکسیدهای تولید شده در اکسایش روغن را بیان می‌کند، مورد مقایسه قرار گرفتند [۱۵].

۲-۹- تجزیه و تحلیل آماری

به منظور بررسی آماری اثر توان و مراحل نمونه‌برداری بر خواص کیفی روغن، از آرایش کرت خرد شده در قالب طرح بلوک کاملاً تصادفی استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش دانکن در سطح معنی‌داری ۵٪ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

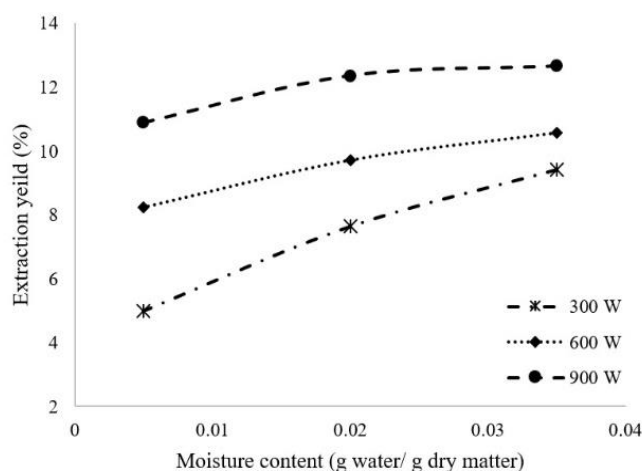


Figure 1- Oil extraction efficiency of microwave roasted pistachio samples at different moisture content

۳-۲- مقدار پلی فنل کل

ترکیبات فنلی دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که توانایی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ناشی از حضور گروه‌های هیدروکسیل در ساختارشان است. این ترکیبات تجزیه اکسیداتیو لیپیدها را به تأخیر انداخته و از این رو کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌بخشند

نتایج هم‌چنین نشان داد (شکل ۱) که علاوه بر شدت توان مایکروویو، محتوای رطوبت دانه پسته نیز می‌تواند اثر معنی‌داری بر راندمان استحصال روغن آن داشته باشد (جدول ۱). به‌طوری‌که با گذشت زمان فرایند و کاهش محتوای رطوبت، میزان استحصال روغن کاهش نشان داد که دلیل آن می‌تواند به کاهش انعطاف‌پذیری مواد دانه‌ای و کاهش امکان جریان روغن مرتبط باشد [۱۲].

7 -Induction time

مولکول‌های قطبی نظیر ترکیبات فنلی به دلیل داشتن گشتاور دو قطبی، انرژی مایکروویو را به میزان زیادی جذب می‌کنند که نتیجه آن افزایش دما و وارد شدن هرچه بیشتر این ترکیبات به داخل روغن می‌شود [۱۹]. نتایج هم‌چنین نشان داد در هر ۳ توان مایکروویو اعمال‌شده، کمترین میزان پلی فنل کل در رطوبت ۳/۵ درصد مشاهده شد. بعبارت دیگر با افزایش مدت زمان فرایند و کاهش رطوبت نمونه، میزان استحصال ترکیبات پلی فنلی افزایش یافت. از آنجاکه رطوبت اصلی‌ترین جاذب موج مایکروویو در ماده غذایی است، با کاهش محتوای رطوبت، میزان جذب موج و در نهایت تولید حرارت کاهش یافته و ترکیبات فنولی که حساس به حرارت هستند، کمتر آسیب می‌بینند [۹].

[۱۹]. نتایج آزمون پلی فنل کل (شکل ۲) نشان داد که که میزان رطوبت و شدت توان‌های مایکروویو اعمال شده در فرایند برشته‌کردن پسته می‌تواند تفاوت معنی‌داری (جدول ۱) بر مقدار این ترکیبات زیست فعال ارزشمند داشته باشد. با افزایش توان مایکروویو مقادیر پلی فنل تیمارهای مورد بررسی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. به‌طوریکه بالاترین مقدار آن برای نمونه‌های پسته در توان ۹۰۰ وات اندازه‌گیری شد. این یافته‌ها با نتایج حجتی و همکاران (۲۰۱۵) بر روی دانه پسته و حیات و همکاران (۲۰۱۹) بر روی دانه رازیانه مطابقت داشت [۲۰ و ۲۱].

افزایش ترکیبات پلی فنلی تحت تأثیر امواج مایکروویو به شکستن پیوند بین این ترکیبات با اجزای سلولی و آزاد شدن آنها در روغن استحصالی نسبت داده می‌شود [۹]. هم‌چنین

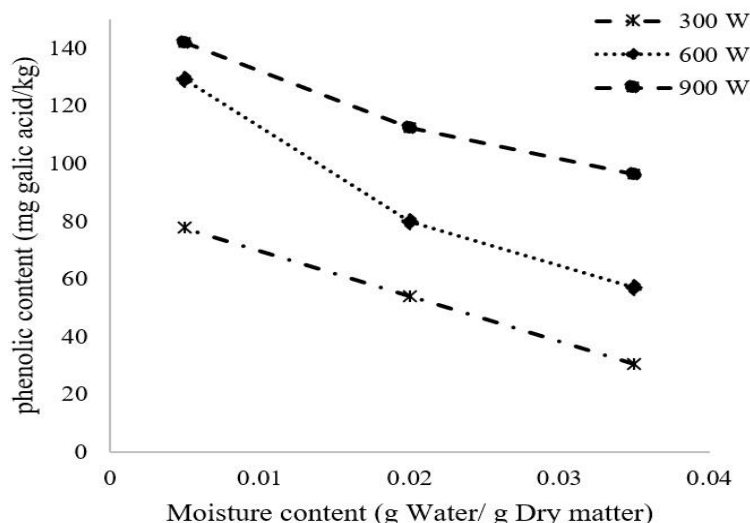
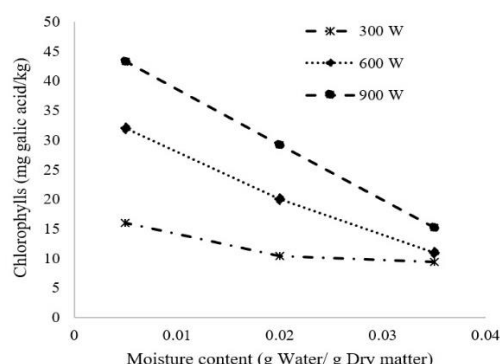


Figure 2- The total phenolic compounds in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture content

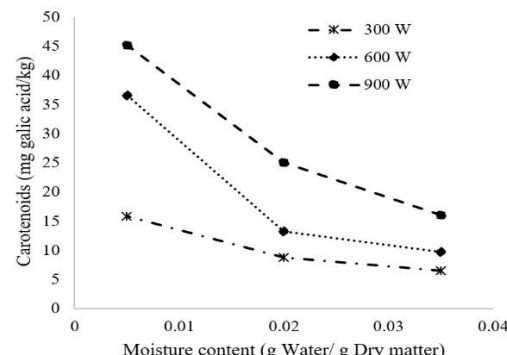
۳-۳- اندازه‌گیری مقادیر کلروفیل و کاروتنوئید

درصد (به‌ترتیب ۴۳/۲۸ mg/kg و ۴۵/۱۲ mg/kg) و کم‌ترین مقدار برای نمونه تیمار شده با شدت توان ۳۰۰ و با رطوبت ۳/۵ درصد (به‌ترتیب ۹/۳۹ mg/kg و ۶/۴۶ mg/kg) به‌دست آمد. این نتایج با یافته‌های سوری و همکاران (۲۰۲۰) برای دانه کتان و هم‌چنین سوری و همکاران (۲۰۲۲) برای دانه سیاه‌دانه تیمار شده با توان‌های مختلف مایکروویو مطابقت داشت [۲۲ و ۲۳].

نتایج آزمون‌های اندازه‌گیری کلروفیل و کاروتنوئیدها (شکل ۳-الف و ب) نشان داد که همانند ترکیبات فنلی، مقادیر این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نیز با افزایش توان مایکروویو و کاهش محتوای رطوبت دانه به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیش‌ترین مقدار رنگدانه‌های کلروفیل و کاروتنوئید برای نمونه تیمار شده با شدت توان ۹۰۰ وات و رطوبت ۰/۵



(A)



(B)

Figure 3- The chlorophyll (a) and carotenoid (b) contents in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture contents

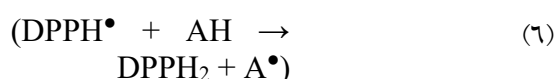
قوی دارند. در طول فرآیند حرارت دهی مایکروویو، پیوندهای دوگانه آنها می‌تواند به سهولت اکسید یا ایزومریزه و تجزیه شود و بنابراین میزان اکسایش با کاهش رطوبت دانه می‌تواند کاهش یابد [۹].

نتایج هم‌چنین نشان داد که با افزایش مدت زمان فرایند و کاهش میزان رطوبت دانه‌های پسته میزان کاروتنوئیدها و کلروفیل روغن تیمارهای مورد بررسی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (اشکال ۳-الف و ب). کاروتنوئیدها دارای ساختار دی‌ان مزدوج هستند، بنابراین ظرفیت آنتی اکسیدانی

Table 1- Comparison of means of the effect of temperature and moisture content on quality parameters of pistachio oil

	Extraction yeild	Oxidation stability	Carotenoid	chlorophyll	Total phenolic	Anisidine value	Peroxide value	Total polar content	Antioxida nt activity
Moisture content									
0.035	10.880 ^a	69564.00 ^c	9.110 ^c	10.582 ^c	61.077 ^c	2.209 ^a	0.033 ^b	7.000 ^c	735.88 ^b
0.02	9.901 ^b	94209.00 ^b	15.710 ^b	19.807 ^b	81.971 ^b	1.703 ^b	0.037 ^a	8.400 ^b	832.68 ^b
0.005	15.036 ^c	108893.00 ^a	32.503 ^a	30.376 ^a	116.13 ^a	0.467 ^c	0.039 ^a	10.333 ^a	1147.82 ^a
Power									
300	7.353 ^c	65509.00 ^c	10.372 ^c	11.897 ^c	53.863 ^c	0.889 ^b	0.030 ^b	7.833 ^c	695.82 ^b
600	9.505 ^b	94665.00 ^b	19.862 ^b	20.923 ^b	88.615 ^b	1.426 ^{ab}	0.038 ^{ab}	8.400 ^b	892.46 ^b
900	11.959 ^a	112492.00 ^a	27.089 ^a	27.944 ^a	116.70 ^a	2.064 ^b	0.042 ^a	9.500 ^a	1128.11 ^a

DPPH با کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قابل اندازه گیری می‌باشد:



نتایج نشان داد (شکل ۴) که با افزایش شدت توان مایکروویو و کاهش رطوبت فعالیت آنتی‌رادیکالی روغن پسته تیمار شده افزایش پیدا کرد. این افزایش در فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۳-۴- قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH

در این آزمون مولکول‌های آنتی‌اکسیدان، الکترون/اتم هیدروژن را به رادیکال‌های ۲ و ۲- دی فنیل -۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH[•]) انتقال داده، آن را به رادیکال خنثی ۱ و ۱- دی فنیل -۲- پیکریل هیدرازین (DPPH₂) تبدیل می‌کند (واکنش ۱). بدین ترتیب قابلیت کاهندگی رادیکال

ارزیابی قرار دادند؛ آنها بین فعالیت آنتی اکسیدانی با محتوای پلی فنلی، فلاونوئیدها و توکوفرولها نمونه‌های پسته همبستگی مثبت مشاهده نمودند [۲۴].

می‌تواند به محتوای ترکیبات پلی فنلی و کاروتنوئیدها مرتبط باشد که مطابق با شکل ۳، روندی مشابه بین ترکیبات مذکور و شدت توان و میزان رطوبت وجود داشت. مارتینز و همکاران (۲۰۱۶) نمونه‌های پسته ارقام آرژانتینی را مورد

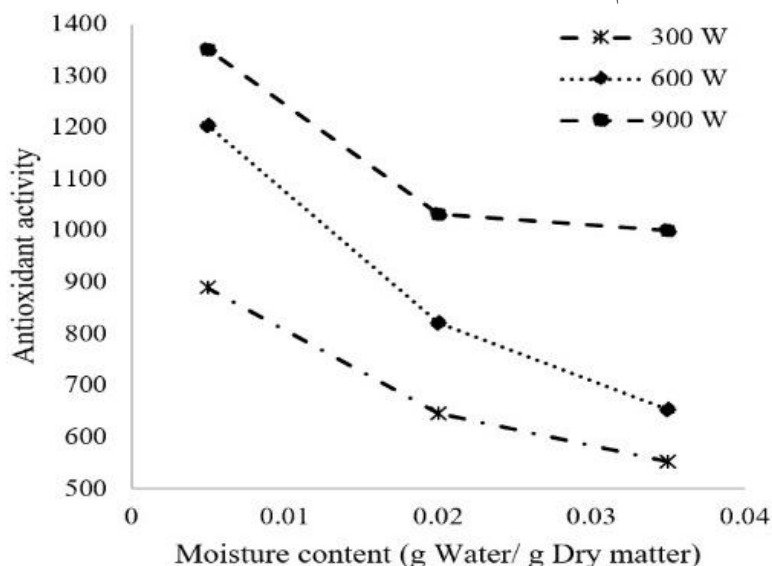


Figure 4- Antioxidant activity in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture content

نتایج آزمون‌های اندازه گیری ترکیبات پلی فنلی و کاروتنوئیدها (اشکال ۲ و ۳) حاکی از آن بود که مقادیر این ترکیبات آنتی اکسیدانی با افزایش توان مایکروویو به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و در توان ۹۰۰ وات به بیش‌ترین مقدار خود رسید. بنابراین این انتظار وجود داشت تا میزان عدد پراکسید تیمارهای مذکور کاهش یابد چرا که افزایش میزان پلی فنل‌ها و کاروتنوئیدها به معنای افزایش فعالیت آنتی رادیکالی می‌باشد. نتایج آزمون آنتی رادیکالی DPPH (شکل ۴) به خوبی این مطلب را تأیید می‌کند.

هو و همکاران (۲۰۲۱) بیان کردند که تأثیر امواج مایکروویو بر لیپیدها منجر به تولید رادیکال‌های آزاد در طی فرایند می‌شود که نتیجه آن حساس‌تر شدن ترکیبات لیپیدی به اکسایش در مقایسه با حرارت‌دهی معمولی می‌شود. در این رابطه اثر تابش مایکروویو بر روغن پنبه‌دانه، اکسایش سریع و افزایش میزان پراکسید را در پی داشت. هم‌چنین بین نرخ واکنش‌های پراکسید با سطوح توان مایکروویو یک همبستگی مثبت به‌دست آمده است. به عبارت دیگر، تابش

۳-۵- عدد پراکسید

تنها محصولاتی که در مراحل اولیه اکسایش لیپیدی در رژیم سیتیکی تشکیل می‌شوند، هیدروپراکسیدها هستند [۸]. هیدروپراکسیدها پایدارتر از گونه‌های رادیکالی هستند اما همچنان عوامل اکسیدشونده ضعیفی می‌باشند که به دلیل ناپایداری به رادیکال‌های پراکسیل و آلکوکسیل تجزیه می‌شوند [۸]. نمودار ۵ نشان می‌دهد که با افزایش توان مایکروویو بالاتر از ۳۰۰ وات میزان پراکسید تیمارها به طور فاحشی افزایش پیدا کرد و بیشترین میزان آن در ۹۰۰ وات اندازه گیری شد. هرچند که اختلاف معنی‌داری بین عدد پراکسید نمونه‌های تیمار شده در توان‌های ۶۰۰ و ۹۰۰ وات مشاهده نشد. این یافته‌ها با نتایج سوری و همکاران (۲۰۲۲) و هو و همکاران (۲۰۱۸) به ترتیب بر روغن‌های استخراج شده از دانه‌های سیاه‌دانه و بادام‌زمینی تیمار شده با شدت‌های مختلف مایکروویو مطابقت داشت [۱۰ و ۲۲].

نتایج هم-چنین نشان داد که میزان پراکسید نمونه های تیمار شده متأثر از میزان رطوبت، نیز می تواند به طور معنی داری متفاوت باشد. با افزایش میزان رطوبت دانه های پسته تا ۳/۵ درصد میزان پراکسید در هر ۳ توان اعمال شده به طور معنی داری کاهش یافت. گزارش شده است که در طول فرایند مایکروویو با گذشت زمان و کاهش محتوی رطوبت به علت افزایش واکنش های اکسایش و آب کافتی روغن در حضور رطوبت، مقدار پراکسیدها افزایش یافته است [۱۷ و ۲۳].

مایکروویو در دماهای بالا، تشکیل رادیکال های آزاد را تسریع می کند. با این وجود، بررسی تأثیر تیمار مایکروویو بر استخراج روغن دانه کتان نشان داد علی رغم افزایش میزان پراکسید با افزایش توان مایکروویو، روغن استحصال از پایداری اکسیداتیو بالاتری در مقایسه با روغن استخراج شده با روش سوکسله بوده است [۹]. نتایج آزمون پایداری حرارتی در تحقیق حاضر (شکل ۸) این مطلب را تایید می کند.

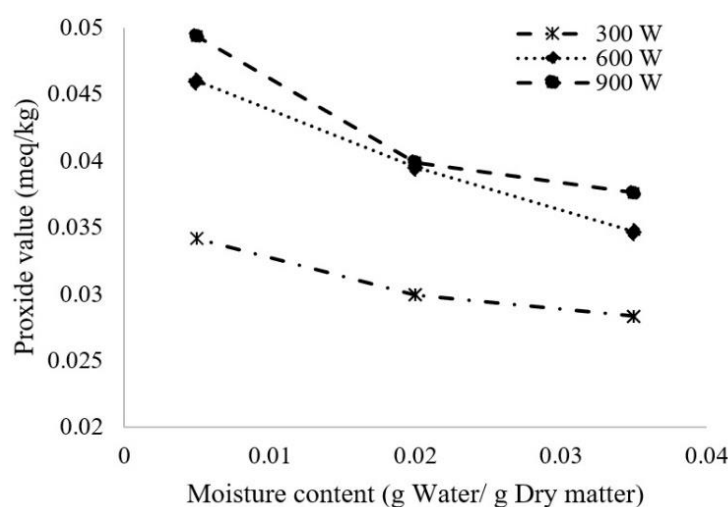


Figure 5- Peroxide value in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture contents

۳-۶- عدد آنیزیدین

میسسل های روغن تحت تأثیر امواج مایکروویو مرتبط باشد. بررسی تأثیر تابش مایکروویو بر روغن کلزا نشان داده است که علی رغم اینکه عدد پراکسید اولیه روغن کلزای تیمار شده با مایکروویو بالاتر از عدد پراکسید کلزای تیمار نشده بود، اما نمونه تیمار شده پس از نگهداری به مدت ۳۲ روز، دارای میزان پراکسید کمتری در مقایسه با نمونه تیمار نشده بود (هو و همکاران ۲۰۱۸). بنابراین می توان استنباط نمود که نمونه های تیمار شده با مایکروویو به دلیل پایداری میسلی بالاتر دارای محصولات اکسایشی ثانویه کمتری در مقایسه با نمونه های تیمار نشده باشند. در واقع تابش مایکروویو می تواند باعث افزایش پایداری اکسایشی روغن تیمارهای مورد بررسی شود [۱۰]. نتایج آزمون رنسیمت (شکل ۸) هم به-خوبی این مطلب را تایید می کند.

در مقایسه با عدد پراکسید، مقدار عدد آنیزیدین یک آزمایش با اهمیت تر است زیرا تجمع محصولات اکسایش ثانویه را اندازه گیری می کند. مقدار عدد آنیزیدین برای تیمارها در توان های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات در مایکروویو با میزان رطوبت متفاوت طی برشته کردن در شکل ۶ نشان داده شده است. روند تغییر عدد آنیزیدین تیمارهای مورد بررسی با عدد پراکسید متفاوت بود. به طوری که برعکس نتایج پراکسید، میزان عدد آنیزیدین با افزایش توان مایکروویو و کاهش رطوبت کاهش پیدا کرد. مشابه این نتایج توسط علی و همکاران (۲۰۱۷) در خصوص تأثیر تابش مایکروویو بر ویژگی های روغن دانه کدو تنبل گزارش شده است [۲۵]. کاهش میزان عدد آنیزیدین تیمارها در توان های بالاتر علی رغم میزان پراکسید بیش تر، می تواند به پایداری بیش تر

دانه‌ها بستگی دارد. به طوری که با کاهش رطوبت میزان عدد آنزیدین روند کاهشی داشت و این کاهش در رطوبت پائین‌تر از ۲ درصد مشهودتر بود.

محتوای رطوبت یکی از عواملی است که بر ناپایداری پراکسیدها تأثیر دارد. آب از طریق تأثیر بر اجسام میسلی نیز اکسایش لیپیدی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش حرارت دهی میکروویو در رطوبت‌های بالا نیز ممکن است باعث ناپایداری ساختارهای میسلی روغن شود. هم‌چنین آب ممکن است سبب هیدرولیز تری‌آسیل گلیسرول‌ها و تشکیل منو و دی‌آسیل گلیسرول و اسیدهای چرب شود که این ترکیبات ممکن است اثر سویی بر پایداری ساختارهای میسلی داشته باشند [۲۶].

شاهی چهرق و همکاران (۲۰۲۲) با بررسی اثر میکروویو بر روغن گلرنگ نتیجه گرفتند که با افزایش توان میکروویو میزان فسفاتیدهای روغن گلرنگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافته است. پیشنهاد شده است فسفولیپیدها در حضور میزان کم آب، فعالیت آنتی‌اکسیدانی آلفاتوکوفرول را با تشکیل اجسام میکروامولسیون در روغن تقویت می‌کنند. در واقع این ترکیبات، توکوفرول‌ها را به‌همراه خود به مکان انجام اکسایش منتقل می‌کنند [۹]. علاوه بر این، فسفولیپیدها که نقش امولسیفایری دارند، قادرند با کاهش کشش سطحی و انرژی آزاد بین سطحی در روغن‌ها از تجمع پراکسیدها ممانعت به عمل آورده، با دور نگه داشتن آنها از یکدیگر، سرعت واکنش آنها را کم کنند.

نتایج (شکل ۶) هم‌چنین نشان داد که میزان عدد آنزیدین تیمارهای مورد بررسی به‌طور معنی‌داری به محتوای رطوبت

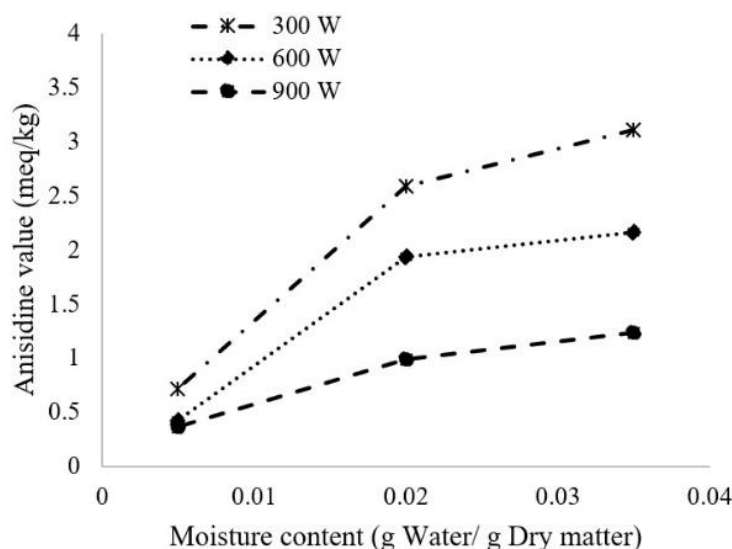


Figure 6- Anisidine value value in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture contents

۷-۳- محتوای کل ترکیبات قطبی

(۲۰۱۶) که تأثیر عملیات حرارتی میکروویو را به ترتیب بر دانه کینوا و روغن دانه ذرت مطالعه کردند، مطابقت داشت [۲۷ و ۲۸]. این افزایش در ترکیبات قطبی در روغن پسته می‌تواند به شکستن پیوندهای مولکولی در ماتریکس سلولی و بالارفتن حلالیت مولکول‌هایی نظیر ترکیبات پلی فنل مرتبط باشد [۲۷ و ۲۸]. نتایج آزمون اندازه‌گیری ترکیبات پلی‌فنلی (شکل ۲) و هم‌چنین آزمون عدد آنزیدین (شکل

محتوای کل ترکیبات قطبی اندازه‌گیری شده تیمارها در شکل ۷ نشان داده شده است. همان گونه که در نمودار مذکور قابل مشاهده است، با افزایش توان میکروویو و کاهش محتوای رطوبت، میزان کل ترکیبات قطبی افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های ختو و همکاران (۲۰۲۲) و عباس‌علی و همکاران

مولکولی و قطبیت بالا را در پی دارد [۲۱]. در این خصوص می توان به تغییر ساختاری کاروتنوئید آستاگزانتین از فرم ترانس به سیس بعد از جذب انرژی مایکروویو در روغن بادام زمینی اشاره نمود [۱۰]. هم چنین تحت تأثیر امواج مایکروویو، لیپیدها می توانند پس از پراکسیداسیون به محصولات اکسایش ثانویه قطبی یعنی آلدئیدها، کتونها، اسیدها و الکل ها تبدیل شوند [۲۸].

این ادعا را تأیید می کند. عدد آنیزیدین که شاخص ترکیبات ثانویه اکسایش می باشد، با افزایش توان مایکروویو و رطوبت دانه ها به طور معنی داری کاهش یافت. بنابراین می توان نتیجه گیری نمود دلیل افزایش ترکیبات قطبی کل تیمارها با افزایش توان مایکروویو می تواند عمدتاً به میزان ترکیبات پلی فنلی مرتبط باشد. با این وجود استفاده از مایکروویو می تواند منجر به وقوع طیف وسیعی از واکنش های شیمیایی شود که تشکیل ترکیباتی با وزن

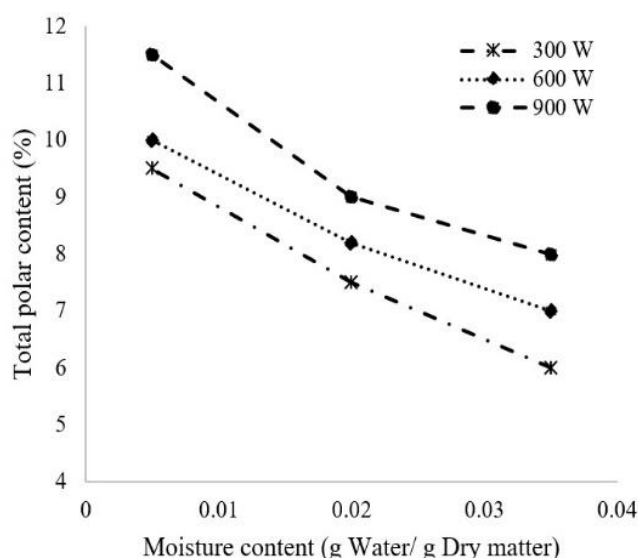


Figure 7- Total polar content in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture contents

۹۰۰ رسید. این نتایج با یافته های هو و همکاران (۲۰۱۸) مشابهت داشت.

عدد رنسیمت روغن پسته ارقام کله فوچی، رقم فندق، اکبری و آقیا رفسنجان به ترتیب ۱۲/۶۸، ۱۲/۹۵، ۱۲/۲۴ و ۱۴/۷۵ ساعت و رقم های کله فوچی و اکبری آذربایجان به ترتیب با میزان حداکثر ۱۶ و ۱۶/۴ ساعت گزارش شده است [۳]. دلیل افزایش پایداری حرارتی تیمارها با افزایش توان مایکروویو می تواند به وجود ترکیبات آنتی اکسیدانی بیش تر مرتبط باشد. نتایج آزمون های پلی فنل کل، کاروتنوئیدها (اشکال ۲ و ۳-ب) این موضوع را تأیید می نماید. علاوه بر این دلیل دیگر پایداری اکسایشی تیمارهای مورد بررسی ممکن است به حضور ترکیبات اکسیدانی با خصوصیات حمله بهتر (مقاومت حرارتی بالاتر) در توان های بالاتر در

۳-۸- شاخص پایداری اکسیداتیو

شاخص پایداری اکسیداتیو نشان دهنده حساسیت روغن به اکسایش است که عمدتاً به درجه غیر اشباعی و سطح ترکیبات آنتی اکسیدانی موجود در روغن بستگی دارد [۳]. طبق شکل ۸ پایداری اکسیداتیو تیمارهای مورد بررسی با افزایش توان مایکروویو و کاهش رطوبت دانه های پسته، افزایش پیدا کرد. به طوری که بالاترین میزان مقاومت در برابر اکسایش در این آزمون مربوط به تیمار برشته شده با توان ۹۰۰ و میزان رطوبت ۰/۵ درصد اندازه گیری شد که در مقایسه با نمونه تیمار شده با توان ۳۰۰ وات با رطوبت یکسان ۶۲ درصد افزایش نشان داد و از ۲۱/۵۴ ساعت برای نمونه تیمار شده با توان ۳۰۰ وات به ۳۴/۹۳ ساعت در توان

افزایش پایداری حرارتی تیمارها ممکن است به پایداری بیشتر ساختارهای میسلی روغن در توان های بالاتر مرتبط باشد که دلیل آن در بخش نتایج عدد آنیزیدین توضیح داده شد.

مقایسه با توان های میکروویو پائین تر باشد که قادر بودند تولید رادیکال های آلکیل جدید را از طریق انتقال اتم هیدروژن (HAT) به رادیکال های پراکسید به تعویق اندازد [۲۹]. هم چنین با توجه به اینکه آزمون رنسیمت بر اساس اندازه گیری ترکیبات فرار حاصل از اکسایش استوار است،

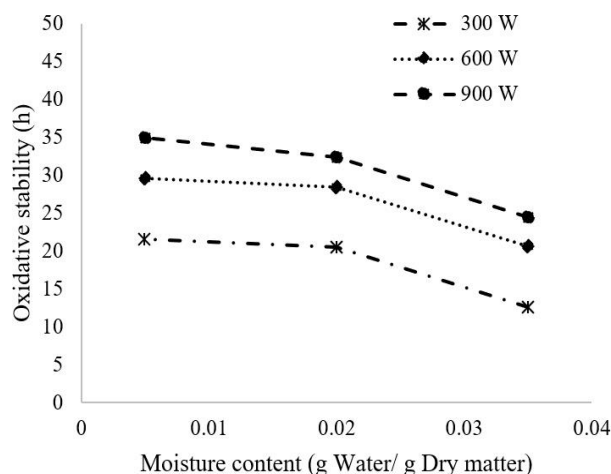


Figure 8- Oxidative stability in the oil of microwave roasted pistachio samples at different moisture contents

شاخص عدد آنیزیدین و بالاترین پایداری حرارتی به تیمار ۹۰۰ وات تعلق داشت.

۴- نتیجه گیری کلی

در این تحقیق میزان راندمان استخراج و کیفیت روغن پسته برشته شده با میکروویو در توان های ۳۰۰، ۶۰۰ و ۹۰۰ وات و محتوای رطوبتی ۰/۵، ۲ و ۳/۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که با افزایش توان میکروویو، راندمان استحصال روغن دانه پسته به طور معنی داری افزایش یافت. و بیش ترین راندمان به توان ۹۰۰ وات تعلق داشت. فنل ها، کلروفیل و کاروتنوئید اندازه گیری شده در توان های بالاتر و مقدار رطوبت پایین تر افزایش نشان دادند. در واقع افزایش توان میکروویو اثر تخریبی بر ترکیبات مذکور ندارد. بنابراین استفاده از میکروویو در تهیه روغن پسته، روغنی غنی تر از ترکیبات آنتی اکسیدانی زیست فعال خواهد بود. اگرچه با افزایش توان میکروویو، عدد پراکسید نمونه های تیمار شده افزایش یافت. اما نتایج عدد آنیزیدین و هم چنین پایداری حرارتی نشان داد که پایداری اکسایشی نمونه ها با افزایش توان میکروویو، افزایش یافته است و کمترین

۵- تشکر و قدردانی

هزینه تحقیقاتی این پژوهش از محل پژوهانه دانشگاه زابل به شماره (IR-UOZ-GR-0946) تأمین شده است.

۶-منابع

- [1] Terzo, S., Baldassano, S., Caldara, G. F., Ferrantelli, V., Lo Dico, G., Mulè, F., & Amato, A. (2019). Health benefits of pistachios consumption. *Natural Product Research*, 33(5), 715–726.
- [2] Valasi, L., Zafeiri, E. C., Thanou, I., & Pappas, C. S. (2023). Study of volatile compounds in Greek pistachio (*Pistacia vera* L. 'Aegina' cultivar) oils using Soxhlet and ultrasound assisted extraction. *Heliyon*, 9(5).
- [3] Yahyavi, F., Alizadeh-Khaledabad, M., & Azadmard-Damirchi, S. (2020). Oil quality of pistachios (*Pistacia vera* L.) grown in East Azarbaijan, Iran. *NFS Journal*, 18, 12–18.
- [4] Rabadán, A., Álvarez-Ortí, M., Gómez, R., Alvarruiz, A., & Pardo, J. E. (2017). Optimization of pistachio oil extraction regarding processing parameters of screw and hydraulic presses. *LWT-Food Science and Technology*, 83, 79–85.
- [5] Durmaz, G., & Gökmen, V. (2010). Impacts of roasting oily seeds and nuts on their extracted oils. *Lipid Technology*, 22(8), 179–182.
- [6] Asadi, S., Aalami, M., Shoeibi, S., Kashaninejad, M., Ghorbani, M., & Delavar, M. (2020). Effects of different roasting methods on formation of acrylamide in pistachio. *Food Science & Nutrition*, 8(6), 2875–2881.
- [7] Su, T., Zhang, W., Zhang, Z., Wang, X., & Zhang, S. (2022). Energy utilization and heating uniformity of multiple specimens heated in a domestic microwave oven. *Food and Bioproducts Processing*, 132, 35–51.
- [8] Shahi Chehragh, A., Raftani Amiri, Z., & Esmailzadeh Kenari, R. (2022). Investigation of the effect of microwave pretreatment on oil extraction efficiency from safflower oilseed and physicochemical properties of produced oil and meal. *Journal of Food Research*, 32(4), 103–120.
- [9] Hu, Q., He, Y., Wang, F., Wu, J., Ci, Z., Chen, L., Xu, R., Yang, M., Lin, J., & Han, L. (2021). Microwave technology: A novel approach to the transformation of natural metabolites. *Chinese Medicine*, 16, 1–22.
- [10] Hu, H., Liu, H., Shi, A., Liu, L., Fauconnier, M. L., & Wang, Q. (2018). The effect of microwave pretreatment on micronutrient contents, oxidative stability and flavor quality of peanut oil. *Molecules*, 24(1), 62.
- [11] Catalan, L., Alvarez-Ortí, M., Pardo-Giménez, A., Gomez, R., Rabadan, A., & Pardo, J. E. (2017). Pistachio oil: A review on its chemical composition, extraction systems, and uses. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 119(5), 1600126.
- [12] Ojeda-Amador, R. M., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2018). Composition and properties of virgin pistachio oils and their by-products from different cultivars. *Food Chemistry*, 240, 123–130.
- [13] Ojeda-Amador, R. M., Trapani, S., Fregapane, G., & Salvador, M. D. (2018). Phenolics, tocopherols, and volatiles changes during virgin pistachio oil processing under different technological conditions. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 120(10), 1800221.
- [14] Borello, E., & Domenici, V. (2019). Determination of pigments in virgin and extra-virgin olive oils: a comparison between two near UV-vis spectroscopic techniques. *Foods*, 8(1), 18.
- [15] Dini, A., Falahati-pour, S. K., & Hashemipour, H. (2023). Oxidation kinetic studies of virgin and solvent extracted pistachio oil under Rancimat test conditions. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 17(1), 653–663.
- [16] Shantha, N. C., & Decker, E. A. (1994). Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *Journal of AOAC International*, 77(2), 421–424.
- [17] Dini, A. (2021). Optimization of the Pistachio Roasting Process with Hot Air Using the Response Surface Methodology. *Pistachio and Health Journal*, 4(4), 4–27.
- [18] Alizadeh Khaledabad, M. (2020). Effect of roasting and microwave pre-treatments of pistachios on the yield and the quality of the extracted oil. *Journal of food science and technology (Iran)*, 17, 43–51.
- [19] Abadi, Z. D., Mortazavi, S. A., Moghimi, M., Sekhbabadi, H., & Steari, S. H. (2018). Optimization of oil extraction process from safflower seeds with microwave pavement and estimation of process parameters by artificial neural network. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 10(4).
- [20] Hojjati, M., Noguera-Artiaga, L., Wojdyło, A., & Carbonell-Barrachina, Á. A. (2015). Effects of microwave roasting on physicochemical properties of pistachios

- (Pistaciavera L.). *Food Science and Biotechnology*, 24, 1995–2001.
- [21] Hayat, K., Abbas, S., Hussain, S., Shahzad, S. A., & Tahir, M. U. (2019). Effect of microwave and conventional oven heating on phenolic constituents, fatty acids, minerals and antioxidant potential of fennel seed. *Industrial Crops and Products*, 140, 111610.
- [22] Suri, K., Singh, B., Kaur, A., Yadav, M. P., & Singh, N. (2020). Influence of microwave roasting on chemical composition, oxidative stability and fatty acid composition of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) oil. *Food Chemistry*, 326, 126974.
- [23] Suri, K., Singh, B., & Kaur, A. (2022). Impact of microwave roasting on physicochemical properties, maillard reaction products, antioxidant activity and oxidative stability of nigella seed (*Nigella sativa* L.) oil. *Food Chemistry*, 368, 130777.
- [24] Martínez, M. L., Fabani, M. P., Baroni, M. V., Huaman, R. N. M., Ighani, M., Maestri, D. M., Wunderlin, D., Tapia, A., & Feresin, G. E. (2016). Argentinian pistachio oil and flour: a potential novel approach of pistachio nut utilization. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 2260–2269.
- [25] Ali, M. A., Nargis, A., Othman, N. H., Noor, A. F., Sadik, G., & Hossen, J. (2017). Oxidation stability and compositional characteristics of oils from microwave roasted pumpkin seeds during thermal oxidation. *International Journal of Food Properties*, 20(11), 2569–2580.
- [26] Budilarto, E. S., & Kamal-Eldin, A. (2015). The supramolecular chemistry of lipid oxidation and antioxidation in bulk oils. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 117(8), 1095–1137.
- [27] Kheto, A., Joseph, D., Islam, M., Dhua, S., Das, R., Kumar, Y., Vashishth, R., Sharanagat, V. S., Kumar, K., & Nema, P. K. (2022). Microwave roasting induced structural, morphological, antioxidant, and functional attributes of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd). *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e16595.
- [28] Abbas Ali, M., Hadi Bin Mesran, M., Abd Latip, R., Hidayu Othman, N., & Nik Mahmood, N. A. (2016). Effect of microwave heating with different exposure times on the degradation of corn oil. *International Food Research Journal*, 23(2).
- [29] Tsimogiannis, D. I., & Oreopoulou, V. (2004). Free radical scavenging and antioxidant activity of 5,7,3',4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 523–528.



Scientific Research

Effect of microwave roasting pretreatment on extraction efficiency and quality characteristics of pistachio oil

B. Farajpour¹, S Soleimani Fard^{2*}, S. M. Ahmadi³, S. Niknia⁴, A. Dini⁵

- 1- MSc student of department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, P.O. Box 98615-538, Zabol, Iran.
- 2- *Ph.D., Assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
- 3- Ph.D., assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
- 4- Ph.D., assistant professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
- 5- Ph.D., Assistant Professor, Department of Food Science and Industry, Head of Food, Beverage, Cosmetic and Health Products Supervision Management, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran.

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/1/17

Accepted: 2024/7/11

Keywords:

Thermal stability,
Oxidation,
Anisidine,
Pistachio oil.

DOI: 10.22034/FSCT.22.162.58.

*Corresponding Author E-
s.soleimanifard@uoz.ac.ir

Pistachio oil is an oxidation-resistant oil known for its healing properties. The application of a microwave pretreatment process under optimal conditions can enhance both the efficiency and quality of the extracted oil. This process was conducted using microwave powers of 300, 600, and 900 watts, along with three levels of moisture content (0.5%, 2%, and 3.5%). The oil extraction efficiency, as well as qualitative parameters such as polyphenol content, chlorophyll levels, carotenoid concentrations, DPPH inhibition capacity, peroxide value, anisidine value, total polar compound content, and thermal stability, were measured. The data were analyzed using split-plot testing within a completely randomized block design, employing SAS software version 9.4. Mean values were compared using Duncan's method at a 5% significance level. The results indicated that oil extraction efficiency increases with both microwave power and moisture content, as well as with the levels of polyphenols, chlorophyll, carotenoids, and the total amount of polar compounds. Additionally, DPPH radical inhibition activity significantly increased with higher power and lower humidity. Furthermore, the findings revealed that while increasing power and decreasing humidity led to a rise in the peroxide value in the examined treatments, the levels of anisidine and thermal stability exhibited a significant decrease and increase, respectively. These results suggest enhanced oxidative stability of pistachio oil extracted at higher microwave powers. The highest thermal stability index was observed in samples treated with 900 watts of power and 0.5% moisture content.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بهینه‌سازی خصوصیات فیزیکوشیمیایی، بافتی و حسی ماست کم‌چرب با افزودن صمغ دانه شنبلیله و

ریحان و بررسی تاثیر آن بر زنده‌مانی بیفیدوباکتریوم بیفیدوم

سینا خادمی دهکردی^۱، مریم جعفری^{۱،۲*}

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

۲- مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۷

کلمات کلیدی:

ماست کم‌چرب،

صمغ دانه ریحان،

صمغ دانه شنبلیله،

پروبیوتیک

استفاده از جایگزینهای چربی با خواص پری‌بیوتیکی از جمله صمغ دانه‌ها می‌تواند راهکار مناسبی برای بهبود ویژگیهای کیفی محصولات کم‌چرب باشد. در این پژوهش از روش سطح پاسخ با طرح مرکب مرکزی به منظور مطالعه اثر صمغ دانه ریحان در پنج سطح (۰-۰/۲ درصد) و شنبلیله (۰-۰/۲ درصد) بر خواص فیزیکوشیمیایی، بافتی و ارگانولپتیکی ماست کم‌چرب استفاده گردید. نتایج نشان داد که با افزایش میزان صمغها در فرمولاسیون ماست کم‌چرب میزان pH کاهش یافت. میزان آب‌اندازی ماست کم‌چرب با افزودن صمغ دانه ریحان و شنبلیله کاهش یافت در حالی که ظرفیت نگهداری آب و ویسکوزیته افزایش پیدا کرد. بر پایه نتایج ارزیابی حسی نیز بیشترین امتیاز پذیرش کلی در تیمارهای حاوی مقادیر میانی صمغها کسب گردید. نتایج بهینه‌سازی با طرح مرکب مرکزی نشان داد که بهترین نمونه با خواص فیزیکوشیمیایی و حسی مطلوب زمانی حاصل میشود که فرمولاسیون ماست شامل ۰/۱۴ درصد صمغ دانه ریحان و ۰/۱۳ درصد صمغ دانه شنبلیله باشد. در قسمت دوم پژوهش اثر افزودن مقادیر بهینه صمغهای ذکر شده بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و ویژگیهای مختلف ماست کم‌چرب طی دوره نگهداری مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزودن باکتری پروبیوتیک و افزایش زمان نگهداری میزان pH نمونه‌ها کاهش یافت در حالی که اسیدیته افزایش پیدا کرد. یافته‌ها حکایت از آن داشت که در طی دوره نگهداری میزان آب‌اندازی و ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها افزایش پیدا کرد در حالی که افزودن باکتری پروبیوتیک اثر قابل توجهی بر این پارامترها نداشت. استفاده از مقادیر بهینه صمغ دانه ریحان و شنبلیله اثر مثبتی بر زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک داشت. به طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده از صمغ دانه ریحان و شنبلیله به عنوان جایگزین چربی در فرمولاسیون ماست کم‌چرب پروبیوتیک می‌تواند راهکاری جهت بهبود خواص کیفی ماست و افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک باشد.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.73.

* مسئول مکاتبات:

jafari.iaushk@yahoo.com

۱-مقدمه

فرآورده‌های لبنی، از اجزای اصلی سبد غذایی مصرف‌کنندگان به شمار می‌آیند. با این حال، مقدار زیاد چربی در این محصولات، باعث کاهش محبوبیت آنها در بین مصرف‌کنندگان آگاه به نقش تغذیه در سلامت شده است. شواهد علمی بسیاری وجود داد که مصرف زیاد و/یا طولانی محصولات پرچرب، ریسک ابتلا به بیماریهایی مانند چاقی مفرط، دیابت نوع ۲، فشار خون بالا و بیماریهای قلبی-عروقی را افزایش می‌دهد [۱]. از این رو، تولید انواع کم‌چرب این محصولات، یکی از اولویتهای اصلی تکنولوژیست‌های صنایع غذایی طی چند دهه اخیر بوده است. با این حال، به دلیل نقش کلیدی چربی شیر در شکل‌گیری بافت و عطر و طعم فرآورده‌های لبنی، تولید فرآورده‌های لبنی کم‌چرب از جمله ماست با چالش‌های جدی روبرو می‌باشد [۲]. ماست یکی از پرفرودارترین محصولات لبنی است که در اثر تخمیر لاکتیکی شیر توسط باکتریهای لاکتیک اسید گرمادوست شکل می‌گیرد. این محصول لبنی اثرات سلامت‌بخش متعددی از قبیل اثر ضد سرطانی، کاهش کلسترول خون، ضد حساسیت، بهبود دسترسی زیستی کلسیم و سایر مواد مغذی، کنترل عفونتهای گوارشی، تحریک سیستم ایمنی و طول عمر دارد. با کاهش چربی در ماست، بافت و طعم ماست‌های کم‌چرب تحت تاثیر قرار می‌گیرد که مورد استقبال مصرف‌کنندگان قرار نمی‌گیرد [۳]. در طی سالهای گذشته استفاده از جایگزین‌های چربی به منظور بهبود ویژگیهای کیفی ماست پیشنهاد گردیده است. جایگزین مطلوب چربی علاوه بر کاستن چربی و کالری، باید تمام ویژگیهای فرآورده پرچرب اولیه را حفظ کند [۴]. هیدروکلوئیدها از جمله جایگزین‌های چربی می‌باشند که در سالهای اخیر بسیار مورد استفاده قرار گرفته‌اند. برخی از این ترکیبات علاوه بر این که نقش جایگزین چربی را دارند به عنوان یک ترکیب پری‌بیوتیک شناخته می‌شوند. پری‌بیوتیکها، فیبرهای غذایی کربوهیدراتی و غیرقابل هضم هستند که سبب تحریک رشد و تکثیر

باکتریهای مانند بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیلوس در روده بزرگ شده و در نتیجه سبب بهبود سلامت میزبان می‌شوند [۵]. از جمله هیدروکلوئیدهای بومی ایران می‌توان به صمغ دانه ریحان و صمغ دانه شنبلیله اشاره کرد که در سالهای اخیر مورد توجه قرار گرفته‌اند.

شنبلیله یکی از قدیمی‌ترین و محبوب‌ترین گیاهان دارویی از تیره بقولات است که گونه‌های مختلف آن در بسیاری از نقاط جهان از جمله هند، آسیای میانه و شمال آفریقا رشد می‌کند. گالاکتومانان دانه شنبلیله مشابه گالاکتومانان دانه لوبیای لوکاست، گوار و تارا می‌باشد و عمدتاً شامل گالاکتوز و مانوز است [۶]. گالاکتومانانها در مواد غذایی، دارویی و آرایشی و بهداشتی کاربردهای گوناگونی همچون پرکننده و ماده زمینه در تولید قرص، ماده پوشاننده در فرآیند ریزپوشانی، تولید فیلم بسته‌بندی، افزایش قوام و پایدارکننده در سیستمهای امولسیون و سوسپانسیون و عامل امولسیون کننده، اصلاح کننده بافت و ژل کننده دارند. آنها همچنین به عنوان فیبر غذایی و جایگزین چربی قابل استفاده هستند [۷]. گیاه ریحان با نام علمی *Ocimum basilicum L* یکی از گیاهان بومی ایران است که به عنوان یک گیاه دارویی شناخته شده و مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸]. وقتی که دانه ریحان در آب خیسانده می‌شود به دلیل وجود مواد پلی‌ساکاریدی، پریکارپ بیرونی آن متورم شده و به یک ماده ژلاتین مانند تبدیل می‌شود. هیدروکلوئید استخراج شده از دانه ریحان حاوی ساختاری هتروپلی‌ساکاریدی شامل گلوکومانان، زایلان و گلوکان است. این هیدروکلوئید خاصیت امولسیون و پایداری خوبی دارد که پتانسیل کاربردی آن در مواد غذایی را افزایش داده است [۹-۱۰]. صمغ دانه ریحان یک هیدروکلوئید فعال سطحی است که خواص عملکردی خیلی خوب در قیاس با برخی از صمغهای تجاری دارد [۸]. بررسی‌ها نشان می‌دهد که صمغ دانه ریحان و شنبلیله از پتانسیل بالایی جهت جایگزینی با چربی در ماست کم‌چرب برخوردار هستند. با این وجود، تا کنون پژوهشی در ارتباط

و رطوبت در آون با دمای ۳۵ درجه سانتیگراد خشک شد [۱۲].

۲-۲-۳- تهیه ماست کمچرب

به منظور تولید ماست کمچرب، شیر کمچرب (۱/۵ درصد چربی) بر روی حمام بخار قرار داده شد و بعد از رسیدن به دمای ۴۵ درجه سانتیگراد، مقادیر مختلف صمغ دانه شنبلیله و ریحان (طبق طرح آزمایشات) به شیر افزوده شده و تا اختلاط کامل همزده شد (لازم به ذکر است ماده خشک با استفاده از افزودن شیر خشک تا مقدار ۱۲ درصد استاندارد شد). هر کدام از تیمارها در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه پاستوریزه شد و بعد از خنک شدن تا دمای ۴۲ درجه سانتیگراد، استارتر تجاری (در این مرحله باکتری پروبیوتیک به میزان ۰/۲ گرم بر لیتر در تیمارهای پروبیوتیک اضافه شد) به نمونه افزوده شد. سپس نمونه‌ها به انکوباتور ۴۲ درجه سانتیگراد منتقل شدند و پس از رسیدن به pH = ۴/۶ نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایشات (روز ۱۱ پس از تولید) به یخچال ۵ درجه سانتیگراد انتقال داده شدند [۱۳]. در مرحله دوم پژوهش نمونه ماست کمچرب حاوی مقادیر بهینه صمغها تولید و ویژگیهای مختلف آن در طی زمان نگهداری (۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تولید) با نمونه کمچرب حاوی پروبیوتیک، ماست کمچرب (بدون صمغ) و ماست کمچرب پروبیوتیک (بدون صمغ) مقایسه شد.

۲-۲-۴- آزمون‌های فیزیکوشیمیایی

۲-۲-۴-۱- اندازه‌گیری pH و اسیدیته

اندازه‌گیری pH با استفاده از دستگاه pH متر دیجیتالی (Metrohm مدل ۸۲۷، ساخت سوئیس) انجام گرفت. همچنین اسیدیته قابل تیتراسیون نمونه‌ها پس از مخلوط کردن ۱۰ گرم از نمونه‌ها با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر و تیتراسیون با استفاده از سود ۰/۱ نرمال و ۰/۵ میلی‌لیتر معرف فنل فتالین تا ظاهر شدن رنگ صورتی تعیین شد [۱۴].

۲-۲-۴-۲- اندازه‌گیری آب‌اندازی

حدود ۲۵ گرم از نمونه ماست بر روی کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۳) ریخته شد و بر روی قیف‌های شیشه‌ای قرار گرفت. مقدار سرم خارج شده پس از ۳ ساعت از طریق

با تولید ماست کمچرب با استفاده از صمغ دانه ریحان و شنبلیله به عنوان جایگزین چربی صورت نگرفته است. از این رو، هدف پژوهش حاضر، بهینه‌سازی فرمولاسیون ماست کمچرب با بهره‌گیری از صمغ دانه ریحان و شنبلیله به عنوان جایگزینی چربی و همچنین بررسی اثر افزودن صمغ‌های ذکر شده بر زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم و ویژگیهای مختلف ماست کمچرب طی دوره نگهداری می‌باشد.

۲- مواد و روشها

۲-۱- مواد مورد استفاده

دانه‌های ریحان و شنبلیله از فروشگاه‌های گیاهان دارویی معتبر، شیر از شرکت پگاه تهران، استارتر ماست از شرکت دنیسکو دانمارک و باکتری پروبیوتیک (بیفیدوباکتریوم بیفیدوم BB12) از شرکت کریستین هانسن دانمارک تهیه شد. همچنین تمامی مواد شیمیایی مورد استفاده در این پژوهش از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

۲-۲- روشها

۲-۲-۱- استخراج صمغ دانه ریحان

دانه ریحان به نسبت ۱ به ۵۰ در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد و pH برابر با ۷ با آب دیونیزه مخلوط شد. پس از مدت ۲۰ دقیقه، مخلوط حاصله به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. صمغ حاصله با استفاده از آون در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد خشک شده و در بسته‌بندیهای غیر قابل نفوذ به رطوبت نگهداری شد [۱۱].

۲-۲-۲- استخراج صمغ دانه شنبلیله

پس از تمیز کردن دانه شنبلیله، توسط آسیاب خرد و از الک با مش ۳۰ عبور داده شد. به منظور استخراج صمغ دانه، آب به نسبت ۴۵ به ۱ به دانه افزوده شد. مخلوط آب و دانه با استفاده از همزن با سرعت ثابت ۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد مخلوط شد. پس از طی زمان لازم (۳ ساعت) دانه‌ها از محلول هیدروکلئیدی جدا شد. محلول حاصل پس از نگهداری در دمای یخچال به مدت ۲۴ ساعت با افزودن استون به میزان ۳ برابر حجم رسوب داده شد. صمغ حاصل به وسیله صافی جداسازی و به منظور حذف استون

نیروی وزنی بر حسب درصد آب جدا شده محاسبه گردید [۱۵].

۲-۲-۴-۳- ظرفیت نگهداری آب

حدود ۲۰ گرم از نمونه‌های ماست داخل فالکن ریخته شد و به مدت ۱۰ دقیقه در $1250 \times g$ سانتریفیوژ شد. مقدار سرم خارج شده بعد از ۱۰ دقیقه توزین و سپس ظرفیت نگهداری آب بر حسب گرم بر کیلوگرم محاسبه شد [۱۵].

۲-۲-۴-۴- اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته نمونه‌های ماست با استفاده از دستگاه ویسکومتر در دمای ۴ درجه سانتیگراد اندازه‌گیری شد. از اسپیندل شماره ۵ با سرعت برشی ۶۰ دور بر دقیقه استفاده شد و عدد مربوط به ویسکوزیته بعد از ۳۰ ثانیه قرائت شد [۱۶].

۲-۲-۵- شمارش بیفیدوباکتریوم بیفیدوم

برای شمارش باکتری پروبیوتیک بیفیدوباکتریوم بیفیدوم، بعد از تهیه سری رقت‌ها توسط آب پپتون ۰/۱ درصد، در محیط RCA که فقط اجازه رشد بیفیدوباکتریوم را می‌دهد، به روش پورپلیت کشت داده شد و گرمخانه‌گذاری تحت شرایط بی هوازی (جار بی هوازی حاوی گاز پک) در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۷۲ ساعت انجام شد [۱۷].

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j + \epsilon_{ij} \quad \text{رابطه (۱)}$$

پروبیوتیک نمونه‌های مختلف در طی زمان نگهداری از طرح کاملاً تصادفی و نرم افزار Version SAS ۹.۱ استفاده شد. از آزمون دانکن برای مقایسه میانگین ویژگیهای مختلف استفاده شد و مقادیر در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ مورد ارزیابی قرار گرفت. کلیه اندازه‌گیریها در سه تکرار انجام گرفت. همچنین برای ترسیم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۳ استفاده شد.

در رابطه مذکور Y پاسخ و β_{ii} ، β_{ij} و β_0 ضرایب رگرسیونی به ترتیب برای عرض از مبدا، اثرات خطی، اثرات درجه دوم و اثرات متقابل بوده و X_i و X_j متغیرهای مستقل می‌باشند. تحلیل سطح پاسخ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Design Expert نسخه ۸ انجام شد. همچنین در مرحله دوم پژوهش برای مقایسه ویژگیهای فیزیکوشیمیایی، ارگانولپتیکی و زنده‌مانی باکتریهای

Table 1 Uncoded and coded levels of independent variables used in the RSM design

Independent variable	Symbols	Range and levels				
		-1	-0.5	0	+0.5	+1
Basil seed gum (%)	X ₁	0	0.05	0.10	0.15	0.20
Fenugreek seed gum (%)	X ₂	0	0.05	0.10	0.15	0.20

۳-۱ pH و اسیدیته

۳- نتایج و بحث

می‌یابد [۱۹]. در تشابه با نتایج این پژوهش دانکر و همکاران (۲۰۰۷) و حسن و همکاران (۲۰۱۵) گزارش کردند که با افزایش صمغ گوار و موسیلاژ دانه شاهی میزان pH ماست کاهش پیدا کرده و بر مقدار اسیدیته افزوده می‌شود [۲۰-۲۱]. همچنین نتایج میلانی و همکاران (۲۰۱۱) در ارتباط با افزودن صمغ گوار به ماست منجمد و الماسی و همکاران (۱۴۰۰) در رابطه با افزودن صمغ ریحان به ماست کم‌چرب در تشابه با نتایج این پژوهش بود [۲۲-۲۳]. با توجه به آنالیز داده‌ها، مدل‌های نهایی به دست آمده برای pH و اسیدیته به موازات تغییر اجزای فرمولاسیون در ماست کم‌چرب به صورت زیر (رابطه ۲ و ۳) تعیین شد. در واقع پارامترهای مؤثر در مدل به دست آمده با توجه به آنالیز واریانس انجام شده، انتخاب و در مدل نهایی قرار داده شدند.

$$Y_1 = 4.27 - 0.09X_1 - 0.06X_2$$

$$Y_2 = 0.92 + 0.08X_1 + 0.07X_2$$

بررسی یافته‌های آماری اثر صمغ دانه شنبلیله و ریحان بر میزان pH و اسیدیته نمونه‌های ماست کم‌چرب نشان داد که هر دو متغیر اثر خطی معنی‌داری ($p < 0.05$) بر pH و اسیدیته ماست کم‌چرب دارند (جدول ۲). در تفسیر نتایج جدول تجزیه واریانس، مقدار مثبت ضریب رگرسیونی نشان‌دهنده تاثیر افزایشی متغیر مستقل بر روی پارامتر مورد بررسی است در حالی که ضریب منفی تاثیر مخالفی دارد. بر این اساس با افزایش میزان صمغ دانه ریحان و شنبلیله در فرمولاسیون ماست کم‌چرب میزان اسیدیته افزایش می‌یابد در حالی که pH کاهش یافت (جدول ۲). دلیل افزایش اسیدیته و کاهش pH در اثر افزودن صمغ دانه شنبلیله و ریحان (شکل ۱) را می‌توان به اثر پری‌بیوتیکی این صمغ‌ها نسبت داد که موجب رشد بیشتر استارترهای ماست گردیده و در نتیجه مقدار اسید تولیدی افزایش و به دنبال آن اسیدیته افزایش و pH کاهش

رابطه (۲)

رابطه (۳)

که در این رابطه Y_1 میزان pH، Y_2 اسیدیته، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله می‌باشند.

Table 2 Regression coefficients and analysis of variance (ANOVA) for predicted models for different response

Source	pH		Acidity (%)		Syneresis (%)		WHC (%)		Viscosity (Cp)	
	Coefficient	P value	Coefficient	P value	Coefficient	P value	Coefficient	P value	Coefficient	P value
Constant	4.27	<0.0001	0.92	<0.0001	14.27	0.0020	59.45	<0.0001	3691	<0.0001
Linear										
X_1	-0.09	<0.0001	0.08	<0.0001	-5.23	0.0016	9.30	<0.0001	1165	<0.0001
X_2	-0.06	<0.0001	0.07	<0.0001	-4.64	0.0031	7.71	<0.0001	968.8	<0.0001
Interaction										
X_{12}	0.002	0.588	0.015	0.128	-2.65	0.0489	2.26*	0.0014	142.5	0.0318
Quadratic										
X_{11}	-0.028	0.155	0.012	0.753	3.02	0.5230	-6.13	0.0113	-211	0.3604
X_{22}	-0.008	0.651	-0.008	0.816	2.32	0.6213	-3.53	0.0904	-205	0.3734
R^2	0.9907	-	0.9650	-	0.9024	-	0.9940	-	0.9827	-
R^2 -adjust	0.9840	-	0.9400	-	0.8327	-	0.9897	-	0.9875	-
Lack of fit	-	0.398	-	0.392	-	0.272	-	0.073	-	0.207
CV	0.21	-	1.90	-	13.79	-	1.58	-	3.00	-

X_1 & X_2 are Basil seed gum and Fenugreek seed gum, respectively.

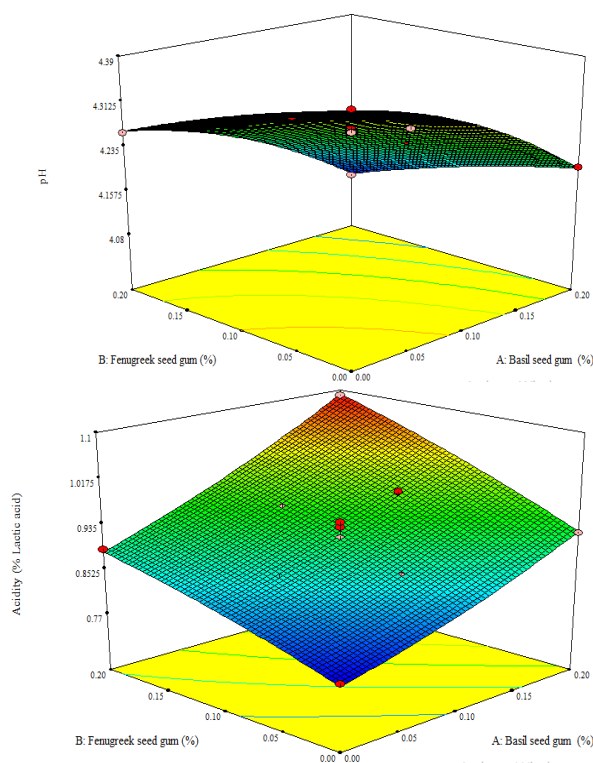


Fig 1 Response surface plots for interaction effects of gums on pH and acidity of low-fat yogurt

۳-۲- آب‌اندازی

آب‌اندازی به ظهور سرم یا آب پنیر در سطح ماست گفته می‌شود که یکی از معایب مهم ماست می‌باشد. آب‌اندازی به دلیل چروکیدگی ساختار سه‌بعدی شبکه پروتئینی ماست رخ می‌دهد که منجر به کاهش قدرت اتصال پروتئین‌های آب پنیر و خروج آن از محصول می‌گردد [۲۴]. یافته‌های آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف صمغ دانه ریحان و شنبلیله بر میزان آب‌اندازی ماست کم‌چرب نشان می‌دهد که اثرات خطی متغیرهای ذکر شده و همچنین اثر متقابل آنها بر آب‌اندازی معنی‌دار ($p < 0.05$) بود (جدول ۲). بررسی نمودار رویه سه بعدی (شکل ۲) حکایت از آن دارد که با افزایش صمغ دانه ریحان و شنبلیله میزان آب‌اندازی کاهش پیدا می‌کند که به علت ایجاد شبکه ژلی متراکم‌تر به دلیل حضور هیدروکلوئیدها در فرمولاسیون ماست و خاصیت جذب آب این هیدروکلوئیدها می‌باشد. در راستای این نتایج

کریم و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که افزودن اینولین موجب کاهش آب‌اندازی در ماست شد. این پژوهشگران نیز در توجیه نتایج خود اعلام کردند که با افزودن اینولین میزان ماده خشک و قوام ماست افزایش یافت، از طرفی دیگر اینولین باعث تشکیل شبکه ژلی می‌شوند و جذب سریع آب توسط این شبکه ژلی اتفاق می‌افتد که در نتیجه میزان آب‌اندازی کاهش می‌یابد [۲۵]. نتایج این پژوهش در تشابه با نتایج غیبی و اشرفی (۱۳۹۸) در بررسی اثر افزودن اینولین و صمغ دانه به بر میزان آب‌اندازی ماست کم‌چرب بود [۲۶]. همچنین الماسی و همکاران (۱۴۰۰) نیز گزارش کردند افزودن صمغ ریحان موجب کاهش آب‌اندازی ماست کم‌چرب می‌شود [۲۳]. در نهایت عبارات غیر معنی‌دار ($p > 0.05$) از مدل حذف شدند و رابطه زیر برای آب‌اندازی ماست به دست آمد.

$$Y = 14.27 - 5.23X_1 - 4.64X_2 - 2.65X_1X_2 \quad \text{رابطه (۴)}$$

که در این رابطه Y میزان آباندازی، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله میباشند.

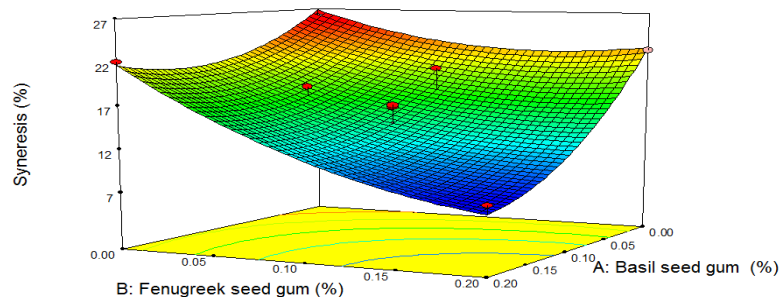


Fig 2 Response surface plots of interaction effects of gums on syneresis of low-fat yogurt

افزایش میزان ظرفیت نگهداری آب ماست در نتیجه افزودن صمغها را می توان به افزایش مقدار ماده خشک در ماست و ایجاد ساختمان متراکم تر، پایدار شدن شبکه ژلی و تخلخل کمتر نسبت داد که باعث افزایش قابلیت نگهداری آب در ماست می شود [۲۸]. در تشابه با نتایج این پژوهش لاجوردی و همکاران (۱۳۹۹) گزارش کردند که افزودن دو صمغ لوییای خرنوب و زانتان موجب افزایش ظرفیت نگهداری آب ماست می شود [۲۹]. در پژوهشی دیگر گانتومور و همکاران (۲۰۲۴) نیز گزارش کردند که با افزودن پروتئین آب پنیر اصلاح شده، میزان ظرفیت نگهداری آب ماست کمچرب افزایش یافت [۳۰]. رابطه ۵، مدل نهایی به دست آمده برای توضیح تغییرات ظرفیت نگهداری آب ماست کمچرب بر اساس اجزای فرمولاسیون را نشان میدهد.

$$Y = 59.45 + 9.30X_1 + 7.71X_2 + 2.26X_1X_2 - 6.13X_1^2$$

$$Y = 59.45 + 9.30X_1 + 7.71X_2 + 2.26X_1X_2 - 6.13X_1^2$$

رابطه (۵)

که در این رابطه Y میزان ظرفیت نگهداری آب، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله میباشند.

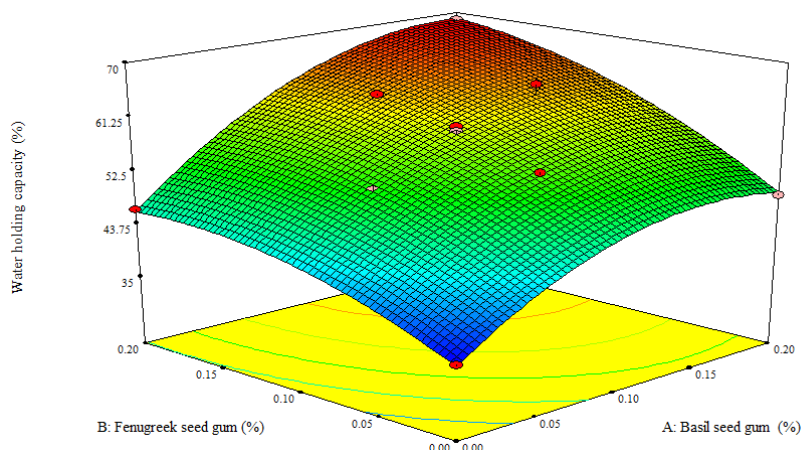


Fig 3 Response surface plots for interaction effects of gums on WHC of low-fat yogurt

۳-۴- ویسکوزیته

زنجیره‌های پلیمری ترکیبات قوام دهنده ایجاد شده و در سیستم‌های با ویسکوزیته بالا مولکولهای موجود در شبکه ژلی ایجاد شده با یکدیگر تماس بیشتری پیدا می‌کنند و تحرک ذرات فاز پراکنده کاهش پیدا می‌کند. هیدروکلوئیدها شبکه‌های منسجم و متراکم ایجاد کرده و موجب عدم تحرک و درگیر شدن فاز پراکنده در فاز سوسپانسیون می‌شوند [۳۲]. در تطابق با نتایج این پژوهش الماسی و همکاران (۱۴۰۰) گزارش کردند افزودن صمغ ریحان موجب افزایش ویسکوزیته ماست کم‌چرب می‌شود [۲۳]. در همین راستا کیم و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که با افزودن صمغ دانه ریحان به فرمولاسیون ماست کم‌چرب میزان ویسکوزیته افزایش پیدا میکند [۳۳]. مدل نهایی به دست آمده برای ویسکوزیته در رابطه ۶ نشان داده شده است.

$$Y = 3691.29 + 1165.922X_1 + 968.89X_2 + 142.5X_1X_2$$

$$Y = 3691.29 + 1165.922X_1 + 968.89X_2 + 142.5X_1X_2$$

$$Y = 59.45 + 9.30X_1 + 7.71X_2 + 2.26X_1X_2 - 6.13X_1^2$$

رابطه (۶)

نتایج حاصل از آنالیز ویسکوزیته نمونه‌های ماست کم‌چرب نشان داد که هر دو متغیر صمغ دانه ریحان و شنبلیله اثر خطی و متقابل معنی‌داری ($p < 0.05$) بر ویسکوزیته ماست کم‌چرب دارند (جدول ۲). ویسکوزیته تحت تاثیر عوامل متعددی مانند ترکیبات تشکیل دهنده به ویژه چربی و پایدارکننده‌ها، نوع و کیفیت اجزاء، غلظت و دما می‌باشد [۳۱]. بررسی نمودار سه بعدی (شکل ۴) نشان می‌دهد که افزایش صمغ دانه ریحان و شنبلیله سبب افزایش ویسکوزیته ماست کم‌چرب شده است. در این رابطه می‌توان گفت که هیدروکلوئیدها با باند کردن آب آزاد موجود در نمونه باعث افزایش ویسکوزیته می‌شوند. ساها و باتاچاریا (۲۰۱۰) گزارش کردند که افزایش ویسکوزیته از تعامل بین

که در این رابطه Y میزان ویسکوزیته، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله می‌باشند.

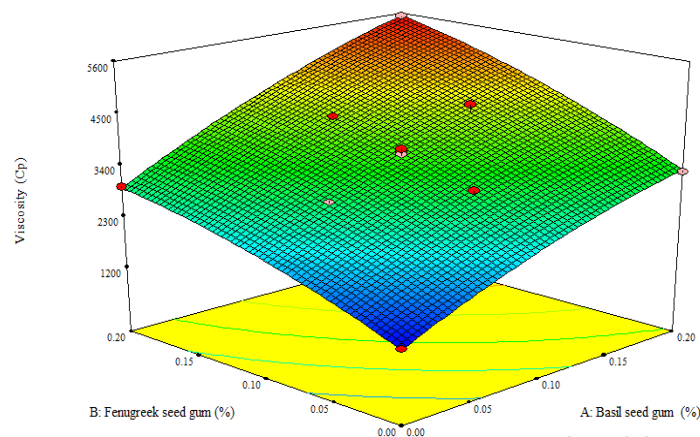


Fig 4 Response surface plots for interaction effects of gums on viscosity of low-fat yogurt

در تشابه با نتایج این پژوهش الماسی و همکاران (۱۴۰۰) گزارش کردند که افزودن صمغ دانه ریحان باعث بهبود ویژگیهای حسی شده است که علت آن می‌تواند قوام کم آن در طول بلع و کاهش اصطکاک با دهان به دلیل جذب آب بالا و حالت ژلهای ایجاد شده در بافت باشد [۲۳]. همچنین توکلیپور و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیان کردند که امتیاز طعم ماست کمچرب با افزودن نشاسته ذرت اصلاح شده، افزایش مییابد. [۳۴] رابطه ۷ مدل نهایی به دست آمده برای مقبولیت عطر و طعم را نشان میدهد:

$$Y_1 = 3.90 + 0.26X_1 + 0.14X_2$$

رابطه (۷)

که در این رابطهها Y_1 مقبولیت عطر و طعم، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله میباشند.

Table 3 Regression coefficients and analysis of variance for predicted models for different responses

Source	Color (1-5)		Flavor (1-5)		Texture (1-5)		Overall acceptability	
	Coefficient	P value	Coefficient	P value	Coefficient	P value	Coefficient	P value
Constant	3.91	0.2436	3.90	0.0067	3.97	<0.0001	4.01	<0.0001
Linear								
X_1	-0.022	0.6756	0.26	0.0023	-0.17	0.0122	-0.29	0.0125
X_2	-0.11	0.0654	0.14	0.0452	-0.12	0.0435	-0.22	0.0371
Interaction								
X_{12}	0.000	1.00	-0.04	0.5233	-0.12	0.0495	-0.15	0.1463
Quadratic								
X_{11}	-0.38	0.1251	-0.19	0.4656	-1.87	<0.0001	-1.05	0.0252
X_{22}	0.42	0.0967	-0.11	0.6733	-1.07	0.0015	-1.85	0.0016
R^2	0.5542	-	0.8603	-	0.9965	-	0.9893	-

R ² -adjust	0.2358	-	0.7605	-	0.9940	-	0.9817	-
Lack of fit	-	0.0174	-	0.1191	-	0.7643	-	0.5583
CV	2.75	-	3.14	-	3.58	-	6.10	-

X₁ & X₂ are Basil seed gum and Fenugreek seed gum, respectively.

در نتیجه بهبود قوام ماست شدند. در تشابه با این نتایج رادی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که استفاده از نشاسته گندم اصلاح شده در فرمولاسیون ماست کمچرب موجب بهبود پذیرش بافت محصول در بین مصرفکنندگان میشود [۳۵]. در همین راستا کیم و همکاران (۲۰۲۰) نیز اثر مثبت افزودن صمغ دانه ریحان را بر میزان امتیاز بافت ماست کمچرب گزارش کردند [۳۳]. شایان ذکر است در غلظتهای بالای صمغ میزان مقبولیت بافت در بین پانلیستها به گونه قابل توجهی کاهش یافت که این موضوع احتمالاً به دلیل ویسکوزیته بالای نمونههای حاوی مقادیر بالای صمغها باشد که بافت ماست را به گونه منفی تحت تاثیر قرار داده و مورد قبول مصرف کنندگان واقع نمیگردد. رابطه ۸ مدل نهایی به دست آمده برای مقبولیت بافت را نشان میدهد:

$$Y_2 = 3.97 - 0.17X_1 - 0.12X_2 - 0.12X_1X_2 - 1.87X_1^2 - 1.07X_2^2 \quad \text{رابطه (۸)}$$

در مواد غذایی ژل مانند از خصوصیات مهم است که بر سایر فاکتورها تاثیر میگذارد. صمغها به علت جذب آب موجب استحکام بافت ماست میشوند و احساس دهانی مطلوب، شبیه به چربی ایجاد میکنند [۳۶]. به همین دلیل است که ارزیابها امتیاز پذیرش کلی بیشتری به نمونههای حاوی حدود میانی صمغها داده‌اند. کاهش پذیرش کلی نمونهها در غلظتهای بالای صمغ احتمالاً به دلیل اثر منفی صمغ در غلظتهای بالا بر بافت ماست میباشد که از دید پانلیستها مورد استقبال قرار نمیگیرد. این نتایج در تشابه با یافتههای نوروزی و همکاران (۱۴۰۰) در بررسی اثر مقادیر مختلف صمغ دانه بالنگو بر پذیرش کلی ماست کمچرب در بین مصرفکنندگان بود [۳۷]. دلیلی و همکاران (۱۳۹۶) نیز تاثیر مثبت موسیلاژ بامیه و صمغ گوار را بر ویژگی‌های حسی ماست کمچرب گزارش کردند [۱۹]. رابطه ۹ مدل نهایی به دست آمده برای پذیرش کلی را نشان میدهد:

$$Y_3 = 4.01 - 0.29X_1 - 0.22X_2 - 1.05X_1^2 - 1.85X_2^2 \quad \text{رابطه (۹)}$$

3-5-2- مقبولیت بافت

نتایج آماری (جدول ۳) اثر غلظتهای مختلف صمغ دانه ریحان و شنبلیله بر مقبولیت بافت ماست کمچرب نشان داد که متغیرهای ذکر شده اثر معنیداری ($p < 0.05$) بر مقبولیت بافت دارند. همچنین اثر متقابل متغیرها و اثرات درجه دوم آنها نیز از نقطه نظر آماری معنیدار بود ($p < 0.05$). بررسی نمودار سه‌بعدی (شکل ۴) مقبولیت بافت ماست کمچرب از دید پانلیستها نشان میدهد که افزایش غلظت صمغ دانه ریحان و شنبلیله اثر دوگانه‌ای بر میزان مقبولیت بافت داشته است و بیشترین امتیاز مقبولیت بافت مربوط به تیمارهای حاوی حدود میانی صمغها بود. صمغها به دلیل خاصیت پلیمری و هیدروکلوئیدی باعث افزایش میزان جذب آب و

که در این رابطه‌ها Y_2 مقبولیت بافت، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله میباشد.

3-5-3- پذیرش کلی

بررسی یافتههای ارزیابی پذیرش کلی ماست کمچرب (جدول ۳) نشان میدهد که هر دو متغیر مستقل اثر معنیداری بر پذیرش کلی داشتند. همچنین اثرات درجه دوم آنها نیز معنیدار بود ($p \geq 0.05$). بررسی نمودار سه‌بعدی (شکل ۴) حکایت از آن دارد که افزایش میزان صمغها اثر دوگانه‌ای بر پذیرش کلی ماست کمچرب داشته است و بیشترین امتیاز پذیرش کلی در تیمارهای حاوی حدود میانی صمغها کسب شد. در زمینه مواد غذایی که در دسته ژلها طبقه‌بندی میشوند، مهمترین ویژگی که بر پذیرش آنها تاثیر میگذارد، بافت ماده غذایی است. هر چه انسجام بافت بیشتر و به عبارتی خلل و فرج کمتری داشته باشد، پذیرش کلی بالاتر است. بافت ماست تاثیر مستقیم بر احساس دهانی دارد و احساس دهانی

که در این رابطه‌ها Y_3 پذیرش کلی، X_1 صمغ دانه ریحان و X_2 صمغ دانه شنبلیله میباشند.

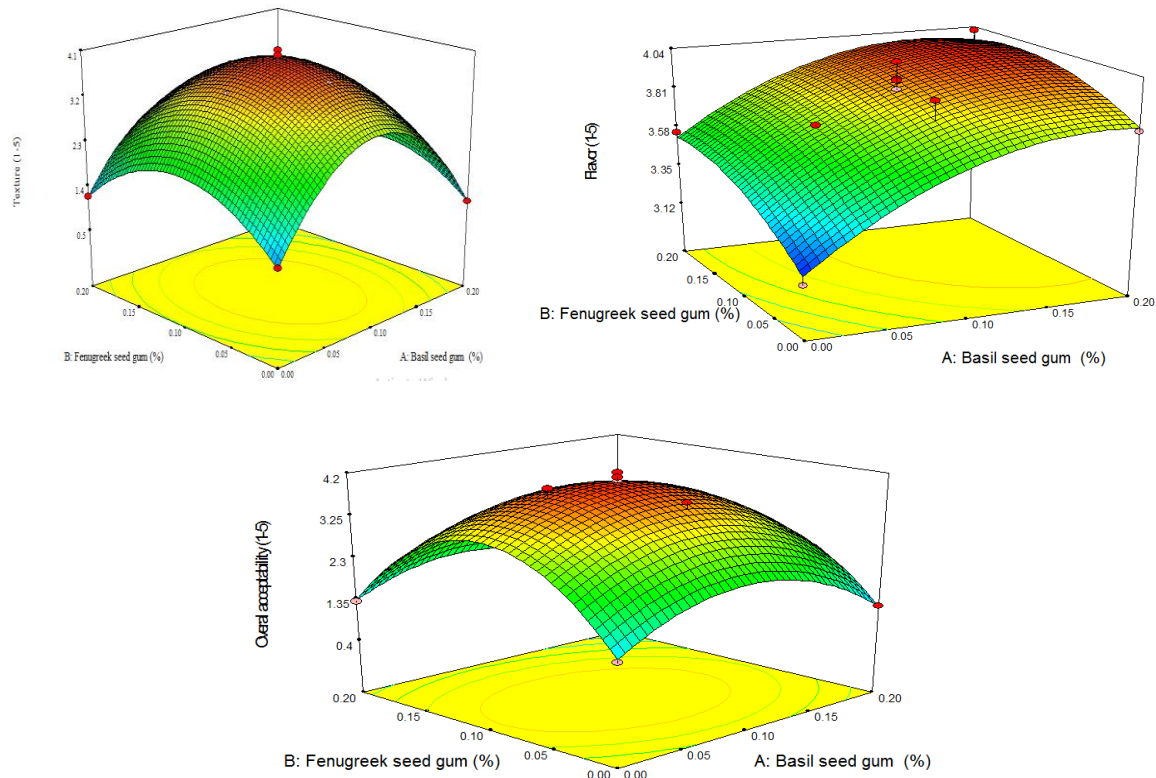


Fig 4 Response surface plots for effects of formulation ingredients on organoleptic characteristics of low-fat yogurt

پیشنهادی با شرایط یکسان همانند سایر تیمارها تولید و نتایج حاصل از آن با نتایج پیشگویی شده توسط مدل‌ها مقایسه گردید (جدول ۳). عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۹۵٪ بین نتایج پیشگویی شده و نتایج به دست آمده از تیمار پیشنهادی، صحت پیشگویی مدل‌ها را به خوبی اثبات نمود.

۳-۶- بهینه‌سازی و تأیید آماری مدل‌های رگرسیونی
نتایج حاصل از بهینه‌سازی نشان داد که با به‌کارگیری مقدار ۰/۱۴ درصد صمغ دانه ریحان و ۰/۱۳ درصد صمغ دانه شنبلیله در فرمولاسیون ماست می‌توان محصولی کم‌چرب با ویژگی‌های نزدیک به ماست پرچرب تولید نمود. تیمار

Table 4 Predicted and experimental values for responses at the optimum point ingredients

	pH	Acidity	Syneresis	WHC	Viscosity	Flavor	Texture	Total point
Predicted	4.21	0.974	11.12	64.50	4410.8	3.99	3.47	3.46
Experimental	4.25±0.23	0.982±0.08	11.67±0.85	63.96±1.04	4350±82.1	3.89±0.11	3.52±0.12	3.55±0.13

۷-۳- بررسی ویژگیهای تیمارهای مختلف ماست طی دوره نگهداری

و ۱-۷-۳ pH و اسیدیته

بر پایه یافته‌های آماری (جدول ۵) طی دوره نگهداری pH تمامی تیمارهای مورد پژوهش ماست بر خلاف اسیدیته متحمل کاهش معنی‌داری ($p < 0.05$) شده‌اند. در طول دوره نگهداری میزان pH نمونه شاهد (ماست کم‌چرب بدون افزودن صمغ) و شاهد حاوی باکتری پروبیوتیک به گونه معنی‌داری ($p < 0.05$) بیشتر از تیمارهای حاوی مقادیر بهینه صمغها (پروبیوتیک یا غیر پروبیوتیک) بود. همچنین نتایج گویای این مطلب بود که بیشترین و کمترین میزان اسیدیته در مقاطع مختلف نگهداری به ترتیب مربوط به تیمار پروبیوتیک حاوی مقادیر بهینه صمغها و نمونه شاهد بود. کاهش pH نمونه‌ها و افزایش اسیدیته در طول مدت نگهداری به دلیل فعالیت باکتریهای مولد اسیدلاکتیک و تولید اسید ثانویه می‌باشد. همچنین همانگونه که در قسمتهای پیشین نیز ذکر گردید علت پایین‌تر بودن pH و بالاتر بودن

اسیدیته در نمونه‌های حاوی صمغ احتمالاً به دلیل تحریک فعالیت متابولیکی باکتریهای آغازگر مولد اسید بوده است. میزان تغییرات اسیدیته در رابطه عکس با pH قرار دارد و عواملی که باعث کاهش pH شده‌اند باعث افزایش اسیدیته می‌گردند. این نتایج در تشابه با یافته‌های و فرجی و همکاران (۱۳۹۵) در بررسی اثر صمغ عربی و تراگاکانت بر میزان pH و اسیدیته ماست کم‌چرب حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس کازنی بود [۳۸]. افزودن باکتری پروبیوتیک موجب افزایش اسیدیته و کاهش pH گردید که این موضوع می‌تواند به دلیل فعالیت باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم در pHهای پایین و مصرف مواد قندی و به دنبال آن افزایش اسیدیته و کاهش pH باشد. در این زمینه قاسمپور و همکاران (۱۳۸۹) گزارش کردند که نمونههای ماست حاوی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و بیفیدوباکتریوم بیفیدوم میزان pH کمتر و اسیدیته بیشتری نسبت به نمونه شاهد داشتند [۳۹].

Table 5 Means±SD of pH and acidity of different low-fat yogurt samples during storage

Treatment	Ph			
	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control low-fat	4.39±0.04 ^{aA}	4.33±0.02 ^{bA}	4.25±0.01 ^{cA}	4.09±0.02 ^{dA}
Optimized low-fat	4.25±0.03 ^{aB}	4.18±0.04 ^{bC}	4.11±0.01 ^{cC}	4.01±0.02 ^{dB}
Control low-fat+ Probiotic bacteria	4.37±0.03 ^{aA}	4.28±0.04 ^{bB}	4.20±0.04 ^{cB}	4.06±0.03 ^{dA}
Optimized low-fat+ Probiotic bacteria	4.23±0.03 ^{aB}	4.13±0.05 ^{bD}	4.07±0.05 ^{cD}	3.98±0.05 ^{dB}

Treatment	Acidity			
	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control low-fat	0.780±0.006 ^{dD}	0.795±0.003 ^{cD}	0.812±0.001 ^{bD}	0.850±0.001 ^{aD}
Optimized low-fat	0.982±0.005 ^{dB}	0.994±0.002 ^{cB}	1.09±0.001 ^{bB}	1.15±0.005 ^{aB}
Control low-fat+ Probiotic bacteria	0.789±0.001 ^{dC}	0.810±0.005 ^{cC}	0.832±0.007 ^{bC}	0.869±0.005 ^{aC}
Optimized low-fat+ Probiotic bacteria	0.994±0.009 ^{dA}	1.09±0.005 ^{cA}	1.18±0.006 ^{bA}	1.29±0.001 ^{aA}

^{a-d} Means within the same row with different superscripts differ ($P < 0.05$)

^{A-D} Means within the same column with different superscripts differ ($P < 0.05$)

۲-۷-۳- آباندازی
نتایج تحلیل آماری (جدول ۶) نشان داد که میزان آباندازی تمامی نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری افزایش پیدا کرد ($p < 0.05$). همچنین در دوره نگهداری میزان آباندازی نمونه‌های کم‌چرب حاوی مقادیر بهینه صمغها کمتر از نمونه‌های بدون صمغ بود ($p < 0.05$) اما افزودن باکتری پروبیوتیک اثر معنی‌داری بر این پارامتر نداشت. همانگونه که

در قسمت اول پژوهش ذکر گردید علت کاهش آباندازی با افزودن صمغها می‌تواند به دلیلی شبکه ژلی متراکم‌تر در حضور هیدروکلوئیدها و خاصیت جذب آب آنها نسبت داد. در ارتباط با افزایش آباندازی در طی نگهداری نیز می‌توان گفت که کاهش pH در طی دوره نگهداری باعث تغییر فرم طبیعی پروتئین شده و در اثر دناتوره شدن پروتئین، آب متصل به آن آزاد شده و آباندازی افزایش می‌یابد [۴۰]. در

تشابه با نتایج این پژوهش رزمخواه و همکاران (۱۳۹۸) همچنین الماسی و همکاران (۱۴۰۰) و بهنیا و همکاران (۱۳۹۳) نیز اثر منفی افزایش زمان نگهداری بر آب اندازی را در ماست کم چرب گزارش کردند [۴۱].

Table 6 Means±SD of syneresis of different low-fat yogurt samples during storage

Treatment	Syneresis			
	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control low-fat	25.87±0.19 ^{cA}	25.90±0.22 ^{cA}	26.73±0.12 ^{bA}	27.25±0.20 ^{aA}
Optimized low-fat	11.67±0.22 ^{cB}	11.75±0.17 ^{bcB}	11.95±0.30 ^{bbB}	12.43±0.31 ^{aB}
Control low-fat+ Probiotic bacteria	25.15±0.25 ^{cA}	25.39±0.25 ^{cA}	26.43±0.32 ^{bA}	26.90±0.25 ^{aA}
Optimized low-fat+ Probiotic bacteria	11.43±0.29 ^{cB}	11.44±0.315 ^{cB}	11.83±0.29 ^{bbB}	12.33±0.21 ^{aB}

^{a-d} Means within the same row with different superscripts differ (P<0.05)

^{A-D} Means within the same column with different superscripts differ (P<0.05)

3-7-3- ویسکوزیته
 کلی افزایش ویسکوزیته در طول دوره نگهداری احتمالاً به دلیل ایجاد تغییرات در اتصالات پروتئین-پروتئین و همچنین افزایش ظرفیت اتصال به آب صمغها است که سبب کاهش جریان پذیری و افزایش مقاومت نمونه در برابر جاری شدن یا همان ویسکوزیته ظاهری می شود [۲۳]. ناطقی (۱۳۹۸) طی بررسی امکان تولید ماست همزده کم چرب با استفاده از صمغ زرد به نتایج مشابهی دست یافت [۳۶]. همچنین الماسی و همکاران (۱۴۰۰) نیز یافته های مشابهی گزارش کردند [۲۳].

Table 7 Means±SD of viscosity of different low-fat yogurt samples during storage

Treatment	Viscosity			
	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control low-fat	1299±53 ^{dB}	1690±61 ^{cB}	2046±70 ^{bB}	2473±73 ^{aB}
Optimized low-fat	4350±82 ^{dA}	4832±95 ^{cA}	5232±92 ^{bA}	5621±87 ^{aA}
Control low-fat+ Probiotic bacteria	1310±56 ^{dB}	1578±91 ^{cB}	2001±71 ^{bB}	2560±82 ^{aB}
Optimized low-fat+ Probiotic bacteria	4439±90 ^{dA}	4841±96 ^{cA}	5168±87 ^{bA}	5770±98 ^{aA}

^{a-d} Means within the same row with different superscripts differ (P<0.05)

^{A-D} Means within the same column with different superscripts differ (P<0.05)

۳-۷-۴- شمارش بیفیدوباکتریوم بیفیدوم
 بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۳۲۵ ماستی پروبیوتیک در نظر گرفته می شود که شمار میکروبی هر یک از گونه های پروبیوتیک به کار رفته در آن تا پایان تاریخ نگهداری کمتر از 10^6 cfu/mL نباشد [۴۳]. نتایج بررسی شمار بیفیدوباکتریوم بیفیدوم (جدول ۸) نمونه های مختلف ماست در طی دوره نگهداری نشان داد که تغییرات شمار بیفیدوباکتریوم بیفیدوم هر دو نمونه در طی فرآیند نگهداری

منجر به بهبود زنده‌مانی باکتریهای پروبیوتیک ماست طی دوره نگهداری می‌شود [۲۰]. در تشابه با نتایج این پژوهش دلیلی و همکاران (۱۳۹۶) گزارش کردند که افزودن صمغ گورا و بامیه به فرمولاسیون ماست کم‌چرب اثر مثبتی بر زنده‌مانی باکتری بیفیدوباکتریوم بیفیدوم طی دوره نگهداری دارد [۱۹]. همچنین حسینی و همکاران (۱۳۹۵) نیز اعلام کردند که میزان زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس پاراکازئی در نمونههای ماست همزده بدون چربی حاوی مالتودکسترین و زانتان بیشتر از نمونه شاهد بود [۴۰]

نهایی، مواد جامد شیر، درجه حرارت و سطوح تلقیح دارد [۴۰]. در نمونه حاوی مقادیر بهینه صمغها قابلیت زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک نسبت به نمونه فاقد صمغ بیشتر بود. افزودن پری‌بیوتیکها می‌تواند مواد مغذی فرآورده را افزایش دهد و یا از اثرات منفی محیط بر روی باکتریها بکاهد [۲۰]. همچنین با افزایش زمان نگهداری و فعالیت باکتریها اسیدیته نمونه‌ها افزایش و میزان مواد مغذی موجود کاهش می‌یابد که احتمالاً سبب کاهش تعداد باکتریها با افزایش زمان نگهداری خواهد شد. دانکر و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که غنی‌سازی ماست با پری‌بیوتیکها مخصوصاً اینولین،

Table 8 Means $\pm$ SD of *bifidobacterium bifidum* count (log10 cfu/ml) of different low-fat yogurt samples during storage

Treatment	<i>Bifidobacterium bifidum</i>			
	Day 1	Day 7	Day 14	Day 21
Control low-fat+ Probiotic bacteria	7.35 $\pm$ 0.11 ^{aB}	7.05 $\pm$ 0.08 ^{bB}	6.53 $\pm$ 0.08 ^{cB}	6.03 $\pm$ 0.15 ^{dB}
Optimized low-fat+ Probiotic bacteria	7.95 $\pm$ 0.15 ^{aA}	7.64 $\pm$ 0.06 ^{bA}	7.32 $\pm$ 0.16 ^{cA}	6.94 $\pm$ 0.15 ^{dA}

^{a-d} Means within the same row with different superscripts differ (P<0.05)

^{A-D} Means within the same column with different superscripts differ (P<0.05)

پیدا کرد. همچنین بر پایه یافته‌ها افزودن باکتری پروبیوتیک موجب کاهش pH و افزایش اسیدیته شد. میزان آب‌اندازی و ویسکوزیته تمامی نمونه‌ها با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت و افزودن باکتری پروبیوتیک بر این پارامترها اثر معنی‌داری نداشت. نتایج شمارش باکتری پروبیوتیک (بیفیدوباکتریوم بیفیدوم) نیز گویای این مطلب بود که بکارگیری صمغهای دانه ریحان و شنبلیله در فرمولاسیون ماست کم‌چرب اثر مثبتی بر افزایش زنده‌مانی باکتری پروبیوتیک دارد.

۴- نتیجه‌گیری کلی

در قسمت اول این پژوهش اثر صمغ دانه شنبلیله و ریحان بر ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و حسی ماست کم‌چرب با استفاده از روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. به طور کلی نتایج این قسمت از پژوهش نشان داد با بهره‌گیری از مقادیر بهینه صمغ دانه ریحان (۰/۱۴ درصد) و شنبلیله (۰/۱۳ درصد) در فرمولاسیون ماست کم‌چرب می‌توان محصولی کم‌چرب با ویژگیهای مطلوب فیزیکوشیمیایی و حسی و مشابه ماست پرچرب تولید کرد. در قسمت دوم این پژوهش نمونه ماست کم‌چرب حاوی مقادیر بهینه صمغها با نمونه کم‌چرب پروبیوتیک حاوی مقادیر بهینه صمغها، نمونه کم‌چرب (بدون صمغ) و نمونه کم‌چرب پروبیوتیک (بدون صمغ) طی دوره نگهداری مقایسه شد. نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری میزان pH بر خلاف اسیدیته کاهش

۵- منابع

[1] Danesh, E., Goudarzi, M., & Jooyandeh, H. (2018). Transglutaminase-mediated incorporation of whey protein as fat replacer into the formulation of reduced-fat Iranian white cheese: physicochemical,

rheological and microstructural characterization. Journal of Food Measurement and Characterization, 12(4), 2416-2425.

- [2] McClements, D. J. (2015). Reduced-fat foods: the complex science of developing diet-based strategies for tackling overweight and obesity. *Advances in Nutrition*, 6(3), 338S-352S.
- [3] Helal, A., Rashid, N. N., Dyab, N. E., Otaibi, M. A. & Alnemr, T. M. (2018). Enhanced Functional, Sensory, Microbial and Texture Properties of Low-Fat Set Yogurt Supplemented with High-Density Inulin. *J Food Processing & Beverages*, 6(1), 11.
- [4] Guven, M., Yasar, K., Karaca, O. B. & Hayaloglu, A. A. (2005). The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. *International Journal of Dairy Technology*, 58(3), 180-184.
- [5] Roberfroid, M. B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93(S1), S13-S25.
- [6] Stephen, A. M., & Phillips, G. O. (2016). *Food polysaccharides and their applications*. CRC press.
- [7] Ghobadi, E., Varidi, M., Varidi, M. J., & Koocheki, A. (2018). Fenugreek seed gum: extraction optimization and evaluation of antioxidant properties. *Innovative Food Technologies*, 5(3), 447-468 [In Persian].
- [8] Bahram Parvar, M., & Goff, H. D. (2013). Basil seed gum as a novel stabilizer for structure formation and reduction of ice recrystallization in ice cream. *Dairy Science & Technology*, 93(3), 273-285.
- [9] Javidi, F., Razavi, S. M., Behrouzian, F., & Alghooneh, A. (2016). The influence of basil seed gum, guar gum and their blend on the rheological, physical and sensory properties of low-fat ice cream. *Food Hydrocolloids*, 52, 625-633.
- [10] Naji-Tabasi, S., & Razavi, S. M. A. (2017). Functional properties and applications of basil seed gum: An overview. *Food Hydrocolloids*, 73, 313-325.
- [11] Razavi, S., Mortazavi, S. A., Matia-Merino, L., Hosseini-Parvar, S. H., Motamedzadegan, A., & Khanipour, E. (2009). Optimisation study of gum extraction from Basil seeds (*Ocimum basilicum* L.). *International journal of food Science & Technology*, 44(9), 1755-1762.
- [12] Niasti, S., pourhaji, F. & sahraian, B. (2019). Evaluation of replacement of oil by Fenugreek seed gum on quality properties of low-fat chiffon cake. *Iranian Food Science and Technology*, 16 (94), 23-37 [In Persian].
- [13] Soofi, M., Alizadeh, A. & Mousavi Kalajahi, S. E. (2019) Optimization of low-fat prebiotic yogurt processing containing inulin at different temperatures and shear stresses. *Iranian Food Science and Technology*, 16(86), 109-118 [In Persian].
- [14] AOAC (1997) *Official Methods of Analysis*. 16th ed., Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
- [15] Sodini, I., Montella, J. & Tong, P. S. (2005). Physical properties of yogurt fortified with various commercial whey protein concentrates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(5), 853-859.
- [16] Sahan, N., Yasar, K. & Hayaloglu, A. A. (2008). Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage. *Food Hydrocolloids*, 22(7), 1291-1297.
- [17] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2011). Milk products - possible count of *Bifidobacterium*. National Standard Organization of Iran, No. 13772.
- [18] Isik, U., Boyacioglu, D., Capanoglu, E. & Erdil, D. N. (2011). Frozen yogurt with added inulin and isomalt. *Journal of dairy science*, 94(4), 1647-1656.
- [19] Dalili, R., Khosrowshahi, A. & Almasi, H. (2017). Effect of okra mucilage (*Hibiscus esculentus* L.) and guar gum as fat replacers on viability of *Bifidobacterium bifidum* and some quality properties of low-fat yoghurt. *Food industry research*, 27(3), 77-98 [In Persian].
- [20] Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2007). Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. *International dairy journal*, 17(6), 657-665.
- [21] Hassan, L. K., Haggag, H. F., ElKalyoubi, M. H., Abd EL-Aziz, M., El-Sayed, M. M., & Sayed, A. F. (2015). Physico-chemical properties of yoghurt containing cress seed mucilage or guar gum. *Annals of Agricultural Sciences*, 60(1), 21-28.
- [22] Milani, E., & Koocheki, A. (2011). The effects of date syrup and guar gum on physical, rheological and sensory properties of low-fat frozen yoghurt dessert. *International journal of dairy technology*, 64(1), 121-129.
- [23] Almasi, N., Mohammadzadeh Milani, J. & Najafian, L. (2022). Effect of Basil Seed Hydrocolloid on Physicochemical and Sensory properties of low-fat Yogurt. *Iranian Food Science and Technology*, 18 (121), 1-11 [In Persian].
- [24] Lucey, J. A. (2004). Cultured dairy products: an overview of their gelation and texture properties. *International Journal of Dairy Technology*, 57(2-3), 77-84.
- [25] Karim, M., Naderi, B., Mirzaie, M. & Sanjabi, N. (2018). Investigating the Physicochemical and Sensory Characteristics of Low-fat Yoghurt containing Long-chain Inulin and CarboxyMethyl Cellulose. *Food Technology & Nutrition*, 15: 85-98.
- [26] Gheybi, N., & Ashrafi, R. (2020). The Effect of Inulin and Quince Seed Gum Powder on the Physicochemical and Qualitative Properties of Low-Fat Yogurt. *Iranian Journal of Biosystems Engineering*, 50(4), 963-975 [In Persian].
- [27] Bahrami, M., Ahmadi, D., Alizadeh, M., & Hosseini, F. (2013). Physicochemical and sensorial

- properties of probiotic yogurt as affected by additions of different types of hydrocolloids. *Food Science of Animal Resources*, 33(3), 363-368.
- [28] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., & Rahimi, J. (2008). Whey protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: chemical, physical, and microstructural properties. *Journal of dairy science*, 91(7), 2545-2552.
- [29] Ladjvardi, Z. S., Yarmand, M. S., Emam-Djomeh, Z., & Niasari-Nasajli, A. (2020). Synergistic effect of locust bean and xanthan gum on viability of probiotic bacteria and water holding capacity of synbiotic yogurt from camel milk. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 16(1), 131-143 [In Persian].
- [30] Gantumur, M. A., Sukhbaatar, N., Jiang, Q., Enkhtuya, E., Hu, J., Gao, C., ... & Li, A. (2024). Effect of modified fermented whey protein fortification on the functional, physical, microstructural, and sensory properties of low-fat yogurt. *Food Control*, 155, 110032.
- [31] Aghajani, A., Mirzaei, F., Kermani, M., SaeidiAsl, M.R. & Pedram Nia, A. (2023). Physicochemical and Sensory Evaluation of low-fat Probiotic Yogurt Containing Corn Starch and *Ferulago Angulata* (Chevil) Extract. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, 14(4), 51-67 [In Persian].
- [32] Saha, D., & Bhattacharya, S. (2010). Hydrocolloids as thickening and gelling agents in food: a critical review. *Journal of food science and technology*, 47, 587-597.
- [33] Kim, S. Y., Hyeonbin, O., Lee, P., & Kim, Y. S. (2020). The quality characteristics, antioxidant activity, and sensory evaluation of reduced-fat yogurt and nonfat yogurt supplemented with basil seed gum as a fat substitute. *Journal of dairy science*, 103(2), 1324-1336.
- [34] Tavakolipour, H., Vahid-moghadam, F., & Jamdar, F. (2014). Textural and sensory properties of lowfat concentrated flavored yogurt by using modified waxy corn starch and gelatin as a fat replacer. *Int J Biosci*, 5(6), 61-67.
- [35] Radi, M., Niakousari, M., & Amiri, S. (2009). Physicochemical, textural and sensory properties of low-fat yogurt produced by using modified wheat starch as a fat replacer. *Journal of Applied Sciences*, 9(11), 2194-2197.
- [36] Nateghi, L. (2019). An Investigation about Possibility the Manufacture of Low-Fat Stirred Yoghurt using Zedo Gum. *Food industry engineering research*, 18(2), 29-42 [In Persian].
- [37] Nowrouzi, S., GhodsRohani, M. & Rashidi, H. (2021). Effects of Balangu Seed Gum on Physicochemical and Sensory Characteristics of Low-Fat Fresh Yoghurts. *Iranian J NutrSci Food Technol*, 16 (2), 69-78 [In Persian].
- [38] Faraji, F., porahmad, R., & hashemi, M. (2016). Effect of Arabic gum and Tragacanth gum on viability of *Lactobacillus casei* and physicochemical and sensory properties of probiotic reconstituted yogurt. *Journal of Food Research*, 26(1), 61-74 [In Persian].
- [39] Ghasempour, Z., Alizadeh, M. & R Bari, M. (2011). Optimisation of probiotic yoghurt production containing Zedo gum. *International Journal of Dairy Technology*, 65: 118-125.
- [40] Hosseini, S.r., Pourahmad, R. & Rajaei, P. (2015). The effect of maltodextrin and xanthan gum on physicochemical, sensory and microbial properties of probiotic free-fat stirred-type yoghurt containing *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei*. *Journal of applied microbiology in food industry*, 2(1), 39-50 [In Persian].
- [41] RazmkhahSharbiani, S., Razavi, S. M. A., Khalil, B. & Mozaheri Tehrani, M. (2010). Investigating the effect of using pectin, fennel seed gum and basil on the physicochemical and sensory properties of abstract and untreated yogurt. *Iranian Food Science and Technology*, 6(1), 27-36 [In Persian].
- [42] Behnia, A., Karazhiyan, H., Niazmand, R., & MohammadiNafchi, A. R. (2014). Effect of Cress seed gum on rheological and textural properties of low-fat yoghurt. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 3(3), 255-266 [In Persian].
- [43] Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2011). Probiotic Yogurt - characteristics and test methods, Iranian National Standard No. 11325.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Optimization of physicochemical, textural and sensory properties of low-fat yogurt by adding fenugreek and basil seeds gum and investigating its effect on *Bifidobacterium bifidum* viability

Sina Khademi Dehkordi¹, Maryam Jafari^{1,2*}

1- Department of Food Science and Technology, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

2- Research Center of Nutrition and Organic Products, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/2/1 Accepted: 2024/7/17 Keywords: Low-fat yogurt, Basil seed gum, Fenugreek seed gum, Probiotic DOI: 10.22034/FSCT.22.162.73. *Corresponding Author E- Jafari.iaushk@yahoo.com	The use of fat substitutes with prebiotic properties, such as seeds gum, can be a suitable solution to improve the quality characteristics of low-fat products. In this research, response surface method with central composite design used to investigate the effect of basil seeds (0-0.2%) and fenugreek seeds gum (0-0.2%) on the physicochemical, textural and organoleptic properties of low-fat yogurt. The results showed that with the increase in the amount of gums in the low-fat yogurt formulation, the pH decreased. Addition of basil and fenugreek seeds gum reduced the syneresis of low-fat yogurt, while the water holding capacity and viscosity increased. Based on the results of sensory evaluation, the highest overall acceptance score was obtained in the treatments containing intermediate amounts of gums. The results of optimization with the central composite design showed that the best sample with optimum physicochemical and sensory properties was obtained when 0.14% of basil seed gum and 0.13% of fenugreek seed gum were used in the yogurt formulation. In the second part of the research, the viability of <i>Bifidobacterium bifidum</i> in the optimal yogurt formulation and different characteristics of low-fat yogurt was evaluated during the storage period. The results showed that by adding probiotic bacteria and increasing the storage time, the pH of the samples decreased while the acidity increased. The findings indicated that during the storage time, the amount of syneresis and viscosity of all samples increased, while the addition of probiotic bacteria did not have a significant effect on these parameters. Based on the results of counting probiotic bacteria, the use of optimal amounts of basil and fenugreek seeds gum had a positive effect on the viability of probiotic bacteria. In general, the results of this research showed that the use of basil and fenugreek seeds gum as a fat substitute in probiotic low-fat yogurt formulation can improve the quality properties of low-fat yogurt and increase the viability of probiotic bacteria.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی تاثیر افزودن شیر سویا، جو و بادام بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی ماست پروبیوتیکی

یاسمن جوکار^۱ و زهرا ارجائی^{۲*}

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا، فسا، فارس، ایران.

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

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۴/۲۷	پروبیوتیک‌ها باکتری‌های مفیدی هستند که می‌توانند به مواد غذایی به خصوص فرآورده‌های لبنی اضافه شوند و اثرات سلامت بخشی خود را در بدن ایجاد کنند. در این مطالعه از دو باکتری پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوباسیلوس پلانترم به میزان ۱۰۸ cfu/ml در ماست همراه با شیر سویا، جو و بادام در سه غلظت (۷۵:۲۵، ۵۰:۵۰، ۲۵:۷۵ نسبت شیر/شیر سویا، جو و بادام) استفاده شد و به مدت ۲۱ روز مورد بررسی قرار گرفت. در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ نمونه‌های ماست تحت آزمون‌های تعیین قابلیت زنده‌مانی، pH، اسیدیته، بریکس، ویسکوزیته، آب‌اندازی و آزمون‌های حسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که باکتری‌های پروبیوتیک در طی نگهداری در ابتدا روندی صعودی و سپس نزولی را طی نموده‌اند. نمونه ماست های حاوی شیر سویا، بادام و جو مقدار کاهش کمتری در میزان باکتری پروبیوتیک داشتند و در پایان ۲۱ روز حد قابل قبولی از زنده مانگی باکتری را نشان دادند. روند کاهش pH و تولید اسید توسط این باکتری ها در ماست ها طی زمان مشاهده شد و این روند در نمونه های حاوی شیر سویا، جو و بادام بیشتر بود. آب اندازی در تمامی نمونه ها روند افزایشی در طول زمان نشان داد ولی ماست های حاوی شیر سویا، بادام و جو آب اندازی کمتری داشتند. درصد مواد جامد محلول تمامی نمونه‌ها در طی نگهداری روندی کاهشی را نشان داد ولی در نمونه ماست های حاوی شیر سویا، جو و بادام این روند کندتر صورت گرفت. ویسکوزیته محصولات تولید شده در طی زمان نگهداری روندی صعودی را نشان دادند و نمونه های حاوی شیر سویا، جو و بادام، ویسکوزیته بالاتری داشتند. مقبولیت کلی در تمام نمونه های ماست با نمونه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. در نهایت ماست حاوی ۲۵ درصد شیر و ۷۵ درصد شیر جو از نظر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نسبت به سایر تیمارها کیفیت بهتری برخوردار بود.
کلمات کلیدی: ماست پروبیوتیکی، شیر سویا، شیر جو، شیر بادام	
DOI:10.22034/FSCT.22.162.90. * مسئول مکاتبات: zerjaee@yahoo.com	

۱-مقدمه

غذاهایی که سبب بهبود و ارتقای سطح سلامت جامعه شده و مواد مغذی ضروری بدن را تامین می کنند، غذاهای فراسودمند^۱ نامیده می شوند. در حال حاضر تمایل بسیار زیادی برای مصرف مواد غذایی فراسودمند می باشد. در این میان، مواد غذایی و نوشیدنی های حاوی پروبیوتیک و ترکیبات پری بیوتیک از اهمیت بالایی برخوردارند. پروبیوتیک ها میکروارگانیسم های زنده ای هستند که در مقادیر کافی، موجب ایجاد تعادل در فلور میکروبی میزبان می شوند [۱]. میزان ۱۰^۶-۱۰^۷ عدد پروبیوتیک در هر گرم برای بروز اثرات سلامتی بخش ضروری است [۲].

بیشترین میکروارگانیسم های پروبیوتیک از دسته باکتری های اسید لاکتیک هستند، مانند لاکتوباسیلوس پلاتناروم، لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس / اسیدوفیلوس و / استرپتوکوکوس لاکتیس. تحقیقات نشان داده اند که افزودن پروبیوتیک ها به غذا می تواند خواص عملکردی مفید زیادی برای سلامت مصرف کننده مانند کاهش کلسترول خون، بهبود عملکرد سیستم گوارشی، تقویت سیستم ایمنی و کاهش ابتلا به سرطان را داشته باشد. باکتری های اسید لاکتیک اغلب به طور تجاری در تولید محصولات لبنی مانند ماست، مورد استفاده واقع شوند. افزودن ترکیبات پری بیوتیک می تواند اثر سینرژستیک بر روی محصولات پروبیوتیکی داشته باشند [۳].

ماست^۲ یک فرآورده لبنی پرمصرف است که حاصل تخمیر لاکتیکی شیر پاستوریزه به وسیله لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس^۳ و استرپتوکوکوس سالیواریوس زیرگونه ترموفیلوس^۴ می باشد. به دلیل ارزش غذایی بالایی که دارد در سراسر جهان مورد توجه فراوانی قرار گرفته است و ارزش غذایی آن می تواند با افزودن ترکیبات غذایی عملگرا مانند پروبیوتیک و پری بیوتیک ها، افزایش یابد [۴]. افزودن ترکیبات مغذی به ماست و

باکتری های پروبیوتیکی جهت افزایش خاصیت تغذیه ای این محصول در برخی تحقیقات صورت گرفته است. Cui و همکاران (۲۰۲۱) اثر افزودن باکتری های پروبیوتیکی را بر ماست تهیه شده از شیر گاو و شیر سویا را مورد بررسی قرار دادند. نتایج تحقیق آنها نشان داد که ماست تهیه شده سینریس کمتر و سفتی بافت بیشتری در طی زمان نگهداری داشت [۵]. شیر سویا افزوده شده به ماست پروبیوتیک علاوه بر کاهش سینریس و سفتی بافت ماست، افزایش در شمارش باکتری های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس LA5 شد، ولی طعم ماست های حاوی شیر سویا مورد مقبولیت نبود [۶]. ماست بر پایه بادام هندی، میزان شمارش پروبیوتیک بالاتری نسبت به ماست ساده داشت و فعالیت آنتی اکسیدانی و فنلی بالاتری نشان داد [۷].

محصولات لبنی بر پایه گیاهی می تواند برای افزایش ارزش تغذیه ای انواع محصولات غذایی از جمله محصولات تخمیری مانند ماست استفاده شوند. این محصولات حاوی اسیدهای چرب مفید مانند اسید لینولئیک و اسید لینولنیک، کربوهیدارتهایی با اندکس گلیسمیک پایین، فیبر و سرشار از ویتامین های گروه ب و E می باشند. همچنین منبع غنی از پتاسیم و مقدار کم سدیم را دارا هستند [۸]. هدف از این تحقیق تولید یک محصول ماست پروبیوتیک فراسودمند با استفاده از افزودن شیر سویا، شیر جو و شیر بادام و بررسی میزان زنده مانده پروبیوتیک ها و خصوصیات حسی محصولات تولیدی می باشد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- تهیه و آماده سازی شیر بادام، شیر سویا، شیر جو دانه های بادام، سویا و جو از بازار محلی شیراز تهیه شد و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید. دانه های (به تنهایی) پس از آماده سازی اولیه (شستن و پاک کردن)، به مدت

3- Streptococcus bulgaricus sub. bulgaricus

4- Streptococcus salivarius spp. thermophilus

1-Functional Food

2 -Yogurt

۳-۲- تهیه ماست پروبیوتیکی حاوی شیر سویا، بادام و

جو

مخلوطی از شیر و شیر سویا، بادام و جو (به صورت جداگانه در نسبت‌های مختلف تعیین شده نسبت به شیر مصرفی - جدول ۱) آماده شد. بدین ترتیب که نسبت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام با استفاده از شیر بدون چربی و آب مقطر تهیه شد. پس از فرآیند گرمایی (۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت زمان ۳۰ دقیقه) نمونه‌ها تا رسیدن به دمای تلقیح (۴۱ درجه سانتی‌گراد) سرد شدند. در مرحله تلقیح، باکترهای آغازگر ماست (لاکتوباسیلوس دلبروکی زیر گونه بولگاریکوس و استرپتوکوکوس ترموفیلوس) و دو گونه باکتری پروبیوتیکی به نسبت ۱ به ۵ به شیر اضافه شدند. تخمیر، در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد تا رسیدن به pH ۴/۶ (اسیدیته نمونه‌ها به ۰/۹۳-۰/۹۵) انجام گرفت. در پایان تخمیر نمونه‌ها تا ۴ درجه سانتی‌گراد سرد شدند. ماست شاهد حاوی باکتری‌های آغازگر بود ولی هیچ نوع شیر غیر لبنی به آن اضافه نشد. نمونه‌ها به مدت ۲۱ روز در این دما نگهداری شدند. نمونه‌های تهیه شده در روزهای ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز مورد آزمون قرار گرفتند.

۱۶-۱۰ ساعت در آب خیسانده شد. پس از جداسازی پوست، یک کیلوگرم از هر دانه توزین شده همراه با ۳ لیتر آب داخل مخلوط کن (مدت ۱۰ دقیقه) ریخته و مخلوط گردید. مایع حاصل پس از صاف کردن جوشانده (پاستوریزاسیون در ۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه) شد و پس از رسیدن به دمای اتاق، به عنوان شیر بادام، شیر جو و شیر سویا در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد [۹].

۲-۲- آماده سازی و تهیه کشت میکروبی

کشت‌های منجمد شده تجاری SVD شامل باکتری‌های پروبیوتیک لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، LA-5 و لاکتوباسیلوس پلاتنارم، PPLP-217 بود. باکتری‌های آغازگر ماست و باکتریهای پروبیوتیک توسط شرکت کریستین هسنن از کشور دانمارک فراهم شد. بسته‌های آغازگر در کارخانه لبنی رامک طبق دستورالعمل شرکت سازنده، تهیه شدند و تا زمان حل شدن کامل گرانول‌های آغازگر در داخل شیر، مخلوط به آرامی هم‌زده و به میزان ۵ درصد وزنی به شیر مورد نظر برای تهیه ماست اضافه شد.

Table 1 Yogurt treatments

Sample number	Treatment
0	Blank (probiotic yogurt without soy, barley or almond milk)
1	Probiotic yogurt containing 25% soy milk
2	Probiotic yogurt containing 50% soy milk
3	Probiotic yogurt containing 75% soy milk
4	Probiotic yogurt containing 25% barely milk
5	Probiotic yogurt containing 50% barely milk
6	Probiotic yogurt containing 75% barely milk
7	Probiotic yogurt containing 25% almond milk
8	Probiotic yogurt containing 50% almond milk
9	Probiotic yogurt containing 75% almond milk

معنی‌دار یا غیر معنی‌دار مقادیر میانگین در جداولی با حروف انگلیسی به همراه میزان انحراف داده‌ها از میانگین آورده شد و نمودارهای حاصل در نرم افزار excel ۲۰۱۳ رسم گردید و مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی در ماست

بر اساس نتایج آماری بدست آمده در سطح اطمینان ۹۵٪ (جدول ۲)، اثر غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام روی زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های ماست معنی‌دار شد ($p < 0.05$). قابلیت زنده‌مانی نمونه‌ها، در طی زمان ابتدا روندی صعودی و سپس نزولی را طی نموده است به‌طوری‌که بعد از ۳ هفته نگهداری نمونه ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر جو و ۲۵ درصد شیر (T6) و نمونه شاهد (T0) به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین زنده‌مانی را نشان دادند. زمان نگهداری نمونه‌های ماست پروبیوتیکی نیز روی قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیک نمونه‌های ماست معنی‌دار شد ($p < 0.05$) و با گذشت ۲۱ روز از تهیه نمونه‌ها، قابلیت زنده‌مانی افزایش قابل توجهی را نشان داده است (جدول ۲). به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصد‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام به عنوان متغیرهای موثر بر قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج نشان دادند که با افزایش درصد شیر سویا، جو و بادام به طور معنی‌داری قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد، افزایش یافته است.

بر اساس نتایج بدست آمده قابلیت زنده‌مانی باکتری‌های پروبیوتیکی در طی زمان نگهداری ابتدا روندی صعودی و در انتها روندی نزولی را طی نموده است. این روند صعودی تا روز ۱۴ را می‌توان به غنی بودن ماست از ترکیبات مغذی موجود در شیر جو، سویا و بادام و سایر ترکیبات موجود در ماست مرتبط دانست که سبب شده است ابتدا باکتری‌های پروبیوتیکی به صورت لگاریتمی رشد و سپس با کاهش میزان ماده مغذی موجود در محیط، رشدی نزولی را طی نمایند. ولی از میزان باکتری‌ها از حد استاندارد آن

یعنی $6 \log \text{ cfu/ml}$ ، کمتر نشد. Shoria و همکاران (۲۰۲۲) زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ماست مبتنی بر شیر بادام هندی تخمیر شده با سویه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس را مورد بررسی قرار دادند. آنها از گونه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس کازئی، رامنوسوس، پلانترام، دلبروکی و ترموفیلوس استفاده کردند. نتایج بررسی نشان داد که باکتری‌های پروبیوتیکی در طی زمان نگهداری تا روز ۱۴ افزایش معنی‌داری را نشان داده است ولی در ادامه مطابق با نتایج مطالعه حاضر کاهش رشد را نشان داده‌اند. آنها دلیل این کاهش را کاهش مواد مغذی محیط و افزایش pH محیط گزارش دادند [۶].

در تمام فرآورده‌های پروبیوتیک تعداد سلول‌های زنده پروبیوتیک در هر گرم یا میلی‌لیتر از فرآورده در لحظه مصرف، از ارزش اساسی فرآورده‌های پروبیوتیک به شمار می‌آید، از این رو شاخص یاد شده تعیین کننده‌ی کارایی سلامت بخش این محصولات می‌باشد [۱۴]. علاوه بر این، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در فرآورده باید به اندازه کافی زیاد باشد تا پس از مصرف با توجه به این فرآورده، تعداد استاندارد سلول زنده پروبیوتیک به محیط روده راه یابد. تعداد باکتری‌های زنده مورد نیاز در زمان مصرف برای اثر بخش بودن غذا بر سلامتی فرد مصرف کننده باید حداقل $6 \log \text{ cfu/ml}$ باشد [۲]. قابلیت زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها در نمونه‌های غذایی به مواردی مانند pH، دما و زمان نگهداری یخچالی، ترکیبات سین بیوتیکی نظیر شیر سویا، جو و بادام، حضور ریززنده‌های رقابت‌کننده و بازدارنده بستگی دارد [۱۵].

باکتری‌های لاکتوباسیلوس در طی زمان سبب افزایش اسیدیته و کاهش pH و همچنین ایجاد ترکیباتی نظیر هیدروژن پراکسید در طی زمان نگهداری می‌شوند که این خود می‌تواند سبب کاهش در رشد و زنده‌مانی گردد [۱۶]. در مطالعه انجام شده توسط Parks و همکاران (۱۹۶۷)، زنده‌مانی لاکتوباسیلوس طی ۲۸ روز نگهداری، در هفته آخر به طور قابل ملاحظه کاهش می‌یابد. علت کاهش، ناشی از تشدید اثر مهار کنندگی اسیدهای آلی تولید شده در محصول بود [۱۷]. براساس مطالعات انجام شده، اثر مهار کنندگی اسیدهای آلی بر حسب pH، نوع و غلظت اسید، نوع سویه و فاز رشد باکتریایی متفاوت است. نتایج مطالعه Lind و

همکاران (۲۰۰۵) نشان داد اسید پروپیونیک از خاصیت مهارکنندگی بیشتری نسبت به اسید لاکتیک و استیک برخوردار است. همچنین اثر مهارکنندگی اسیدهای آلی با کاهش pH، به طور قابل ملاحظه افزایش می‌یابد [۱۸].

Table 2 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the viability (log cfu/ml) of yogurt probiotic bacteria during storage time

Yogurt sample	day			
	0	7	14	21
T0	8.00 ± 0.00 aD	8.34 ± 0.10 aC	7.36 ± 0.22 aB	6.66 ± 0.31 aA
T1	8.00 ± 0.00 aA	8.46 ± 0.05 abC	8.68 ± 0.11 bcC	8.22 ± 0.19 bcB
T2	8.00 ± 0.00 aA	8.87 ± 0.11 cdC	8.91 ± 0.12 bdC	8.60 ± 0.14 cdB
T3	8.00 ± 0.00 aA	8.83 ± 0.22 cdB	9.12 ± 0.10 dC	8.90 ± 0.12 eBC
T4	8.00 ± 0.00 aA	8.81 ± 0.11 cdC	8.66 ± 0.10 bcBC	8.51 ± 0.00 cdB
T5	8.00 ± 0.00 aA	9.04 ± 0.08 deC	9.11 ± 0.13 dC	8.78 ± 0.08 deB
T6	8.00 ± 0.00 aA	9.15 ± 0.01 eB	9.65 ± 0.28 eC	9.36 ± 0.21 fBC
T7	8.00 ± 0.00 aA	8.51 ± 0.33 abB	8.46 ± 0.02 bB	8.12 ± 0.09 bA
T8	8.00 ± 0.00 aA	8.38 ± 0.13 aB	8.72 ± 0.17 bcC	8.19 ± 0.04 bcAB
T9	8.00 ± 0.00 aA	8.72 ± 0.04 bcB	9.02 ± 0.10 dC	8.56 ± 0.27 dB

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$ and uppercase letters in each row indicate a significant difference of $p < 0.05$.

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barely milk, T5 yogurt with 50% barely milk, T6 yogurt with 75% barely milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

نگهداری نمونه‌های ماست پروبیوتیکی نیز روی تغییرات pH

۲-۳ pH ماست

نمونه‌های ماست معنی‌دار شد ($p < 0.05$) و با گذشت ۲۱ روز از تهیه نمونه‌ها، pH کاهش قابل توجهی را نشان داده است (جدول ۳). به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده، در این مطالعه پارامترهای زمان و درصدهای مختلف شیر سویا، جو و بادام به عنوان متغیرهای موثر بر تغییرات pH مورد بررسی قرار گرفت، که نتایج نشان دادند که با افزایش درصد شیر سویا، جو و بادام به طور معنی‌داری pH نسبت به غلظت‌های پایین‌تر و نمونه‌های شاهد کاهش یافته است.

بر اساس نتایج آماری بدست آمده در سطح اطمینان ۹۵٪، اثر غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام بر روی تغییرات pH نمونه‌های ماست معنی‌دار شد ($p < 0.05$)، به نحوی که مطابق با جدول ۳، pH نمونه‌ها در طی زمان روندی نزولی را طی نموده است به طوری‌که بعد از ۳ هفته نگهداری نمونه ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر جو و ۲۵ درصد شیر (T6) و نمونه شاهد (T0) به ترتیب پایین‌ترین و بالاترین pH را نشان دادند. زمان

Table 3 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the pH of yogurt probiotic bacteria during storage time

Yogurt sample	day			
	0	7	14	21
T0	6.76 ± 0.01 cdC	6.45 ± 0.08 fB	5.93 ± 0.05 gA	5.85 ± 0.04 fA
T1	6.74 ± 0.02 bcD	6.42 ± 0.02 efC	5.83 ± 0.09 fB	5.43 ± 0.03 dA
T2	6.77 ± 0.01 dD	6.33 ± 0.08 deC	5.71 ± 0.06 deB	5.32 ± 0.04 cA
T3	6.72 ± 0.01 abD	6.22 ± 0.02 cC	5.60 ± 0.06 cB	5.12 ± 0.05 bA
T4	6.71 ± 0.02 aD	6.26 ± 0.11 cdC	5.67 ± 0.03 cdB	5.43 ± 0.04 dA
T5	6.73 ± 0.01 abD	6.12 ± 0.05 abC	5.45 ± 0.02 bB	5.09 ± 0.07 bA
T6	6.72 ± 0.01 abD	6.07 ± 0.02 aC	5.27 ± 0.04 aB	4.82 ± 0.05 aA
T7	6.71 ± 0.01 aD	6.30 ± 0.06 cdC	5.80 ± 0.02 edB	5.68 ± 0.05 eA
T8	6.71 ± 0.00 aD	6.21 ± 0.01 bcC	5.71 ± 0.04 edB	5.61 ± 0.08 eA
T9	6.71 ± 0.00 aD	6.21 ± 0.06 bcC	5.64 ± 0.04 cdB	5.26 ± 0.05 cA

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$ and uppercase letters in each row indicate a significant difference of $p < 0.05$.

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barely milk, T5 yogurt with 50% barely milk, T6 yogurt with 75% barely milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

آنزیم‌ها توسط پروبیوتیک‌ها مخصوصا در اوایل دوره نگهداری، منجر به تجزیه مواد پروتئینی و مخصوصا کربوهیدرات شده که در پی آن، اسیدهای آلی (مخصوصا اسید لاکتیک) تولید می‌شود [۲۲]. در مطالعه ای مشابه Lollo و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر باکتریهای پروبیوتیک و ترکیبات پری‌بیوتیکی نظیر لیکوپن رو را بر نوشیدنی لبنی پروبیوتیکی مورد بررسی قرار دادند. نتایج مطابق با نتایج مطالعه حاضر نشان داد با افزایش ترکیبات، قابلیت زنده ماندن به طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد افزایش یافته است. همچنین با افزایش درصد غلظت ترکیبات پری‌بیوتیکی میزان pH در طی نگهداری کاهش و اسیدیته افزایش یافت [۲۳].

۳-۳- درصد مواد جامد محلول (بریکس) ماست

مطابق با جدول ۴، بریکس نمونه‌ها در طی زمان روندی نزولی را طی نموده است به‌طوری‌که بعد از ۳ هفته نگهداری نمونه ماست پروبیوتیکی حاوی ۲۵ درصد شیر بادام و ۷۵ درصد شیر (T6) و نمونه شاهد (ماست پروبیوتیکی بدون شیر سویا، جو و بادام) (T0) به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین بریکس را نشان دادند. زمان نگهداری نمونه‌های ماست پروبیوتیکی نیز روی تغییرات بریکس نمونه‌های ماست معنی‌دار شد ($p < 0.05$) و با گذشت ۲۱ روز از تهیه نمونه‌ها، بریکس کاهش قابل توجهی را نشان داده است.

در این مطالعه، نتایج نشان دادند (جدول ۳) pH تمامی نمونه‌ها در طی زمان نگهداری کاهش معنی‌داری را نشان داده است، افت pH و افزایش اسیدیته طی نگهداری می‌تواند در نتیجه آنزیم‌هایی است که بوسیله استارترها طی تخمیر تولید می‌شوند. این کاهش pH و افزایش اسیدیته را به پس اسیدسازی طی نگهداری در نتیجه آنزیم بتاگالاکتوزیداز که در دمای ۵-۰ درجه سانتی‌گراد نیز فعال است، نسبت داده‌اند [۱۹]. در این مطالعه امکان دارد علت کاهش pH و افزایش اسیدیته طی ۲۱ روز نگهداری، خوکافت (اتوآنالیز) برخی از سلول‌های از پیش کشته شده پروبیوتیک‌ها به سبب شرایط نامناسب محیط یا نگهداری نیز باشد (Afzaal, 2022) [۲۰]. Sohrabvandi و همکاران (۲۰۱۳) گزارش کردند که این خودکافت باکتری‌های پروبیوتیک سبب متلاشی شدن سلول‌ها و آزادسازی اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها در محیط شده که در نهایت منجر به کاهش pH و افزایش اسیدیته می‌شود. تفاوت در مقدار اسید لاکتیک تولید شده توسط اسید لاکتیک باکتری‌ها به تفاوت آن‌ها در توانایی تخمیر قند بستگی دارد [۲۱].

شیر سویا، جو و بادام دارای ترکیباتی هستند که فعالیت میکروارگانیسم‌ها و آنزیم‌های آنها را افزایش می‌دهند احتمال می‌رود که وجود آنزیم‌های موجود در ماست همچنین تولید برخی

Table 4 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the brix of probiotic bacteria of yogurt during storage time

Yogurt sample	day			
	0	7	14	21
T0	18.29 ± 0.10 aC	17.11 ± 0.09 aB	16.61 ± 0.32 aA	16.54 ± 0.17 aA
T1	22.31 ± 0.15 cC	22.06 ± 0.06 cC	20.56 ± 0.73 deB	19.05 ± 0.05 fA
T2	24.36 ± 0.32 dC	23.86 ± 0.33 dC	20.43 ± 0.50 cB	18.36 ± 0.10 deA
T3	26.90 ± 0.09 fC	26.62 ± 0.20 fC	22.47 ± 0.10 fB	18.15 ± 0.24 dA
T4	24.71 ± 0.80 dC	24.01 ± 0.00 dC	20.20 ± 0.10 cdB	18.55 ± 0.18 eA
T5	27.71 ± 0.22 gD	27.19 ± 0.22 gC	24.08 ± 0.11 gB	17.72 ± 0.24 cA
T6	30.08 ± 0.47 hC	29.68 ± 0.58 hC	25.19 ± 0.20 hB	17.02 ± 0.25 bA
T7	21.40 ± 0.05 bB	21.04 ± 0.05 bB	19.37 ± 0.42 bA	19.51 ± 0.24 gA
T8	22.45 ± 0.01 cC	22.17 ± 0.42 cC	19.66 ± 0.57 bcB	18.98 ± 0.02 fA
T9	25.50 ± 0.50 eC	6.21 ± 0.06 eC	21.16 ± 0.24 eB	18.98 ± 0.02 fA

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$ and uppercase letters in each row indicate a significant difference of $p < 0.05$.

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barely milk, T5 yogurt with 50% barely milk, T6 yogurt with 75% barely milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

ویسکوزیته نمونه‌ها در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است به طوری که بعد از ۳ هفته نگهداری نمونه ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر جو و ۲۵ درصد شیر (T6) بالاترین ویسکوزیته را نشان دادند. ویسکوزیته در نمونه ماست شاهد و نمونه ماست‌هایی که درصد پایین شیر سویا، جو و بادام داشتند، به طور معنی داری کمتر از بقیه نمونه‌ها بود. زمان نگهداری نمونه‌های ماست پروبیوتیکی نیز روی تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های ماست معنی دار شد ($p < 0.05$) و با گذشت ۲۱ روز از تهیه نمونه‌ها، ویسکوزیته افزایش قابل توجهی را نشان داده است.

نتایج آزمایشات ویسکوزیته نشان دادند که نمونه‌های حاوی شیر سویا، جو و بادام در غلظت‌های مختلف ویسکوزیته بالاتری نسبت به نمونه کنترل در طول دوره نگهداری داشتند، که این افزایش ویسکوزیته می‌تواند با افزایش غلظت شیر سویا، جو و بادام رابطه مستقیم داشته باشد، به این دلیل که این ترکیبات با باند کردن آب آزاد موجود در نمونه باعث افزایش ویسکوزیته می‌گردند [۲۶]. از طرفی دیگر می‌توان گفت افزودن شیر سویا، جو و بادام می‌تواند در ایجاد شبکه‌های منسجم و متراکم و عدم تحرک و درگیر شدن فاز پراکنده در فاز سوسپانسیون مرتبط باشد که در نتیجه سبب افزایش ویسکوزیته و کاهش آب اندازی می‌شود. Fan و همکاران (۲۰۲۲) تاثیر چندین افزودنی گیاهی نظیر شیر جو را بر روی ویژگی‌های کیفی ماست مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد افزودن شیر جو سبب ایجاد شبکه منسجم تر در ماست شده است و افزایش ویسکوزیته ماست را در پی داشته داشته است [۲۷]. همچنین رشیدی و همکاران (۱۴۰۱)، استفاده از شیر سویا در تولید پودر کشک فراسودمند را مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان دادند که افزایش شیر سویا باعث افزایش ویسکوزیته و قوام کشک بازسازی شده شد [۲۸]. در این زمینه Cheng و همکاران (۲۰۱۷) بیان کردند که با به هم پیوستن پروتئین‌های آب پنیر، مقدار پروتئین‌های آب پنیر در سطح میسل‌های کازئینی افزایش می‌یابد، که این باعث همبستگی بیشتر

اضافه شدن باکتری‌ها به نمونه‌های ماست حاوی غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام مقدار بریکس در همه تیمارها کاهش داد که این کاهش در نمونه ماست حاوی غلظت‌های بالاتر شیر سویا، جو و بادام بیشتر بود. با توجه به اینکه بریکس شامل مواد جامد محلول در آب است و قندهای موجود در آب ماست جزئی از بریکس محسوب می‌شوند، با انجام عمل تخمیر توسط باکتری و تبدیل شدن قندها به اسیدهای آلی (اسید لاکتیک) و یکسری ترکیبات فرار، کاهش در مقدار قند و در نهایت کاهش بریکس اتفاق می‌افتد، بنابراین تا حد زیادی می‌توان علت کاهش بریکس را به دلیل مصرف قند توسط پروبیوتیک‌هایی باشد که به صورت آزاد در ماست وجود دارند [۱۴]. Lupien-Meilleura و همکاران (۲۰۱۶) تاثیر باکتری‌های پروبیوتیکی را بر ویژگی‌های نوشیدنی لبنی در طی زمان نگهداری در دمای یخچال مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه مطابق با نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که میزان مواد جامد محلول در طی نگهداری کاهش یافته است [۲۴]. Shah و همکاران (۲۰۱۰) گزارش دادند که بریکس مدل نوشیدنی لبنی مختلف حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس، کازئی و بیفیدوباکتریوم لاکتیس بعد از ۶ هفته نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد از ۱۱/۸ به ۹/۱ گرم در ۱۰۰ گرم کاهش یافت، که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد [۲۵]. همچنین Shoria و همکاران (۲۰۲۲) زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی ماست مبتنی بر شیر بادام هندی تخمیر شده با سویه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس را مورد بررسی قرار دادند. نتایج این مطالعه نشان داد افزودن پروبیوتیک‌ها به ماست به طور معنی داری درصد مواد جامد محلول را نسبت به نمونه شاهد کاهش داده است [۶].

۴-۳- ویسکوزیته ماست

بر اساس نتایج آماری بدست آمده در سطح اطمینان ۹۵٪ (جدول ۵)، اثر غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام روی تغییرات ویسکوزیته نمونه‌های ماست معنی دار است ($p < 0.05$).

میسسل های کازئینی، تشکیل شبکه و در نتیجه بهتر شدن بافت ماست می شود. از سوی دیگر در تمامی تیمارهای مورد بررسی، فاکتور ویسکوزیته با گذشت زمان به طور معنی داری افزایش یافت. که این امر می تواند متأثر از پدیده تحکیم ژل مربوط به نگهداری نمونه ها در دمای پایین باشد [۲۹].

Table 5 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the viscosity(μ pascal/sec) of probiotic bacteria of yogurt during storage time

Yogurt sample	day			
	0	7	14	21
T0	1500.22 $\pm$ 0.20 aA	1501.79 $\pm$ 0.48 aB	1505.12 $\pm$ 0.34 aC	1506.93 $\pm$ 0.69 abD
T1	1503.58 $\pm$ 0.52 cdA	1504.92 $\pm$ 0.68 bB	1506.05 $\pm$ 0.07 abC	1507.68 $\pm$ 0.39 bcD
T2	1503.45 $\pm$ 0.56 cdA	1505.42 $\pm$ 0.62 bB	1507.26 $\pm$ 0.16 cdC	1508.91 $\pm$ 0.39 deA
T3	1504.41 $\pm$ 0.69 deA	1506.43 $\pm$ 0.84 bcB	1508.46 $\pm$ 0.47 edC	1510.96 $\pm$ 0.80 gD
T4	1502.77 $\pm$ 0.65 bcA	1507.19 $\pm$ 0.22 cdB	1509.11 $\pm$ 0.16 fC	1508.32 $\pm$ 0.70 cdBC
T5	1505.23 $\pm$ 0.23 efA	1507.73 $\pm$ 0.92 cdB	1508.33 $\pm$ 0.70 defB	1510.22 $\pm$ 0.19 fgC
T6	1507.01 $\pm$ 0.38 gA	1508.77 $\pm$ 0.14 dA	1509.41 $\pm$ 0.12 fB	1512.82 $\pm$ 0.72 hC
T7	1502.24 $\pm$ 0.17 bA	1506.49 $\pm$ 0.87 bcB	1506.41 $\pm$ 0.50 bcB	1506.11 $\pm$ 0.10 aB
T8	1504.23 $\pm$ 0.28 dA	1506.60 $\pm$ 0.39 bcB	1507.46 $\pm$ 0.67 cdeB	1509.38 $\pm$ 0.55 efC
T9	1505.90 $\pm$ 0.97 fA	1508.15 $\pm$ 0.25 cdB	1509.66 $\pm$ 0.90 fB	1510.30 $\pm$ 0.24 fgC

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$ and uppercase letters in each row indicate a significant difference of $p < 0.05$.

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barely milk, T5 yogurt with 50% barely milk, T6 yogurt with 75% barely milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

آب را در دلمه ماست داده و موجب کاهش آب اندازی در ماست می شود [۳۱]. در همین زمینه، تحقیقات نشان داده است که افزایش دنا توراسیون پروتئین های آب پنیر باعث بهبود ظرفیت نگهداری آب و در نتیجه کاهش آب اندازی می گردد [۳۲]. همچنین مشخص شده است که دنا توراسیون بتا لاکتوگلوبولین و برهمکنش آن با میسل های کازئین بر خواص ژل در شیرهای تخمیری بسیار مؤثر است [۳۳].

آب اندازی تمامی تیمارهای تولیدی نسبت به نمونه شاهد در تحقیق حاضر با گذشت زمان، به طور معناداری کمتر بود. این امر به علت تشکیل شبکه ژلی و جذب آب سریع توسط شیر سویا، جو و بادام موجود می باشد، که با اتصال بین مولکول های پروتئینی موجود در شیر در طول زمان باعث کاهش آب اندازی و افزایش نگهداری آب در ماست می شود. همچنین شیر سویا، جو و بادام نیز با کمک به تشکیل ژل سبب کاهش آب اندازی می شود [۳۳].

۳-۵- آب اندازی (سینرسیس) ماست

مطابق با جدول ۶ آب اندازی نمونه ها در طی زمان روندی صعودی را طی نموده است به طوری که بعد از ۳ هفته نگهداری نمونه ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر جو و ۲۵ درصد شیر (T6) و نمونه ماست ماست پروبیوتیکی بدون شیر سویا، جو و بادام (T0) به ترتیب پایین ترین و بالاترین آب اندازی را نشان دادند. زمان نگهداری نمونه های ماست پروبیوتیکی نیز روی تغییرات آب اندازی نمونه های ماست معنی دار شد ($p < 0.05$) و با گذشت ۲۱ روز از تهیه نمونه ها، آب اندازی افزایش قابل توجهی را نشان داده است.

افزودن شیر سویا، جو و بادام در غلظت های مختلف به طور جداگانه سبب کاهش آب اندازی در تیمارهای ماست پروبیوتیکی نسبت به تیمار کنترل شد. علت این امر ایجاد اتصالات مستحکم بین ترکیبات اضافه (شیر سویا، جو و بادام) و شبکه ی ژلی ماست می باشد [۳۰]. در تحقیقات مشابه، محققان نشان دادند که استفاده از ترکیبات افزودنی نظیر ترکیبات مطالعه حاضر، ظرفیت پیوند با

Table 6 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the percent of syneresis of probiotic bacteria of yogurt during storage time

Yogurt sample	day			
	0	7	14	21
T0	62.73 ± 0.46 aA	62.04 ± 0.43 cA	69.19 ± 0.91 dB	78.07 ± 0.79 eC
T1	61.38 ± 0.11 aA	61.61 ± 0.20 abcA	66.19 ± 0.05 bcB	74.36 ± 0.37 dB
T2	61.20 ± 0.08 aA	61.49 ± 0.24 abB	65.95 ± 0.10 abcC	72.87 ± 0.70 cD
T3	60.18 ± 0.05 aA	61.68 ± 0.20 abcB	65.06 ± 0.06 abC	71.15 ± 0.06 bD
T4	61.17 ± 0.06 aA	61.61 ± 0.31 abcA	65.96 ± 0.23 abC	73.15 ± 0.25 cC
T5	61.24 ± 0.00 aA	61.68 ± 0.21 abcA	65.66 ± 0.35 abB	71.84 ± 0.72 bC
T6	59.48 ± 0.37 aA	61.30 ± 0.05 aB	64.97 ± 0.85 aC	69.47 ± 0.35 aD
T7	61.60 ± 0.14 aA	61.80 ± 0.05 abC	70.05 ± 0.14 dB	74.61 ± 0.19 dC
T8	61.66 ± 0.23 aA	61.75 ± 0.26 abcA	66.87 ± 0.08 cB	72.83 ± 0.32 cC
T9	61.47 ± 0.24 aA	61.55 ± 0.16 abA	65.81 ± 0.72 abcB	71.53 ± 0.79 bC

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$ and uppercase letters in each row indicate a significant difference of $p < 0.05$.

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barley milk, T5 yogurt with 50% barley milk, T6 yogurt with 75% barley milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

ارزیابی حسی محصولات پروبیوتیک همواره یکی از مهم‌ترین آزمون‌های مورد بررسی می‌باشد، لذا در این مطالعه ماست پروبیوتیکی تولیدی از لحاظ عطر، رنگ، طعم و پذیرش کلی از نظر داوران مورد آزمون قرار گرفت، نتایج حاکی از آن بود که نمونه‌های ماست پروبیوتیکی تهیه شده با شیر سویا، جو و بادام مورد پذیرش و مقبولیت توسط داوران از لحاظ ویژگی حسی مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهشی Shoria و همکاران (۲۰۲۲) زنده‌مانی پروبیوتیک‌ها و فعالیت آن‌تی‌اکسیدانی ماست مبتنی بر شیر بادام هندی تخمیر شده با سویه‌های پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس را مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها گزارش کردند که نمونه‌های تولیدی اختلاف معنی‌داری با نمونه شاهد نداشته است [۶].

۳-۶- ویژگی‌های حسی ماست

اثر غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام روی تغییرات شاخص‌های حسی (عطر، طعم، رنگ و پذیرش کلی) نمونه‌های ماست معنی‌دار نشد ($p > 0.05$). در این پژوهش نمونه ماست‌های حاوی غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام در مقایسه با نمونه ماست شاهد از لحاظ رنگ، طعم و عطر برابری و حتی در برخی موارد بالاتر از لحاظ امتیاز بودند (جدول ۷). نمونه ماست (ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر سویا و ۲۵ درصد شیر) از لحاظ عطر، نمونه ماست T8 (ماست پروبیوتیکی حاوی ۵۰ درصد شیر بادام و ۵۰ درصد شیر) از لحاظ رنگ و نمونه ماست T4 (ماست پروبیوتیکی حاوی ۲۵ درصد شیر جو و ۷۵ درصد شیر) از لحاظ طعم کمترین امتیازهای حسی را به خود اختصاص دادند. در نهایت از لحاظ پذیرش کلی هیچ تفاوت معنی‌داری بین نمونه ماست‌های حاوی غلظت‌های مختلف شیر سویا، جو و بادام با نمونه ماست شاهد نبود.

Table 7 The effect of different concentrations of soy, barley and almond milk on changes in the percent of syneresis of probiotic bacteria of yogurt during storage time

Yogurt sample				
	color	taste	smell	Overall acceptance
T0	4.40 ± 0.51 e	4.40 ± 0.47 bc	4.00 ± 0.47 bc	4.20 ± 0.42 a
T1	4.00 ± 0.47 bcde	4.90 ± 0.31 e	4.00 ± 0.47 bc	4.40 ± 0.51 a
T2	3.44 ± 0.69 ab	4.66 ± 0.48 de	4.00 ± 0.81 bc	4.22 ± 0.42 a

T3	3.60 ± 0.84 abc	4.60 ± 0.51 de	3.70 ± 0.67 a	4.10 ± 0.31 a
T4	4.30 ± 0.48 de	3.30 ± 0.82 a	4.60 ± 0.51 c	4.00 ± 0.66 a
T5	4.10 ± 0.56 cde	4.50 ± 0.70 de	4.40 ± 0.51 c	4.20 ± 0.42 a
T6	4.10 ± 0.56 cde	3.60 ± 0.69 bc	4.20 ± 0.63 bc	4.50 ± 0.70 a
T7	3.80 ± 0.63 abcd	4.30 ± 0.48 de	4.10 ± 0.31 bc	4.50 ± 0.52 a
T8	3.30 ± 0.48 a	4.10 ± 0.56 cd	4.20 ± 0.32 bc	4.00 ± 0.47 a
T9	3.80 ± 0.63 abcd	3.90 ± 0.31 cd	4.60 ± 0.16 c	4.30 ± 0.48 a

* Lowercase letters in each column indicate a significant difference of $p < 0.05$

* T0 blank sample, T1 Yogurt with 25% soy milk, T2 yogurt with 50% soy milk, T3 yogurt with 75% soy milk, T4 yogurt with 25% barely milk, T5 yogurt with 50% barely milk, T6 yogurt with 75% barely milk, T7 yogurt with 25% almond milk, T8 yogurt with 50% almond milk, T9 yogurt with 75% almond milk

۴- نتیجه گیری

جو و بادام کمتر بود. همچنین مدت زمان نگهداری بر شاخص ویسکوزیته ماست اثر گذار بود. با افزودن غلظت های مختلف شیر سویا، جو و بادام باعث افزایش ویسکوزیته شد. از طرفی روند آب اندازی در نمونه های غنی شده با شیر جو، بادام و سویا کاهش معنی داری داشت. البته در طی مدت زمان ماندگاری در تمام ماست ها آب اندازی مشاهده شد. نتایج مقبولیت حسی برای تمام نمونه ها یکسان بود. به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد افزودن ترکیباتی نظیر شیر سویا، جو و بادام می تواند سبب بهبود ویژگی های فیزیکوشیمیایی و حسی در ماست پروبیوتیک شود. در این تحقیق نمونه حاوی شیر جو T6 (ماست پروبیوتیکی حاوی ۷۵ درصد شیر جو و ۲۵ درصد شیر)، از لحاظ تمام پارامترها از کیفیت بهتری برخوردار بود.

۵- تشکر و قدردانی

تحقیق حاضر، پایان نامه دانشجوی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد فسا بوده که در آزمایشگاه شرکت فراورده های لبنی رامک انجام شد.

۶- منابع

- [1] Dawood, M. A., Koshio, S., Abdel-Daim, M. M., and Van Doan, H. 2019. Probiotic application for sustainable aquaculture. Reviews in Aquaculture, 11(3), 907-924.
- [2] Azad, A. K., Sarker, M., Li, T., and Yin, J. 2018. Probiotic species in the modulation of gut microbiota: An overview. BioMed Research International, 11(2), 25-45.
- [3] Watson, R. R., and Preedy, V. R. (Eds.). 2015. Probiotics, prebiotics, and synbiotics:

از آنجا که لبنیات حاوی مواد سودمند مانند مواد معدنی، آنتی اکسیدان ها، فیبرهای رژیمی و ویتامین ها هستند، می توانند محیط مناسبی برای تولید لبنیات پروبیوتیکی به شمار آیند. با این وجود قابلیت بقای پروبیوتیک ها در مواد غذایی بر پایه لبنیات به دلایلی نظیر وجود ترکیبات ضد میکروبی و ترکیبات مغذی مورد نیاز رشد آن ها، محیط مناسبی می باشد. در این مطالعه ترکیباتی نظیر شیر سویا، جو و بادام به ماست فراسودمند اضافه شد و سبب بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و حسی ماست گردید.

غنی سازی ماست پروبیوتیکی با شیر جو، بادام و سویا در غلظت های مختلف و همچنین مدت زمان نگهداری بر شاخص زنده ماندن پروبیوتیک ها اثر گذار است. نتایج نشان دادند با افزایش غلظت شیر سویا، جو و بادام باعث افزایش زنده ماندن باکتری های پروبیوتیک شد و با گذشت زمان این روند افزایشی ادامه داشت. با افزایش غلظت شیر سویا، جو و بادام، کاهش pH و افزایش اسیدیته به طور معنی داری مشاهده شد. شاخص بریکس در نمونه های ماست با افزایش زمان کاهش یافت. این روند کاهشی در نمونه ماست های حاوی غلظت های شیر سویا،

bioactive foods in health promotion. Academic Press.

- [4] Zhang, T., Jeong, C. H., Cheng, W. N., Bae, H., Seo, H. G., Petriello, M. C., & Han, S. G. 2019. Moringa extract enhances the fermentative, textural, and bioactive properties of yogurt. LWT, 101, 276-284.

- [5] Cui, L., Changb, S. K. C., and Nannapaneni, R. 2021. Comparative studies on the effect of probiotic additions on the physicochemical and microbiological properties of yoghurt made from soymilk and cow's milk during

- refrigeration storage (R2). Food Control, 119(1), 107474.
- [6] Shoria, A. B., Aljohani, G. S., Al-zahrani, A. J., Al-sulbi, O. S., & Baba, A. S. 2022. Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus spp.* LWT, 153(1), 112482.
- [7] Chatinyan, N. R., Karakhanyan, M. G., & Dallakyan, N. S. (2023). The Use of Milk and Flour Made from Almonds in the Production of Lactic Foods. AgriScience and Technology, 2(82).
- [8] Alozie Yetunde, E., and Udofia, U. S. 2015. Nutritional and sensory properties of almond (*Prunus amygdalu Var. Dulcis*) seed milk. World Journal of Dairy & Food Sciences, 10(2), 117-121.
- [9] Hadidi, F., Ganjloo, A., and Fakoor, M. H. 2022. Optimization of Non-dairy Dessert Formulation based on Almond Milk Containing Tragacanth Gum and Stevia Sweetener. Iranian Food Science and Technology Research Journal, 1(1), 25-40.
- [10] Nematollahia, A., Sohrabvandib, S., Mortazavian, A. M., and Jazaeri, S. 2016. Viability of probiotic bacteria and some chemical and sensory characteristics in cornelian cherry juice during cold storage. Electronic Journal of Biotechnology, 21(1), 49-53.
- [11] AOAC. 1995. Official Method of Analysis, 15th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- [12] Salimian, S., Khosroshahi, A., and Zomorodi, S. 2016. The Effect of Type and amount of three different stabilizers on stability, rheological and sensory properties of chocolate milks. Journal of Food Research 22(2), 165-173.
- [13] Tamime, A. Y., Barrantes, E., and Sword, A. M. 1996. The effects of starch based fat substitutes on the microstructure of set-style yogurt made from reconstituted skimmed milk powder. Journal of the Society of Dairy Technology, 49, 1-10
- [14] Meybodi, N. M., Mortazavian, A., and Arab, M. 2020. Probiotic viability in yoghurt: A review of influential factors. International Dairy Journal, 109(1), 104793.
- [15] Sadaghdar, Y., Mortazavian, A. M., and Ehsani, M. R. 2012. Survival and activity of 5 probiotic *lactobacilli* strains in 2 types of flavored fermented milk. Food Science and Biotechnology, 21, 151-157.
- [16] Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., Jesus, A. L. T. da Costa, J. M. C., and Rodrigues, S. 2013. Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice. Food and Bioprocess Technology, 6(11), 3155-3165.
- [17] Parks, H. S., Reinbold, G. W., Hammond, E. G., and Clark, W. J. 1967. Growth of propionibacteria at low temperatures. Journal Dairy Science, 50(4), 589-591.
- [18] Lind, H., Jonsson, H., and Schnurer, J. 2005. Antifungal effect of dairy propionibacteria-contribution of organic acids. International Journal Food Microbiology, 98(1), 157- 165.
- [19] Prasanna, P. H. P. and Charalampopoulos, D. 2020. Encapsulation in an alginate-goats' milk-inulin matrix improves survival of probiotic bifidobacterium in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt. International Journal of Dairy Technology, 72(1), 132-141.
- [20] Afzaal, M., Saeed, F., Hussain, M., Ismail, Z., and Azhari Siddeeg, A. 2022. Influence of encapsulation on the survival of probiotics in food matrix under simulated stress conditions. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(9), 103394.
- [21] Sohrabvandi, S., Malganji, S., Eivani, M. J., & Khosravi-Darani, K. (2013). Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis* in Ma-al-shaeer during refrigerated storage. Iranian Journal of Nutrition Sciences & Food Technology, 7(5), 87-94.
- [22] Sarkar, S. 2019. Potentiality of probiotic yoghurt as a functional food - a review. Nutrition & Food Science, 41(1), 0034-6659.
- [23] Lollo, P. C. B., Mour, C. S., Neder, P., Gomes, M. A., Freitas, C. W. d., Baú, C. C., . . . Amaya-Farfan, J. 2013. Probiotic yogurt offers higher immune-protection than probiotic whey beverage. Food Research International, 54(1), 118-124.
- [24] Lupien-Meilleura, J., Roy, D., and Lagacéb, L. 2016. Viability of probiotic bacteria in a maple sap beverage during refrigerated storage. LWT - Food Science and Technology, 74(10), 160-167.
- [25] Shah, N. P., Ding, W. K., Fallourd, M. J., and Leyer, G. 2010. Improving the stability of probiotic bacteria in model fruit juices using vitamins and antioxidants. Journal of Food Science, 75(2), 278-282.
- [26] Huang, M. B. T., Wang, S. G. Y., Lai-Yu, J. W., Dan, K. T., and Bilige, H. Z. M. 2020. Probiotic *Lactobacillus casei* Zhang improved the properties of stirred yogurt. Food Bioscience, 37(1), 100718.
- [27] Fan, X., Li, X., Du, L., Li, J., Xu, J., Shi, Z., . . . Zeng, X. 2022. The effect of natural plant-based homogenates as additives on the

- quality of yogurt: A review. Food Bioscience, 49(1), 101953.
- [28] Rashidi, H., Moatamedshariaty, P. 1 , Ghodsrohani, M. 1 , Hakimzadeh, V. 2022. The use of soy milk in the production of functional Kashk powder and determining its characteristics. Iranian Journal of Food Science and Technology, 122(19), 211-222.
- [29] Cheng, J., Xie, S., Yin, Y., Feng, X., Wang, S., Guo, M., . . . 2017. Physiochemical, texture properties, and the microstructure of set yogurt using whey protein-sodium tripolyphosphate aggregates as thickening agents. Journal of the Sciences of Food and Agriculture, 97(9), 2819- 2825.
- [30] Wang, W. B., Bao, Y. H., Gregory, M. H., & Guo, M. R. 2012. Consistency, microstructure and probiotic survivability of goat's milk yoghurt using polymerized whey protein as a cothickening agent. International Dairy Journal, 24(2), 113-119.
- [31] Gonzalez-Matinez, C., M Becerra M, Chafer, M., Albors, A., and Carot, J. M. 2012. Influence of substituting milk powder for whey powder on yogurt quality. Trends in Food Science and Technolog, 13(10), 334-340.
- [32] Mabrouk, A., and Effat, B. 2020. Production of high nutritional set yoghurt fortified with quinoa flour and probiotics. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnolog, 5(6), 2456-1878.
- [33] Li, H., Zhang, T., Li, C., Zheng, S., Li, H., & Yu, J. 2020. Development of a microencapsulated synbiotic product and its application in yoghurt. LWT, 122(1), 109033.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the effect of adding soy, barley and almond milk on the physicochemical and sensory properties of probiotic yogurt

Yasaman Jowkar¹ and Zahra Erjaee^{2*}

1-Graduate Student, Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran

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

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2024/2/15

Accepted: 2024/7/17

Keywords:

probiotic yogurt,
soy milk,
barley milk,
almond milk

DOI: 10.22034/FSCT.22.162.90.

*Corresponding Author E-

zerjaee@yahoo.com

ABSTRACT

Probiotics are beneficial bacteria that can be added to foods, especially dairy products, and produce their own health effects in the body. In this study, yogurt was prepared with a combination of soy, barley and almonds milk in three concentrations (75:25, 50:50, 25:75 ratio of milk/soy milk, barley and almond) and incubated with 10^8 cfu/ml of two probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus plantarum* and studied for 21 days. Yogurt samples were tested for probiotic viability, pH, acidity, brix, viscosity, syneresis, and sensory evaluation on 0, 7, 14, and 21 days after production. The results showed that the probiotic bacteria initially increased and then decreased during storage. Yogurt samples containing soy, almond and barley milk had a smaller decrease in the number of probiotic bacteria and at the end of 21 days, they showed an acceptable level of bacterial viability. The trend of decreasing pH and acid production by these bacteria was observed in yogurts over time, and this trend was more in samples containing. Syneresis in all samples increased during time but sample containing soy milk, barley and oats milk had less syneresis. The percentage of soluble solids of all samples showed a decreasing trend during storage, but this trend was slower in the samples of yogurts containing soy, barley and almond milk. The viscosity of the produced products showed an upward trend during the storage time, and the samples containing soy, barley and almond milk had a higher viscosity. Overall acceptability in all our samples was not significantly different from the control sample. Finally, yogurt containing 25% milk and 75% barley milk had better quality than other treatments in terms of physicochemical characteristics.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و صمغ عربی حاوی ناتامایسین بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی پسته خام

سمانه اسلامی^۱ - راضیه پرتوی^{۱*} - حجت اله شکری^۲ - محبوبه زارع^۳ - اصغر عزیزیان^۴ - کوثر مقصودی^۱

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۲- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۳- گروه علوم پایه، دانشکده گیاهان دارویی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

۴- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله : تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۱ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰	این مطالعه با هدف بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و صمغ عربی حاوی ناتامایسین بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی پسته خام طی ۲۸ روز نگهداری در یخچال (4 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد) انجام شد. نمونه‌ها در پنج گروه شامل کنترل (C)، پوشش داده شده با کیتوزان (Ch)، پوشش داده شده با صمغ عربی (Ga)، پوشش داده شده با کیتوزان و ناتامایسین (Ch+Na)، پوشش داده شده با صمغ عربی و ناتامایسین (Ga+Na) و پوشش داده شده با کیتوزان و صمغ عربی و ناتامایسین (Ch+Ga+Na) تهیه و آزمون‌های مشخصه‌یابی (طیف مادون‌قرمز تبدیل فوریه، پراش اشعه ایکس، آنالیز وزن‌سنجی حرارتی و میکروسکوپ الکترونی روبشی)، میکروبی (شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها، رشد آسپرژیلوس و شمارش کپک و مخمر)، شیمیایی (افت وزن و رطوبت) و حسی انجام شد. نتایج آزمون‌های میکروبی نشان داد نمونه‌های پوشش داده شده با کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین در مقایسه با سایر تیمارها بطور معناداری در مهار رشد موثر عمل کرده است ($P < 0.05$) بطوریکه در ابتدا و انتهای دوره شمارش باکتری‌ها از $3.47 \log cfu/g$ به $4.61 \log cfu/g$ ، کپک و مخمر از $2.22 \log cfu/g$ به $1.04 \log cfu/g$ و درصد توسعه آسپرژیلوس از ۲۰ به ۱۲ درصد رسید. همچنین پوشش‌دهی با کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین تأثیر مثبتی بر ویژگی‌های شیمیایی به‌ویژه ممانعت از افت وزن داشت بطوریکه از ۵/۱۲ درصد در روز صفر به ۳/۷۷ درصد در روز پایانی رسید درحالی‌که این میزان برای تیمار کنترل در روز صفر و ۲۸ به ترتیب ۴/۰۸ و ۷/۰۳ درصد بود. پوشش‌دهی با کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین نه تنها بر کیفیت ظاهری پسته‌ها تأثیر نامطلوب نگذاشته، بلکه در تمامی پارامترها به استثنای طعم موجب بهبود مشخصات حسی شده است. بطور کلی نتایج نشان داد که پوشش کیتوزان و صمغ عربی، بویژه زمانی که حاوی ناتامایسین باشد می‌تواند به عنوان پوشش خوراکی موثر در حفظ و ارتقاء کیفیت مواد غذایی به‌ویژه خشکبار مورد توجه قرار گیرد.
کلمات کلیدی: پسته خام، صمغ عربی، کیتوزان، ناتامایسین	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.104. * مسئول مکاتبات: r.partovi@ausmt.ac.ir	

۱-مقدمه

در ساخت پوشش خوراکی است. هنگامی که صمغ عربی با مایعات مخلوط می‌شود، یک فیلم نازک و محافظ روی سطح ماده غذایی ایجاد می‌کند. این پوشش موجب محافظت در برابر اکسیداسیون، کپک زدگی و خشک شدن مواد غذایی شده و ماندگاری آن‌ها را افزایش می‌دهد (۹، ۸، ۷).

ناتامایسین که گاهی با نام پیماریسین نیز شناخته می‌شود، یک آنتی‌بیوتیک پلی‌ئنی ماکرولیدی است که به‌طور طبیعی توسط برخی از باکتری‌ها تولید می‌شود و به‌طور ویژه برای مهار کپک‌ها و مخمرها کاربرد دارد (۹، ۱۰). پوشش‌های حاوی ناتامایسین معمولاً بر روی سطح پنیرها، نان‌ها، و برخی محصولات گوشتی به کار می‌روند، که با ایجاد یک سد حفاظتی ضد قارچی، عمر مفید محصولات را افزایش می‌دهند. همچنین، از آنجا که ناتامایسین فقط اثرات سطحی دارد و در دستگاه گوارش انسان تجزیه می‌شود، از این نظر به‌عنوان یک افزودنی امن به شمار می‌آید (۱۱).

باتوجه به مطالب ذکر شده، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر پوشش خوراکی کیتوزان و صمغ عربی حاوی ناتامایسین بر ویژگی‌های میکروبی، شیمیایی و حسی پسته خام انجام شده است.

۲-مواد و روش کار

۲-۱-تهیه پوشش خوراکی

جهت تهیه محلول کیتوزان، پودر کیتوزان (۰/۵ درصد)، اسید استیک (۰/۵ میلی‌لیتر) و آب مقطر (۱۰۰ میلی‌لیتر)، با استفاده از همزن مغناطیسی مخلوط و تا دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد گرم شد. محلول صمغ عربی (۲/۵ درصد) حاوی گلیسرول با مخلوط کردن پودر ااقیا با آب ساخته شد و با استفاده از همزن مغناطیسی در دمای اتاق (20 ± 2) درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ ساعت هم‌زده شد. در نهایت پس از سرد شدن مخلوط‌ها تا دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد،

پسته به دلیل محتوای مواد مغذی مانند اسیدهای چرب مفید، سطوح بالای پتاسیم، ۷-توکوفرول و طعم بدیع در سطح جهانی شهرت دارد و همواره محصولی پر تقاضا می‌باشد (۱). با این حال، طبیعت لطیف پسته تازه باعث فسادپذیری آن می‌شود و این امر ماندگاری پس از برداشت این محصول را تحت تأثیر قرار می‌دهد. رشد کپک، آلودگی به آفلاتوکسین، تغییر رنگ، تخریب بافت و واکنش‌های اکسیداتیو از جمله چالش‌های نگهداری پسته می‌باشد (۲). برای غلبه بر این مسائل و افزایش ماندگاری پسته، محققان تکنیک‌های مختلف نگهداری از جمله استفاده از پوشش‌های خوراکی را بررسی کرده‌اند (۳).

پوشش‌های خوراکی که عموماً ماهیت پروتئینی یا پلی‌ساکاریدی دارند، لایه‌های نازکی از مواد هستند که به عنوان مانع عمل می‌کنند و از انتقال رطوبت، اکسیژن و مواد محلول در غذا جلوگیری می‌کنند. آنها نقش مهمی در حفظ کیفیت و افزایش ماندگاری محصولات مختلف غذایی دارند. هنگامی که با مواد دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی ترکیب می‌شوند، پوشش‌های خوراکی مزایای بیشتری را ارائه می‌دهند (۳).

کیتوزان، یک پلی‌ساکارید است که به دلیل ویژگی‌های منحصر به فرد و اثرات تغذیه‌ای آن مورد توجه قرار گرفته است و به عنوان یک افزودنی غذایی توسط سازمان غذا و داروی ایالات متحده تایید شده است. کیتوزان به دلیل دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و غیر سمی و ویژگی‌های مطلوب در تشکیل فیلم به طور وسیع در پوشش‌های خوراکی استفاده می‌شود (۴، ۵، ۶).

صمغ عربی پلیمری زیستی متشکل از گالاکتوز، رامنوز، آرابینوز و اسید گلوکورونیک است که به‌طور گسترده‌ای به دلیل ویژگی‌های امولسیون‌کنندگی، استحکام‌بخشی و چسبندگی‌اش در صنعت مواد غذایی و دیگر بخش‌ها به کار می‌رود (۶). یکی از اصلی‌ترین کاربردهای صمغ عربی

ناتامایسین (۰/۱۵ درصد) با کمک همزن مغناطیسی به مخلوط کیتوزان و صمغ عربی اضافه گردید (۱۲). پسته تازه و سالم که فاقد هرگونه آسیب مکانیکی باشد با آب لوله‌کشی شسته و سپس رطوبت اضافی از سطح آن حذف گردید. پسته‌های تازه در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه در محلول‌های پوششی تهیه شده غوطه‌ور شدند و در نهایت اجازه داده شد تا سطح پسته خشک شود. پسته‌ها در زیپ کیپ بسته بندی شده و در یخچال (± 4) درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۵-۹۰ درصد قرار داده شد و آزمایش‌ها در روزهای ۲۸، ۲۱، ۱۴، ۷، ۰ نگهداری انجام شد (۱۳).

۲-۲-آزمون‌های مشخصه‌یابی

۲-۲-۱-سنجش طیف مادون‌قرمز تبدیل فوریه (FTIR)^۱

پروفاایل‌های FTIR نانوذرات حاصله با استفاده از دستگاه طیف سنج (Bruker, VERTEX 70, Germany) در محدوده $4000-400\text{ cm}^{-1}$ تعیین شد (۱۴).

۲-۲-۲-سنجش پراش اشعه ایکس (XRD)^۲

با استفاده از دستگاه طیف سنج پراش پرتو ایکس (Panalytical, Xpert Pro MPD, Nederland) ساختار کریستالی نمونه‌ها تعیین شد (۱۴).

۲-۲-۳-آنالیز وزن‌سنجی حرارتی (TGA)^۳

با سیستم ترمو آنالیزر و گرماوزن سنجی تحت شرایط (Thermo Scientific, Niton xl2, USA) N2 فرایندهای تخریب حرارتی نانوذرات تا ۴۰۰ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری شد (۱۴).

۲-۲-۴-آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی

مورفولوژی نانوذرات سنتز شده با استفاده از میکروسکوپ الکترونی روبشی گسیل میدانی (FE-SEM) ساخت ژاپن (Hitachi, S-4160, Japan) تعیین شد (۱۴، ۱۵).

۳-۲-آزمون‌های میکروبی

۳-۲-۱-شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

۱۰ گرم از هر نمونه با ۹۰ میلی‌لیتر پپتون واتر همگن و رقت‌های متوالی تهیه شد. برای شمارش بار میکروبی، ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت در محیط نوترینت آگار ریخته شد و از روش کشت سطحی استفاده شد. ظروف پتری در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوبه شد (۱۳).

۳-۲-۲-شمارش کپک و مخمر

۱ گرم از هر نمونه را به مخلوط‌کن که حاوی ۹ میلی‌لیتر پپتون واتر است منتقل کرده تا پس از تهیه رقت‌های سریالی، در محیط کشت دکستروز آگار کشت داده شود و پس از تلقیح، پتری دیش‌ها به مدت یک هفته در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۶).

۳-۲-۳-بررسی رشد آسپرژیلوس

۱۰ عدد پسته از هر تیمار داخل پتری دیش‌های از قبل استریل شده حاوی کاغذ صافی مرطوب قرار داده شد و در انکوباتور در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷-۵ روز گرمخانه‌گذاری شد و نهایتاً پس از انکوباسیون، تعداد پسته‌های آلوده در هر پلیت شمارش شده و میزان رشد آسپرژیلوس به صورت درصد گزارش گردید (۱۶).

۴-۲-آزمون‌های شیمیایی

۴-۲-۱-تعیین میزان افت وزن

نمونه‌ها، طی دوره نگهداری وزن شدند و افت وزن، از رابطه زیر محاسبه گردید (۱۷):

$$100 \times \frac{\text{وزن اولیه} - \text{وزن ثانویه}}{\text{وزن اولیه}} = \text{درصد}$$

کاهش وزن

۴-۲-۲-تعیین میزان رطوبت

برای تعیین میزان رطوبت پسته، حدود ۳ تا ۵ گرم نمونه را آسیاب کرده و در آون با دمای 103 ± 2 درجه سانتی‌گراد

3- Thermal Gravimetric Analysis

1- Fourier Transform Infrared Spectroscopy

2- X-Ray Diffraction

شکل ۱(a) تصویر آنالیز FTIR پوشش کیتوزان/صمغ عربی / ناتامایسین را نشان می‌دهد. پیک‌های مشاهده شده در طول موج‌های 785 cm^{-1} ، 1410 cm^{-1} و 1641 cm^{-1} مربوط به نمونه سه جزیی سنتز شده به ترتیب مرتبط با ارتعاشات (C-O)، (C-N) و (N-H) ساختار کیتوزان هستند. همچنین پیک واقع در 2892 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی (C-H) ساختار کیتوزان تهیه شده است. علاوه بر این پیک پهن و گسترده در 3440 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی (OH) و (NH) است. پیک‌های موجود در 605 cm^{-1} و 900 cm^{-1} تا 1200 cm^{-1} مربوط به ساختار صمغ عربی می‌باشند. در ساختار سه جزیی، پیوندهایی در نقاط 1079 cm^{-1} تا 1152 cm^{-1} مشخص است که مربوط به ساختار اتر ناتامایسین می‌باشند. به علاوه پیک موجود در طول موج 2940 cm^{-1} مربوط به پیوند C-H ساختار ناتامایسین می‌باشد.

۳-۱-۲- آنالیز وزن‌سنجی حرارتی

نتایج این آنالیز در شکل ۱(b) ارائه شده است. کاهش وزن اولیه (تقریباً ۱۱/۰۷ درصد)، مشاهده شده در فاصله دمایی کمتر از ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد، را می‌توان به حذف آب جذب شده توسط ساختار و حذف ناخالصی‌ها نسبت داد. کاهش وزن ثانویه که در دماهای بالاتر از ۱۰۵ درجه رخ داده است نتیجه تجزیه ساختار صمغ عربی و همچنین تجزیه کیتوزان و ناتامایسین است که تقریباً ۶۵/۱۲ درصد وزن ساختار را تشکیل می‌دهد.

۳-۱-۳- سنجش پراش اشعه ایکس

الگوی XRD پوشش سه جزیی، متشکل از کیتوزان، صمغ عربی و ناتامایسین سنتز شده، در شکل ۱(c) نشان داده شده است. در تصویر XRD، صفحات کریستالی کیتوزان (020°) و (110°) یافت می‌شود که با پیک‌ها در زاویه‌های $11/41^\circ$ و $20/74^\circ$ مطابقت دارند. از طرف دیگر، قله شناسایی شده در زاویه $18/6^\circ$ نشان دهنده وجود صمغ عربی در این آرایش سه جزیی می‌باشد. با بررسی بیشتر

به مدت ۳ ساعت خشک شد تا زمانی که اختلاف بین دو وزن ناچیز گردد. حال مقدار رطوبت تبخیر شده محاسبه و میزان رطوبت به صورت درصد بیان شد (۱۸).

۵-۲- خصوصیات حسی

نمونه‌ها توسط ۱۲ پانلیست آموزش دیده مورد ارزیابی قرار گرفت. از شرکت‌کنندگان در مورد خصوصیات کیفی متفاوت (رنگ، بافت، طعم، عطر و پذیرش کلی) پسته تازه، با استفاده از مقیاس ۱ تا ۹ به شرح زیر سوال شد: رنگ از قهوه‌ای بسیار تیره (۱) تا بسیار زرد-قرمز و با حداقل لکه‌های قهوه‌ای (۹)، بافت از بسیار نرم (۱) به بسیار سفت (۹)، عطر پسته از بی بویی قوی (۱) تا رایحه بسیار تازه (۹) و طعم پسته از خیلی بد مزه (۱) تا طعم خیلی تازه (۹). پذیرش کلی نیز با استفاده از یک مقیاس لذت‌گرا از بسیار نامطلوب (۱) تا بسیار مطلوب (۹) ارزیابی شد (۱۹).

۶-۲- تجزیه و تحلیل آماری

برای مقایسه روند تغییرات میکروبی و شیمیایی در طول دوره مطالعه در هر گروه از آزمون مدل رویه خطی برای داده‌های تکراری و آزمون تعقیبی بونفرونی استفاده شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها در هر زمان از آزمون پارامتری آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده گردید. در متغیرهای حسی مقایسه روند تغییرات طی دوره مطالعه در هر گروه از آزمون غیرپارامتری فریدمن استفاده شد. جهت مقایسه بین گروه‌ها در هر زمان آزمون غیرپارامتری کروسکال والیس مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بر اساس میانگین و انحراف معیار بیان شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ انجام شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۵ درصد در نظر گرفته شد.

۳-نتایج

۳-۱-۳- نتایج آزمون‌های مشخصه‌یابی

۳-۱-۱-۳- سنجش طیف مادون قرمز تبدیل فوری

آزمون الگوی پراش اشعه ایکس، پیک های متفاوتی در زوایای $16/9^\circ$ ، $18/8^\circ$ ، $19/8^\circ$ ، $20/26^\circ$ ، $20/9^\circ$ ، $21/56^\circ$ و $23/29^\circ$ نشان داده شده که مشخصاً مرتبط با ناتامایسین است. وجود پیک های هر سه ترکیب نشان دهنده ترکیب سه جزئی کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین است.

۴-۱- آنالیز میکروسکوپ الکترونی روبشی

تصویر ساختار کیتوزان به دست آمده از FE-SEM را می توان در شکل ۲ (a) مشاهده کرد. بدیهی است که کیتوزان ذرات کروی را نشان داده است که دارای مورفولوژی ثابتی هستند. علاوه بر این، ذرات به دلیل تمایل زیاد به جمع شدن، ساختار تقریباً کلوخه ای از خود نشان داده اند. شکل ۲(b) تصویر مربوط به میکروسکوپ الکترونی روبشی ساختار پوشش خوراکی تشکیل شده از کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین را نشان می دهد. همانطور که مشاهده می شود، ذرات کیتوزان به صورت پراکنده در سراسر ساختار صمغ عربی پراکنده شده اند. این تحلیل تجربی وجود هر دو ماده کیتوزان و صمغ عربی را در ساختار کلی کامپوزیت تأیید می کند. از طرفی هم هیچ گونه کریستال ناتامایسین بر روی سطح ساختار دیده نمی شود که حاکی از آن است که ناتامایسین درون ساختار سه جزئی قرار گرفته است.

۳-۲- نتایج آزمون های میکروبی

۳-۲-۱- شمارش کلی میکروارگانیسم ها

در جدول ۱ تغییرات شمارش باکتری های کل در تیمارهای مختلف ارائه شده است. روند کلی تعداد باکتری ها در نمونه ها طی مطالعه افزایشی بود. در تمامی روزهای مورد مطالعه به جز روز صفر بین گروه کنترل و تمام گروه های تیمار اختلاف معنادار مشاهده شد ($P < 0/05$)، بنابراین کیتوزان و صمغ عربی خالص نیز اثر ضد میکروبی از خود نشان دادند و با افزودن ناتامایسین این اثر قوی تر خود را نشان داد (به ویژه در روزهای ۲۱ و

۲۸ نگهداری). میزان اولیه تعداد باکتری های کل در روز صفر تیمار کنترل $\log \text{cfu/g}$ ۳/۱۱ بود که در روز ۲۸م نگهداری این مقدار به $\log \text{cfu/g}$ ۶/۸۱ رسید و بیشترین میزان را نشان داد. کمترین میزان باکتری های کل در روز آخر نگهداری مربوط به تیمار کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین ($\log \text{cfu/g}$ ۴/۶۱) بود.

۲-۲-۳- شمارش کپک و مخمر

در جدول ۱ نتایج تغییرات شمارش کپک و مخمر در تیمارهای مختلف پسته خام ارائه شده است. در روز صفر نگهداری بین تیمارها اختلاف معناداری مشاهده نشد ($P > 0/05$). در روز هفتم نگهداری کمترین تعداد مربوط به پسته های تیمار شده با کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین بود ($\log \text{cfu/g}$ ۲/۰۱) که در مقایسه با تمامی تیمارها اختلاف معناداری داشت ($P < 0/05$). تعداد کپک و مخمر در تمامی روزهای نگهداری به جز روز صفر بین گروه کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین با سایر گروه ها اختلاف معنادار نشان داد. همچنین بین گروه کیتوزان با کیتوزان حاوی ناتامایسین و نیز بین گروه صمغ عربی با صمغ عربی حاوی ناتامایسین در تمام روزهای مطالعه به جز روز صفر اختلاف معنادار مشاهده شد.

۳-۲-۳- رشد آسپرژیلوس

طبق نمودار ۱ روند تغییرات رشد آسپرژیلوس در روز صفر نگهداری گروه کنترل ۲۰ درصد و در روز پایانی این مقدار به ۱۰۰ درصد رسید. در روز پایانی تیمار کنترل بیشترین درصد (۱۰۰) و تیمار پوشش کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین کمترین درصد (۱۲) رشد آسپرژیلوس را دارا بودند. طی نگهداری همواره درصد توسعه کپک در نمونه های کیتوزان/ ناتامایسین و صمغ عربی/ ناتامایسین بین ۲۵ تا ۳۷ درصد بود که کمتر از گروه کنترل بود و در هر سه گروه حاوی ناتامایسین از روز ۱۴ به بعد کاهش

درصد رشد آسپرژیلوس مشاهده شد، در حالیکه در گروه های بدون ناتامایسین همواره این روند افزایشی بوده است.

۳-۳-۳-۳ نتایج آزمون های شیمیایی

۳-۳-۳-۱-۳ میزان افت وزن

در جدول ۲ تغییرات افت وزن در تیمارهای مختلف نمونه های پسته خام ارائه شده است. میزان افت وزنی نمونه های پسته خام به استثنای نمونه های کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین، در سایر تیمارها در طی نگهداری افزایش یافت ($P < 0.05$). در تمام روزهای نگهداری به جز روز صفر اختلاف فاحشی از نظر میزان افت وزن بین گروه کنترل و سایر تیمارها مشاهده شد که این اختلاف در روزهای پایانی نگهداری نمود بیشتری دارد. در روز آخر نگهداری، بالاترین میزان افت وزنی در نمونه کنترل ($7/03$ درصد) و کمترین میزان افت وزنی در نمونه های پوشش دهی کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین ($3/77$ درصد) و نمونه صمغ عربی/ ناتامایسین ($4/21$ درصد) مشاهده شد.

۳-۳-۳-۲-۳ میزان رطوبت

در جدول ۲ تغییرات میزان رطوبت در تیمارهای مختلف نمونه های پسته خام ارائه شده است. در بررسی روند تغییرات مشاهده می شود که در روز صفر بین تیمارهای مختلف اختلاف معنادار مشاهده نشد ($P > 0.05$) و با گذر زمان روند افزایشی در تیمارها مشاهده شد. در روز هفتم نگهداری کمترین میزان رطوبت در تیمار پوشش دهی شده با کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین ($5/41$ درصد) مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها اختلاف معناداری داشت و این اختلاف معنادار را تا پایان مطالعه حفظ کرد ($P < 0.05$). قابل ذکر است که در تمام روزهای نگهداری به جز روز صفر اختلاف معنادار بین گروه کنترل و سایر تیمارها مشاهده شد.

۳-۳-۴-۳ خصوصیات حسی

نتایج مربوط به بررسی خصوصیات حسی طعم، عطر، رنگ، بافت و پذیرش کلی در نمودار ۲ قابل مشاهده است. بررسی اثر متقابل زمان نگهداری و نوع پوشش بر روی تغییرات حسی در پسته های خام تیمار شده طی نگهداری نشان داد که در ارزیابی رنگ، بافت و پذیرش کلی در روز پایانی با اختلاف معناداری بیشترین امتیاز برای نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین بود در حالیکه این تیمار در ارزیابی طعم کمترین امتیاز را نسبت به سایر نمونه های پوشش داده شده دریافت کرد ($P < 0.05$). همچنین مشخص شد نمونه های کنترل در ابتدای دوره نگهداری بیشترین امتیاز طعم را داشته اما با گذر زمان در روزهای ۱۴، ۲۱ و ۲۸ نگهداری امتیاز طعم این گروه کاهش یافت و اختلاف معناداری با سایر تیمارها داشت ($P < 0.05$). همچنین نتایج بررسی عطر نشان داد امتیاز مربوط به این ویژگی حسی در تمام تیمارها کاهش بود و تیمار کنترل در ابتدای مطالعه بیشترین امتیاز و در روز پایانی کمترین امتیاز را داشت. در روز پایانی با اختلاف معناداری بیشترین امتیاز برای نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان حاوی ناتامایسین بود ($P < 0.05$) و پس از آن بیشترین امتیاز برای نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان و نمونه های پوشش داده شده با کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین بود که امتیاز برابری دریافت کردند ($P > 0.05$).

۴-۴-۴ بحث

۴-۴-۴-۱-۴ آزمون های مشخصه یابی

آزمون FTIR با هدف بررسی دقیق سنتز کامپوزیت و تجزیه و تحلیل ترکیبات شیمیایی پیوندهای ایجاد شده در پوشش خوراکی کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین انجام شد. Hamodin و همکاران (۲۰۲۳) در ساختار کیتوزان، پیکهایی در طول موج های 1373 cm^{-1} ، 1373 cm^{-1} ، 1423 cm^{-1} و 1589 cm^{-1} مشاهده کردند که به ترتیب مرتبط با پیوندهای (C-O)، (CH₂)، (CH₃)، (N-)، (H (N-COCH₃)) بودند. به علاوه در پژوهش مذکور

نشان داد که مرحله اول به دلیل از دست دادن آب فیزیکی بوده و مرحله دوم به دلیل تخریب ساختار پلی ساکارید اتفاق افتاده است (۲۴).

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD) نقش بسزایی در مشاهده خصوصیات ساختاری مواد و همچنین خواص کریستالی ترکیبات دارد. Li و همکاران (۲۰۲۳) در یک پژوهش، با استفاده از نتایج الگوی پراش اشعه ایکس، حضور دو پیک در زوایای 10° و 20° را برای ساختار کیتوزان اثبات کردند (۲۵). Emam و همکاران (۲۰۱۹) ساختار صمغ عربی را با استفاده از آنالیز الگوی پراش اشعه ایکس مورد بررسی قرار داده و وجود قله‌های متفاوتی را گزارش کردند. با بررسی این آنالیز، حضور پیک در زوایای 7.7° و 18.5° تأیید شد که نشان دهنده ماهیت آمورف صمغ عربی بوده است (۲۶). با تجزیه و تحلیل تطبیقی مطالعات پیشین و نتایج این تحقیق، می‌توان نتیجه گرفت که الگوی پراش این مطالعه دارای قله‌های قابل تشخیص مرتبط با هر سه ساختار موجود در کامپوزیت می‌باشد که به عنوان شواهد روشنی از سنتز موفقیت‌آمیز کامپوزیت عمل می‌کنند.

آزمون FE-SEM جهت تجزیه و تحلیل مورفولوژی کامپوزیت تهیه شده استفاده شد. نتایج مطالعه انجام شده توسط Oh و همکاران (۲۰۱۹) نشان داد که ذرات کیتوزان ساختاری کروی دارند و در یک ساختار ماتریسی سه بعدی مرتب کنار هم قرار گرفته اند (۲۷). در مطالعه‌ای دیگر میکروسکوپ الکترونی روبشی تصویری از صمغ عربی را ارائه داد که ساختاری نامنظم و طیف متنوعی از اندازه‌های ذرات ماده را به تصویر کشید (۲۸). با مقایسه نتایج آنالیز FE-SEM مطالعات قبلی با تصاویر میکروسکوپی این تحقیق، مشخص شد که تصاویر FE-SEM پوشش خوراکی کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین نشان دهنده وجود ذرات کیتوزان پراکنده در ساختارهای صمغ عربی است. ناتامایسین فوق‌الذکر به عنوان لایه ای از گروه عامل فعال درون ساختار کامپوزیت قرار گرفته است.

پیک‌های موجود در 2921 cm^{-1} و 3451 cm^{-1} به ترتیب مربوط به گروه CH و OH بوده‌اند (۲۰). Ibekwe و همکاران (۲۰۱۷) ترکیب صمغ عربی در محدوده طول موج 800 cm^{-1} تا 1200 cm^{-1} با پیوندهای C-C, C-O, C-O-C, C-H و C-O-H را شناسایی کردند که با طول موج مربوط به ساختار صمغ عربی گزارش شده در این مطالعه مطابقت دارد. علاوه بر این، مشخص شد که پیک‌ها در محدوده 1436 cm^{-1} تا 1627 cm^{-1} با ارتعاش کششی پیوند COO گروه‌های کربوکسیل مرتبط هستند (۲۱). طیف FTIR مربوط به ناتامایسین، پیوندهایی را در نقاط 1006 cm^{-1} و 1267 cm^{-1} به نمایش گذاشته است که مربوط به ساختار اتر موجود در ناتامایسین بوده است. همچنین پیک‌هایی در 1572 cm^{-1} و 1716 cm^{-1} به نمایش گذاشته شده است که به ترتیب به گروه‌های امینی و استری ناتامایسین نسبت داده می‌شوند (۲۲). در نتیجه به وضوح می‌توان دریافت وجود پیک‌های آلی مشترک در هر سه ساختار منجر به همپوشانی قله‌های خاص و حذف آنها و نیز افزایش و یا کاهش شدت پیک‌ها در نمودار FTIR نمونه کامپوزیت شده است.

یکپارچگی حرارتی ساختار کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین از طریق اجرای آزمون TGA مورد بررسی قرار گرفت. به‌طور کلی، آزمون TGA، تغییرات وزن یک ساختار را در حالی که نمونه تحت دمای کنترل شده قرار گرفته است بررسی می‌کند. Mousapour و همکاران (۲۰۲۳)، نشان دادند که با افزایش دما تا 150°C درجه سانتی‌گراد، ۷ درصد از ساختار کیتوزان در نتیجه حذف آب فیزیکی تخریب گردید. علاوه بر این، مقدار قابل توجهی از ساختار (۶۳ درصد) در طی یک حذف ثانویه تا ۶۰۰ درجه تخریب گردید که می‌تواند مربوط به تخریب ساختار کیتوزان باشد (۲۳). Daoub و همکاران (۲۰۱۸) یک بررسی جامع در رابطه با ترکیب صمغ عربی توسط تجزیه و تحلیل آنالیز TGA انجام دادند. تحقیقات آنها یک مسیر دو مرحله‌ای را در طی فرآیند تخریب حرارتی

۲-۴-ارزیابی میکروبی

با توجه به نتایج، نمونه‌های پوشش خوراکی کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین کمترین میزان شمارش کلی باکتری‌ها را به نمایش گذاشتند و این روند با تغییرات جزئی به طور تقریبی تا انتهای زمان نگهداری ادامه داشت. به نظر می‌رسد پوشش خوراکی کیتوزان و صمغ عربی قدرت بالایی در مقابله با میکروارگانیسم دارد. در پژوهش Jiang و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر پوشش صمغ عربی-ناتامایسین بر خواص میکروبی قارچ شیتاکه طی ۱۶ روز نگهداری بررسی شد و نتایج نشان داد تعداد باکتری‌های سایکروفیل و مزوفیل در نمونه‌های صمغ عربی-ناتامایسین بطور معناداری از نمونه‌های صمغ عربی و نمونه‌های کنترل کمتر بود (۱۰). به طور مشابه با نتایج مطالعه حاضر، Molamohammadi و همکاران (۲۰۱۹) اثر پوشش کیتوزان حاوی سالیسیلیک اسید بعنوان یک ترکیب ضد میکروبی بر ماندگاری پسته تازه داخل پوسته را طی ۲۸ روز نگهداری مورد بررسی قرار دادند. در نتایج آنها بیان شد جمعیت باکتری‌های کل به تدریج و به طور معنی داری طی دوره نگهداری در تمام تیمارها افزایش یافت. تیمار کنترل بیشترین میزان افزایش را نشان داد و پوشش کیتوزان-سالیسیلیک اسید به طور موثر و همچنین به میزان کمتر تیمار پوشش کیتوزان در کاهش میزان میکروبی موثر بودند (۲۹).

کپک‌ها آلاینده غالب مغزها به خصوص پسته هستند و با تولید مایکوتوکسین تهدیدی برای سلامت انسان محسوب می‌شوند (۳۰). از جمله عوامل موثر بر رشد کپک و مخمر افزایش رطوبت نسبی و وجود اکسیژن در محیط نگهداری می‌باشد (۳۱). در مطالعه حاضر جمعیت کپک و مخمر در گروه کنترل به علت عدم وجود پوشش و مانع در برابر اکسیژن و رطوبت دارای بیشترین شمارش قارچی بود. اما پوشش‌ها اثر قابل توجهی بر روی میزان کپک و مخمر داشتند به طوری که در نمونه پوشش‌دهی شده با کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین شاهد کمترین میزان کپک و مخمر

بودیم. در مطالعه‌ای که توسط Kong و همکاران (۲۰۰۸) با عنوان فعالیت ضد میکروبی میکروسفرهای کیتوزان در یک سیستم پراکندگی جامد انجام شد مشخص شد در حضور کیتوزان میزان بار مثبت ناشی از حضور گروه‌های آمینی افزایش یافته و باعث تشکیل پیوندهای الکترواستاتیک قوی‌تر می‌گردد. این امر باعث ایجاد واکنش‌های قوی بین کیتوزان و دیواره سلولی میکروارگانیسم‌ها و در نتیجه افزایش اثر ضد میکروبی آن می‌گردد (۳۲) در مطالعه حاضر در نمونه‌های پوشش کیتوزان/صمغ عربی/ناتامایسین درصد توسعه کپک کاهش یافت که این امر می‌تواند به فعالیت ضد میکروبی ناتامایسین و پوشش مرتبط باشد. در پژوهش Hamasalih و همکاران (۲۰۲۰) تاثیر پوشش‌های خوراکی کیتوزان (۱، ۱/۵ و ۲ درصد) بر قارچ‌ها در دوره‌های مختلف نگهداری مغز پسته ارزیابی شد. طبق یافته‌ها بیشترین تعداد کپک آسپرژیلوس در نمونه شاهد مشاهده شد، در حالی که کمترین آن در نمونه‌های تیمار شده با کیتوزان ۲ درصد مشاهده شد (۳۳). ناتامایسین در مقادیر خیلی کم فعالیت بازدارندگی وسیعی بر طیف گسترده‌ای از مخمرها و کپک‌ها داشته و از تولید مایکوتوکسین جلوگیری می‌کند (۳۴). Jiang و همکاران (۲۰۱۳) تاثیر پوشش صمغ عربی غنی‌شده با ناتامایسین بر خواص فیزیکوشیمیایی و میکروبی قارچ شیتاکه طی نگهداری را بررسی و بیان کردند که پوشش صمغ عربی حاوی ناتامایسین منجر به کاهش تعداد کپک و مخمر در این قارچ شد (۱۰).

۳-۴-ارزیابی شیمیایی

پارامتر افت وزن و تاثیر آن بر کیفیت محصولات از اهمیت بالایی برخوردار است، زیرا افت وزن منجر به ضرر اقتصادی می‌شود. مکانیسم اساسی افت وزن محصولات تازه از طریق پوست، ناشی از تفاوت‌های فشار بخار در مکان‌های متفاوت است (۳۵). پوشش خوراکی به عنوان سد نیمه نفوذ پذیر در مقابل اکسیژن، دی اکسیدکربن، رطوبت و حرکت حلال و در نهایت کاهش تنفس و کاهش

افت وزن عمل می کند (۳۶). در مطالعه حاضر بیشترین افت وزن در نمونه کنترل مشاهده شد و تیمار کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین کمترین افت وزن را نشان داد. در یک مطالعه Jiang و همکاران (۲۰۱۲) تأثیر پوشش صمغ عربی غنی شده با ناتامایسین بر خواص فیزیکوشیمیایی قارچ شیتاکه طی نگهداری را بررسی و بیان کردند که پوشش استحکام بافت را حفظ کرد و مانع از افت وزن محصول شد (۱۰). صمغ عربی با تشکیل یک لایه نیمه نفوذناپذیر، هر چند اجازه عبور برخی مولکولهای کوچک مشخص را می دهد اما با مانع شدن در مقابل حرکت اکسیژن، دی اکسید کربن و رطوبت باعث کاهش تنفس و تعرق سطح محصول می شود و در نهایت مقدار افت وزن کاهش می یابد (۳۷). در مطالعه ای مشابه Shaker و همکاران (۲۰۱۹) اثر پوشش های خوراکی صمغ عربی حاوی آویشن را بر کیفیت پسته تازه داخل پوسته را ارزیابی کردند. آنها بیان کردند که استفاده از پوشش صمغ عربی منجر به کاهش افت وزن میوه های تازه شد (۳۸). در مطالعه دیگر Maqsoodlou و همکاران (۲۰۱۳) بررسی فعالیت اثر پوشش خوراکی کیتوزان بر ویژگی های مغز پسته و اعلام کردند درصد تغییر وزن نمونه های فاقد پوشش کیتوزان همواره بیشتر از نمونه های دارای پوشش بود (۷،۳۹).

رطوبت یکی از فاکتورهای مهم تأثیرگذار بر کیفیت مغزها می باشد که محتوای آن بسته به زمان برداشت، انبارداری و شرایط اقلیمی متفاوت است (۴۰). سرعت انتقال رطوبت بین غذا و اتمسفر اطراف آن با پوشاندن کامل ماده غذایی با فیلم یا پوشش خوراکی کاهش می یابد (۴۱). در این مطالعه نتایج حاصل از اندازه گیری رطوبت پسته خام نشان دهنده آن است که پوشش کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین مانند یک سد، از انتقال رطوبت به بافت پسته جلوگیری کرده و مقدار رطوبت آن در محدوده ۵ درصد باقی مانده است درحالی که در نمونه های کنترل به دلیل عدم وجود مانع در مقابل انتقال رطوبت، در انتهای دوره ی

نگهداری مقدار رطوبت به حدود ۸ درصد رسیده است. Maqsoodlou و همکاران (۲۰۱۳) که به بررسی فعالیت پوشش کیتوزان و تأثیر آن بر جذب رطوبت مغز پسته پرداختند بیان کردند که کیتوزان از جذب رطوبت پسته جلوگیری کرد اما غلظت کیتوزان تأثیر معناداری در این زمینه نداشت (۳۹). در پژوهش Hamasalih و همکاران (۲۰۲۰) تأثیر پوشش های خوراکی کیتوزان (۱، ۱/۵ و ۲ درصد) بر برخی از خواص فیزیکوشیمیایی و رشد قارچ ها طی نگهداری مغز پسته ارزیابی شد. اگرچه روند رطوبت در تمام نمونه ها (پوشش دار و بدون پوشش) با زمان نگهداری اندکی افزایش می یابد، اما تفاوت معناداری بین نمونه های کنترل و نمونه های پوشش داده شده مشاهده شد. درحالی که بالاترین میزان رطوبت در پسته بدون پوشش مشاهده شد و تیمارهای پوشش دهی شده در غلظت های مختلف تأثیر بسزایی در کاهش رطوبت نامطلوب پسته داشتند (۳۳).

۴-۴-ارزیابی حسی

بررسی اثر نوع پوشش بر پارامترهای حسی طی نگهداری در پسته خام نشان داد که پوشش های خوراکی استفاده شده نه تنها بر کیفیت ظاهری پسته ها تأثیر نامطلوب نگذاشته اند، بلکه در برخی موارد موجب بهبود بافت و مشخصات حسی شده اند. پوشش کیتوزان/ صمغ عربی/ ناتامایسین با قرارگیری بر روی محصول، به عنوان محافظ عمل کرده و از واکنش های ناخواسته و تغییر بافت و رنگ محصول جلوگیری می کند. استفاده از پوشش های خوراکی گرچه در ابتدا از شفافیت محصول کم می کند، اما با گذر زمان نگهداری به دلیل ممانعت از گسترش واکنش های فساد شیمیایی و میکروبی و از دست رفتن رطوبت محصول نسبت به نمونه های بدون پوشش مانع از تغییرات زیاد می شود (۳۳،۴۳). لازم به ذکر است که منظور از بافت پسته میزان تردی و شکنندگی آن هنگام جویدن می باشد که به مقدار قابل توجهی تحت تأثیر مقدار رطوبت پسته است.

مثبتی بر حفظ و بهبود ویژگی‌های میکروبی (باکتریایی و قارچی)، شیمیایی و حسی داشته و مدت زمان ماندگاری و ایمنی غذایی پسته‌ها را افزایش داده است. این نتایج نشان می‌دهند که پوشش کیتوزان و صمغ عربی، بخصوص همراه با ناتامایسین، می‌تواند عاملی موثر در حفظ و ارتقاء کیفیت مواد غذایی به‌ویژه مغزها مورد استفاده قرار گیرد.

۶- سپاسگزاری

این طرح تحقیقاتی با استفاده از اعتبارات ویژه پژوهشی (گرت) دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل انجام گردیده است.

۷- منابع

- [1] Rezaiyan Attar F, Sedaghat N, Pasban A, Yeganehzad S, Hesarinejad MA. Modified atmosphere packaging with chitosan coating to prevent deterioration of fresh in-hull Badami's pistachio fruit. *Chem Biol Technol Agric* 2023;10(1):1-8. doi: [10.3390/nu14153207](https://doi.org/10.3390/nu14153207) PMID: [PMC9370095](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC9370095/)
- [2] Mateos R, Salvador MD, Fregapane G, Goya L. Why Should Pistachio Be a Regular Food in Our Diet?. *Nutrients*. 2022;14(15):3207. doi: [10.3390/nu15092158](https://doi.org/10.3390/nu15092158)
- [3] Afrashteh S, Nazoori F, Mirdehghan SH. Improving fresh pistachio quality by postharvest application of edible coating during cold storage. *J of Plant Physiology and Breeding*. 2023;13(1):1-2. doi: [10.22034/JPPB.2022.52988.1285](https://doi.org/10.22034/JPPB.2022.52988.1285)
- [4] Hasan S, Khanjari A, Koohi MK, Nasrabadi HG, Shavisi N. Study on the effect of chitosan coating incorporated with Ziziphora Clinopodioides essential oil on the some microbial and sensory properties of chicken fillet at refrigerated temperature. *J Vet Res*. 2019;74(3):370-8. doi: [10.22059/jvr.2018.244342.2715](https://doi.org/10.22059/jvr.2018.244342.2715)
- [5] Zhou DY, Wu ZX, Yin FW, Song S, Li A, Zhu BW, Yu LL. Chitosan and derivatives: bioactivities and application in foods. *Annual review of food science and technology* 2021;12:407-32. doi: [10.1146/annurev-food-070720-112725](https://doi.org/10.1146/annurev-food-070720-112725) PMID: [33441013](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33441013/)
- [6] Oushani AK, Soltani M, Sheikhzadeh N, Mehrgan MS, Islami HR, Hamidian G. Effect of

در صورت جذب رطوبت از محیط اطراف، مغز پسته‌ها بافتی نرم و چسبنده پیدا خواهند کرد که از نظر مصرف کننده نامطلوب می‌باشد (۴۱). Shakerardekani و همکاران (۲۰۱۹) اثر پوشش صمغ عربی حاوی آویشن را بر کیفیت پسته تازه ارزیابی کردند. آنها بیان کردند که تیمارهای حاوی پوشش تاثیرات مثبتی بر خصوصیات حسی رنگ، بافت و پذیرش کلی از خود نشان دادند. آنها همچنین بیان کردند که با توجه به اثر ممانعت کنندگی پوشش در مقابل نفوذ رطوبت به بافت پسته، رطوبت آن ثابت مانده و در نتیجه بافت پسته تردی و شکنندگی خود را حفظ می‌کند که با نتایج مطالعه حاضر تطابق داشت (۱۷).

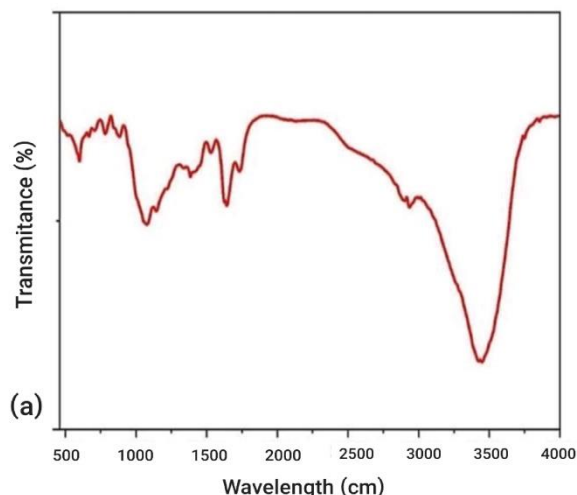
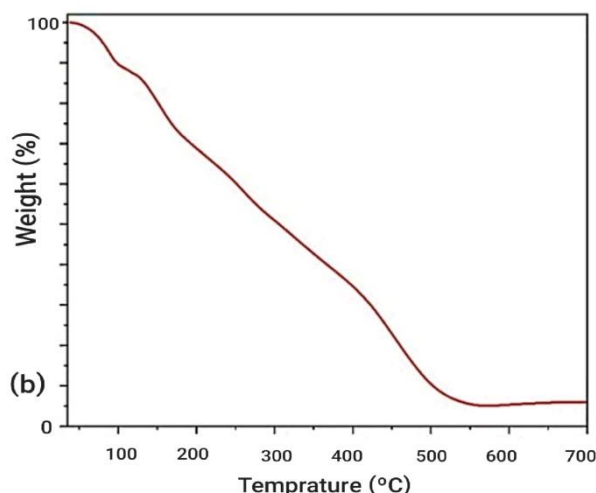
۵- نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بدست آمده از این پژوهش نشان داد که پوشش‌دهی پسته‌های خام با کیتوزان/ صمغ عربی / ناتامایسین تأثیر

- Chitosan and Nano-Chitosan Loaded Clinoptilolite on Histomorphology and Pepsin Activity in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Stomach. *J Vet Res*. 2023;78(3):183-195. doi: [10.22059/jvr.2022.345292.3279](https://doi.org/10.22059/jvr.2022.345292.3279)
- [7] Ali A, Maqbool M, Alderson PG, Zahid N. Effect of gum arabic as an edible coating on antioxidant capacity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit during storage. *Postharvest Biol Technol*. 2013;76:119-24. doi: [10.1016/j.postharvbio.2012.09.011](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2012.09.011)
 - [8] Motlagh D, Yang J, Lui KY, Webb AR, Ameer GA. Hemocompatibility evaluation of poly (glycerol-sebacate) in vitro for vascular tissue engineering. *Biomaterials*. 2006;27(24):4315-24. doi: [10.1016/j.biomaterials.2006.04.010](https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.04.010) PMID: [16675010](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16675010/)
 - [9] Cong F, Zhang Y, Dong W. Use of surface coatings with natamycin to improve the storability of Hami melon at ambient temperature. *Postharvest Biol Technol*. 2007;46(1):71-5. doi: [10.1016/j.postharvbio.2007.04.005](https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.04.005)
 - [10] Jiang T, Feng L, Zheng X, Li J. Physicochemical responses and microbial characteristics of shiitake mushroom (*Lentinus edodes*) to gum arabic coating enriched with natamycin during storage. *Food Chem*. 2013;138(2-3):1992-7. doi: [10.1016/j.foodchem.2012.11.043](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.043) PMID: [23411335](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23411335/)
 - [11] Reps A, Jedrychowski L, Tomasik J, Wisniewska K. Natamycin in ripening cheeses.

- Pakistan J Nutr. 2002; doi: [10.3923/pjn.2002.243.247](https://doi.org/10.3923/pjn.2002.243.247) [12] Choo KSO, Bollen M, Ravensdale JT. Effect of chitosan and gum Arabic with natamycin on the aroma profile and bacterial community of Australian grown black Périgord truffles (*Tuber melanosporum*) during storage. Food Microbiol. 2021;97:103743. doi: [10.1016/j.fm.2021.103743](https://doi.org/10.1016/j.fm.2021.103743) PMID: [33653522](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33653522/)
- [13] Molamohammadi H, Pakkish Z, Akhavan HR, Saffari VR. Effect of salicylic acid incorporated chitosan coating on shelf life extension of fresh in-hull pistachio fruit. Food Bioprocess Technol. 2020;13:121 doi: [10.1007/s11947-019-02383-y](https://doi.org/10.1007/s11947-019-02383-y)
- [14] La DD, Nguyen-Tri P, Le KH, Nguyen PTM, Nguyen MDB, Vo ATK. Effects of antibacterial ZnO nanoparticles on the performance of a chitosan/gum arabic edible coating for post-harvest banana preservation. Prog Org Coatings. 2021;151:106057. doi: [10.1016/j.porgcoat.2020.106057](https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2020.106057)
- [15] Liu T, Liu L. Fabrication and characterization of chitosan nanoemulsions loading thymol or thyme essential oil for the preservation of refrigerated pork. Int J Biol Macromol. 2020;162:1509–15. doi: [10.1016/j.ijbiomac.2020.07.207](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.207) PMID: [32738320](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32738320/)
- [16] Razavi R, Maghsoudlou Y, Aalami M, Ghorbani M. Impact of carboxymethyl cellulose coating enriched with *Thymus vulgaris* L. extract on physicochemical, microbial, and sensorial properties of fresh hazelnut (*Corylus avellana* L.) during storage. J Food Process Preserv. 2021;45(4):e15313. doi: [10.1111/jfpp.15313](https://doi.org/10.1111/jfpp.15313)
- [17] Shakerardekani A, Hashemi M, Shahedi M, Mirzaalian Dastjerdi A. Enhancing the quality of fresh pistachio fruit using sodium alginate enriched with thyme essential oil. J Agric Sci Technol. 2021;23(1):65–82.
- [18] Razavi SMA, Taghizadeh M. The specific heat of pistachio nuts as affected by moisture content, temperature, and variety. J Food Eng. 2007;79(1):158–67. doi: [10.1016/j.jfoodeng.2006.01.039](https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.01.039)
- [19] Hosseinzadeh S, Partovi R, Talebi F, Babaei A. Chitosan/TiO₂ nanoparticle/*Cymbopogon citratus* essential oil film as food packaging material: Physico-mechanical properties and its effects on microbial and quality of minced meat during refrigeration. J Food Process Preserv. 2020;44(7):14536. doi: [10.1111/jfpp.14536](https://doi.org/10.1111/jfpp.14536)
- [20] Hamodin AG, Elgammal WE, Eid AM, Ibrahim AG. Synthesis, characterization, and biological evaluation of new chitosan derivative bearing diphenyl pyrazole moiety. Int J Biol Macromol. 2023;125:180. doi: [10.1016/j.ijbiomac.2023.125180](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125180) PMID: [37290547](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37290547/)
- [21] Ibekwe CA, Oyatogun GM, Esan TA, Oluwasegun KM. Synthesis and characterization of chitosan/gum arabic nanoparticles for bone regeneration. Am J Mater Sci Eng. 2017;5(1). doi: [10.12691/ajmse-5-1-4](https://doi.org/10.12691/ajmse-5-1-4)
- [22] Yang Y, Huan C, Liang X, Chen J. Development of starch-based antifungal coatings by incorporation of natamycin/methyl- β -cyclodextrin inclusion complex for postharvest treatments on cherry tomato against *Botrytis cinerea*. Molecules. 2019;24(21):3962. doi: [10.3390/molecules24213962](https://doi.org/10.3390/molecules24213962) PMID: [31683794](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31683794/)
- [23] Mousapour M, Seyedi N, Shirini F. Introduction of a new dicationic ionic liquid deployed on cross-linked chitosan as a sustainable catalyst for the synthesis of some spiro-oxindoles and spiro-quinazolines. J Mol Struct. 2023;1294:136375. doi: [10.1016/j.molstruc.2023.136375](https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2023.136375)
- [24] Daoub RMA, Elmubarak AH, Osman ME. Characterization and functional properties of some natural Acacia gums. J Saudi Soc Agric Sci. 2018;17(3):241–9. doi: [10.1016/j.jssas.2016.05.002](https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.05.002)
- [25] Li L, Xu Y, Xu Z, Wu C, Chen Q, Xu K. Synthesis, characterization and antifungal properties of dehydroabietic acid modified chitosan. Int J Biol Macromol. 2024;255:128056. doi: [10.1016/j.ijbiomac.2023.128056](https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128056) PMID: [37967604](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37967604/)
- [26] Emam HE. Arabic gum as bio-synthesizer for Ag–Au bimetallic nanocomposite using seed-mediated growth technique and its biological efficacy. J Polym Environ. 2019;27:210–23. doi: [10.1007/s10924-018-1331-3](https://doi.org/10.1007/s10924-018-1331-3)
- [27] Oh JW, Chun SC, Chandrasekaran M. Preparation and in vitro characterization of chitosan nanoparticles and their broad-spectrum antifungal action compared to antibacterial activities against phytopathogens of tomato. Agronomy. 2019;9(1):21. doi: [10.3390/agronomy9010021](https://doi.org/10.3390/agronomy9010021)
- [28] Bharadiya P, Mahajan C, Sharma AK, Mishra S. Enriched mechanical, UV shielding and flame retarding properties of cotton fabric coated with graphite nano platelets filled polyaniline–gum arabic nanocomposites. Cellulose. 2019;26(13–14):8135–51. doi: [10.1007/s10570-019-02638-z](https://doi.org/10.1007/s10570-019-02638-z)
- [29] Molamohammadi H, Pakkish Z, Akhavan HR, Saffari VR. Effect of salicylic acid incorporated chitosan coating on shelf life extension of fresh in-hull pistachio fruit. Food and Bioprocess Technology. 2020 Jan;13:121–31. doi: [10.1007/s11947-019-02383-y](https://doi.org/10.1007/s11947-019-02383-y)
- [30] Campbell BC, Molyneux RJ, Schatzki TF. Current research on reducing pre-and post-harvest aflatoxin contamination of US almond, pistachio, and walnut. J Toxicol Toxin Rev. 2003;22(2–3):225–66. doi: [10.1081/TXR-120024093](https://doi.org/10.1081/TXR-120024093)
- [31] Salehi-Fathabadi Z, Maghsoudlou Y, Akhavan H, Moayed A, Khorasani S. The assessment of the effect of Aloe vera gel coating containing salicylic acid and thyme extract on the shelf life of fresh pistachios during storage. J Food Sci Technol. 2019;16(86):297–312.

- [32] Kong M, Chen X guang, Xue Y ping, Liu C sheng, Yu L jun, Ji Q xia. Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. *Front Mater Sci China*. 2008;2:214–20. [doi:10.1007/s11706-008-0036-2](https://doi.org/10.1007/s11706-008-0036-2)
- [33] Hamasalih TH, Rasul NH. Effect of edible coatings on some physicochemical properties and fungi growth during different storage periods of pistachio nuts. *Al-Anbar Journal of Agricultural Sciences*. 2020 Jul 1;18(2). [doi:10.32649/AAGRS.2022.170521](https://doi.org/10.32649/AAGRS.2022.170521)
- [34] NeViani E, Emaldi GC, Carini S. Use of pimaricin as a fungicide on cheese rind: technology and the effects on the cheese surface flora. *Latte*. 1981;6(5):335–43. [doi:10.1007/BF01139538](https://doi.org/10.1007/BF01139538) PMID: 1079996
- [35] Yaman Ö, Bayındır L. Effects of an edible coating and cold storage on shelf-life and quality of cherries. *LWT-Food Sci Technol*. 2002;35(2):146–50. [doi:10.1006/food.2001.0827](https://doi.org/10.1006/food.2001.0827)
- [36] Ali A, Zahid N, Manickam S, Siddiqui Y, Alderson PG. Double layer coatings: a new technique for maintaining physico-chemical characteristics and antioxidant properties of dragon fruit during storage. *Food bioprocess Technol*. 2014;7:2366–74. [doi:10.1007/s11947-013-1224-3](https://doi.org/10.1007/s11947-013-1224-3)
- [37] Ruelas-Chacon X, Contreras-Esquivel JC, Montañez J, Aguilera-Carbo AF, Reyes-Vega ML, Peralta-Rodriguez RD. Guar gum as an edible coating for enhancing shelf-life and improving postharvest quality of roma tomato (*Solanum lycopersicum* L). *J Food Qual*. 2017;16(1):14-31. [doi:10.1155/2017/8608304](https://doi.org/10.1155/2017/8608304)
- [38] Shaker Ardakani, Ahmad, Hashemi, Mirzaalian Dastjardi. The effect of gum arabic edible coating containing Shirazi thyme essential oil on the preservation of the quality characteristics of fresh pistachio cultivar Ahmad Aghaei. *Iranian journal of food science and industry*. 2019 10;16(87):113-26 (In Persian). [doi:10.1007/s13197-020-04510-6](https://doi.org/10.1007/s13197-020-04510-6)
- [39] Maqsoodlou, Yahya, Maqsoodlo, Khmeri, Ghorbani. Investigating the antifungal and antioxidant activity of edible chitosan coating and its effect on moisture absorption and organoleptic characteristics of pistachio nuts. *Food science and nutrition*. 2013 22;11:31-43 (In Persian). [doi:10.18517/ijaseit.2.4.216](https://doi.org/10.18517/ijaseit.2.4.216)
- [40] Holmes RA, Boston RS, Payne GA. Diverse inhibitors of aflatoxin biosynthesis. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2008;78:559–72. [doi:10.1007/s00253-008-1362-0](https://doi.org/10.1007/s00253-008-1362-0) PMID:18246345
- [41] Nanos GD, Kazantzis I, Kefalas P, Petrakis C, Stavroulakis GG. Irrigation and harvest time affect almond kernel quality and composition. *Sci Hortic*. 2002;96(1–4):249–56. [doi:10.1016/S0304-4238\(02\)00078-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4238(02)00078-X)
- [42] Belqisi, Saba, Azizi, Zahorian, Giti, Hadian. Evaluation of physical properties of whey protein-monglyceride edible film and its coating effect on moisture loss and sensory characteristics of fresh sheep meat. *Journal of Nutritional Sciences and Food Industries of Iran*. 2008;3(3):83-93 (In Persian).
- [43] Hosseini-Vashan SJ, Yousefi H, Ghiasi SE, Namaei MH. Two types of pistachio hull extract (*Pistacia vera*) on performance, blood indices and intestinal microbial population of broilers challenged with *Staphylococcus aureus*. *J Vet Res*. 2020;75(4). [doi:10.22059/jvr.2019.287251.2961](https://doi.org/10.22059/jvr.2019.287251.2961)



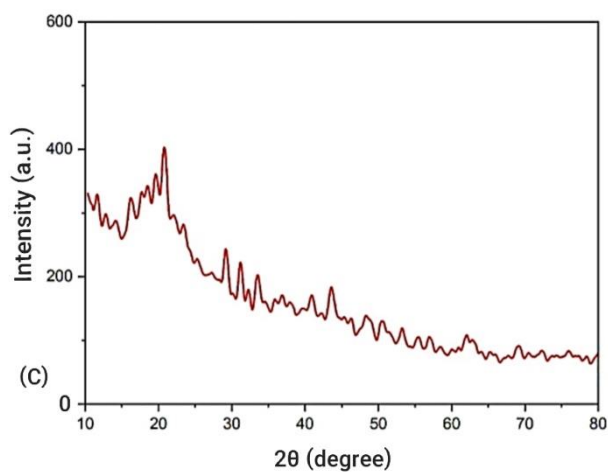


Figure 1. FTIR spectrum image (a), thermal gravimetric test results (b) and XRD (c) of chitosan/gum Arabic/natamycin edible coating

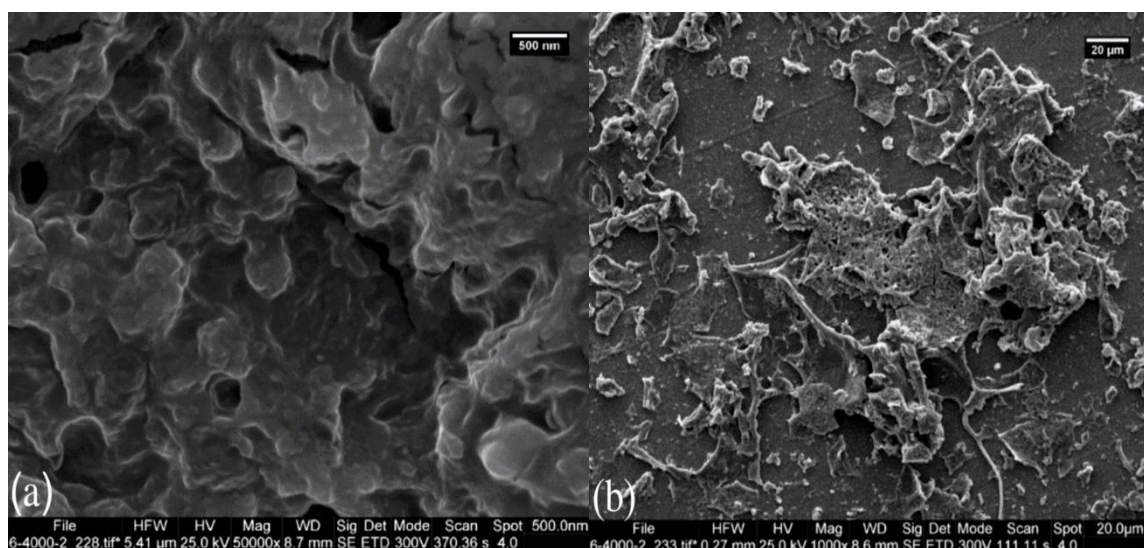


Figure 2. FE-SEM image of chitosan (a) and chitosan/gum Arabic/natamycin edible coating (b)

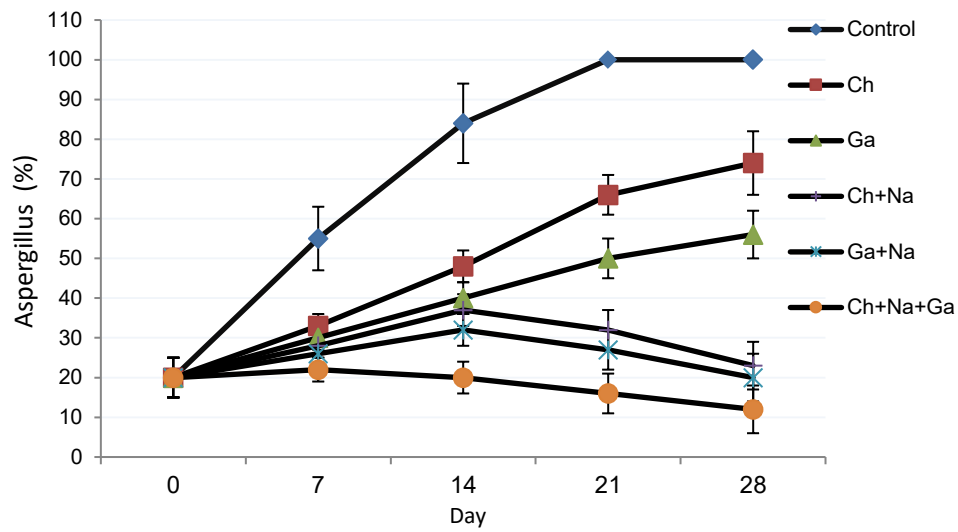
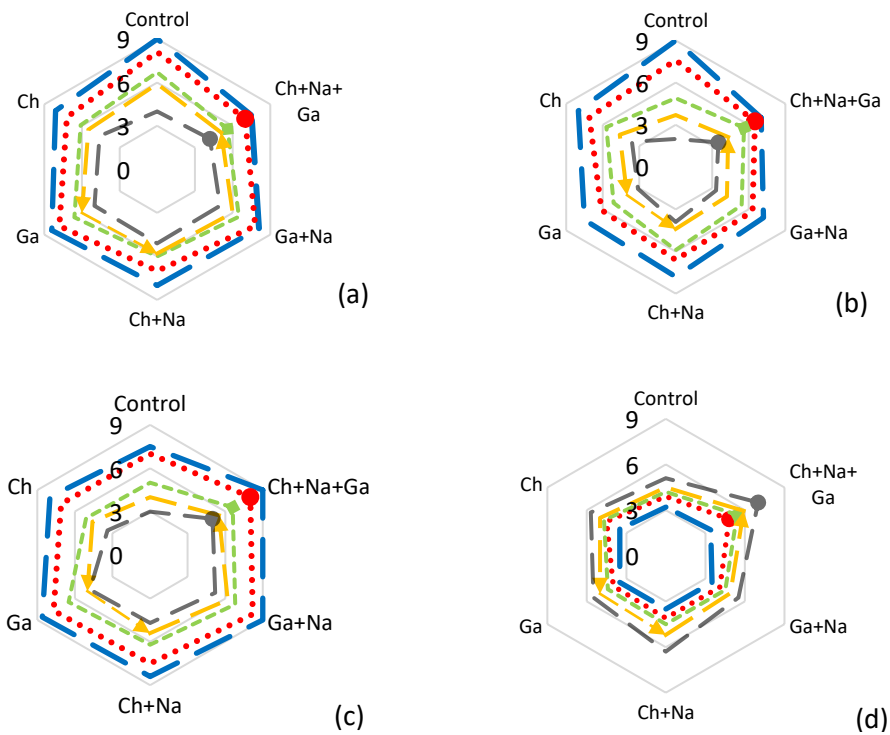


Figure 1. Changes in the growth percentage of aspergillus mold in treated raw pistachios during storage



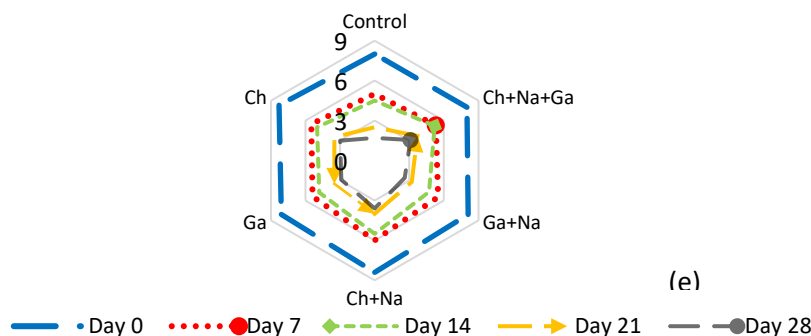


Table 1. The results of total counting of bacteria, mold and yeast in raw pistachios treated during storage. Non-similar upper and lower case English letters indicate significant differences between different days of keeping in the same treatment and different treatments in the same day, respectively (P<0.05).

شمارش	روز				
کلی باکتری ها	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	$3/11 \pm 0.6^{Aa}$	$4/37 \pm 0.5^{Ba}$	$5/09 \pm 0.9^{Ca}$	$5/89 \pm 0.1^{Da}$	$6/81 \pm 0.1^{Ea}$
Ch	$3/13 \pm 0.4^{Aa}$	$4/03 \pm 0.7^{Bb}$	$4/51 \pm 0.11^{Cb}$	$4/99 \pm 0.9^{Dh}$	$5/83 \pm 0.06^{Eb}$
شمارش Ga	$3/10 \pm 0.3^{Aa}$	$3/87 \pm 0.11^{Bb}$	$4/32 \pm 0.16^{Cb}$	$4/68 \pm 0.8^{Dc}$	$5/26 \pm 0.15^{Ec}$
کلی باکتری ها Ch+Na	$3/12 \pm 0.2^{Aa}$	$4/00 \pm 0.1^{Bb}$	$4/44 \pm 0.11^{Cb}$	$4/76 \pm 0.6^{Dc}$	$5/39 \pm 0.08^{Ec}$
Ga+Na	$3/15 \pm 0.7^{Aa}$	$3/92 \pm 0.9^{Bb}$	$4/25 \pm 0.5^{Cb}$	$4/43 \pm 0.6^{Dd}$	$4/88 \pm 0.11^{Ed}$
C	$3/11 \pm 0.6^{Aa}$	$4/37 \pm 0.5^{Ba}$	$5/09 \pm 0.9^{Ca}$	$5/89 \pm 0.1^{Da}$	$6/81 \pm 0.1^{Ea}$
Ch+Ga+Na	$3/14 \pm 0.6^{Aa}$	$3/61 \pm 0.13^{Bb}$	$4/01 \pm 0.10^{Cb}$	$4/27 \pm 0.4^{Dc}$	$4/61 \pm 0.4^{Ec}$
Ch	$3/13 \pm 0.4^{Aa}$	$4/03 \pm 0.7^{Bb}$	$4/51 \pm 0.11^{Cb}$	$4/99 \pm 0.9^{Dh}$	$5/83 \pm 0.06^{Eb}$
شمارش	$3/10 \pm 0.3^{Aa}$	$3/87 \pm 0.11^{Bb}$	$4/32 \pm 0.16^{Cb}$	$4/68 \pm 0.8^{Dc}$	$5/26 \pm 0.15^{Ec}$
کلی باکتری ها	$3/12 \pm 0.2^{Aa}$	$4/00 \pm 0.1^{Bb}$	$4/44 \pm 0.11^{Cb}$	$4/76 \pm 0.6^{Dc}$	$5/39 \pm 0.08^{Ec}$
Ga+Na	$4/15 \pm 0.7^{Aa}$	$4/96 \pm 0.9^{Bb}$	$4/25 \pm 0.5^{Cb}$	$4/43 \pm 0.6^{Dd}$	$4/88 \pm 0.11^{Ed}$
Ch+Ga+Na	$4/20 \pm 0.8^{Aa}$	$4/31 \pm 0.13^{Bb}$	$4/26 \pm 0.16^{Cb}$	$4/27 \pm 0.4^{Dc}$	$4/61 \pm 0.4^{Ec}$
شمارش	$2/26 \pm 0.2^{Aa}$	$3/06 \pm 0.1^{Bc}$	$3/62 \pm 0.2^{Cd}$	$3/89 \pm 0.2^{Dd}$	$4/20 \pm 0.5^{Ed}$
Ch+Na	$2/23 \pm 0.5^{Ca}$	$2/30 \pm 0.3^{Cb}$	$2/21 \pm 0.2^{Cc}$	$2/14 \pm 0.3^{Bc}$	$2/03 \pm 0.6^{Ac}$
Ga+Na	$4/24 \pm 0.8^{Aa}$	$4/56 \pm 0.8^{Bb}$	$4/15 \pm 0.6^{Cb}$	$4/99 \pm 0.9^{Dh}$	$1/58 \pm 0.1^{Ea}$
Ch+Ga+Na	$2/25 \pm 0.2^{Aa}$	$2/11 \pm 0.3^{Bd}$	$3/66 \pm 0.2^{Cd}$	$3/98 \pm 0.2^{Bb}$	$1/84 \pm 0.1^{Ea}$
Ga	$2/26 \pm 0.2^{Aa}$	$3/06 \pm 0.1^{Bc}$	$3/62 \pm 0.2^{Cd}$	$3/89 \pm 0.2^{Dd}$	$4/20 \pm 0.5^{Ed}$
Ch+Na	$2/23 \pm 0.5^{Ca}$	$2/30 \pm 0.3^{Cb}$	$2/21 \pm 0.2^{Cc}$	$2/14 \pm 0.3^{Bc}$	$2/03 \pm 0.6^{Ac}$
Ga+Na	$2/24 \pm 0.4^{Da}$	$2/33 \pm 0.2^{Eb}$	$2/15 \pm 0.2^{Cb}$	$2/00 \pm 0.1^{Bb}$	$1/89 \pm 0.4^{Ab}$
Ch+Ga+Na	$2/22 \pm 0.2^{Ea}$	$2/01 \pm 0.4^{Da}$	$1/66 \pm 0.5^{Ca}$	$1/19 \pm 0.2^{Ba}$	$1/04 \pm 0.3^{Aa}$

Table 1. The results of total counting of bacteria, mold and yeast in raw pistachios treated during storage. Non-similar upper and lower case English letters indicate significant differences between different days of keeping in the same treatment and different treatments in the same day, respectively (P<0.05).

Table 2. Average changes in weight loss and moisture content in treated raw

شمارش کلی باکتری‌ها	روز				
	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	۳/۱۱ ± ۰/۰۶ ^{Aa}	۴/۳۷ ± ۰/۰۵ ^{Ba}	۵/۰۹ ± ۰/۰۹ ^{Ca}	۵/۸۹ ± ۰/۱۸ ^{Da}	۶/۸۱ ± ۰/۱۳ ^{Ea}
Ch	۳/۱۳ ± ۰/۰۴ ^{Aa}	۴/۰۳ ± ۰/۰۷ ^{Bb}	۴/۵۱ ± ۰/۱۳ ^{Cb}	۴/۹۹ ± ۰/۰۹ ^{Db}	۵/۸۳ ± ۰/۰۶ ^{Eb}
Ga	۳/۱۰ ± ۰/۰۳ ^{Aa}	۳/۸۷ ± ۰/۱۱ ^{Bb}	۴/۳۲ ± ۰/۱۶ ^{Cb}	۴/۶۸ ± ۰/۰۸ ^{Dc}	۵/۲۶ ± ۰/۱۵ ^{Ec}
Ch+Na	۳/۱۲ ± ۰/۰۲ ^{Aa}	۴/۰۰ ± ۰/۱۰ ^{Bb}	۴/۴۴ ± ۰/۱۱ ^{Cb}	۴/۷۶ ± ۰/۰۶ ^{Dc}	۵/۳۹ ± ۰/۰۸ ^{Ec}
Ga+Na	۳/۱۵ ± ۰/۰۷ ^{Aa}	۳/۹۲ ± ۰/۰۹ ^{Bb}	۴/۲۵ ± ۰/۰۵ ^{Cb}	۴/۴۳ ± ۰/۰۶ ^{Dd}	۴/۸۸ ± ۰/۱۱ ^{Ed}
Ch+Ga+Na	۳/۱۴ ± ۰/۰۶ ^{Aa}	۳/۶۱ ± ۰/۱۳ ^{Be}	۴/۰۱ ± ۰/۱۰ ^{Cc}	۴/۲۷ ± ۰/۰۴ ^{Dc}	۴/۶۱ ± ۰/۰۴ ^{Ec}
شمارش کپک و مخمر	روز				
	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	۲/۲۱ ± ۰/۰۳ ^{Aa}	۳/۵۶ ± ۰/۰۵ ^{Be}	۴/۱۵ ± ۰/۰۶ ^{Cc}	۴/۹۹ ± ۰/۰۹ ^{Df}	۵/۶۸ ± ۰/۰۷ ^{Ee}
Ch	۲/۲۵ ± ۰/۰۱ ^{Aa}	۳/۱۱ ± ۰/۰۲ ^{Bd}	۳/۶۶ ± ۰/۰۶ ^{Cd}	۳/۹۷ ± ۰/۰۲ ^{De}	۴/۲۴ ± ۰/۰۴ ^{Ed}
Ga	۲/۲۶ ± ۰/۰۲ ^{Aa}	۳/۰۶ ± ۰/۰۱ ^{Bc}	۳/۶۲ ± ۰/۰۲ ^{Cd}	۳/۸۹ ± ۰/۰۳ ^{Dd}	۴/۲۰ ± ۰/۰۵ ^{Ed}
Ch+Na	۲/۲۳ ± ۰/۰۵ ^{Ca}	۲/۳۰ ± ۰/۰۲ ^{Cb}	۲/۲۱ ± ۰/۰۲ ^{Cc}	۲/۱۴ ± ۰/۰۴ ^{Bc}	۲/۰۳ ± ۰/۰۶ ^{Ac}
Ga+Na	۲/۲۴ ± ۰/۰۴ ^{Da}	۲/۳۳ ± ۰/۰۲ ^{Eb}	۲/۱۵ ± ۰/۰۲ ^{Cb}	۲/۰۰ ± ۰/۰۱ ^{Bb}	۱/۸۹ ± ۰/۰۴ ^{Ab}
Ch+Ga+Na	۲/۲۲ ± ۰/۰۲ ^{Ea}	۲/۰۱ ± ۰/۰۲ ^{Da}	۱/۶۶ ± ۰/۰۵ ^{Ca}	۱/۱۹ ± ۰/۰۲ ^{Ba}	۱/۰۴ ± ۰/۰۳ ^{Aa}

pistachios during storage. Non-similar upper and lower case English letters indicate significant differences between different days of keeping in the same treatment and different treatments in the same day, respectively ($P < 0.05$).

افت وزن	روز				
	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	۴/۰۸ ± ۰/۰۳ ^{Aa}	۵/۰۱ ± ۰/۰۳ ^{Be}	۵/۹۹ ± ۰/۰۲ ^{Cd}	۶/۶۱ ± ۰/۰۴ ^{Df}	۷/۰۳ ± ۰/۰۱ ^{Ef}
Ch	۴/۰۱ ± ۰/۰۴ ^{Aa}	۴/۴۱ ± ۰/۰۲ ^{Ad}	۴/۶۲ ± ۰/۰۰ ^{Bc}	۴/۸۸ ± ۰/۰۱ ^{Ce}	۴/۹۸ ± ۰/۰۳ ^{De}
Ga	۳/۹۱ ± ۰/۰۱ ^{Aa}	۳/۹۳ ± ۰/۰۴ ^{Bb}	۴/۰۱ ± ۰/۰۳ ^{Ca}	۴/۲۱ ± ۰/۰۱ ^{Dc}	۴/۳۲ ± ۰/۰۲ ^{Ec}
Ch+Na	۳/۹۶ ± ۰/۰۳ ^{Aa}	۳/۸۴ ± ۰/۰۱ ^{Ba}	۳/۹۹ ± ۰/۰۲ ^{Ca}	۴/۴۴ ± ۰/۰۳ ^{Dd}	۴/۶۹ ± ۰/۰۰ ^{Ed}
Ga+Na	۳/۹۰ ± ۰/۰۲ ^{Aa}	۳/۹۵ ± ۰/۰۱ ^{Bb}	۴/۰۰ ± ۰/۰۲ ^{Ca}	۴/۱۶ ± ۰/۰۲ ^{Db}	۴/۲۱ ± ۰/۰۱ ^{Eb}
Ch+Ga+Na	۴/۱۲ ± ۰/۰۱ ^{Aa}	۴/۱۰ ± ۰/۰۰ ^{Bc}	۴/۰۸ ± ۰/۰۱ ^{Cb}	۳/۹۵ ± ۰/۰۱ ^{Da}	۳/۷۷ ± ۰/۰۲ ^{Ea}
رطوبت	روز				
	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	۵/۳۸ ± ۰/۰۷ ^{Aa}	۶/۱۴ ± ۰/۰۳ ^{Be}	۶/۹۷ ± ۰/۰۲ ^{Cd}	۷/۹۳ ± ۰/۰۴ ^{De}	۸/۸۱ ± ۰/۰۱ ^{Ee}
Ch	۵/۴۲ ± ۰/۰۲ ^{Aa}	۵/۶۷ ± ۰/۰۳ ^{Bd}	۶/۱۵ ± ۰/۰۱ ^{Cc}	۶/۵۲ ± ۰/۰۴ ^{Dd}	۶/۷۸ ± ۰/۰۴ ^{Ed}
Ga	۵/۳۶ ± ۰/۰۶ ^{Aa}	۵/۵۴ ± ۰/۰۲ ^{Bb}	۵/۹۱ ± ۰/۰۱ ^{Cb}	۶/۱۲ ± ۰/۰۳ ^{Db}	۶/۳۲ ± ۰/۰۴ ^{Eb}
Ch+Na	۵/۳۹ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۵/۶۲ ± ۰/۰۴ ^{Bc}	۶/۱۱ ± ۰/۰۳ ^{Cc}	۶/۴۱ ± ۰/۰۵ ^{Dc}	۶/۶۹ ± ۰/۰۳ ^{Ec}
Ga+Na	۵/۳۷ ± ۰/۰۶ ^{Aa}	۵/۵۲ ± ۰/۰۲ ^{Bb}	۵/۹۰ ± ۰/۰۱ ^{Cb}	۶/۱۳ ± ۰/۰۳ ^{Db}	۶/۳۵ ± ۰/۰۴ ^{Eb}
Ch+Ga+Na	۵/۴۰ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۵/۴۱ ± ۰/۰۵ ^{Aa}	۵/۵۳ ± ۰/۰۵ ^{Ba}	۵/۶۵ ± ۰/۰۵ ^{Ca}	۵/۷۷ ± ۰/۰۵ ^{Da}

Table 2. Average changes in weight loss and moisture content in treated raw pistachios during storage. Non-similar upper and lower case English letters indicate significant differences between different days of keeping in the same treatment and different treatments in the same day, respectively ($P < 0.05$).

افت وزن	روز				
	صفر	۷	۱۴	۲۱	۲۸
C	$4/0.8 \pm 0.03^{Aa}$	$5/0.1 \pm 0.03^{Be}$	$5/9.9 \pm 0.03^{Cd}$	$6/6.1 \pm 0.04^{Df}$	$7/0.3 \pm 0.01^{Ef}$
Ch	$4/0.1 \pm 0.04^{Aa}$	$4/4.1 \pm 0.02^{Ad}$	$4/6.2 \pm 0.01^{Bc}$	$4/8.8 \pm 0.01^{Cc}$	$4/9.8 \pm 0.03^{De}$
Ga	$3/9.1 \pm 0.01^{Aa}$	$3/9.3 \pm 0.04^{Bb}$	$4/0.1 \pm 0.03^{Ca}$	$4/2.1 \pm 0.01^{Dc}$	$4/3.2 \pm 0.02^{Ec}$
Ch+Na	$3/9.6 \pm 0.03^{Aa}$	$3/8.4 \pm 0.01^{Ba}$	$3/9.9 \pm 0.02^{Ca}$	$4/4.4 \pm 0.03^{Dd}$	$4/6.9 \pm 0.00^{Ed}$
Ga+Na	$3/9.0 \pm 0.02^{Aa}$	$3/9.5 \pm 0.01^{Bb}$	$4/0.0 \pm 0.02^{Ca}$	$4/1.6 \pm 0.02^{Db}$	$4/2.1 \pm 0.01^{Eb}$
Ch+Ga+Na	$4/1.2 \pm 0.01^{Aa}$	$4/1.0 \pm 0.01^{Bc}$	$4/0.8 \pm 0.01^{Cb}$	$3/9.5 \pm 0.01^{Da}$	$3/7.7 \pm 0.02^{Ea}$
رطوبت					
C	$5/3.8 \pm 0.07^{Aa}$	$6/1.4 \pm 0.03^{Be}$	$6/9.7 \pm 0.02^{Cd}$	$7/9.3 \pm 0.04^{De}$	$8/8.1 \pm 0.01^{Ee}$
Ch	$5/4.2 \pm 0.02^{Aa}$	$5/6.7 \pm 0.03^{Bd}$	$6/1.5 \pm 0.01^{Cc}$	$6/5.2 \pm 0.04^{Dd}$	$6/7.8 \pm 0.04^{Ed}$
Ga	$5/3.6 \pm 0.06^{Aa}$	$5/5.4 \pm 0.03^{Bb}$	$5/9.1 \pm 0.01^{Cb}$	$6/1.2 \pm 0.03^{Db}$	$6/3.2 \pm 0.04^{Eb}$
Ch+Na	$5/3.9 \pm 0.05^{Aa}$	$5/6.2 \pm 0.04^{Bc}$	$6/1.1 \pm 0.03^{Cc}$	$6/4.1 \pm 0.05^{Dc}$	$6/6.9 \pm 0.03^{Ec}$
Ga+Na	$5/3.7 \pm 0.06^{Aa}$	$5/5.2 \pm 0.03^{Bb}$	$5/9.0 \pm 0.01^{Cb}$	$6/1.3 \pm 0.03^{Db}$	$6/3.5 \pm 0.04^{Eb}$
Ch+Ga+Na	$5/4.0 \pm 0.05^{Aa}$	$5/4.1 \pm 0.05^{Aa}$	$5/5.3 \pm 0.05^{Ba}$	$5/6.5 \pm 0.05^{Ca}$	$5/7.7 \pm 0.05^{Da}$



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the effect of edible coating of chitosan and gum Arabic containing natamycin on the microbial, chemical and sensory properties of raw pistachios

Samaneh Eslami¹- Razieh Partovi^{*1}- Hojjatollah Shokri²- Mahboobeh Zare³- Asghar Azizian⁴

1-Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

2-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

3-Department of Basic Science, Faculty of Medicinal Plants, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

4-Department of Food Hygiene& control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/2/20 Accepted:2024/11/10 Keywords: Raw pistachio, gum arabic, chitosan, natamycin DOI: 10.22034/FSCT.22.162.104. *Corresponding Author E- r.partovi@ausmt.ac.ir	This study was done to investigate the effect of edible coating of chitosan and gum Arabic containing natamycin on the microbial, chemical and sensory properties of raw pistachios during 28 days of storage in the refrigerator ($4\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ and 90-95% relative humidity). Samples were designed in five groups include control (C), coated with chitosan (Ch), coated with gum Arabic (Ga), coated with chitosan and natamycin (Ch+Na), coated with gum Arabic and natamycin (Ga+ Na) and coated with chitosan, gum Arabic and natamycin (Ch+Ga+Na). Then preparation and characterization tests (Fourier transform infrared spectrum, X-ray diffraction, thermal gravimetric analysis and scanning electron microscopy), microbial (total count, Aspergillus growth and mold and yeast count), chemical (weight loss and moisture) and sensory tests were done. The results of microbial tests showed that the samples coated with chitosan/gum Arabic/natamycin were significantly more effective in inhibiting the growth of microorganisms compared to other treatments, as total count, mold and yeast and Aspergillus growth were reached from 3.47 log cfu/g to 4.61 log cfu/g, 2.22 log cfu/g to 1.04 log cfu/g, and from 20% to 12% respectively at the beginning and at end of the study period. Also, coating with chitosan/gum Arabic/natamycin had a positive effect on the chemical properties, especially preventing weight loss, as it increased from 12.5% on day 0 to 77.3% on the final day, while in control group it increased from 4.08 to 7.03. Coating with chitosan/gum Arabic/natamycin not only did not adversely affect the appearance of pistachios, but also improved the sensory characteristics in all parameters except taste. In general, the results showed that the coating of chitosan and gum Arabic, especially when it contains natamycin, can be considered as an effective food coating in maintaining and improving the quality of food, especially nuts.



بررسی اثر نانوذرات سلنیوم بر کیفیت و ماندگاری میوه گوجه‌فرنگی گیلانی (*Solanum lycopersicum* L. cv Roma)

قاسم کاشانی^۱ و الهام دانائی^{۲*}

۱- کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران،

۲- *دانشیار، گروه علوم باغبانی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	امروزه تقاضا برای محصولات سالم و با کیفیت در میان مصرف کنندگان افزایش پیدا کرده است و استفاده از نانوذرات سلنیوم به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی، اثرات سودمندی در به تاخیر انداختن پیری و حفظ کیفیت محصولات باغبانی دارد. این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوذرات سلنیوم بر کیفیت و عمر انباری میوه گوجه‌فرنگی گیلانی بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. ابتدا بذره‌های گوجه‌فرنگی گیلانی رقم Roma پس از ضدعفونی در گلدان حاوی پرلایت و ورمی‌کولایت (۱-۲) کشت گردید. سپس نشاها در مرحله تشکیل گل توسط نانوذرات سلنیوم (۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم در لیتر) در ۳ مرتبه و به فاصله ۱۰ روز محلول‌پاشی شدند. پس از برداشت، ظروف حاوی ۵ میوه در یخچال با دمای $\pm 1^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵ تا ۹۰ درصد، قرارداد شدند. نمونه‌برداری و ارزیابی صفات هم در روز شروع آزمایش، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از برداشت انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد وزن تر نسبی میوه و شاخص ثبات غشاء سلول، میزان مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون، محتوای کارتنوئید و کلروفیل کل، میزان ویتامین ث و فعالیت آنتی‌اکسیدان کل در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر بود و بیشترین میزان pH و فنل کل در تیمار نانوذرات سلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. همچنین بیشترین و کمترین عمر انباری میوه‌ها به ترتیب با ۲۹/۵ و ۱۸/۳ روز در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر و ۸ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. با توجه به نتایج بدست آمده از این پژوهش کاربرد نانوذرات سلنیوم با غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر تیمار موثری در جهت حفظ کیفیت و ماندگاری گوجه‌فرنگی گیلانی رقم Roma می‌باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۵	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۳	
کلمات کلیدی:	
آنتی‌اکسیدان،	
انبارمانی،	
سلنیوم،	
مواد جامد محلول،	
ویتامین ث	
DOI:10.22034/FSCT.22.162.121.	
* مسئول مکاتبات:	
dr.edanaee@yahoo.com	

۱-مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) گیاهی متعلق به خانواده Solanaceae و بومی آمریکای مرکزی و جنوبی است و یکی از با ارزش ترین منابع تامین مواد معدنی است. گوجه فرنگی گیاهی سرشار از ویتامین‌های C، A، K و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند لیکوپن می‌باشد [۱]. همچنین این محصول به دلیل ظاهر جذاب آن به صورت تازه‌خوری و یا بصورت فرآوری مورد استفاده قرار می‌گیرد و به دلیل ارزش غذایی و دارویی آن، اهمیت بالایی در رژیم غذایی انسان دارد [۲]. مصرف گوجه‌فرنگی و مشتقات آن سبب کاهش خطر گسترش بیماری‌های گوارشی، قلبی و عروقی، پوکی استخوان و سرطان پروستات می‌شود [۳]. گوجه فرنگی یک محصول فرازگرا است و به دلیل توانایی تولید مقادیر بالایی اتیلن، دوره نگهداری محدودی دارد و بخش زیادی از این فرآورده به دلیل عدم استفاده از روش مناسب در پس از برداشت از بین می‌روند [۴].

امروزه محققان به دنبال استفاده از تکنیک‌های جدیدی جهت توسعه و افزایش عملکرد گیاهان می‌باشند. نانو ذرات با خواص فیزیکی منحصر به فرد خود موجب افزایش متابولیسم گیاهی می‌شود و با نفوذ به برگ و سلول موجب انتقال مواد شیمیایی به DNA و سلول‌های گیاهی می‌گردند و موجب تغییرات مورفولوژیک و فیزیولوژیک در گیاه می‌شود. تاثیر نانو ذرات در گیاهان به ترکیب، غلظت، اندازه و خواص فیزیکی و شیمیایی آن‌ها و همچنین به نوع گونه‌های گیاهی بستگی دارد [۵]. سلنیوم Se یک عنصر ریز مغذی با خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد سرطان و آنتی‌ویروسی است که به عنوان یک ماده اساسی برای سلامت انسان و حیوانات شناخته شده است [۶]. سلنیوم در غلظت‌های بالا برای گیاهان مضر است، اما در غلظت‌های پایین دارای اثرات مفیدی می‌باشد و جزء

عناصر غیرضروری برای گیاه است، در حالی که این عنصر دارای نقش مؤثری در افزایش رشد و سیستم آنتی‌اکسیدان آنزیمی و بهبود تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی می‌باشد [۷]. سلنیوم از طریق تجزیه آنیون سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن و یا از طریق آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مانند آنزیم‌های گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون اس‌ترانسفراز سطوح گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش می‌دهد [۸]. در پژوهشی آفتاب^۱ و همکاران (۲۰۲۳) گزارش نمودند که کاربرد سلنیوم در گیاه توت فرنگی (*Fragaria × ananassa* Duch) درصد کاهش وزن و پوسیدگی میوه را نسبت به شاهد کاهش داد، در حالیکه درصد رطوبت میوه، فعالیت آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، میزان فنل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل (DPPH) و عمر انبارمانی را افزایش داد [۹]. در گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L, cv. Foria.) نیز کاربرد سلنیوم محتوای نسبی آب، کلروفیل و کاروتنوئید، فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز، حجم ریشه، تعداد برگ، را بهبود بخشید و همچنین شاخص ثبات غشاء سلول را کاهش داد [۱۰]. محبی و همکاران (۲۰۱۹) نیز تاثیر محلول پاشی تاج درخت با سدیم سلنات را بر حفظ کیفیت میوه سیب رقم Starking Delicious در طول دوره انبارمانی مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که تیمار میوه‌ها با سطوح مختلف سلنیوم تفاوت معنی‌داری در کاهش تولید اتیلن، حفظ سفتی گوشت، میزان pH، اسید قابل تیتراسیون، مواد جامد محلول کل، ویتامین ث و آنتوسیانین میوه نسبت به میوه‌های شاهد داشتند [۱۱].

با توجه به ارزش غذایی و اهمیت اقتصادی گوجه فرنگی و لزوم کاهش ضایعات بالا در پس از برداشت این محصول و همچنین نقش مثبت سلنیوم در بهبود کیفیت پس از برداشت

محصولات باغبانی، تحقیق حاضر انجام شد. در پژوهش‌های پیشین به بررسی اثر سلنیوم در افزایش عملکرد و کیفیت سایر محصولات میوه‌ای پرداخته شده است. اما، پژوهشی پیرامون اثرات سلنیوم در حفظ کیفیت و ماندگاری گوجه فرنگی گیلاسی رقم Roma انجام نشده است. لذا، این پژوهش با هدف بررسی اثر نانوذرات سلنیوم بر کیفیت و عمر انباری میوه گوجه‌فرنگی گیلاسی (*Solanum lycopersicum* L., cv Roma) انجام شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده سازی نمونه‌ها

ابتدا بذره‌های گوجه‌فرنگی گیلاسی رقم Roma پس از ضدعفونی در گلدان حاوی پرلایت و ورمی‌کولایت (۱-۲) کشت شدند و محلول پاشی نشاها در مرحله تشکیل گل توسط نانوذرات سلنیوم (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در ۳ مرتبه و به فاصله ۱۰ روز انجام شد. پس از برداشت، میوه‌ها از نظر اندازه و یکنواختی تفکیک شدند و میوه‌های نرم، آسیب دیده و غیریکنواخت حذف شدند، سپس میوه‌های سالم، هم اندازه و هم رنگ انتخاب شده و ظروف حاوی ۵ میوه در یخچال با دمای 1 ± 4 درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۵ تا ۹۰ درصد، قرارداد شدند. نمونه‌برداری و ارزیابی صفات نیز در روز شروع آزمایش، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از برداشت انجام شد.

۲-۲- وزن تر نسبی میوه

وزن تر میوه‌ها با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۱ گرم توزین شد و وزن تر نسبی از طریق رابطه (۱) محاسبه شد و به صورت درصد بیان گردید [۱۲].

رابطه (۱)

$$\times (\text{وزن تر در روز صفر} / \text{وزن تر در روز مورد نظر}) = \text{وزن تر نسبی}$$

۲-۳- کاهش وزن میوه

جهت ارزیابی درصد کاهش وزن میوه‌ها، وزن نمونه‌ها پیش و پس از انبارداری اندازه گیری شد و از طریق رابطه (۲) محاسبه شد [۱۳].

رابطه (۲)

$$\times (\text{وزن تر اولیه} / (\text{وزن تر اولیه} - \text{وزن تر ثانویه})) = \text{درصد کاهش وزن}$$

۲-۴- شاخص ثبات غشاء سلول

ابتدا یک گرم از میوه‌ها در فالكون‌های حاوی آب مقطر قرار داده شدند و سپس در بن‌ماری ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه نگهداری شدند و پس از خروج نمونه‌ها از بن‌ماری میزان EC_1 توسط دستگاه EC متر (مدل ۷۳۱۰ شرکت مهام آزما)، قرائت شد. سپس فالكون‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد با فشار ۱/۲ اتمسفر قرارداد شدند و پس از سرد شدن، میزان EC_2 قرائت گردید. شاخص ثبات غشاء سلول با استفاده از رابطه (۳) محاسبه و بر حسب درصد بیان شد [۱۴].

رابطه (۳)

$$\times \{1 - (EC_1 / EC_2)\} = \text{شاخص ثبات غشاء سلول}$$

A: میزان جذب نور
 V: حجم استون نهایی

۲-۵- مواد جامد محلول

میزان مواد جامد محلول آب میوه‌ها با استفاده از رفاکتومتر دیجیتالی (RA-620/RA-600, KEM, Kyoto, Japan) اندازه‌گیری شد [۱۵].

۲-۶- اسیدیتیه قابل تیتراسیون

درصد اسیدیتیه میوه‌ها به روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال، اندازه‌گیری و بر حسب درصد اسید سیتریک محاسبه شد [۳].

۲-۷-pH

میزان pH آب میوه با استفاده از دستگاه pH متر (METROHM-632, Brinkmann, Geneva, Switzerland) اندازه‌گیری شد [۱۵].

۲-۸- کارتنوئید

جهت استخراج عصاره از میوه‌های گوجه‌فرنگی گیلاسی یک گرم میوه با ۵ cc استون ۸۰ درصد ساییده شد و عصاره به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری شد. سپس میزان جذب عصاره توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Visible UV مدل Spectro Flex 6600) در دو طول موج ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر، قرائت گردید. محتوای کارتنوئید با استفاده از رابطه (۴)، محاسبه و بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر بیان شد [۴].

$$\text{Car (mg/g FW)} = 7.6(A480) - 1.49(A510) \times V/1000 \times W$$

رابطه (۴)

A: میزان جذب نور V: حجم استون نهایی

۲-۹- کلروفیل کل

جهت اندازه‌گیری کلروفیل کل میوه میزان جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. محتوای کلروفیل کل میوه با استفاده از رابطه (۵)، محاسبه و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، محاسبه شد [۴].

$$\text{Chlo total (mg/g FW)} = 20.2(A645) + 8.02(A663) \times V/1000 \times W$$

رابطه (۵)

A: میزان جذب نور V: حجم استون نهایی

۲-۱۰- ویتامین ث

برای سنجش میزان ویتامین ث میوه‌ها از روش تیتراسیون دو مرحله‌ای اکسیداسیون- احیا، استفاده گردید و بر حسب

میلی‌گرم آسکوربیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن تر میوه بیان شد [۱۶].

۲-۱۱- فنل کل

برای اندازه‌گیری فنل کل میوه‌ها از معرف فولین- سیوکالچو استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر، قرائت و سپس بر حسب میلی‌گرم بر گرم گالیک اسید محاسبه گردید [۱۲].

۲-۱۲- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (DPPH) ۵ میلی لیتر از عصاره‌های استخراج شده با ۱ میلی‌لیتر محلول متانولی یک میلی‌مولار (DPPH) مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری شدند. سپس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب درصد با استفاده از رابطه (۶) محاسبه گردید [۱۷].

$$\text{DPPH radical-scavenging activity \%} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

رابطه (۶)

۲-۱۳- عمر انبارمانی

میوه‌های گوجه‌فرنگی گیلاسی در یخچال با دمای 1 ± 4 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵ تا ۹۰ درصد نگهداری شدند و عمر پس از برداشت آن‌ها با توجه علائمی مانند پلاسیدگی، آلودگی به کپک، شل و له شدن و غیره، بر حسب روز بیان شد [۲].

۲-۱۴ آنالیز آماری

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۵ میوه، در مجموع ۷۵ میوه گوجه‌فرنگی اجرا شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SPSS، آنالیز و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه دانکن در سطح آماری ۱ و ۵ درصد انجام شد.

۳-نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد، اثر ساده تیمار نانوذرات سلنیوم بر وزن تر نسبی، کاهش وزن میوه، میزان مواد جامد محلول، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، محتوای کارتنوئید، میزان فنل کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و عمر انبارمانی میوه‌های گوجه‌فرنگی گیلانی در سطح ۱ درصد و شاخص ثبات غشاء سلول، میزان pH، محتوای کلروفیل کل و میزان ویتامین ث در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. اثر ساده زمان نیز بر وزن تر نسبی، شاخص ثبات غشاء سلول و محتوای کارتنوئید میوه‌های گوجه‌فرنگی گیلانی در سطح ۱٪، معنی‌دار شد در حالیکه بر کاهش وزن میوه، میزان مواد جامد محلول، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، میزان pH، محتوای کلروفیل کل، میزان فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل تیمار نانو ذرات سلنیوم و زمان بر وزن تر نسبی، کاهش وزن میوه، شاخص ثبات غشاء سلول، میزان مواد جامد محلول، میزان اسیدیته قابل تیتراسیون، محتوای کارتنوئید، میزان فنل کل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌های گوجه‌فرنگی گیلانی در سطح ۱ درصد، و بر میزان pH، محتوای کلروفیل کل و میزان ویتامین ث در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

Table 1. Analysis of variance of selenium nanoparticles on quality and shelf life of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

* and ** are significant at the 5% and 1% levels, Respectively

Source of variation	Mean square												
	DF	Relative fresh weight	Weight loss	Cell membrane stability index	Soluble solid	Titrateable acidity	pH	Carotenoid	Total chlorophyll	Vitamin C	Phenol	Total antioxidant	Shelf life
Treatment	4	137.27**	47.126*	132.51*	8.65**	174**	10.71*	9.45**	1.47*	8.17*	63.33**	11.42**	57.63**
Time	3	246.11**	89.328*	178.15*	15.13*	4.02*	34.26*	14.75**	3.15*	13.12*	97.22*	18.16*	---
Treatment×Time	12	25.73**	13.14**	23.16**	4.64**	0.82**	5.09*	6.12**	0.79*	4.86*	38.65**	4.37**	---
Error	40	0.81	0.137	0.785	0.041	0.008	0.072	0.081	0.012	0.089	0.775	0.075	0.042
CV (%)	---	11.19	10.25	9.42	10.37	9.58	10.43	10.74	11.08	10.21	11.56	9.46	10.32

۳-۱- وزن تر نسبی میوه

نتایج نشان داد که در طی مدت انبارمانی کاهش درصد وزن تر نسبی میوه‌ها در تمام تیمارها مشاهده شد. پس از ۲۱ روز از برداشت بیشترین وزن تر نسبی میوه در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر با ۶۷/۷۲ درصد و کمترین با ۹۹/۹۲ درصد در تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲). کاهش وزن تر

نسبی میوه در دوره انبارمانی می‌تواند مربوط به افزایش تبخیر و تعرق از سطح میوه باشد [۱۸] و محلول پاشی گیاه توسط سلنیوم به دلیل تاثیر مثبت آن بر سنتز کلروفیل، تثبیت کربن، تحریک تقسیم سلولی در سلول‌های مریستمی و سنتز و هیدرولیز نشاسته نقش موثری بر وزن تر میوه دارد [۱۹]. مطابق با نتایج این آزمایش در میوه بلوبری (*Vaccinium spp.*) نیز بهبود وزن تر میوه با کاربرد سلنیوم توسط وانگ و همکاران (۲۰۱۸) گزارش شده است [۲۰].

Table 2. Effect of selenium nanoparticles on physicochemical traits of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

Days	Treatment (mg l ⁻¹)	Relative fresh weight (%)	Weight loss (%)	Cell membrane stability index (%)	TA (mg 100 ml ⁻¹)	TSS (°Brix)	pH
1	Control	100 ^a	0.00 ^a	100.00 ^a	0.52 ^{cd}	5.42 ^c	5.49 ^b
	selenium nanoparticles 2	100 ^a	0.00 ^a	100.00 ^a	0.56 ^b	5.71 ^b	5.69 ^a
	selenium nanoparticles 4	100 ^a	0.00 ^a	100.00 ^a	0.59 ^a	5.87 ^a	5.61 ^a
	selenium nanoparticles 6	100 ^a	0.00 ^a	100.00 ^a	0.51 ^d	5.26 ^d	5.38 ^c
	selenium nanoparticles 8	100 ^a	0.00 ^a	100.00 ^a	0.48 ^e	5.07 ^{de}	5.31 ^d
7	Control	80.36 ^e	9.67 ^d	86.16 ^c	0.48 ^e	5.13 ^e	5.07 ^e
	selenium nanoparticles 2	86.31 ^c	6.12 ^c	92.45 ^b	0.51 ^d	5.37 ^d	5.38 ^c
	selenium nanoparticles 4	88.47 ^b	5.31 ^b	90.37 ^b	0.54 ^c	5.51 ^c	5.35 ^c
	selenium nanoparticles 6	75.25 ^{fg}	12.45 ^f	80.25 ^d	0.45 ^f	4.82 ^f	4.84 ^{fg}
	selenium nanoparticles 8	70.16 ^h	15.79 ^g	76.59 ^e	0.38 ^g	4.64 ^g	4.57 ^{gh}
14	Control	73.19 ^g	14.83 ^g	74.32 ^{ef}	0.32 ^h	4.32 ^h	4.51 ^{gh}
	selenium nanoparticles 2	77.62 ^f	9.31 ^d	80.67 ^d	0.39 ^g	4.64 ^{fg}	4.86 ^f
	selenium nanoparticles 4	83.27 ^d	11.06 ^e	81.59 ^d	0.42 ^{fg}	4.61 ^g	4.67 ^{fg}
	selenium nanoparticles 6	66.45 ⁱ	18.82 ⁱ	69.83 ^f	0.26 ⁱ	4.08 ^{ij}	3.92 ^j
	selenium nanoparticles 8	63.38 ^{ij}	19.94 ^{ij}	62.43 ^g	0.20 ^k	3.76 ^k	3.61 ^j
21	Control	57.38 ^j	17.35 ^h	68.57 ^f	0.21 ^k	3.86 ^{jk}	4.13 ⁱ
	selenium nanoparticles 2	65.15 ⁱ	15.41 ^{gh}	73.32 ^{ef}	0.26 ^j	4.03 ^j	4.65 ^{fg}
	selenium nanoparticles 4	72.46 ^h	13.26 ^{ef}	76.41 ^e	0.32 ^h	4.25 ⁱ	4.42 ^h
	selenium nanoparticles 6	54.74 ^k	21.97 ^j	62.51 ^g	0.17 ^l	3.59 ^l	3.79 ^j
	selenium nanoparticles 8	49.92 ^l	24.82 ^k	57.68 ^h	0.11 ^m	3.10 ^m	3.35 ^k

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

۳-۲- کاهش وزن میوه

مقایسه میانگین داده‌ها نتایج نشان داد، بیشترین کاهش وزن میوه پس از ۲۱ روز از برداشت در تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر با ۲۴/۸۲ درصد و کمترین با ۱۳/۲۶ درصد در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (جدول ۲). بررسی‌ها نشان‌دهنده افزایش درصد کاهش وزن میوه‌ها به دلیل از دست دادن آب ناشی از فرآیند تنفس و تعرق میوه‌ها در طی مدت انبارمانی می‌باشد و کاهش درصد افت وزن در غلظت‌های پایین تیمار نانوذرات سلنیوم می‌تواند مربوط به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن و نقش سلنیوم در به تاخیر انداختن پیری از طریق کاهش تولید اتیلن باشد و افزایش افت وزن در غلظت‌های بالای سلنیوم نیز به دلیل از دست دادن آب و افزایش تنفس باشد [۲۱]. در میوه گواوا (*Psidium guajava* L) نیز کاربرد سلنیوم کاهش وزن میوه را در پس از برداشت به تاخیر انداخت [۲۲].

۳-۳- شاخص ثبات غشاء سلول

نتایج داده‌های آزمایش در جدول ۲ نشان داد، درصد شاخص ثبات غشاء سلول در طی مدت انبارمانی در تمام تیمارها دارای روند کاهشی می‌باشد. پس از ۲۱ روز پس از برداشت، بیشترین و کمترین شاخص ثبات غشاء سلول به ترتیب با ۷۶/۴۱ و ۵۷/۷۸ درصد در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ و ۸ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. غشاء سلولی یک غشا فسفولیپیدی است و با توجه به اینکه اسیدهای چرب و لیپیدها حساسیت بالایی به اکسیژن دارند، واکنش آن با اکسیژن موجب تخریب غشا سلولی می‌شود در نتیجه کاربرد سلنیوم با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب پاک‌سازی اکسیژن فعال و کاهش پر اکسیداسیون چربی‌های

غشاء می‌شود و موجب حفظ شاخص ثبات غشاء سلول در طول دوره انبارمانی می‌شود [۲۳]. همچنین سلنیوم از طریق افزایش جذب پتاسیم در سلول گیاهی موجب افزایش پایداری غشاء سلول می‌شود [۱۸]. نتایج این آزمایش با نتایج مظفریان و همکاران (۲۰۱۶) و رادی^۳ و همکاران (۲۰۲۰) به ترتیب در دو رقم گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum* L. cv. Foria) و (*Solanum lycopersicum* L. cv. Login 935) مطابقت دارد [۱۰، ۲۴].

۳-۴- مواد جامد محلول

مطابق با نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها در طول دوره انبارمانی میزان مواد جامد محلول کاهش یافت که پس از ۲۱ روز از برداشت در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر با ۴/۲۵ درجه بریکس، بیشترین و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر با ۳/۱ درجه بریکس، کمترین میزان مواد جامد محلول مشاهده شد (جدول ۲). در طول دوره انبارمانی، افزایش تنفس موجب مصرف پیش ماده تنفسی مانند کربوهیدرات‌ها می‌شود و در نتیجه میزان مواد جامد محلول کاهش می‌یابد [۴]. سلنیوم نیز از طریق تاثیر مثبتی که بر افزایش تولید رنگریزه‌های فتوسنتزی دارد موجب افزایش شدت فتوسنتز و تولید بیشتر قندهای محلول می‌شود، از سویی دیگر سلنیوم بر کاهش شدت تنفس نقش موثری دارد، در نتیجه از مصرف قندهای محلول جلوگیری کرده و موجب افزایش مواد جامد محلول می‌شود [۲۵]. در پژوهشی محلول‌پاشی انگور رقم فخری (*Vitis vinifera* cv. Fakhri) توسط سلنیوم مواد جامد محلول را افزایش داد [۲۶]. همچنین یوآن^۴ و همکاران (۲۰۲۱) نیز افزایش مواد جامد محلول گلابی (*Pyrus Ussuriensis*) را با کاربرد سلنیوم گزارش نمودند [۲۷].

۳-۵- اسیدیته قابل تیتراسیون

بررسی داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که میزان اسیدیته قابل تیتر در طی مدت انبارمانی روند کاهشی داشت، بطوریکه پس از ۲۱ روز از برداشت، بیشترین اسیدیته قابل تیتراسیون در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی گرم در لیتر با ۰/۳۲ درصد و کمترین در تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی گرم در لیتر با ۰/۱۱ درصد بود. اسیدهای آلی یکی از عوامل تاثیر گذار بر طعم میوه است و به دلیل اینکه سوبسترای تنفسی هستند میزان آن در طول دوره انبار مانی کاهش می یابد [۲۸]. افزایش میزان اسیدیته با کاربرد نانو ذرات سلنیوم مربوط به نقش سلنیوم در کاهش شدت تنفس در میوه‌ها می باشد [۱۱] که با نتایج الهام و همکاران (۲۰۱۳) در میوه پرتقال ناول هم سو می باشد [۲۹].

۳-۶- pH

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان دهنده آن است که در طول دوره انبارمانی میزان pH میوه‌ها کاهش یافت و پس از ۲۱ روز از برداشت در تیمار نانوذرات سلنیوم ۲ میلی گرم در لیتر با ۴/۶۵ بیشترین و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی گرم در لیتر با ۳/۳۵، کمترین pH آب میوه مشاهده شد (جدول ۲). در این پژوهش افزایش pH در غلظت‌های

پایین سلنیوم می تواند مربوط به تنفس و مصرف اسیدهای آلی در میوه‌ها باشد، که با نتایج محبی و همکاران (۱۳۹۸) پیرامون تاثیر محلول پاشی سلنات سدیم بر میوه سیب رقم Starking Delicious مطابقت دارد [۱۱].

۳-۷- کاروتنوئید

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می شود، محتوای کاروتنوئید میوه در طول دوره انبارمانی کاهش یافت و ۲۱ روز پس از برداشت به ترتیب بیشترین و کمترین محتوای کاروتنوئید میوه با ۳/۸۶ و ۱/۹۰ میلی گرم در گرم وزن تر در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ و ۸ میلی گرم در لیتر به دست آمد. در طی مدت انبارمانی کاهش کاروتنوئید میوه به عنوان آنتی اکسیدان غیرآنزیمی نشان دهنده تخریب آن ها در شدت بالای تنش اکسیداتیو است [۱۴]. مظفری و همکاران (۲۰۲۰) افزایش محتوای کاروتنوئید را به تاثیر سلنیوم بر عناصر معدنی در گیاه نسبت دادند، زیرا عمده ترکیبات رنگدانه‌های فتوسنتزی دارای ساختار نیتروژنی هستند و سلنیوم با افزایش میزان نیتروژن موجب افزایش تولید رنگریزه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئید می شود [۲۶]. مطابق با نتایج این آزمایش، محلول پاشی برگی سلنیوم محتوای کاروتنوئید هویج را افزایش داد [۳۱].

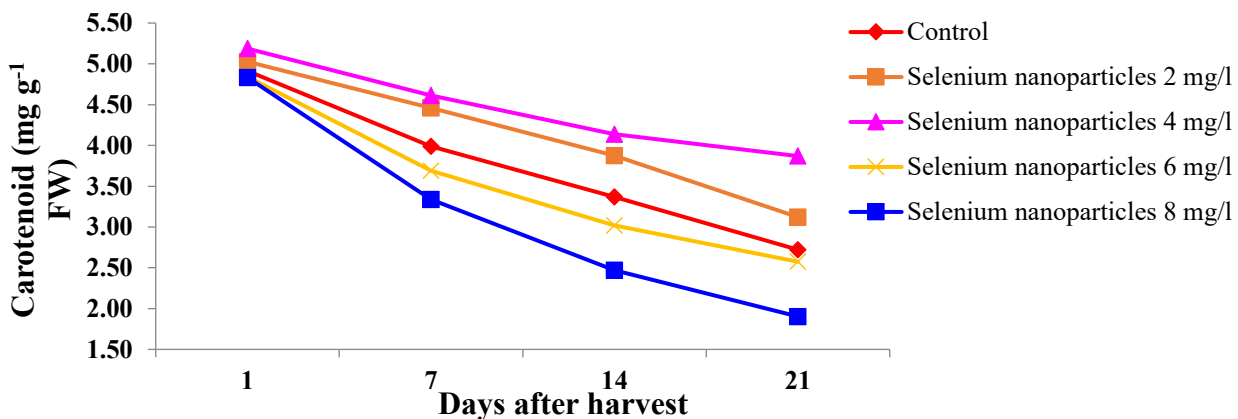


Fig 1 Effect of selenium nanoparticles on carotenoid content of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

۳-۸- کلروفیل کل

انبارمانی کاهش یافت. تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی گرم در لیتر با ۰/۵۴ میلی گرم در گرم وزن تر، بیشترین و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی گرم در لیتر با ۰/۲۱ میلی گرم در

تغییرات محتوای کلروفیل کل در شکل ۱ نشان داد که در تمام تیمارها محتوای کلروفیل کل میوه‌ها در طی مدت

کلروپلاست و جذب منیزیم و آهن و در نهایت افزایش بیوستز رنگدانه‌های فتوسنتزی باشد [۱۸] و از سویی دیگر افزایش غلظت سلنیوم موجب مهار آنزیم‌های بیوستز کننده کلروفیل می‌شود که تاثیر منفی بر محتوای کلروفیل دارد [۲۵]. افزایش رنگرزه‌های فتوسنتزی توسط سلنیوم در میوه بلوبری (*Vaccinium spp.*) نیز گزارش شده است [۲۰].

گرم وزن تر، کمترین محتوای کلروفیل کل را در روز ۲۱ پس از برداشت نشان داد. کاهش میزان کلروفیل را در دوره انبارمانی را می‌توان به سه عامل کاهش pH، سیستم‌های اکسیداتیو و فعالیت آنزیم کلروفیلاز نسبت داد که این عوامل در اثر تنفس و پیشرفت فرآیند پیری با سرعت بیشتری رخ می‌دهد [۳۰]. محتوای کلروفیل کل میوه در غلظت‌های پایین نانو ذرات سلنیوم افزایش یافت که می‌تواند به دلیل اثر سلنیوم بر محافظت آنزیم‌های

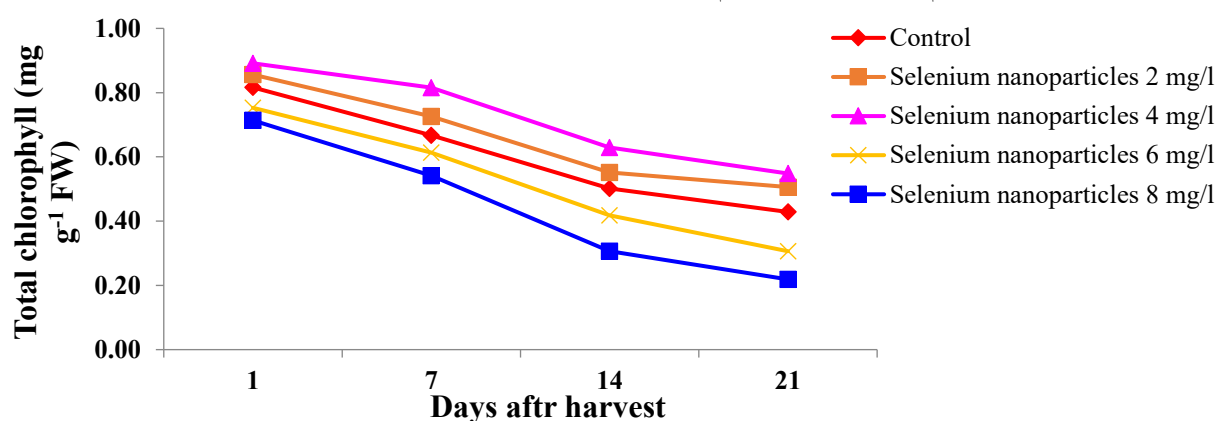


Fig 2 Effect of selenium nanoparticles on total chlorophyll content of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

می‌یابد، علاوه بر این اسید آسکوربیک برای ساخته شدن اتیلن به عنوان کوفاکتور برای ACC اکسیداز عمل می‌کند. بنابر این مقدار آن با گذشت زمان و طی نگهداری کاهش می‌یابد [۱۲]. سلنیوم به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی خود و با فعال کردن مکانیسم‌هایی فعالیت اکسیداسیونی را کاهش می‌دهد در نتیجه موجب حفظ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از قبیل ویتامین ث در طول دوره انبارمانی می‌شود [۱۱]. زوه و همکاران (۲۰۱۸) دلیل افزایش میزان ویتامین ث را در گوجه فرنگی به تاثیر سلنیوم بر گلوکاتایون احیا نسبت دادند زیرا گلوکاتایون در چرخه سنتز ویتامین ث نقش دارد [۲۵]. همچنین لو^۶ و همکاران (۲۰۲۲) افزایش میزان ویتامین ث توت فرنگی (*Strawberry* cv. Sweet Charlie) را با کاربرد سلنیوم گزارش نمودند [۳۲].

۳-۹- ویتامین ث

نتایج نشان داد که به ترتیب تیمارهای نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر (۵/۱۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر (۳/۶۱ میلی‌گرم در میلی‌لیتر)، بیشترین و کمترین میزان ویتامین ث پس از ۲۱ روز از زمان برداشت داشتند (شکل ۳). در این پژوهش میزان ویتامین ث در طول دوره انبارمانی کاهش یافت، زیرا ویتامین ث به شدت تحت تاثیر آبی که میوه از دست می‌دهد قرار می‌گیرد و ارتباط مثبتی با کاهش وزن میوه دارد [۳۲]. میزان ویتامین ث پس از برداشت در اثر آنزیم اسکوربیک اسید اکسیداز هیدرولیز گردیده و کاهش

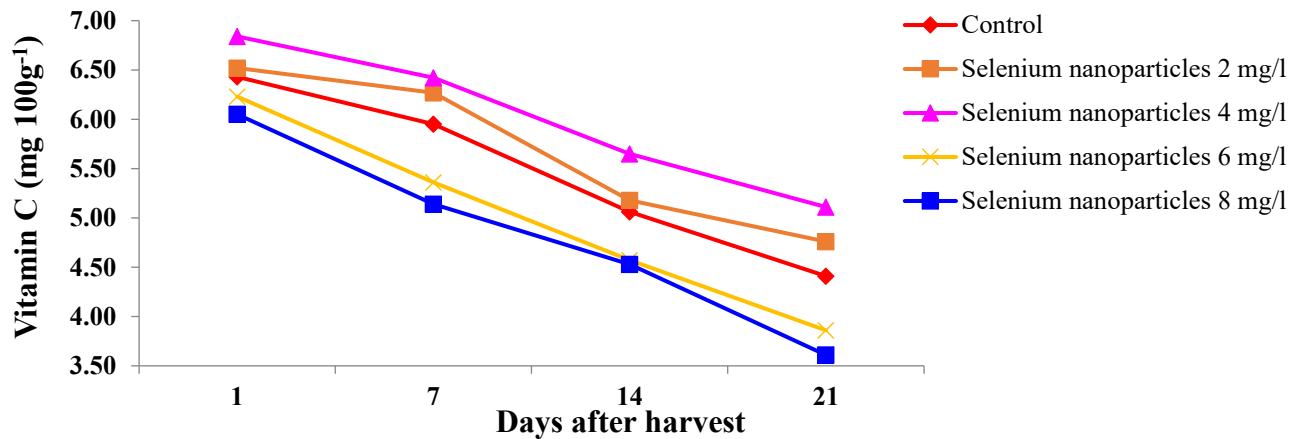


Fig 3 Effect of selenium nanoparticles on vitamin C of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

موجب روند کاهشی میزان فنل در طول دوره انبارمانی شده است [۳۳]. همچنین فنل‌ها سوبسترای آنزیم پلی فنل اکسیداز هستند در نتیجه مقدار آن‌ها در پس از برداشت کاهش می‌یابد [۳۴]. افزایش میزان فنل میوه می‌تواند مربوط به نقش سلنیوم در افزایش فنیل آلانین آمولیز باشد که آنزیمی کلیدی در سنتز ترکیبات فنلی است [۳۵] تحقیقات گروس^۷ و همکاران (۲۰۲۱) تاثیر سلنیوم را بر ترکیبات فنلی سیب (*Malus domestica*) را گزارش نمودند [۳۶].

۳-۱۰- فنل

با توجه به نتایج مقایسه میانگین به‌دست آمده، تیمار نانوذرات سلنیوم ۲ میلی‌گرم در لیتر با ۲۲/۷۱ میلی‌گرم در گرم وزن خشک، بیشترین و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر با ۱۱/۴۶ میلی‌گرم در گرم وزن خشک، کمترین میزان فنل کل را پس از ۲۱ روز از برداشت نشان داد (شکل ۴). شکستن ساختار سلولی در اثر پیری میوه‌ها

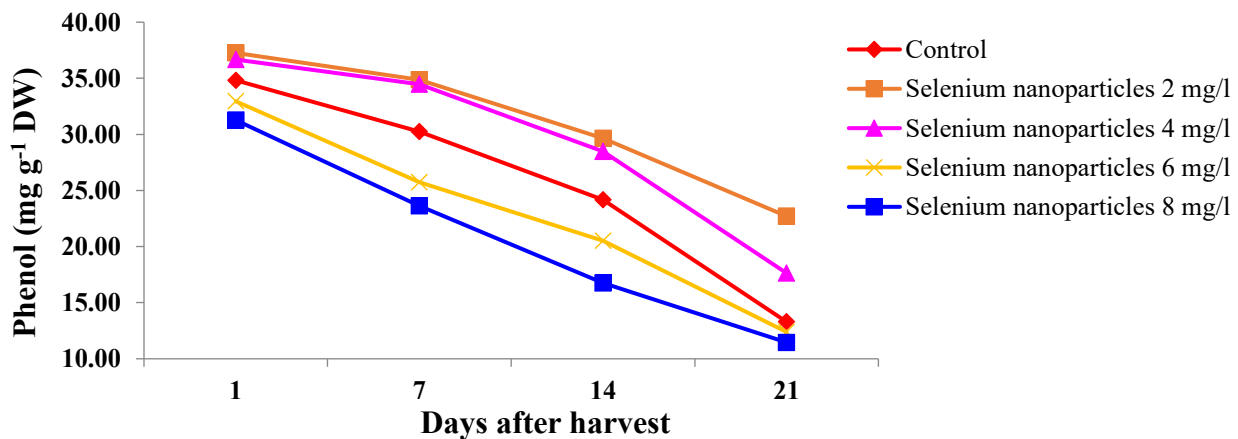


Fig 4 Effect of selenium nanoparticles on phenol content of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر با ۴/۱۹ درصد، بیشترین و تیمار نانوذرات سلنیوم ۸ میلی‌گرم در لیتر با ۳/۰۸ درصد، کمترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به‌دست آمد. فعالیت آنزیمی

۳-۱۱- فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل

شکل ۵ نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل پس از برداشت روند کاهشی داشت. بطوریکه در تیمار نانوذرات

افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز، گلوکاتایون، آسکوربات و پرولین می‌تواند مقادیر پراکسید هیدروژن را در گیاه کاهش دهد [۳۸]. نتایج این آزمایش پیرامون تاثیر سلنیوم بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی همسو با پژوهشی بر میوه سیب (*Malus domestica*) می‌باشد [۳۹].

و غیر آنزیمی منجر به تخریب غشا سلولی، ایجاد رادیکال‌های فعال اکسیژن و شرکت این ترکیبات در متابولیسم سلولی و مصرف آن در طول دوره انبارمانی است که منجر به کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل در میوه می‌شود [۳۷]. همچنین سلنیوم بخشی از هسته آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز است، غلظت‌های پایین سلنیوم نقش موثری در متابولیسم سلول‌های گیاهی دارد و از طریق

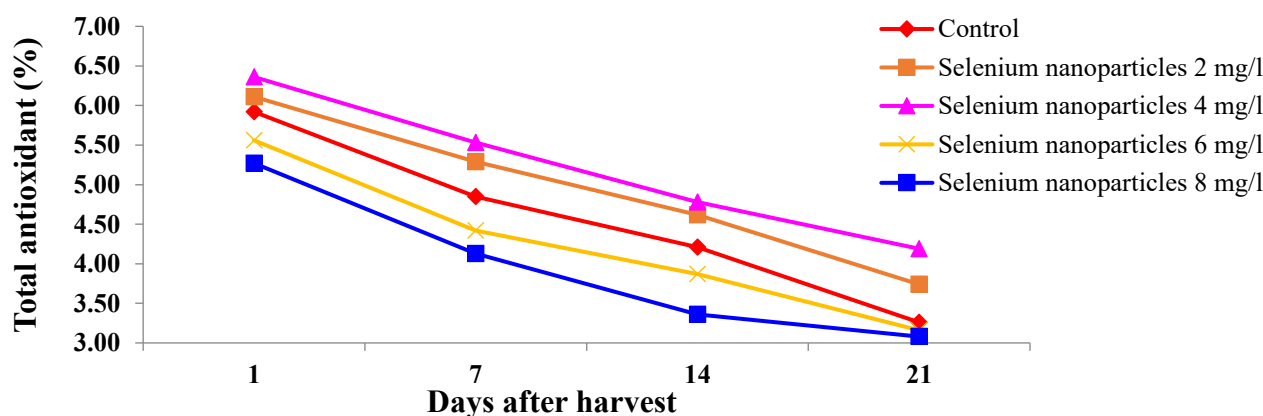


Fig 5 Effect of selenium nanoparticles on total antioxidant of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تولید اتیلن و سرعت تنفس را کاهش می‌دهد در نتیجه عمر انبارمانی میوه را افزایش می‌دهد که با نتایج این آزمایش نیز مطابقت دارد [۲۵]. همچنین ایسلام^۹ و همکاران (۲۰۱۸) نیز افزایش عمر انبارمانی گوجه گیلاسی (*Solanum lycopersicum* cv. Unicorn) با کاربرد سلنیوم گزارش نمودند [۴۰].

۳-۱۲- عمر انبارمانی

نتایج نشان داد که بیشترین (۲۹/۵ روز) و کمترین (۱۸/۳ روز) عمر انبارمانی به ترتیب در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی‌گرم در لیتر و ۸ میلی‌گرم در لیتر حاصل شد (شکل ۶). تحقیقات زو^۸ و همکاران (۲۰۱۷) بر گیاه گوجه فرنگی نشان داد، سلنیوم ژن‌های بیوسنتزی اتیلن را مهار می‌کند و

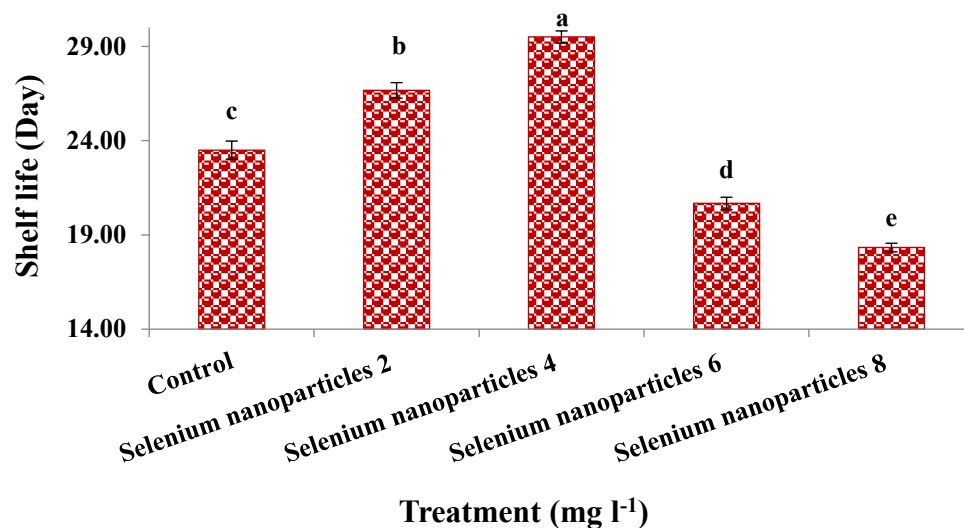


Fig 6 Effect of selenium nanoparticles on shelf life of *Solanum lycopersicum* L., cv Roma

۴- نتیجه گیری کلی

غشاء سلول، میزان مواد جامد محلول و اسیدیته قابل تیتراسیون، محتوای کارتنوئید و کلروفیل کل، میزان ویتامین ث، درصد ظرفیت آنتی اکسیدانی و عمر انبارمانی مشاهده شد و بیشترین میزان pH و فنل کل در تیمار نانوذرات سلنیوم ۲ میلی گرم در لیتر به دست آمد. بطور کلی کاربرد نانوذرات سلنیوم با غلظت های ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر می تواند نقش موثری بر حفظ کیفیت و ماندگاری *Solanum lycopersicum* L. cv (Roma) برای مصارف تازه خوری و فرآوری داشته باشد.

حفظ ارزش غذایی، رنگ، عطر و طعم و سایر فاکتورهای موثر بر ارزش اقتصادی و ماندگاری این محصول ارزشمند با استفاده از ترکیبات طبیعی و تضمین کننده سلامت مصرف کنندگان و محیط زیست از جمله سلنیوم که عنصری کمیاب و ضروری برای سلامت انسان است و از طریق رژیم غذایی مناسب تامین می گردد، بسیار حائز اهمیت می باشد. در این پژوهش از نانوذرات سلنیوم برای افزایش کیفیت و ماندگاری میوه های گوجه فرنگی استفاده شد که نتایج نشان داد در تیمار نانوذرات سلنیوم ۴ میلی گرم در لیتر بیشترین درصد وزن تر نسبی میوه و شاخص ثبات

۵- منابع

[1] Otroshi, M., Karimi, R. 2014. Effect of concentration of plant growth regulators on in vitro micropropagation of cherry tomato. Soil and plant interaction, 5(19): 127-133.
 [2] Imani, A., Danaee, E. 2023. The effect of Aloe vera gel and Chitosan as an oral coating on the quality properties and shelf life of Tomato (*Solanum lycopersicum*) during storage. Journal of Food Biosciences and Technology, 13(3): 19-26.
 [3] Ganjloo, A., Zandi, M., Bimakr, M., Monajem, S. 2020. Ripening stages control of Cherry Tomato coated with Aloe Vera gel using artificial vision system. Journal of food science and technology, 17 (105): 135-149.
 [4] Gelyani, S., Danaee, E. 2025. The Effect of starch coating and hot water treatment on the quality and shelf life of Tomatoes (*Solanum lycopersicum*).

Journal of Innovation in Food Science and Technology, 16 (4): 89-102.
 [5] Shah Valibar, A., Ismailzadeh Bahabadi, P., Yusufzai, F. 2016. The effect of nanoparticles on the growth and metabolism of plants. The first international conference on new findings in biotechnology.
 [6] Murphy, L.A., Reeves, P.G., Jones, S.S. 2014. Selenium and quality characteristics expressed in wheat breeding lines. Food Systemic Journal, 32: 52-63.
 [7] Nawaz, F., Ashraf, M.Y., Ahmad, R., Waraich, E.A., Shabbir, R.N. 2014. Selenium (Se) regulates seedling growth in wheat under drought stress. Advances in Chemistry, (3): 1-7.

- [8] Feng, R., Wei, C., Tu, S. 2013. The roles of selenium in protecting plants against abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 87: 58-68.
- [9] Aftab, A., Ali, M., Yousaf, Z., Binjawhar, D. N., Hyder, S., Aftab, Z.-e.-H., Maqbool, Z., Shahzadi, Z., Eldin, S. M., Iqbal, R., Ali, I. 2023. Shelf-life extension of *Fragaria* × *ananassa* Duch. Using selenium nanoparticles synthesized from *Cassia fistula* Linn. Leaves. *Food Science & Nutrition*, 11: 3464-3484.
- [10] Mozafariyan, M., Pessarakli, M., Saghafi, K. 2017. Effects of selenium on some morphological and physiological traits of tomatoplants grown under hydroponic condition. *Journal of Plant Nutrition*, 40(2): 139-144.
- [11] Mohebbi, S., Babalar, M., Zamani, Z., Askari Sarcheshmeh, M. A. 2019. Influence of canopy spraying with sodium selenate on selenium biofortification and fruit quality maintenance of 'Starking Delicious' apple during storage. *Iranian Journal of Horticultural Science*, 50(3): 501-514.
- [12] Soroori, S., Danaee, E., Hemmati, K., Ladan Moghadam, A.R. 2021. The metabolic response and enzymatic activity of *Calendula officinalis* L. to foliar application of spermidine, citric acid and proline under drought stress and in a post-harvest condition. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 23 (6): 1339-1353.
- [13] Shorakaie, H., Mirzaalian Dastjerdi, A., Ghasemi, M., Rastegar, S. 2024. Investigating the effects of UV-C and ultrasonic treatments on the shelf life of Langra mango fruits. *Journal of food science and technology*, 147(21): 16-33.
- [14] Danaee, Abdossi, V. 2016. Evaluation of the effect of plant growth substances on longevity of gerbera cut flowers cv. Sorbet. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 7 (1): 1943- 1947.
- [15] Danaee, E., Abdossi, V. 2019. Phytochemical and Morphophysiological Responses in Basil (*Ocimum basilicum* L.) Plant to Application of Polyamines. *Journal of Medicinal Plants*, 18 (69): 125-133.
- [16] Babashpour-Asl, M., Piryaei, M. 2022. Antioxidant Activities and Several Bioactive Substances of Different Extracts of *Vitis vinifera* L. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 12(2): 49-60.
- [17] Soroori, S. and E, Danaee. 2023. Effect of Foliar Application of Citric Acid on Morpho-Physiological and Phytochemical Traits of *Calendula Officinalis* L. Under Drought Stress. *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 10(4): 364-371
- [18] Rastegari, H., Tehranifar, A., Nemati, S.H., Vazifeshenas, M.R. 2014. Effect of pre harvest application of salicylic Acid on post-harvest characteristics of pomegranate fruit and storage in cold Store. *Journal of Horticultural Science*, 28(3): 360-368.
- [19] Safaryazdi, A., Lahoti, M., Ganjali, A. 2012. Effect of different concentrations of selenium on plant physiological characteristics of spinach *Spinacia oleraceae*. *Journal of Horticultural Science*, 26(3): 292-300.
- [20] Wang, Y.N., Yi, C., Wang, Y.X., Wang, X. 2018. Effects of selenium fertilizer on fruit quality and plant resistance of Blueberry. *IOP Conference Series Earth and Environmental Science*, 199(3): 032071.
- [21] Pezzarossa, B., Rosellini, I., Borghesi, E., Tonutti, P. 2014. Effects of Se-enrichment on yield, fruit composition and ripening of tomato (*Solanum lycopersicum*) plants grown in hydroponics. *Scientia Horticulturae*, 165: 106-110.
- [22] Choudhary, P., Jain, V. 2018. Effect of post-harvest treatments of selenium on physico-chemical quality in guava (*Psidium guajava* L.). *Horticulture International Journal*, 2(2): 41-44.
- [23] Bybordi, A. 2016. Effect of Zeolite, Selenium and Silicon on yield, yield components and some physiological traits of Canola under salt stress conditions. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 14(1): 154-170.
- [24] Rady, M., Belal, H., Gadallah, F., Semida, W. 2020. Selenium application in two methods promotes drought tolerance in *Solanum lycopersicum* plant by inducing the antioxidant defense system. *Scientia Horticulture*, 266(6): 109290.
- [25] Zhu, Z., Chen, Y., Shi, G., Zhang, X. 2017. Selenium delays tomato fruit ripening by inhibiting ethylene biosynthesis and enhancing the antioxidant defense system. *Food Chemistry*, 219: 179-184.
- [26] Mozaffari, M., Razavi, F., Rabiei, V., Kheiry, A., Hassani, A. 2020. Effect of preharvest spraying of selenium on qualitative and biochemical characteristics of Grape cv. Fakhri (*Vitis vinifera* cv. Fakhri). *Journal of Horticultural Science*, 34(1): 61-74.
- [27] Yuan, C., Bu, H., Zhao, J., Liu, J., Yuan, H., Wang, A. 2021. Selenium increases fruit quality by reducing ethylene production and the stone cell content in Pear (*Pyrus Ussuriensis*). *Agricultural and Food Sciences*, 1-17.
- [28] Esmaeili, N., Naghshband, R., Zare Nahandi, F. 2019. Evaluation of the effect of harvest time and fruit cold storage period on some of qualitative characteristics of Cornelian cherry fruit. *Food Research Journal*, 29(3): 69-84.
- [29] Elham, Z., Motty, A.E., Orabi, S.A. 2013. The beneficial effects of using zinc, yeast and selenium on yield, fruit quality and antioxidant defense systems in navel orange trees grown under newly reclaimed sandy soil. *Journal of Applied Sciences Research*, 9(10): 6487-6497.
- [30] Fakorzadeh, S., daneshvar, M., Zare-Bavani M. 2024. Postharvest application of chitosan and putrescine on maintaining the quality and extend shelf-life of cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Journal of food science and technology*, 20 (144): 112-130.

- [31] Oliveira, V.C., Faquin., Guimarães, K., Andrade, F. 2018. Agronomic biofortification of carrot with selenium. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, 42(2): 138-147.
- [32] Lu, N., Wu, L., Zhang, X., Zhang, Y., Shan, C. 2022. Selenium improves the content of vitamin C in the fruit of strawberry by regulating the enzymes responsible for vitamin C metabolism. *Plant Soil Environ*, 68(4): 205-211.
- [33] Rostamzadeh, B., Ramin, A.A., Amini, F., Pirmoradian, M. 2015. Effect of chitosan coating on increasing postharvest life and maintaining apple fruit quality Cv "Soltani". *Journal of Crop Production and Processing*, 5 (17): 263-272.
- [34] Zarbakhsh, S., Rastegar, S. 2017. The effect of salicylic acid and gum arabic on some quantitative and qualitative characteristics of *Ziziphus mauritina* Lam during storage. *Journal of Food Technology and Nutrition*, 14(2): 87-98.
- [35] Hosseinzadeh Rostam Kalaei, M., Abdossi, V., Danaee, E. 2022. Evaluation of foliar application of selenium and flowering stages on selected properties of Iranian Borage as a medicinal plant. *Scientific Reports*, 12: 1-10.
- [36] Groth, S., Budke, C., Weber, T., Neugart, S., Brockmann, S., Holz, M., Sawadski, BC., Daum, D., Rohn, S. 2021. Relationship between phenolic compounds, antioxidant properties, and the allergenic protein Mal d 1 in different Selenium-biofortified apple cultivars (*Malus domestica*). *Molecules*, 26(9): 2647.
- [37] Zeraatgar, H., Davarynejad, G.H., Moradinezhad, F., Abedi, B. 2018. Investigation of changes in total phenolic compounds and antioxidant activity of fresh fruit jujube under storage conditions. The first national conference on new opportunities for production and employment in the agricultural sector in the east of the country.
- [38] Chomchan, R., Siripongvutikorn, S., Puttarak, P. 2017. Selenium bio-fortification: an alternative to improve phytochemicals and bioactivities of plant foods. *Functional Foods in Health and Disease*, 7(4): 263-279.
- [39] Wang, X., Chang, F., Dong, Q., Jia, P., Luan, H., Wang, X., Zhang, J., Yuan, X., Zhang, X., Yang, S., Qi, G., Guo, S. 2023. Selenium application during fruit development can effectively inhibit browning of fresh-cut apples by enhancing antioxidant capacity and suppressing polyphenol oxidase activity. *Journal of Plant Physiology*, 287: 154050.
- [40] Islam, M.Z., Mele, M.A., Baek, J.P., Kang, H.M. 2018. Iron, odine and Selenium effects on quality, shelf life and microbial activity of Cherry Tomatoes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 46(2): 388-392.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigating the effect of selenium nanoparticles on the quality and shelf life of cherry tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv Roma)

Ghasem Kashani¹ and Elham Danaee^{2*}

1- M.Sc, Department of Horticultural Sciences, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.

2*- Associated Professor, Department of Horticultural Sciences, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/5/4 Accepted:2025/1/2 Keywords: Antioxidant, Shelf Life, Selenium, Soluble solids, Vitamin C DOI: 10.22034/FSCT.22.162.121. *Corresponding Author E- dr.edanaee@yahoo.com	Nowadays, the demand for healthy and quality products has increased among consumers, and the use of selenium nanoparticles has beneficial effects in delaying aging and maintaining the quality of horticultural products due to its antioxidant properties. This research was carried out with the aim of investigating the effect of selenium nanoparticles on the quality and shelf life of cherry tomato fruit in a factorial experiment in the form of a completely random statistical design with three replications. First, cherry tomato seeds were cultivated in pots containing perlite and vermiculite (1-2) after disinfection. Then, the seedlings were sprayed with selenium nanoparticles (2, 4, 6 and 8 mg l⁻¹) at flower formation 3 times with an interval 10 days. After harvesting, the containers containing 5 fruits were placed in a refrigerator with a temperature of 4±1°C and a humidity of 85-90%. Sampling and evaluation of traits were done on the day of the experiment, 7, 14 and 21 days after harvesting. The results showed that the highest percentage of fruit relative fresh weight and cell membrane stability index, amount of soluble solids and titratable acidity, total carotenoid and chlorophyll content, amount of vitamin C and total antioxidant activity in the treatment of selenium nanoparticles was 4 mg l⁻¹ and the highest amount pH and total phenol were obtained in the treatment of selenium nanoparticles of 2 mg l⁻¹. Also, the maximum and minimum storage life of fruits were observed with 29.5 and 18.3 days respectively in the treatment of selenium nanoparticles 4 mg l⁻¹ and 8 mg l⁻¹. According to the results obtained from this research, the use of selenium nanoparticles with concentrations of 2 mg l⁻¹ is an effective treatment for maintaining the quality and shelf life of Roma cherry tomatoes.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

درک و نگرش مصرف کنندگان نسبت به فرآورده‌های گوشتی در شهر تهران

مرجان باژن^۱، مجید امین‌زارع^۲، فرنام شفیع‌ی ثابت^۳، زهره ادب^۴، هدایت حسینی^۵

- ۱- استادیار گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۲- دانشیار گروه بهداشت و ایمنی مواد غذایی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.
- ۳- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۴- دانشجوی دکتری سیاست‌های غذا و تغذیه، گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- ۵- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

درک،

نگرش،

مصرف کنندگان،

فرآورده‌های گوشتی،

مطالعه کیفی

DOI:10.22034/FSCT.22.162.137.

* مسئول مکاتبات:

marjanbazhan@yahoo.com

در سال‌های اخیر، مصرف سوسیس و کالباس، به‌ویژه در میان نسل جوان، افزایش چشمگیری داشته است. با این حال، اطلاعات دقیقی از درک و نگرش مصرف کنندگان نسبت به این محصولات در کشور وجود ندارد. این مطالعه با هدف بررسی این موضوع در بین مصرف کنندگان تهرانی انجام شد. پژوهش حاضر به روش کیفی انجام گرفت. جامعه آماری مورد مطالعه، بزرگسالان با محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال ساکن شهر تهران بودند. داده‌ها با روش مصاحبه چهره به چهره از نوع نیمه‌ساختارمند جمع‌آوری شد. تعداد ۴۳ نفر (۲۵ زن و ۱۸ مرد) در این مطالعه مشارکت داشتند. روش انتخاب مشارکت کنندگان، نمونه‌گیری هدفمند و با حداکثر تنوع بود. اطلاعات به روش تماتیک با درونمایه‌ای تحلیل شد. نرم افزار مورد استفاده MAXQDA2020 بود. مشارکت کنندگان در مطالعه حاضر، حتی آنهایی که از سوسیس و کالباس استفاده می‌کردند، این محصولات را به دلایلی چون مواد اولیه نامرغوب، تقلب در تولید محصول، دارا بودن افزودنی‌های مضر مثل نیترات، و میزان بالای چربی و نمک به عنوان محصولات سالم و ایمن درک نکرده بودند. آنها سوسیس و کالباس را با خطر بروز انواع بیماری‌ها مثل بیماری‌های قلبی، فشار خون بالا و انواع سرطان مرتبط می‌دانستند، به همین دلیل نگرش مطلوبی نسبت به این محصولات نداشتند. بی‌اعتمادی به اطلاعات روی برچسب، به ویژه ترکیبات تشکیل دهنده محصول، از مهم‌ترین دلایل عدم توجه مشارکت کنندگان به برچسب غذایی بود. علاوه بر بی‌اعتمادی به تولید کنندگان، مشارکت کنندگان در مطالعه حاضر به نهادهای نظارتی و عملکرد آنها نیز بی‌اعتماد بودند. این پژوهش با واکاوی عمیق درک و نگرش مصرف کنندگان نسبت به سوسیس و کالباس، نقشی محوری در ارتقای کیفی این فرآورده‌ها در سطح کشور ایفا می‌کند. یافته‌های این مطالعه ضرورت اهتمام تولید کنندگان فرآورده‌های گوشتی به ارتقای کیفیت مواد اولیه، به‌کارگیری روش‌های تولید سالم‌تر، شفافیت در برچسب‌گذاری و تقویت اعتماد به برند را به منظور رفع دغدغه‌ها و جلب رضایت مصرف کنندگان به وضوح نشان می‌دهد.

۱-مقدمه

فرآورده‌های گوشتی شامل طیف وسیعی از محصولات هستند که از نظر نوع گوشت، محتوای چربی و نمک، روش فرآوری اعمال شده، و موقعیت مصرف (به عنوان مثال، مصرف روزانه در برابر مصرف گاه به گاه) متفاوت هستند [۱-۳]. ژامبون، بیکن، سالامی، سوسیس، برگر گوشت گاو، و ناگت مرغ نمونه‌های از این محصولات هستند [۴]. فرآورده‌های گوشتی منبع مواد مغذی با کیفیت بالا مثل پروتئین، آهن، روی و ویتامین‌های گروه ب محسوب می‌شوند [۵]. به هر حال، بسیاری از مصرف‌کنندگان این محصولات را به دلیل دارا بودن مقادیر زیاد چربی، چربی اشباع، کلسترول، سدیم، و ترکیبات شیمیایی مثل فسفات‌ها، نیترا‌تها و غیره ناسالم می‌دانند [۶].

اثرات سلامت مرتبط با فرآورده‌های گوشتی به نوع محصول و میزان مصرف بستگی دارد، و شواهد هنوز مبهم است [۷]. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که مصرف بالای برخی فرآورده‌های گوشتی می‌تواند خطر بروز بیماری‌های قلبی، دیابت ملیتوس، و سرطان را افزایش دهد [۸]. مکانیسم‌هایی که از طریق آنها این اثرات مضر اعمال می‌شوند، به ویژه ارتباط بین فرآورده‌های گوشتی و سرطان، هنوز به طور کامل مشخص نشده است [۷]. اعلامیه سازمان بهداشت جهانی در سال ۲۰۱۵ در باره افزایش خطر ابتلا به سرطان مرتبط با مصرف فرآورده‌های گوشتی، سلامت این گروه از مواد غذایی را بار دیگر در کانون توجه عموم قرار داد [۹]. در کنار موج-های پی در پی ترس از ایمنی، مسائل پایداری و تقلب که به طور کلی گوشت و صنعت گوشت را تحت تاثیر قرار داده است [۱۰]، بحث‌های اخیر در باره پیامدهای بهداشتی فرآورده‌های گوشتی، تولید و مصرف این محصولات را به یک موضوع بحث برانگیز تبدیل کرده است. علی‌رغم اینکه این محصولات توسط بسیاری از مصرف‌کنندگان به عنوان محصولات ناسالم درک می‌شوند [۶]، بخش عمده‌ای از

گوشت‌هایی که به طور منظم مصرف می‌شوند، به صورت فرآورده‌های گوشتی هستند [۱۰، ۱۱]. افزایش تقاضای مصرف‌کنندگان برای راحتی و مزه خوب نشان می‌دهد که فرآورده‌های گوشتی جایگاه ثابتی در رژیم غذایی مصرف‌کنندگان داشته باشند [۱۲].

مصرف‌کنندگان آخرین گام در زنجیره تولید هستند و برآورده کردن انتظارات آنها بخش مهمی از رضایت‌مندی و رفتار خرید آنها است. از این رو، شناسایی عوامل تأثیرگذار بر رفتار مصرف‌کنندگان مهم است [۱۳]. رفتار مصرف‌کننده در ارتباط با غذا تنها بر اساس خواص حسی محصول و وضعیت فیزیکی آن نیست، بلکه عوامل دیگری چون دانش قبلی، تجربه قبلی، باور و نگرش مصرف‌کننده نیز در این زمینه موثر هستند [۱۴]. درک مصرف‌کننده، که به فرآیند انتخاب، سازماندهی و تفسیر اطلاعات مربوط به محصولات گوشتی به منظور ایجاد یک تصویر معنی‌دار از آن اشاره دارد [۱۵]، نقش مهمی در شکل‌گیری پذیرش مصرف‌کننده، خرید و مصرف این محصولات در آینده دارد [۲]. علاوه بر درک، نگرش نیز نقش مهمی در رفتار مصرف‌کنندگان دارد. نگرش بازتابی از برآیند ارزشیابی مثبت یا منفی فرد از اتخاذ یک رفتار است. نگرش نسبت به چیزی بر پردازش اطلاعات، قضاوت‌ها و رفتار حاصل اثر می‌گذارد. نگرش منفی یا افراطی‌تر در مقایسه با نگرش مثبت یا خنثی می‌تواند تأثیرگذاری یا دوام بیشتری داشته باشد [۱۶]. مطالعات نشان داده‌اند که نگرش نسبت به یک ماده غذایی یا ترکیبات تشکیل شده آن اهمیت زیادی در پذیرش یا رد آنها دارد [۱۷]. نگرش نسبت به فرآورده‌های گوشتی به افزودنی‌های شیمیایی مربوط می‌شود، زیرا مصرف‌کنندگان به طور فزاینده‌ای در باره افزودنی‌های شیمیایی مواد غذایی نگران هستند [۱۸] و افزودنی‌های غذایی با منشأ طبیعی را ایمن‌تر می‌دانند [۱۹]. مطالعه Hung و همکارانش نشان داد که نگرش نسبت به

فرآورده‌های گوشتی با ترکیبات طبیعی و کاهش سطح نیتريت عامل اصلی پذیرش این نوع محصولات جدید است [۲۰]. مطالعات پیشین عمدتاً بر درک مصرف‌کنندگان از کیفیت گوشت تازه متمرکز بوده است [۲۱، ۲۲]. با این حال، تحقیقات در خصوص فرآورده‌های گوشتی فرآوری شده، به ویژه سوسیس و کالباس، بسیار محدود است و در کشور ما نیز تاکنون مطالعه‌ای در این زمینه انجام نشده است. این شکاف پژوهشی، ضرورت انجام مطالعه‌ای جامع برای بررسی دقیق درک و نگرش مصرف‌کنندگان ایرانی نسبت به این محصولات را بیش از پیش آشکار می‌سازد. با توجه به تحولات اخیر در سبک زندگی مصرف‌کنندگان، افزایش آگاهی عمومی نسبت به مسائل سلامتی و ایمنی مواد غذایی، و همچنین نگرانی‌های فزاینده در مورد استفاده از افزودنی‌های شیمیایی در فرآورده‌های گوشتی، این مطالعه از اهمیت استراتژیک برخوردار است. نتایج حاصل از این پژوهش نه تنها به تولیدکنندگان کمک می‌کند تا محصولات جدیدی را توسعه دهند که با نیازها و انتظارات مصرف‌کنندگان همخوانی داشته باشد، بلکه به سیاست‌گذاران نیز کمک می‌کند تا سیاست‌هایی را جهت حمایت از تولیدکنندگان، و تضمین سلامت و ایمنی مصرف‌کنندگان تدوین نمایند. بر این اساس، پژوهش حاضر با هدف تبیین درک و نگرش مصرف‌کنندگان تهرانی نسبت به سوسیس و کالباس طراحی و اجرا شد.

۲- مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر یک مطالعه کیفی از نوع تحلیل محتوا بود که در سال ۱۴۰۱ انجام شد. با توجه به اینکه محققین در مروری بر متون به مطالعه‌ای جامع در خصوص موضوع مورد بررسی دست نیافتند، این روش برای مطالعه حاضر انتخاب شد. در پژوهش‌های کیفی، کیفیت اطلاعاتی که از هر پاسخ‌دهنده جمع‌آوری می‌شود، مهم‌تر از مقدار اطلاعات است و قانون منظمی در مورد تعداد نمونه‌های لازم برای این نوع تحقیقات

وجود ندارد و حجم نمونه در حین کار مشخص می‌شود [۲۳]. بنابراین، معیار تعداد نمونه در این مطالعه، رسیدن به حداکثر اطلاعات در مورد پدیده یا اشباع داده‌ها در نظر گرفته شد. اشباع داده‌ها هنگامی مسجل می‌شود که محقق با ادامه نمونه‌گیری به داده جدیدی دست نمی‌یابد [۲۴]. بر این اساس، تعداد کل مشارکت‌کنندگان در مطالعه حاضر، ۴۳ نفر (شامل ۲۵ زن و ۱۸ مرد) بود که با روش نمونه‌گیری هدفمند و با حداکثر تنوع از نظر سن، جنس، و شرایط اقتصادی - اجتماعی انتخاب شدند. معیارهای ورود مشارکت‌کنندگان به این مطالعه، محدوده سنی ۱۸ تا ۶۰ سال، تمایل به انجام مصاحبه و داشتن توانایی در بیان تجارب، نظرات و دیدگاه‌های خود بودند. به منظور رعایت حداکثر تنوع در نمونه‌ها از نظر شرایط اقتصادی - اجتماعی، شهر تهران به پنج ناحیه جغرافیایی شمال، جنوب، مرکز، شرق و غرب تقسیم شد و نمونه‌گیری به گونه‌ای انجام شد که همه نواحی جغرافیایی را پوشش دهد. بدین‌منظور از یک ناحیه جغرافیایی (شمال تهران)، به طور تصادفی یک منطقه از مناطق شهرداری شهر تهران (منطقه ۱) انتخاب شد و از مکان‌های مختلفی چون پارک‌ها، سرای‌محل‌ها و یا فروشگاه‌های بزرگ مواد غذایی آن منطقه برای جذب مشارکت‌کنندگان استفاده شد. این روند تا اشباع داده‌ها در مناطقی دیگر از سایر نواحی جغرافیایی شهر تهران (شامل مناطق ۶، ۱۴، ۱۸، و ۲۲)، برای در نظر گرفتن حداکثر تنوع، ادامه یافت.

اطلاعات با استفاده از پرسشنامه‌ای مشتمل بر سوالات باز و در قالب مصاحبه چهره به چهره از نوع نیمه ساختارمند گردآوری شد. سوالات این پرسشنامه بر مبنای هدف مطالعه و با مرور دقیق مطالعات انجام شده در زمینه موضوع پژوهش و هم‌اندیشی اعضای تیم تحقیق تنظیم شد. سپس، دو مصاحبه آزمایشی انجام و اصلاحات نهایی اعمال گردید. مصاحبه‌ها توسط دو نفر از اعضای تیم تحقیق انجام گرفت.

در ابتدای هر مصاحبه، یک سری توضیحات کلی در مورد اهداف مطالعه به افراد داده می‌شد. در صورت تمایل به شرکت در مطالعه از آنها درخواست می‌شد فرم ویژگی‌های جمعیتی- اجتماعی را تکمیل نمایند. در طول مصاحبه محقق از تکنیک‌های متعدد به منظور دستیابی به اطلاعات بیشتر و خالص‌تر استفاده کرد؛ ایجاد محیط آرام، ارائه بازخورد به شرکت‌کنندگان، درخواست توضیح بیشتر، ارائه سؤال مجدد، استفاده از زبان غیرکلامی نمونه‌هایی از این موارد بودند. همچنین، محقق تلاش نمود به هیچ وجه باورهای قبلی و برداشت‌های خود را در جریان کار دخالت ندهد و نیز از جهت دادن به صحبت‌های مصاحبه‌شونده‌ها خودداری نماید. برای اطمینان از حفظ تمام سخنان شرکت‌کنندگان با کسب رضایت از آنها مصاحبه‌ها ضبط شد. علاوه بر ضبط مصاحبه‌ها، محقق به یادداشت کردن حالات و پیام‌های غیرکلامی مشارکت‌کنندگان مانند لحن کلام، سکوت، تاکید و حین مصاحبه پرداخت. مدت‌زمان هر مصاحبه با توجه به جریان و موقعیت آن حدود ۲۵ تا ۳۵ دقیقه بود.

جمع‌آوری اطلاعات و تجزیه و تحلیل داده‌ها به طور همزمان و با استفاده از نرم افزار MAXQDA2020 انجام شد. بدین ترتیب که پس از پایان هر جلسه، فایل‌های صوتی در کوتاه‌ترین زمان ممکن پیاده شد. متون پیاده شده هر مصاحبه، چندین بار خوانده شد و بخش‌های کلیدی آن برجسته شد و در قالب کدهای مفهومی و یا نقل قول مستقیم (مشابه آنچه مشارکت‌کنندگان گفته بودند) مشخص گردید. به منظور رفع تردیدها و مشکلات در تعیین طبقات، قواعد کدگذاری و یا طبقه‌بندی، موارد خاص در تیم تحقیق بحث - شد تا مشکلات و تردیدها برطرف گردد. پس از این مرحله، کدهای اولیه دسته‌بندی شد، کدهای مشابه کنار هم قرار گرفت، و طبقات تشکیل گردید. اشباع داده‌ها در هر طبقه بررسی و تأیید شد.

چهار معیار قابلیت پذیرش، قابلیت اعتماد، تطابق‌پذیری و انتقال‌پذیری برای ارزیابی روایی و پایایی داده‌های کیفی استفاده شد [۲۵]. برای افزایش قابلیت پذیرش، محقق زمان کافی جهت جمع‌آوری داده‌ها در نظر گرفت و با مرور مکرر داده‌ها، درگیری طولانی‌مدت خود را حفظ نمود. علاوه بر پژوهشگر اصلی، سایر اعضای تیم تحقیق نیز در تمامی مراحل تحقیق مشارکت فعال داشتند. رعایت حداکثر تنوع نمونه، کنارگذاشتن تمام عقاید یا جهت‌گیری‌ها در طی جمع‌آوری داده‌ها و تجزیه و تحلیل آنها از دیگر روش‌های تأمین قابلیت پذیرش در مطالعه حاضر بود. همچنین، برای تأیید بیشتر محتوای استخراج شده، تعدادی از مصاحبه‌های کدبندی شده به مشارکت‌کنندگان عودت داده شد تا بازنگری گردد و توافق نظری بین محقق و آنان حاصل شود. قابلیت اطمینان داده‌ها از طریق بازنگری اعضای گروه، و ثبت و ضبط تمامی جزئیات پژوهش و نسخه نویسی مصاحبه‌ها در اسرع وقت مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، از ضریب توافق هولستی استفاده شد [۲۶]. با استفاده از این شاخص، میزان توافق بین یک کدگذار در گروه تحقیق و یک کدگذار خارجی به طور متوسط ۰/۹۲ به دست آمد که نشان‌دهنده پایایی قابل قبول شواهد استخراج شده است. انتقال‌پذیری داده‌ها از طریق ارائه توصیف کاملی از ویژگی‌های مشارکت‌کنندگان، شیوه جمع‌آوری و نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها همراه با ارائه مثال‌هایی از بیانات مشارکت‌کنندگان انجام شد تا امکان پیگیری مسیر تحقیق برای دیگران فراهم گردد.

این مطالعه در قالب یک طرح تحقیقاتی در کمیته اخلاق در پژوهش انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور با اخلاق

کد "IR.SBMU.NNFTRI.REC.1400.097" در بهمن ماه ۱۴۰۰ تصویب شد. در مطالعه حاضر، محقق برای گردآوری اطلاعات از شرکت‌کنندگان در پژوهش رضایت آگاهانه کتبی کسب نمود. همچنین، اطلاعات مورد نیاز در

- نکات مورد توجه به هنگام خرید سوسیس و کالباس: بیشترین مواردی که شرکت کنندگان به هنگام خرید سوسیس و کالباس مدنظر قرار می دادند، تاریخ تولید و انقضاء، برند، و درصد گوشت محصول بود. طعم، کیفیت بسته بندی، قیمت، ترکیبات تشکیل دهنده محصول، دارا بودن علامت استاندارد و آرم سازمان غذا و دارو در درجات بعدی اهمیت قرار داشتند.

"مواد تشکیل دهنده رو راستش من اصلا اطمینان ندارم، هیچ وقت نمیان بنویسن مثلا از پوست مرغ استفاده کردن، از ضایعات استفاده کردن، می نویسن بهترین مواد توشه. پس وقت گذروندنه پیام مطالب دروغ بخونم. من بیشتر تاریخ مصرف رو نگاه می کنم که می تونه درست باشه" (زن ۳۵ ساله)

"برندی که غیر معروف باشه نمی گیرم، چون قابل اعتماد نیستن، و این که حالا اگر یکبار به ذائقه خوش بیاد مطمئنا از اون می گیریم" (مرد ۳۸ ساله)

"بسته بندیش هم مهمه این که حتما محکم باشه، اینایی که پرس شده من بیشتر دوست دارم، هیچ گونه آلودگی توش نره، بعضیاشو می بینی با یه سلفونه، هرگز اونا رو خریداری نمی کنم" (زن ۳۶ ساله)

- مهم ترین منابع کسب اطلاعات در باره سوسیس و کالباس: بسیاری از شرکت کنندگان در مطالعه حاضر اظهار داشتند که اطلاعات مورد نیاز در باره سوسیس و کالباس را عمدتا از شبکه های اجتماعی مثل اینستاگرام، واتساپ، تلگرام و ... به دست می آورند؛ زیرا معتقد بودند این رسانه ها اطلاعات را صادقانه و بدون گزیش و سانسور در اختیار مردم قرار می دهند.

"تلویزیون و رادیو که راستشو نمیگه، ولی باز فضای مجازی یه چیزهایی آدم می بینه به نظرم درسته" (زن ۳۶ ساله)

رابطه با هدف مطالعه و اینکه هیچ اجبار رسمی یا غیررسمی برای شرکت آنان در مطالعه وجود ندارد، به شرکت کنندگان داده شد و عنوان گردید که در هر مرحله از تحقیق می توانند از مطالعه خارج شوند. جهت ضبط گفته های مشارکت کنندگان از آنها اجازه گرفته شد. به مشارکت کنندگان اطمینان داده شد که گفته های آنها به صورت محرمانه حفظ شده و در اختیار کسی به جز محققین قرار نمی گیرد.

۳- یافته ها

در مطالعه حاضر، ۴۳ نفر مشارکت داشتند که ویژگی های تفصیلی آنها در جدول ۱ ارائه شده است.

- وضعیت مصرف، و دلایل مصرف/ عدم مصرف سوسیس و کالباس: یافته های کمی نشان داد که نیمی از شرکت کنندگان در مطالعه حاضر به ندرت از سوسیس و کالباس استفاده می کردند و درصد کمی از آنها هرگز این محصولات را مصرف نمی کردند. بر اساس یافته های کیفی، عدم اطمینان به سلامت محصول، دارا بودن افزودنی های مضر، سابقه مسمومیت و آلرژی شدید از جمله دلایل عدم مصرف/ یا مصرف به ندرت این محصولات ذکر شد.

"من که آدم متخصصی نیستم اما چیزایی که رادیو تلویزیون میگن، فضای مجازی میگن، نمی دونم نیترا ت چیه می ریزن ... بیخ و بن با این مطلب مخالفم. محصولات فراوری شده، افزودنی هایی توشه که اصلا معلوم نیست چیه" (مرد ۴۹ ساله)

آنهايي که از این محصولات استفاده می کردند، خوشمزه بودن، علاقمندی بچه ها، آماده سازی سریع، ارزان بودن، و تنوع غذایی را به عنوان مهم ترین دلایل مصرف سوسیس و کالباس برشمردند.

"خود آدم می دونه برای بدن بده ولی به خاطر اون هوسه، فقط به خاطر اون هوس یه لحظه" (زن ۳۳ ساله)

به هر حال، تعداد اندکی از شرکت‌کنندگان عنوان کردند که به هیچ‌یک از منابع اطلاعاتی اعتماد ندارند و صرفاً بر اساس تجربه شخصی خود برای خرید و مصرف یک ماده غذایی اقدام می‌کنند.

"بیشتر به تستش، به هیچ کدام اعتمادی ندارم حقیقتاً باید تستش کنم" (مرد ۲۷ ساله)

- درک و نگرش نسبت به سوسیس و کالباس: بر اساس تجزیه و تحلیل اظهارات شرکت‌کنندگان، درک و نگرش آنها نسبت به سوسیس و کالباس در قالب سه طبقه اصلی "بی‌اعتمادی به تولیدکنندگان" و "مضر بودن محصول برای سلامتی"، و "بی‌اعتمادی به سیستم‌های نظارتی" تبیین شد (جدول ۲).

۱- بی‌اعتمادی به تولیدکنندگان

بی‌اعتمادی به تولیدکنندگان اولین مفهومی بود که در روند تحلیل و مقایسه مستمر داده‌ها تبیین و توسعه یافت. "کیفیت پایین مواد اولیه"، "تقلب در تولید محصول"، "عدم اعتماد به اطلاعات روی برچسب محصول"، و "عدم اعتماد به ایمنی و سلامت محصول" از جمله عواملی هستند که به اعتقاد شرکت‌کنندگان نقش مهمی در شکل‌گیری این بی‌اعتمادی داشته‌اند.

الف- کیفیت پایین مواد اولیه

اکثریت شرکت‌کنندگان، حتی آنهایی که از سوسیس و کالباس استفاده می‌کردند، عنوان کردند که تولیدکنندگان به دلیل کاهش هزینه و کسب سود بیشتر از مواد اولیه نامرغوب استفاده می‌کنند. از این رو، این محصولات را فاقد ارزش غذایی می‌دانستند.

"احساس می‌کنم حتی اون گوشتی که هست گوشت درجه یک نیست، شاید اصلاً یک آشغال گوشتی باشه که تبدیل به خمیر گوشت می‌کنن استفاده می‌کنن و حتی شاید گوشتی که استفاده می‌کنن من شنیدم مثلاً مرغ هایی که سن بالا دارن یا

"بین سوشال مدیا به خاطر این که بی پروا و بی پرده‌تره اونجا دیگه کات نمی‌خوره، سانسور نمیشه، مجبوره اونجا کار درست انجام بده، اونجا مردم بینن دیگه اونجا نمی‌تونن سانسور کنن اینجوری بهتره، تو سوشال مدیا خیلی بهتره صاف و صادق اند" (مرد ۲۰ ساله)

در مقابل، برخی دیگر عنوان کردند که امکان انتشار اخبار جعلی و اطلاعات نادرست در شبکه‌های مجازی بسیار زیاد است و به راحتی نمی‌توان به آنها اعتماد کرد. از این رو، اطلاعات مورد نیاز خود را در رسانه ملی (تلویزیون و رادیو) جستجو می‌کردند و ترجیح می‌دادند اطلاعات از طریق این رسانه در اختیار آنها قرار گیرد.

"به شبکه‌های مجازی همیشه اعتماد کرد مثلاً به جوری صحنه‌سازی می‌کنن جنسی رو تبلیغ می‌کنن که جنس‌شون رو بفروشن، همیشه اعتماد کرد. ولی خب به تلویزیون خودمون که میشه اعتماد کرد، اونا دیگه دروغ نمیگن که مثلاً رفتن به کارگاه رو گرفتن یارو مواد تقلبی درست می‌کرد" (مرد ۴۸ ساله)

"شبکه‌های مجازی هم ممکنه کلیپی که پخش می‌کنن با شرکتی دشمنی داشته باشن، اینم هست، الکی بگن گوشت سگ استفاده کرده" (زن ۴۲ ساله)

تعدادی از شرکت‌کنندگان نیز اطلاعات مورد نیاز خود را از طریق مصرف‌کنندگان این نوع محصولات، اعضای خانواده، دوستان و آشنایان، سایت‌های اینترنتی، مجلات و روزنامه‌ها، پزشکان و متخصصین این حوزه به دست می‌آوردند.

"از بقیه‌ام مشورت می‌گیریم. قرار نیست حتماً به راهی‌بری خودت تجربه کنی، از نظر دیگران سوال می‌کنیم" (مرد ۵۶ ساله)

"بیشتر گوگل و اطلاعات گوگل، مطلب می‌زنم و سرچ می‌کنم" (زن ۵۲ ساله)

استفاده از باقلا به جای پسته در تولید کالباس به عنوان یکی دیگر از مصادیق تقلب در مطالعه حاضر ذکر شد که به اعتقاد شرکت کنندگان می تواند برای افراد مبتلا به فاویسم خطر ساز باشد.

"خب خود اینا که تو کارخونه هستن میگن اینا خلال پسته نیست، اینا باقالا، بعد خود باقالا ممکنه برای بعضی آدما حساسیت زا باشه، من میگم شاید همین برای یه سری بچه ها ایجاد آلرژی کنه" (زن ۲۴ ساله)

ج- عدم اعتماد به اطلاعات روی برچسب محصول بسیاری از شرکت کنندگان اظهار داشتند که اطلاعات درج شده روی برچسب محصول، به ویژه مواد تشکیل دهنده آن، واقعی نیستند و نمی توانند به آن اعتماد کنند؛ از این رو، در صورت خرید این محصولات، به این اطلاعات توجه نمی کنند و عمدتاً تاریخ تولید و انقضاء را مد نظر قرار می دهند. به هر حال، تعداد معدودی از شرکت کنندگان عنوان کردند که علی رغم تردید نسبت به صحت این اطلاعات، به آنها اعتماد می کنند؛ زیرا راهی برای حصول اطمینان ندارند. "معلوم نیست توش بعضی موقع ها چی می ریزن، من واقعا خیلی مطمئن نیستم روش نوشته ۹۰ درصد، که ۹۰ درصد واقعا گوشت هست یا نه" (زن ۲۶ ساله)

"اصلا اطلاعات واقعی نیست به نظر من، چون بارها شده دیدم تاریخش دستکاری شده جاش مونده، حتی فروشگاه که معتبرتر از مغازه است من اینو دیدم که مثلا تاریخش دستکاری شده ... چون اصلا بهشون اعتماد ندارم مطمئنم صد درصد هرچی نوشته حقیقت نداره" (زن ۳۶ ساله)

در رابطه با برچسب مواد غذایی، یکی از شرکت کنندگان عنوان کرد که برچسب های اطلاعاتی فی نفسه بد نیستند، بلکه عملکرد تولید کنندگان و سیستم نظارتی است که باعث اعتماد یا بی اعتمادی مصرف کنندگان به این برچسب ها می شود.

مریض هستن رو شاید اینا می برن به سمتی که سوسیس کالباس بشه. من خودم به خاطر همین استفاده نمی کنم" (مرد ۵۰ ساله)

"کارخونه براش از نظر هزینه کمتر در میاد که گوشت نامرغوب رو بگیره با یه عالمه ادویه کاری کنه که طعمش بهتر بشه و فروش بره" (زن ۳۵ ساله)

ب- تقلب در تولید محصول

تقلبات گسترده در بازار سوسیس و کالباس یکی دیگر از موارد اشاره شده در مطالعه حاضر بود که نقش بسزایی در بی اعتمادی به تولید کنندگان این محصولات دارد. یکی از مصادیق تقلب به اعتقاد اکثریت شرکت کنندگان، استفاده از بافت های غیر مجاز حیوانی مثل اسکلت مرغ، گردن و بال و پوست مرغ، سنگدان، روده، تاج خروس، گوشت های دور ریختی در کشتارگاه ها و مراکز عرضه و فروش گوشت، مرغ های پیر و بیمار در تهیه سوسیس و کالباس بود. برخی نیز با اشاره به فیلم ها و اخبار منتشر شده در فضای مجازی، احتمال استفاده از گوشت سایر حیوانات مثل گربه، سگ و الاغ را دور از ذهن نمی دانستند.

"فکر کنم یه ذره گوشته، بقیه اش هم یه ذره ... من قضاوت نمی کنم اما به نظرم چیزی درست نیست، چیزایی که تو ذهنم دل و جیگر مرغه مثلا، یا البته تو یه سری فیلم ها در اومد تاج خروس می ریزن و چیزیای دیگه، حالا جسارت نباشه گوشت گربه و ..." (مرد ۲۷ ساله)

"چیزی که می دونم حتی کالباس هم درصد بالاش قابل اعتماد نیست، من فکر می کنم دروغه درصد بالای گوشت توشه، بیشترش ضایعاته" (زن ۳۵ ساله)

"به خاطر این که تقلب زیاد شده نمی شه اطمینان کرد. به هیچکی اعتماد ندارم شرکت و تولید کننده، باید خودم با چشم بینم ... خب نمی گیرم دیگه، اعتماد ندارم، نمی گیرم" (مرد ۴۸ ساله)

خاصیت اعتبار‌آوری و وابستگی در مصرف‌کنندگان این محصولات نام برد.

"اون فلفل‌هایی که توشون استفاده می‌کنن، اون رنگ‌های مصنوعی و اون ادویه‌جاتی که استفاده می‌کنن کلا روی گوارش آدم تاثیر می‌ذاره" (زن ۳۰ ساله)

"وقتی غذایی میاد از نوع فست فود میشه، از نوع سوسیس و کالباس میشه، این جور غذاها که جنبه تجاری پیدا می‌کنه روی اعتیاد و معتاد کردن مصرف‌کننده‌ها کار می‌کنن، طعم دهنده‌هایی که استفاده می‌کنن برای اینها به‌خاطر رقابتی که بین مارک‌های مختلف وجود داره، می‌خوان ذائقه مشتری رو سمت خودشون بیان و این کار جز با مواد شیمیایی ممکن نیست" (مرد ۲۴ ساله)

ب- ایجادکننده طیف وسیعی از مشکلات سلامتی
اکثریت شرکت‌کنندگان مصرف سوسیس و کالباس را به دلیل کیفیت نامطلوب مواد اولیه، محتوای زیاد مواد افزودنی، و دارا بودن چربی و کالری و نمک بالا برای سلامتی مضر می‌دانستند. آنها معتقد بودند که مصرف این محصولات در بلندمدت باعث طیف وسیعی از مشکلات مثل اضافه‌وزن و چاقی، اختلالات گوارشی، کبد چرب، سرطان، فشارخون بالا، دیابت و بیماری قلبی - عروقی می‌شود. برخی افراد نیز به تشدید میگرن، بروز و تشدید آلرژی، ایجاد جوش و آکنه به دنبال مصرف این محصولات اشاره کردند. به طور کلی، شرکت‌کنندگان اظهار داشتند که سوسیس و کالباس بین عموم مردم و پزشکان به عنوان یک ماده غذایی ناسالم و مضر برای سلامتی شناخته می‌شود که باید از مصرف آنها اجتناب کرد. آنها طعم و مزه خوب این محصولات را مانعی برای چشم‌پوشی مصرف‌کنندگان از مصرف این محصولات می‌دانستند.

"من خودم خیلی مصرف می‌کردم، کبدم چرب شد، گرید یک بود، چربی خون گرفتم، هفته‌ای دو بار فست فود می‌خوردم،

"این بی‌اعتمادی من کاش برطرف بشه. این دلیل همیشه چون من بی‌اعتماد هستم به این نوشته‌ها، اونا بی‌مصرفن، باید سیستم نظارتی باشه که اعتماد مصرف‌کننده رو جلب کنه، از اون طرف هم بالطبع مصرف‌کننده در یه شرایط درست، ملاکش این نوشته هاست، پس اینها حتما باید باشه حتی با جزئیات هرچه بیشتر" (مرد ۲۱ ساله)

د- عدم اعتماد به ایمنی و سلامت محصول
تجربیات منفی در باره نحوه تولید سوسیس و کالباس، و باور مبنی بر عدم رعایت استانداردها و مسائل بهداشتی در تولید این محصولات از جمله موارد اشاره شده در مطالعه حاضر بود که به اعتقاد شرکت‌کنندگان باعث شده سلامت این محصولات را باور نداشته باشند.

"یکیش تجربیات خودم که دیدم با چشم که رسانه‌ها نشون دادن که یه نیسانی تصادف کرده بود، ماشین یخچال‌دار بود، خراب شده بود، بعد مونده بود تو خیابون، بو می‌داده، اومدن دیدن تو یخچالش گوشت خراب بوده، اینجور چیزارو آدم می‌بینه زده می‌شه" (مرد ۴۸ ساله)

۲- مضر بودن محصول برای سلامتی

مفهوم دیگری که با استفاده از اظهارنظر شرکت‌کنندگان در باره سوسیس و کالباس استخراج شد، درک آنها مبنی بر مضر بودن این محصولات برای سلامتی بود. این مفهوم در قالب دو زیرطبقه "حاوی افزودنی‌های مضر" و "ایجادکننده طیف وسیعی از مشکلات سلامتی" تقسیم‌بندی شد.

الف- حاوی افزودنی‌های مضر

بسیاری از شرکت‌کنندگان عنوان کردند که سوسیس و کالباس حاوی مقادیر زیادی مواد نگهدارنده، نمک و ادویه، رنگ‌های مصنوعی، و افزودنی‌های غیرمجاز هستند که برای سلامتی بسیار مضر است. یکی از شرکت‌کنندگان با اشاره به افزودنی‌های شیمیایی، آن را به عنوان ابزاری برای ایجاد

این رو خیلی استفاده می‌کردم بعد حالا تو این چهارماه قطع کردم بدنم سالم‌تره نسبت به قبل" (زن ۲۱ ساله)

"به‌خاطر اون نیترا تی که داره، نیترا تی برای بدن خوب نیست، باعث سرطان میشه" (زن ۴۳ ساله)

"این سوسیس و کالباس پر از انواع ادویه و نمکه که برای اکثر مردم ضرر داره، به‌خاطر نمک زیادش باعث فشار خون بالا میشه" (مرد ۵۴ ساله)

۳- بی‌اعتمادی به سیستم‌های نظارتی

برخی شرکت‌کنندگان با اشاره به لزوم نظارت بر تولید محصول و برچسب‌گذاری صحیح آن عنوان کردند که نظارتی در این زمینه صورت نمی‌گیرد، یا اگر صورت می‌گیرد به درستی انجام نمی‌شود. لذا نمی‌توانند به سلامت این محصولات، و اطلاعات و نشان‌های درج شده روی برچسب محصول مثل نشان استاندارد اعتماد کنند.

"من به شخصه به اطلاعات روی برچسب اعتماد ندارم به جز اون تاریخی که فقط به تاریخ مصرف هست چیز دیگه‌ای فکر نمی‌کنم کنترلی باشه، یعنی به من ثابت شده نظارت درستی نیست" (مرد ۲۱ ساله)

Table 1. Sample characteristics (N=43)

Characteristic	n (%)
<i>Gender</i>	
Female	25 (58.1)
Male	18 (43.1)
<i>Age (year)</i>	
18-24	7 (16.3)
25-34	10 (23.3)
35-44	14 (32.6)
45-54	9 (20.8)
55-60	3 (7.0)
<i>Marital status</i>	
Married	28 (65.1)
Unmarried//Divorced/Widow	15 (34.9)
<i>Household size</i>	
<3	7 (16.3)
3-4	33 (76.7)
5 ⁺	3 (7.0)
<i>Education</i>	
Under diploma	3 (7.0)
Diploma	12 (27.9)
University	28 (65.1)
<i>Employment status</i>	
Unemployed/ Housewife	10 (23.3)
Worker	1 (2.3)
Employee	19 (44.2)
Self-employed	12 (27.9)
Retired	1 (2.3)
<i>Children < 18 years</i>	
Yes	18 (41.9)
No	25 (58.1)
<i>Responsible for household food shopping</i>	
Yes, always	19 (44.2)
No	24 (55.8)
<i>Frequency of sausage consumption</i>	
Never	5 (11.6)
Rarely	22 (51.2)
1-3 times/ month	14 (32.6)
1-3 times/ week	2 (4.6)
More than 3 times/ week	0 (0)
<i>Residential area</i>	
North	8 (18.6)
South	9 (20.9)
Center	9 (20.9)
West	8 (18.6)
East	9 (20.9)

Table 2. Participants' perception and attitude towards sausages

Categories	Sub-categories	Codes
Distrust in the manufactures	Low- quality raw materials	- The use of poor-quality raw materials - The procurement of meat from unsanitary centres
	Fraud in manufacturing the product	- The utilization of meat and chicken waste - The use of unconventional meat such as cat and donkey meat - The substitution of beans for pistachios in the production of sausages
	Distrust in the information provided on the label	- The inaccuracy of the information on the label
	Distrust in the safety and health of the product	- Negative experiences regarding manufacturing the product - Failure to comply with standards in manufacturing the product - lack of hygiene in the manufacturing process
The harmfulness of the product to human health	Having harmful additives	- Containing a substantial quantity of preservatives - The presence of artificial colors - The presence of a considerable quantity of spices and salt - Containing unauthorized additives - The use of chemicals to create dependence in consumers
	Causing a wide range of health problems	- A risk factor for obesity - The occurrence of digestive problems - A risk factor for fatty liver disease - A significant factor in the aetiology of cancer - The occurrence of high blood pressure - A risk factor for diabetes - A risk factor for heart disease - The exacerbation of migraine headaches - The Exacerbation of allergies - Increased thirst - Early menopause/infertility
Lack of trust in surveillance systems	-	- Belief in the lack of control over the production process - Belief in the non-implementation of the principles of proper supervision and control - Lack of confidence in the standard mark on product packaging

۴-بحث

پژوهش حاضر به روش کیفی و با هدف بررسی درک و نگرش مصرف‌کنندگان تهرانی نسبت به سوسیس و کالباس انجام شد. بر اساس یافته‌های تحقیق، عدم اطمینان به سلامت محصول، دارا بودن افزودنی‌های مضر مثل نیترات، سابقه مسمومیت و آلرژی شدید از جمله دلایل عدم مصرف/یا مصرف به‌ندرت این محصولات بودند. همسو با مطالعه حاضر، Haugaard و همکاران [۲۷] گزارش کردند که مصرف‌کنندگان دانمارکی نسبت به استفاده از افزودنی‌های شیمیایی در فرآورده‌های گوشتی بیزاری نشان می‌دهند. مصرف‌کنندگان احتمالاً افزودنی‌های غذایی شیمیایی را با تقلب غذا و خطرات سلامتی مرتبط می‌دانند [۲۸]. مطالعه روی مصرف‌کنندگان چهار کشور اروپایی شامل آلمان، هلند، ایتالیا و بلژیک نیز نشان داد که حتی بدون اشاره به استفاده از نیتريت یا سایر افزودنی‌های غذایی، مصرف‌کنندگان تمایل داشتند رژیم‌های غذایی سرشار از محصولات گوشتی فرآوری‌شده را با اثرات منفی بر سلامتی مرتبط کنند. یافته‌های مشابه پیشتر توسط Tobin و همکاران گزارش شده بود [۶].

در بین نکات مورد توجه مشارکت‌کنندگان به هنگام خرید سوسیس و کالباس، تاریخ تولید و انقضاء در درجه اول اهمیت قرار داشت. تاریخ انقضای مواد غذایی یکی از اطلاعات مهمی است که روی برچسب غذایی درج می‌شود. این اطلاعات اغلب توسط مصرف‌کنندگان مشاهده می‌شود و نقش مهمی در قصد خرید آنها دارد [۲۹]. نقش کلیدی تاریخ انقضاء در تاثیرگذاری بر فرآیند تصمیم‌گیری و انتخاب محصولات غذایی توسط مصرف‌کنندگان در مطالعات قبلی گزارش شده است [۳۰]. برخی مطالعات تصویر برند را به عنوان مهم‌ترین عامل اثرگذار بر انتخاب غذاهای راحت مثل فرآورده‌های گوشتی گزارش کردند [۳۱]. شناخت برند [۳۲]، اصالت برند [۳۳]، شهرت برند [۳۲، ۳۴] ویژگی‌های ضروری برند هستند که

بر انتخاب غذای راحت تأثیر می‌گذارند. Lassoued و Hobbs [۳۵] مشاهده کردند که ویژگی‌های کیفی و ایمنی محصولات غذایی راحت باعث ایجاد اعتماد به برند و متعاقباً وفاداری مصرف‌کنندگان به برند می‌شود. این محققین همچنین اظهار داشتند که نارضایتی مصرف‌کنندگان از ویژگی‌های یک برند خاص منجر به گرایش آنها به سمت برند دیگر می‌شود. در مطالعه حاضر نیز آشنایی با برند، معروفیت و شهرت برند، و اصالت و اعتبار آن برای مشارکت‌کنندگان مهم بود و نقش مهمی در تصمیم‌گیری و رفتار خرید آنها داشت.

شاخص دیگری که مشارکت‌کنندگان به هنگام خرید سوسیس و کالباس در نظر می‌گرفتند، درصد گوشت مورد استفاده در تهیه محصول بود. آنها درصد بالای گوشت را نشانه کیفیت بالاتر محصول می‌دانستند. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که کیفیت درک‌شده مواد غذایی تأثیر قابل توجهی بر رضایت [۳۶] و وفاداری [۳۷] مصرف‌کننده دارد. علاوه بر این، کیفیت درک‌شده غذا بر ارزش درک‌شده و ترجیح برند [۳۸] و قصد خرید فرد [۳۹] تأثیر می‌گذارد. در یک مطالعه اخیر نیز کیفیت به عنوان بالاترین معیار در تصمیم‌گیری‌های خرید غذا شناسایی شد [۴۰].

کیفیت حسی نیز باید یک عامل مهم در درک و پذیرش غذا در نظر گرفته شود، زیرا مصرف‌کننده به دنبال غذا با ویژگی حسی خاص است [۴۱]. پذیرش یک ماده غذایی به این بستگی دارد که تا چه حد انتظارات مصرف‌کننده را برآورده می‌کند و رضایت او را فراهم می‌سازد [۴۲]. بر همین اساس، در مطالعه حاضر ویژگی‌های حسی مثل طعم از نکات مهم مورد توجه مشارکت‌کنندگان به هنگام خرید سوسیس و کالباس بود. این یافته منعکس‌کننده نتایج مطالعات پیشین است که گزارش کرده‌اند طعم و مزه عامل اصلی تعیین‌کننده رضایت مصرف‌کننده از فرآورده‌های گوشتی است و مصرف‌کنندگان تمایلی به پذیرش

ویژگی‌های حسی محصول به دلیل فرمول‌بندی مجدد سالم‌تر ندارند [۴۳].

علاوه بر کیفیت محصول، ظاهر و کیفیت بسته‌بندی نیز مهم است؛ زیرا تنها شکل ارتباط بین محصول و خریدار در اولین خرید است [۴۴]. تاثیر مثبت و معنی‌دار ظاهر و کیفیت بسته‌بندی بر قصد مصرف‌کنندگان برای خرید و مصرف غذاهای راحت در مطالعات پیشین گزارش شده است [۳۱] که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه حاضر، مشارکت‌کنندگان سوسیس و کالباس را به دلایلی چون کیفیت پایین مواد اولیه، تقلب در تولید محصول، دارا بودن افزودنی‌های مضر مثل نیترات، میزان بالای چربی و نمک به عنوان محصولات سالم و ایمن درک نکرده بودند. آنها سوسیس و کالباس را با خطر بروز بیماری‌های مختلف مثل بیماری‌های قلبی، فشار خون بالا و انواع سرطان مرتبط می‌دانستند. نگرانی‌ها در مورد فرآورده‌های گوشتی در سال‌های اخیر افزایش یافته است [۴۵]. این نگرانی‌ها عمدتاً به دلیل نتایج مطالعات اپیدمیولوژیک است که نشان داده‌اند مصرف بالای محصولات گوشتی با افزایش خطر بیماری‌های غیر واگیر مانند سرطان، دیابت و بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط است [۴۶]. تظاهر این رابطه اپیدمیولوژیک لزوماً با یک خطر غیرقابل قبول مطابقت ندارد، زیرا این رابطه می‌تواند از نسبت‌های شانس برای بیماری‌های خاص فقط کمی بالاتر از واحد استنباط شود [۴۷]. به هر حال، پیامدهای سلامتی مصرف محصولات گوشتی فراوری شده واقعی است. این پیامدها به طور گسترده مورد بحث قرار گرفته‌اند و تولید و مصرف گوشت را به ویژه در ادراک مصرف‌کنندگان بحث برانگیز کرده‌اند [۴۸].

سلامتی یک عامل انگیزشی ضروری برای خرید مواد غذایی از جمله گوشت و فرآورده‌های گوشتی است [۴۹]. بسیاری از جنبه‌هایی که بر ادراک مصرف‌کنندگان از فرآورده‌های گوشتی تأثیر می‌گذارند، همسو با مطالعه حاضر، مربوط به نمک، شکر و چربی است که مواد ناسالم در نظر گرفته می‌شوند [۲۹، ۲۰]. چربی و سدیم موجود

در فرمولاسیون فرآورده‌های گوشتی دلیلی برای نگرانی مصرف‌کنندگان است؛ زیرا مصرف زیاد چربی حیوانی با خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی همراه است. همچنین، مصرف سدیم با فشار خون بالا، بیماری‌های قلبی، دیابت، سکتة مغزی و بیماری‌های کلیوی مرتبط است [۵۰]. توصیه سازمان بهداشت جهانی، کاهش میزان نمک دریافتی در بزرگسالان به کمتر از ۵ گرم در روز (معادل ۲ گرم سدیم) است [۵۱]. با این حال، مطالعات نشان می‌دهد که میانگین مصرف نمک در اکثر کشورهای جهان حدود ۹ تا ۱۲ گرم در روز و در بسیاری از کشورهای آسیایی بیش از ۱۲ گرم در روز است [۵۲]. میانگین مصرف نمک در کشور ما ۹/۵۲ گرم در روز گزارش شده است [۵۳]. پس از نان و پنیر، فست فودها بزرگترین منبع نمک دریافتی در رژیم غذایی ایرانیان هستند [۵۴]. عامل نگرانی دیگر، نیترات و نیتريت موجود در فرآورده‌های گوشتی است. اگرچه این ترکیبات به دلایل ایمنی میکروبیولوژیکی و ویژگی‌های حسی استفاده می‌شوند، اما خطرات شیمیایی بالقوه هستند [۵۵].

ترکیبات N-نیتروزو (N-nitroso compounds) می‌تواند در نتیجه پخت محصولات گوشتی حاوی نیتريت و/ یا نیترات، تشکیل شود. در بین ترکیبات N-نیتروزو، نیتروزآمین‌ها به عنوان یک عامل خطر سرطان روده بزرگ در نظر گرفته می‌شوند [۵۶]. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف‌کنندگان در پذیرش افزودنی‌های مواد غذایی مصنوعی مردد هستند [۵۷]، حتی اگر افزودنی‌های غذایی مورد استفاده در صنعت بر اساس استاندارد کدکس آلیمانتاریوس باشد. مصرف‌کنندگان احتمالاً افزودنی‌های شیمیایی را با تقلبات غذایی و خطرات سلامتی مرتبط می‌دانند [۲۸].

بی‌اعتمادی به اطلاعات روی برچسب سوسیس و کالباس، به ویژه اطلاعات مربوط به ترکیبات تشکیل‌دهنده محصول، یکی دیگر از یافته‌های مهم مطالعه حاضر است که در قالب بی‌توجهی مشارکت‌کنندگان به این اطلاعات در فرآیند خرید محصول منعکس شده بود. عدم اعتماد به اطلاعات برچسب غذایی به عنوان یکی از موانع استفاده از

برچسب‌های غذایی در برخی مطالعات گزارش شده است [۵۸]. بر طبق مطالعه Sousa و همکاران [۵۹]، بسیاری از مصرف‌کنندگان برزیلی به برچسب مواد غذایی اعتماد نداشتند و مشابه مشارکت‌کنندگان در مطالعه حاضر، معتقد بودند که بسیاری از شرکت‌ها با هدف فروش بیشتر محصولات خود، اطلاعات مهم را از برچسب‌های مواد غذایی حذف می‌کنند. نگرانی‌های مصرف‌کنندگان از سیستم‌های نامناسب برچسب‌گذاری مواد غذایی، به عنوان مثال عدم اطلاع‌رسانی کامل در باره وجود ترکیبات مضر، در مطالعه Marrota و همکاران [۶۰] نیز گزارش شده است. عدم اطمینان به برچسب‌های غذایی عمدتاً به دلیل بی‌اعتمادی به صنایع غذایی رخ می‌دهد و اعتقاد به اطلاعات تغذیه‌ای ارائه شده را تحت‌الشعاع قرار می‌دهد [۶۱]. عدم اطمینان به صنعت، هنگام در نظر گرفتن اطلاعات برچسب غذایی، در مصرف‌کنندگان استرالیایی نیز گزارش شده است [۶۲].

مطالعات تجربی نشان داده است که اعتماد مصرف‌کننده یک محرک مهم در انتخاب غذا می‌باشد [۶۳]. احتمالاً اعتماد به ویژه در مورد محصولات غذایی که دارای خطرات بالقوه سلامتی هستند، اهمیت بیشتری دارد [۶۴]. مصرف‌کنندگان می‌خواهند اطمینان یابند غذایی که مصرف می‌کنند، بی خطر است و اطلاعات همراه محصولات غذایی دقیق است. در سال‌های اخیر، اعتماد مصرف‌کنندگان به دلیل رسوایی‌های تقلب در مواد غذایی مانند رسوایی گوشت اسب در اروپا که در آن گوشت اسب به جای گوشت گاو به فرآورده‌های گوشتی اضافه شده بود، تحت تاثیر قرار گرفته است [۶۵]. Moreira و همکاران [۶۶] نیز گزارش کردند که گوشت و فرآورده‌های گوشتی در مصرف‌کنندگان پرتغالی از اعتماد پایین‌تری برخوردار است. این یافته‌ها با نتایج مشاهده شده در مطالعه حاضر که در آن اکثریت مشارکت‌کنندگان، بی‌اعتمادی به تولیدکنندگان سوسیس و کالباس را عنوان کردند، همسو است.

علاوه بر بی‌اعتمادی به تولیدکنندگان، مشارکت‌کنندگان در مطالعه حاضر به نهادهای نظارتی نیز بی‌اعتماد بودند. محققان تایید کرده‌اند که اعتماد به سیستم تولید و نهادهای نظارتی بر ادراک مصرف‌کنندگان از ایمنی مواد غذایی اثرگذار است [۶۷]. مطالعه Wang و همکاران نیز نشان داد که اعتماد به دولت، سازمان‌های صدور گواهینامه، و تولیدکنندگان مواد غذایی به طور مثبتی با درک ایمنی مواد غذایی مرتبط است [۶۸]. به هر حال، بسیاری از مسائل مربوط به ایمنی مواد غذایی برای عموم مردم که همیشه اطلاعات علمی موجود را خودشان درک نمی‌کنند و در مورد اثرات سلامتی برخی غذاها مطمئن نیستند، نامشخص است. از این رو، آنها به اطلاعات ناشی از نهادهای نظارتی و سایر نهادها متکی هستند. در چنین شرایطی، اعتماد به این نهادها بیشترین اهمیت را برای مصرف‌کنندگان دارد [۶۹]. بنابراین، افرادی که به نهادهای نظارتی بی‌اعتماد هستند، بعید است که بر اساس اطلاعات یا پیام‌های خطری که از این موسسات دریافت می‌کنند، عمل کنند [۷۰]. از این رو، ضروری است نهادهای ذی‌ربط برای محافظت از سلامت مصرف‌کنندگان و به حداقل رساندن نگرانی‌های آنها در مورد ایمنی و سلامت مواد غذایی، مراقبت بیشتری داشته باشند. این نهادها باید اعتماد مصرف‌کننده را جلب و حفظ نمایند، و اطمینان حاصل کنند که تولیدکنندگان از دستورالعمل‌های ایمنی و بهداشت مواد غذایی پیروی می‌کنند. با ایجاد و حفظ سطوح بالای نظارتی و کنترل کیفیت، احتمال بروز تقلب در تولید محصول کاهش و اعتماد مصرف‌کننده به نهادهای نظارتی افزایش خواهد یافت.

استفاده از روش پژوهش کیفی یکی از نقاط قوت مطالعه حاضر به شمار می‌رود، چون این روش به فهم و درک عمیق پیرامون سؤال‌های پژوهش کمک شایانی می‌کند [۷۱]؛ به خصوص، با توجه به عدم وجود مطالعه‌ای مشابه در کشور و نظر به اینکه برای شناسایی درک و نگرش مصرف‌کنندگان نیاز به ابزاری بود که داده‌های دقیق و مناسبی را گردآوری نماید، استفاده از این روش منطقی و

مناسب بود. جمع‌آوری اطلاعات از مناطق جغرافیایی مختلف شهر تهران یکی دیگر از نقاط قوت مطالعه حاضر به شمار می‌رود. به هرحال، دشواری در جلب رضایت برخی افراد برای انجام مصاحبه یکی از مشکلات و محدودیت‌های این مطالعه محسوب می‌شود.

۵- نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که سوسیس و کالباس با چالش‌های بزرگی در زمینه درک و نگرش مطلوب مصرف‌کنندگان مواجه هستند. مصرف‌کنندگان نگرانی‌های جدی در مورد کیفیت، ارزش غذایی و سلامت این محصولات، خطرات بالقوه سلامتی مرتبط با چربی و نمک بالا، نیترات و نیتريت و سایر افزودنی‌ها، و همچنین تقلب احتمالی در تولید این محصولات دارند. این تشویش‌ها بر باور و قضاوت مصرف‌کنندگان نسبت به سوسیس و کالباس، و در نهایت بر انتخاب‌های خرید آنها تاثیر می‌گذارد. اصلاح فرمولاسیون محصولات گوشتی با تمرکز بر سلامت، و آگاهی‌رسانی به مصرف‌کنندگان در مورد تلاش‌های تحقیقاتی برای ارتقای کیفیت، ایمنی و ارزش غذایی این محصولات، گام‌های موثری در جهت رفع نگرانی‌های مربوط به سلامت عمومی و ارتقای برداشت‌های فردی مصرف‌کنندگان خواهند بود. در این راستا، تولیدکنندگان مواد غذایی، با توجه به مسئولیت خطیر اجتماعی خود در

حفظ و ارتقای سلامت مصرف‌کنندگان موظف هستند با تلاش و اهتمام تمام، از طریق ارتقای کیفیت محصولات خود، و ارائه اطلاعات شفاف و دقیق به مصرف‌کنندگان، به نگرانی‌های به‌جای آنها در مورد سلامت و ایمنی محصولات گوشتی پاسخ دهند. علاوه بر اقدامات تولیدکنندگان، نهادهای ذی‌ربط نیز می‌توانند با اتخاذ تدابیر لازم، از جمله وضع قوانین و مقررات سختگیرانه‌تر، نظارت دقیق‌تر بر فرآیند تولید و عرضه سوسیس و کالباس و برخورد قاطع با متخلفان، نقش خود را در تضمین سلامت و ایمنی این محصولات برای مصرف‌کنندگان ایفا کنند.

۶- تشکر و قدردانی:

از معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور برای مساعدت در تصویب و اجرای این پژوهش، و همچنین حضور و همکاری صمیمانه همه مشارکت‌کنندگان در این مطالعه تشکر و قدردانی می‌شود. این پژوهش با حمایت مالی انجمن صنایع فرآورده‌های گوشتی ایران انجام شده است.

تضاد منافع: هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

۷- منابع

- [1] Desmond E: **Reducing salt: A challenge for the meat industry.** *Meat science* 2006, **74**(1):188-196.
- [2] Grunert KG, Verbeke W, Kugler JO, Saeed F, Scholderer J: **Use of consumer insight in the new product development process in the meat sector.** *Meat Science* 2011, **89**(3):251-258.
- [3] Shan LC, De Brún A, Henchion M, Li C, Murrin C, Wall PG, Monahan FJ: **Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier—A conjoint analysis study.** *Meat science* 2017, **131**:82-89.
- [4] Shan LC, Henchion M, De Brún A, Murrin C, Wall PG, Monahan FJ: **Factors that predict consumer acceptance of enriched processed meats.** *Meat Science* 2017, **133**:185-193.
- [5] Decker EA, Park Y: **Healthier meat products as functional foods.** *Meat science* 2010, **86**(1):49-55.
- [6] Tobin BD, O'Sullivan MG, Hamill R, Kerry JP: **European consumer attitudes on the associated**

health benefits of neutraceutical-containing processed meats using Co-enzyme Q10 as a sample functional ingredient. *Meat Science* 2014, **97**(2):207-213.

[7] De Smet S, Vossen E: **Meat: The balance between nutrition and health. A review.** *Meat Science* 2016, **120**:145-156.

[8] **International Agency for Research on Cancer. IARC Monographs evaluate consumption of red meat and processed meat.** [https://www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2015/pdfs/pr240_E.pdf] (Accessed 21.06.25).]

[9] Cancer IAFRo: **IARC monographs evaluate consumption of red meat and processed meat.** *Press release* 2015, **240**.

[10] Verbeke W, Pérez-Cueto FJ, de Barcellos MD, Krystallis A, Grunert KG: **European citizen and consumer attitudes and preferences regarding beef and pork.** *Meat science* 2010, **84**(2):284-292.

- [11] Bolger Z, Brunton NP, Lyng JG, Monahan FJ: **Comminuted meat products—consumption, composition, and approaches to healthier formulations.** *Food Reviews International* 2017, **33**(2):143-166.
- [12] Grunert KG: **Future trends and consumer lifestyles with regard to meat consumption.** *Meat science* 2006, **74**(1):149-160.
- [13] Font-i-Furnols M, Guerrero L: **Consumer preference, behavior and perception about meat and meat products: An overview.** *Meat science* 2014, **98**(3):361-371.
- [14] Danijela Š, Slobodan L, Vesna Đ, Dragan M, Danijela V, Brankica L, Milan M: **The role of consumers' perception and attitude in purchasing of meat and meat products.** *Meat Technology* 2011, **52**(2):283-290.
- [15] Kotler P, Armstrong G, Harris L, Piercy N: **Principles of marketing.** 6th European edition: Harlow: Pearson Education; 2013.
- [16] Petty RE, Krosnick JA: **Attitude strength: Antecedents and consequences:** Psychology Press; 2014.
- [17] De Barcellos MD, Kügler JO, Grunert KG, Van Wezemael L, Pérez-Cueto FJ, Ueland Ø, Verbeke W: **European consumers' acceptance of beef processing technologies: A focus group study.** *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2010, **11**(4):721-732.
- [18] Shim S-M, Seo SH, Lee Y, Moon G-I, Kim M-S, Park J-H: **Consumers' knowledge and safety perceptions of food additives: Evaluation on the effectiveness of transmitting information on preservatives.** *Food Control* 2011, **22**(7):1054-1060.
- [19] Koyratty BNS, Aumjaud B, Neeliah SA: **Food additive control: a survey among selected consumers and manufacturers.** *British Food Journal* 2014.
- [20] Hung Y, de Kok TM, Verbeke W: **Consumer attitude and purchase intention towards processed meat products with natural compounds and a reduced level of nitrite.** *Meat science* 2016, **121**:119-126.
- [21] Brunsø K, Bredahl L, Grunert KG, Scholderer J: **Consumer perception of the quality of beef resulting from various fattening regimes.** *Livestock production science* 2005, **94**(1-2):83-93.
- [22] Grunert KG: **Food quality and safety: consumer perception and demand.** *European review of agricultural economics* 2005, **32**(3):369-391.
- [23] Zohoor A, Moonaghi H: **Data Analysis in Qualitative Studies.** *Journal of Fundamentals of Mental Health* 2003, **6**(20):107-113. [In persian].
- [24] Ranjbar H, Haghdooost A, Salsali M, Khoshdel A, Soleimani M, Bahrami N: **Sampling in qualitative research: A Guide for beginning.** *Journal f Army University* 2012, **10**(3):238-250 [In persian].
- [25] Polit DF, Beck CT: **Essentials of nursing research: Methods, appraisal, and utilization,** vol. 6: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
- [26] Rourke L, Anderson T, Garrison DR, Archer W: **Methodological issues in the content analysis of computer conference transcripts.** *International journal of artificial intelligence in education (IJAIED)* 2001, **12**:8-22.
- [27] Haugaard P, Hansen F, Jensen M, Grunert KG: **Consumer attitudes toward new technique for preserving organic meat using herbs and berries.** *Meat science* 2014, **96**(1):126-135.
- [28] Dickson-Spillmann M, Siegrist M, Keller C: **Attitudes toward chemicals are associated with preference for natural food.** *Food quality and preference* 2011, **22**(1):149-156.
- [29] Magalhaes DR, Maza MT, Prado INd, Fiorentini G, Kirinus JK, Campo MdM: **An exploratory study of the purchase and consumption of beef: Geographical and cultural differences between Spain and Brazil.** *Foods* 2022, **11**(1):129.
- [30] Barone AM, Aschemann-Witzel J: **Food handling practices and expiration dates: Consumers' perception of smart labels.** *Food Control* 2022, **133**:108615.
- [31] Imtiyaz H, Soni P, Yukongdi V: **Understanding Consumer's purchase intention and consumption of convenience food in an emerging economy: Role of marketing and commercial determinants.** *Journal of Agriculture and Food Research* 2022, **10**:100399.
- [32] Golob U, Tuškej U, Podnar K: **The role of consumer brand-identification in building relationships.** *Journal of Business Research* 2013, **66**(1):53-59.
- [33] Oh H, Prado PHM, Korelo JC, Frizzo F: **The effect of brand authenticity on consumer-brand relationships.** *Journal of Product & Brand Management* 2019, **28**(2):231-241.
- [34] Greve G: **The moderating effect of customer engagement on the brand image-brand loyalty relationship.** *Procedia-Social and Behavioral Sciences* 2014, **148**:203-210.
- [35] Lassoued R, Hobbs JE: **Consumer confidence in credence attributes: The role of brand trust.** *Food Policy* 2015, **52**:99-107.
- [36] Annaraud K, Berezina K: **Predicting satisfaction and intentions to use online food delivery: what really makes a difference?** *Journal of Foodservice Business Research* 2020, **23**(4):305-323.
- [37] Ha J, Jang SS: **Effects of service quality and food quality: The moderating role of atmospherics in an ethnic restaurant segment.** *International journal of hospitality management* 2010, **29**(3):520-529.
- [38] Wang ES: **The influence of visual packaging design on perceived food product**

- quality, value, and brand preference. *International journal of retail & distribution management* 2013, **41**(10):805-816.
- [39] Wang ES-T: **Different effects of utilitarian and hedonic benefits of retail food packaging on perceived product quality and purchase intention.** *Journal of food products marketing* 2017, **23**(3):239-250.
- [40] Nilssen R, Bick G, Abratt R: **Comparing the relative importance of sustainability as a consumer purchase criterion of food and clothing in the retail sector.** *Journal of Brand Management* 2019, **26**:71-83.
- [41] de Araújo PD, Araújo WMC, Patarata L, Fraqueza MJ: **Understanding the main factors that influence consumer quality perception and attitude towards meat and processed meat products.** *Meat science* 2022:108952.
- [42] Díaz-Caro C, García-Torres S, Elghannam A, Tejerina D, Mesias F, Ortiz A: **Is production system a relevant attribute in consumers' food preferences? The case of Iberian dry-cured ham in Spain.** *Meat science* 2019, **158**:107908.
- [43] Hung Y, Verbeke W, de Kok TM: **Stakeholder and consumer reactions towards innovative processed meat products: Insights from a qualitative study about nitrite reduction and phytochemical addition.** *Food Control* 2016, **60**:690-698.
- [44] Dadras A: **Impact of shapes in packaging design on consumer behaviour in the lens of Kano's attractive quality theory.** *International journal of Scientific Research and Management Studies* 2016, **2**(1):78-86.
- [45] Teixeira A, Rodrigues S: **Consumer perceptions towards healthier meat products.** *Current Opinion in Food Science* 2021, **38**:147-154.
- [46] Carrieri V, Principe F: **WHO and for how long? An empirical analysis of the consumers' response to red meat warning.** *Food Policy* 2022, **108**:102231.
- [47] Bernardo P, Patarata L, Lorenzo JM, Fraqueza MJ: **Nitrate is nitrate: The status quo of using nitrate through vegetable extracts in meat products.** *Foods* 2021, **10**(12):3019.
- [48] Antoniak MA, Szymkowiak A, Pepliński B: **The source of protein or its value? Consumer perception regarding the importance of meat (-like) product attributes.** *Applied Sciences* 2022, **12**(9):4128.
- [49] Munekata PES, Rocchetti G, Pateiro M, Lucini L, Domínguez R, Lorenzo JM: **Addition of plant extracts to meat and meat products to extend shelf-life and health-promoting attributes: An overview.** *Current Opinion in Food Science* 2020, **31**:81-87.
- [50] O'Flaherty M, Flores-Mateo G, Nnoaham K, Lloyd-Williams F, Capewell S: **Potential cardiovascular mortality reductions with stricter food policies in the United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland.** *Bulletin of the World Health Organization* 2012, **90**:522-531.
- [51] Organization WH: **Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020:** World Health Organization; 2013.
- [52] Brown IJ, Tzoulaki I, Candeias V, Elliott P: **Salt intakes around the world: implications for public health.** *International journal of epidemiology* 2009, **38**(3):791-813.
- [53] Rezaei S, Mahmoudi Z, Sheidaei A, Aryan Z, Mahmoudi N, Gohari K, Yoosefi M, Hajipour MJ, Dilmaghani-Marand A, Soleimanzadehkhayat M: **Salt intake among Iranian population: the first national report on salt intake in Iran.** *Journal of hypertension* 2018, **36**(12):2380-2389.
- [54] Rafieifar S, Pouraram H, Djazayeri A, Siassi F, Abdollahi Z, Dorosty AR, Abtahi M, Kazemeini H, Farzadfar F: **Strategies and opportunities ahead to reduce salt intake.** *Archives of Iranian Medicine* 2016, **19**(10):0-0.
- [55] Fraqueza MJ, Laranjo M, Elias M, Patarata L: **Microbiological hazards associated with salt and nitrite reduction in cured meat products: control strategies based on antimicrobial effect of natural ingredients and protective microbiota.** *Current Opinion in Food Science* 2021, **38**:32-39.
- [56] Humans IWGoTEoCRt: **Red meat and processed meat.** 2018.
- [57] Siegrist M, Sütterlin B: **Importance of perceived naturalness for acceptance of food additives and cultured meat.** *Appetite* 2017, **113**:320-326.
- [58] Sokolić D, Kravar K, Sermek B, Barić C: **Razumijevanje informacija o hrani i stav potrošača o bacanju hrane.** Hrvatska agencija za hranu. Osijek. In.; 2015.
- [59] Sousa LMLd, Stangarlin-Fiori L, Costa EHS, Furtado F, Medeiros CO: **Use of nutritional food labels and consumers' confidence in label information.** *Revista de Nutrição* 2020, **33**.
- [60] Marotta G, Simeone M, Nazzaro C: **Product reformulation in the food system to improve food safety. Evaluation of policy interventions.** *Appetite* 2014, **74**:107-115.
- [61] Marins BR, Jacob SdC, Peres F: **Qualitative evaluation of the reading habit and understanding: reception of the information contained in labels of food products.** *Food Science and Technology* 2008, **28**:579-585.
- [62] Tonkin E, Webb T, Coveney J, Meyer SB, Wilson AM: **Consumer trust in the Australian food system—the everyday erosive impact of food labelling.** *Appetite* 2016, **103**:118-127.
- [63] Lang B, Conroy DM: **Are trust and consumption values important for buyers of organic food? A comparison of regular buyers,**

occasional buyers, and non-buyers. *Appetite* 2021, **161**:105123.

[64] konuk FA: **The moderating impact of taste award on the interplay between perceived taste, perceived quality and brand trust.** *Journal of Retailing and Consumer Services* 2021, **63**:102698.

[65] Montanari F, Varallo C, Pisanello D: **Food Fraud in the EU.** *European Journal of Risk Regulation* 2016, **7**(1):197-205.

[66] Moreira MJ, García-Díez J, de Almeida JM, Saraiva C: **Consumer knowledge about food labeling and fraud.** *Foods* 2021, **10**(5):1095.

[67] Meixner O, Katt F: **Assessing the impact of COVID-19 on consumer food safety perceptions—A choice-based willingness to pay study.** *Sustainability* 2020, **12**(18):7270.

[68] Wang ES-T, Lin H-C, Tsai M-C: **Effect of institutional trust on consumers' health and safety**

perceptions and repurchase intention for traceable fresh food. *Foods* 2021, **10**(12):2898.

[69] Li PP: **Toward a geocentric framework of trust: An application to organizational trust.** *Management and Organization Review* 2008, **4**(3):413-439.

[70] Omari R, Ruivenkamp GT, Tetteh EK: **Consumers' trust in government institutions and their perception and concern about safety and healthiness of fast food.** *Journal of Trust Research* 2017, **7**(2):170-186.

[71] Plano Clark V, Creswell J, O'Neil Green D, Shope R: **Mixing quantitative and qualitative approaches: An introduction to emergent mixed methods research.** In: *Handbook of emergent methods*. edn. Edited by HesseBiber S, Leavy P. New York: The Guilford Press; 2008.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Perception and attitude towards meat products among consumers in Tehran

Marjan Bazhan^{1*}, Majid Aminzare², Farnam Shafiei Sabet³, Zohreh Adab⁴, Hedayat Hosseini⁵

- 1- *Corresponding author: Assistant Professor, Department of Community Nutrition, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition, and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- Associate Professor, Department of Food Safety and Hygiene, School of Public Health, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran
- 3- M.Sc student in Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 4- Ph.D. student in Food & Nutrition Policy, Department of Community Nutrition, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition, and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2024/5/4

Accepted: 2024/11/10

Keywords:

Perception,
Attitude,
Consumers,
Meat products,
Qualitative study

DOI: 10.22034/FSCT.22.162.137.

*Corresponding Author E-
marjanbazhan@yahoo.com

ABSTRACT

In recent years, there has been a notable increase in the consumption of sausages, particularly among younger individuals. However, the perception and attitude of consumers towards these products in the country remain poorly documented. This study was designed to investigate this issue among consumers in Tehran. The research was carried out using a qualitative approach. The study examined adults aged 18 to 60 years who lived in Tehran. Semi-structured face-to-face interviews were used to collect qualitative data. A total of 43 individuals (25 women and 18 men) participated in the study. Participants were selected using a purposeful sampling technique to ensure maximum diversity. Qualitative content analysis of the data was conducted using MAXQDA2020 software. The participants, including those who consumed sausages, perceived sausages as unhealthy and unsafe due to several factors. These factors include poor quality raw materials, fraudulent production, harmful additives such as nitrates, and high levels of fat and salt. Furthermore, sausages are believed to have the potential to cause a range of diseases, including heart disease, high blood pressure, and cancer. This contributes to a negative attitude towards these products. Participants' lack of trust in the information provided on food labels, particularly regarding product ingredients, caused them to disregard it. In this study, participants expressed distrust not only towards manufacturers but also towards regulatory institutions and their performance. This research plays a pivotal role in enhancing the quality of these products at the national level by in-depth examination of the understanding and attitude of consumers towards sausages. The findings of this study demonstrate the necessity for meat product producers to enhance the quality of their raw materials, adopt healthier production methods, provide transparent labelling and reinforce consumer trust in order to address concerns and meet consumer expectations.



اثر سرعت اولتراسونیک بر خصوصیات اسانس پوست گریپ فروت ریزپوشانی شده با صمغ آلزینات

سمانه محمد خشت چین^۱، رضا فرهمندفر^{۲*}، جمشید فرمانی^۳

۱- کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

۳- استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۱

کلمات کلیدی:

هموژنیزاسیون،

ریز پوشانی،

صمغ آلزینات،

اسانس پوست گریپ فروت،

رئولوژی

در این پژوهش تاثیر سرعت های مختلف هموژنیزاسیون (۱۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ دور بر دقیقه) بر ویژگی های ساختاری، رئولوژیکی و خاصیت آنتی اکسیدانی اسانس پوست گریپ فروت نانوریز پوشانی شده در دیواره صمغ آلزینات مورد بررسی قرار گرفت. افزایش سرعت هموژنیزاسیون منجر به کاهش اندازه ذرات (از ۲۶۴/۰ تا ۲۲۶/۹ نانومتر) و شاخص پراکندگی ذرات نانوامولسیون (از ۰/۳۲ تا ۰/۱۹) شد. تمام نانوامولسیون ها پتانسیل زتای منفی (۲۳/۶- تا ۲۱/۶۵- میلی ولت) داشتند. راندمان نانوریزپوشانی اسانس با افزایش سرعت هموژنیزاسیون از ۸۳/۹۲ تا ۷۸/۷۶ درصد کاهش یافت. نانوامولسیون اسانس در دمای ۴°C به مدت ۵ روز پایداری کامل داشت. در دمای ۲۵°C با گذشت زمان، پایداری نانوامولسیون کاهش یافت و بیشترین پایداری مربوط به نانوامولسیون های تهیه شده با سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه بود که پتانسیل زتای کوچتری داشت. نتایج مربوط به طیف بینی فروسرخ تبدیل فوریه و گرماسنجی روبشی تفاضلی نشان دهنده احاطه شدن اسانس توسط آلزینات بود. نانوامولسیون های تولید شده دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بودند و با افزایش غلظت نانوامولسیون میزان مهار رادیکال آزاد DPPH افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به نانوامولسیون تهیه شده در سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه بود. تمامی نانوامولسیون ها رفتار رقیق شونده با برش نشان دادند. مدل های هرشل بالکلی و پاورلا دارای R^2 بالاتری نسبت به سایر مدل های برازش شده بودند. هموژنیزاسیون بر روی مقدار k_p و k_h تقریباً بی اثر بوده است. نتایج این تحقیق استفاده از سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه را برای تولید نانوامولسیون اسانس پوست گریپ فروت در دیواره صمغ آلزینات مناسب معرفی می نماید.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.156.

* مسئول مکاتبات:

r.farahmandfar@sanru.ac.ir

۱- مقدمه

محافظت از آن‌ها ریزپوشانی است. ریزپوشانی تکنیکی است که در آن به کمک یک یا چند ماده که دیواره نامیده می‌شود، ترکیب مورد نظر به دام افتاده و پوشش داده می‌شود. در صنایع مختلف نظیر داروسازی، صنایع شیمیایی، غذایی و چاپ کاربردهای فراوانی پیدا کرده است. برای ریزپوشانی ترکیبات غذایی می‌توان از دیواره‌های با مواد مختلف استفاده نمود که از آن جمله می‌توان به پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و ترکیب آن‌ها اشاره نمود [۶].

هیدروکلوئیدها کربوهیدرات‌های پیچیده‌ای هستند که برای بهبود قوام و خصوصیات بافتی (خواص رئولوژیکی) مواد غذایی مایع و نیمه مایع استفاده می‌شوند. فعالیت آن‌ها به نوع و غلظت هیدروکلوئیدها، دما و شرایط فرآیند و همچنین محتوای جامد و ترکیب شیمیایی مواد غذایی بستگی دارد. آلزینات یک پلیمر خطی است که شامل اتصالات β -D-مانورونات و α -L-گولورونات است و به دلیل زیست سازگاری، سمیت کم و ظرفیت بسیار عالی در تشکیل ژل، در بسیاری از مواد غذایی و کاربردهای پزشکی مورد بررسی قرار می‌گیرد [۷]. اگر چه مطالعات بسیاری در زمینه ریزپوشانی اسانس‌های خوراکی انجام شده است اما تا کنون مطالعه ای مبنی بر استفاده از اسانس گریپ فروت نانوریزپوشانی شده در دیواره از جنس آلزینات انجام نشده است. لذا در این مطالعه ویژگی‌های رئولوژیکی و فیزیکوشیمیایی اسانس پوست گریپ فروت نانوریزپوشانی شده با صمغ آلزینات مورد بررسی قرار گرفته است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه نمونه و آماده سازی

سدیم آلزینات و توین ۲۰ از شرکت سیگما تهیه شدند. گریپ فروت از بازارهای محلی استان مازندران تهیه شده و پس از شست و شو و پوست گیری، قسمت دارای اسانس از قسمت سفید رنگ جدا شد. پوست گریپ فروت

افزایش آگاهی بشر نسبت به ایمنی مواد غذایی و سمیت نگهدارنده‌های شیمیایی منجر به افزایش تقاضا برای یافتن جایگزین‌های طبیعی برای آن‌ها شده است. اسانس‌های گیاهی از زمان‌های دور مورد توجه قرار می‌گرفته اند و در حال حاضر تمایل به استفاده از آن‌ها به دلیل ارتقای سلامت، خواص درمانی و پیشگیری از بیماری‌های مختلف افزایش یافته است [۱]. در چند دهه گذشته، اسانس‌های گیاهی به دلیل اثرات آنتی اکسیدانی و مهار رادیکال‌های آزاد توجه زیادی را به خود جلب نموده اند [۲].

اسانس مرکبات محصولات جانبی معطر اصلی صنعت آبمیوه گیری هستند و به طور گسترده در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و داروسازی استفاده می‌شوند. گریپ فروت (*Citrus paradisi*) دومین مرکبات تولید شده در جهان با تولید سالانه بیش از ۶۰ میلیون تن است. بازده آب گریپ فروت و پرتقال تقریباً نیمی از وزن میوه است و بدین ترتیب سالانه مقادیر بسیار زیادی ضایعات تولید می‌شود [۳]. پوست مرکبات به عنوان ضایعات (محصول جانبی آبنگیری) از مرکبات مطرح بوده که در لایه بیرونی آن گروهی از سلول‌ها به شکل غده‌های فرورفته که حاوی اسانس هستند، قرار دارند [۴].

اسانس‌ها مایعات متمرکز در مولکول‌های حاصل از متابولیسم گیاه (ترپنوئید و مولکول‌های معطر) هستند. آن‌ها در عطر سازی و لوازم آرایشی و بهداشتی و همچنین صنایع غذایی و دارویی بسیار محبوب هستند. اجزای اصلی اسانس‌های استخراج شده از پوست برخی از مرکبات شامل α -پینن، ساینن، β -پینن، β -میرسن، D-لیمونن، لینالول، m-سایمن و ϵ -ترپینول هستند که D-لیمونن مهمترین ترکیب آن است [۵].

اسانس‌ها حاوی ترکیبات زیست فعال حساس به حرارت هستند که بایستی از اثرات محیطی نظیر حرارت، نور، اکسیژن و pH محافظت شوند که یکی از روش‌های

امولسیون‌های تهیه شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد به مدت ۲۴ ساعت منجمد شده و سپس با استفاده از خشک کن انجمادی، در دمای ۵۷- درجه سانتی گراد و فشار ۰/۰۱۷ میلی پاسکال به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند. بعد از خشک کردن، نانوذرات حاصل در یک ظرف شیشه ای ریخته شد و در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

۲-۴- اندازه ذرات، شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل زتا نانوامولسیون‌ها

اندازه ذرات امولسیون با استفاده از دستگاه انکسار نور لیزر (Zetasizer Nano ZS-90, Malvern, UK) مورد بررسی قرار گرفت. همچنین شاخص پراکندگی ذرات (PDI) توسط نرم افزار دستگاه محاسبه و به عنوان توزیع اندازه قطرات گزارش گردید. پتانسیل زتا با استفاده از دستگاه زتاسایزر (Zetasizer Nano ZS-90, Malvern, UK) اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار Zetasizer Version 7.02 انجام شد [۱۰].

۲-۵- راندمان ریز پوشانی اسانس پوست گریپ فروت ($EE\%$)

برای استخراج روغن سطحی، ۱۵ میلی لیتر آن هگزان به ۱/۵ گرم از نمونه پودر اضافه شده و به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق با شیکر هم زده شد. سپس مخلوط در سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. سپس از صافی واتمن شماره ۱ عبور کرده و پودرهای جمع آوری شده سه بار با استفاده از ۲۰ میلی لیتر آن هگزان شسته شدند. حلال در دمای اتاق تبخیر شده و تا رسیدن به وزن ثابت خشک و میزان روغن سطحی محاسبه شد. برای اندازه گیری روغن کل، ۰/۵ گرم پودر حاصل به ۲۵ میلی لیتر ایزوپروپانول/ آن هگزان به نسبت ۱:۳ افزوده شده و ۵ دقیقه با شیکر هم زده شد. سپس مخلوط حاصل ۱۵ دقیقه با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. بعد از

در آون معمولی در دمای ۳۸ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک شده و توسط خردکن کاملاً پودر شد. سپس پودرها در بسته‌های نایلونی تا زمان استخراج اسانس در فریزر در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

۲-۲- استخراج اسانس (کلونجر)

جهت استخراج اسانس در هر مرتبه اسانس گیری، ۱۵۰ گرم پوست میوه به همراه ۱۵۰۰ میلی لیتر آب مقطر درون بالون ریخته شده و اسانس گیری به وسیله دستگاه کلونجر (در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد و به مدت ۳ ساعت تازمانیکه کلیه اسانس از نمونه خارج شود) انجام شد. سپس اسانس حاصل در دمای ۱۸- درجه سانتی گراد نگه داری شد [۵].

۲-۳- نانوریز پوشانی اسانس

ریز پوشانی اسانس پوست گریپ فروت با پوشش صمغ آلزینات انجام شد. محلول آبی آلزینات سدیم (۰/۴٪) تحت هم زدن در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد تهیه شد. سپس در حالیکه محلول در حال هم زدن بود، محلول کلرید کلسیم 100 M/m^3 (۰/۵٪) به آن اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. پس از آن اسانس پوست گریپ فروت به میزان ۴ درصد وزنی- وزنی به صورت قطره قطره به امولسیفایر توپین ۲۰ به میزان ۲ درصد وزنی- وزنی افزوده شد و به خوبی باهم مخلوط شدند. مخلوط مذکور به آرامی و قطره قطره به محلول آلزینات اضافه شد و بلافاصله بعد از نیم ساعت هم زدن با همزن مغناطیسی، با استفاده از اولتراسونیک با سرعت‌های ۱۰۰۰۰، ۱۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ دور بر دقیقه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰ درجه سانتی گراد هموژن شد. سپس برای کاهش بیشتر اندازه ذرات از دستگاه مولد فراصوت (Germany, BANDELIN, HD3200) با دامنه کنترل ۴۵٪ و فرکانس ۲۰ کیلوهرتز در دمای ۴۵ درجه سانتی گراد با تعداد ۶ سیکل (زمان هر سیکل ۳۰ ثانیه و زمان استراحت ۱۵ ثانیه بین سیکل‌ها) استفاده شد [۹، ۸].

متانولی اسانس مورد آزمایش، ۹۷۵ میکرولیتر از محلول متانولی DPPH اضافه شد [۱۴]. این مخلوط در دمای اتاق و در تاریکی به مدت ۳۰ دقیقه باقی مانده و جذب محلول در ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و با توجه به معادله زیر اندازه گیری زده شد:

$$Antiradical\ activity\ (\%) = (3) \\ [(A_{10} - A_t)/A_0] \times 100$$

۲-۱۰- رفتار جریانی برشی پایا

برای انجام آزمون آنالیز رفتار جریان از دستگاه رئومتر (Austria, Anton Paar, Physica MCR-301) مجهز به سیرکولاتور حرارتی برای کنترل دما و استفاده از پرورب صفحه موازی انجام گرفت. تنظیم دما با سیستم peltier plate با حساسیت ± 0.01 مجهز به سیرکولاتور آب (Viscotherm VT2) به کار گرفته شد. محلول‌های با غلظت ۵ درصد درست شده و به مدت ۵ دقیقه روی استیرر گذاشته شدند. آنالیز رفتار جریانی در محدوده سرعت برشی ۰/۱ تا ۱۰۰ بر ثانیه انجام شد. مدل‌های زیر برای بررسی ویژگی‌های رئولوژیکی مورد استفاده قرار گرفت [۱۵]:

۱- مدل پاورلا

$$\tau = k_p \dot{\gamma}^{n_p} \quad (4)$$

در این معادله K_p ضریب قوام ($Pa\ s^{n_p}$) و n_p شاخص رفتار جریان (بدون بعد) می‌باشد. K بزرگی ویسکوزیته سیال و n ویژگی رفتار سیال را نشان می‌دهد.

۲- مدل هرشل بالکلی

$$\tau = K_H (\dot{\gamma})^{n_H} \tau_{0H} \quad (5)$$

در این معادله K_H ، ضریب قوام ($Pa\ s^{n_H}$) و n_H شاخص رفتار جریان (بدون بعد) می‌باشد. K بزرگی ویسکوزیته سیال و n ویژگی رفتار سیال را نشان می‌دهد. τ_{0H} تنش تسلیم (Pa) برای مدل هرشل بالکلی است.

۳- مدل بینگهام

$$\tau = \eta_{\beta} \dot{\gamma} + \tau_{0\beta} \quad (6)$$

آن فاز آلی شفاف جدا و حلال در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، تا رسیدن به وزن ثابت تبخیر گردید [۱۱].

$$EE\ (\%) = \frac{oil_{Total} - oil_{Surface}}{oil_{Total}} \times 100 \quad (1)$$

oil_{Total} و $oil_{Surface}$ به ترتیب مربوط به روغن کلی و روغن سطحی بر اساس ماده خشک امولسیون نهایی است.

۲-۶- پایداری امولسیون

جهت تعیین پایداری امولسیون، ۱۰ میلی لیتر از هر امولسیون وارد یک لوله آزمایش شده و به مدت ۶ روز در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. بعد از نگهداری، پایداری امولسیون با استفاده از معادله زیر محاسبه شد [۱۲].

$$Emulsion\ Stability\ Index(\%) = (2)$$

$$\frac{HE - HS}{HE} \times 100$$

HE و HS به ترتیب امولسیون کلی و ارتفاع لایه سرم هستند.

۲-۷- طیف بینی فروسرخ تبدیل فوریه^۳ (FTIR)

اندازه گیری FT-IR با استفاده از دستگاه اسپکترومتر FT-IR رومیزی (USA, Agilent, CARY 630) در محدوده طول موج ۴۰۰ تا $4000\ cm^{-1}$ انجام شد.

۲-۸- تجزیه و تحلیل گرماسنج پویشی تفاضلی (DSC^۴)

ویژگی حرارتی اسانس پوست گریپ فروت نانوریزپوشانی شده با صمغ آلژینات با استفاده از گرماسنج پویشی افتراقی (DSC 822، متلر تولدو، سوئیس) که با یک برنامه اتوماتیک آنالیز حرارتی مجهز شده است، مورد بررسی قرار گرفت. دمای شروع (T_o)، پیک (T_p) و انتها (T_E) با استفاده از دماسنج DSC تعیین شدند [۱۳].

۲-۹- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس پوست گریپ

فروت ریز پوشانی شده

به منظور اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی نانوامولسیون-ها، ابتدا ۲/۴ میلی گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول حل شد. سپس به ۲۵ میکرولیتر از هر یک از محلول‌های

در این معادله η_B ویسکوزیته بینگهام (Pa s) و τ_{0B} تنش تسلیم (Pa) مدل بینگهام است.

۴- مدل کاسون

$$\tau^{0.5} = K_{0c}^{0.5} + k_c (\dot{\gamma})^{0.5} \quad (V)$$

در این معادله $\tau_{0c} = (k_{0c})^2$ نشان دهنده تنش تسلیم (Pa) و $\eta_c = (k_c)^2$ ویسکوزیته کاسون (Pa.s) نامیده می شود.

۲-۱۱- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده های به دست آمده از این پژوهش به کمک روش آنووا بر پایه طرح آماری کاملاً تصادفی با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. بدین منظور از نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ استفاده شد و رسم نمودارها با نرم افزار اکسل نسخه ۲۰۱۶ انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- اندازه ذرات، شاخص پراکندگی ذرات و پتانسیل

زتا نانوامولسیون

نتایج مربوط به اندازه ذرات نانوامولسیون اسانس پوست گریپ فروت ریز پوشانی شده با صمغ آلژینات در جدول

Table 1- Particle size, zeta potential and encapsulation efficiency encapsulated grapefruit peel essential oil

Ultraturrax Speed (rpm)	Particle size (nm)	PDI	Zeta potential	Encapsulation efficiency (%)
10000	264.0±2.8 ^a	0.32±0.04 ^a	-22.6±7.1 ^b	83.92±0.37 ^a
15000	258.6±1.5 ^b	0.29±0.03 ^b	-23.6±2.9 ^c	81.25±0.25 ^b
20000	226.9±2.4 ^c	0.19±0.01 ^c	-21.65±5.7 ^a	78.76±0.48 ^c

* Different lower case letters in the same column indicate significantly different (p < 0.05)

سرعت های ۶۰۰۰، ۸۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۰۰۰، ۱۴۰۰۰،

۱۶۰۰۰ و ۱۸۰۰۰ دور بر دقیقه استفاده نمودند. نتایج آن ها نشان داد که بین سرعت تهیه امولسیون و شاخص پراکندگی ذرات رابطه معکوس وجود دارد [۱۶]. هموژنیزاسیون با کاهش شاخص پراکندگی ذرات منجر به همگن شدن فاز پراکنده در امولسیون می شود. به طور کلی زمانیکه تشکیل امولسیون در سرعت های بالا انجام می شود، جریان توربولانت شکل می گیرد و این گرداب ها نوعی فشار برشی به قطرات امولسیون وارد می کند که منجر به کاهش اندازه ذرات و شاخص پراکندگی ذرات می شوند [۱۲].

شاخص پراکندگی ذرات نانوامولسیون در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می شود این شاخص در تمام نمونه ها کمتر از ۰/۳۳ است. سرعت های بالا منجر به شاخص پراکندگی ذرات کمتر از ۰/۵ می شود که مطلوب می باشد. شاخص پراکندگی ذرات نانوامولسیون با افزایش سرعت هموژنیزاسیون کاهش یافت و اختلاف معنی دار آماری ایجاد شد. به نظر می رسد در سرعت های بالای هموژنیزاسیون نیروی برشی افزایش می یابد که منجر به کاهش اندازه ذرات و همگون بودن می شود که هر دو در این پژوهش اتفاق افتاده است. محققین برای ریزپوشانی اسانس آویشن در دیواره از جنس آلژینات شدیم از

محققین نشان دادند که زمانیکه از سرعت‌های کمتر از ۸۰۰۰ دور بر دقیقه برای تولید امولسیون استفاده می‌شود میزان ناهمگونی ذرات افزایش می‌یابد. در حالیکه استفاده از سرعت‌های بالاتر از ۸۰۰۰ دور بر دقیقه منجر به شکل گیری امولسیون‌های پایدار می‌شود و با افزایش سرعت به طور معنی‌داری شاخص پراکندگی ذرات کاهش می‌یابد [۱۹]. این نتایج با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. برخی محققین دیگر نشان دادند با افزایش اندازه ذرات اسانس آویشن شیرازی میکروریزپوشانی شده در آلژینات، شاخص پراکندگی ذرات کاهش می‌یابد که با نتایج پژوهش حاضر همراستا است [۴].

پتانسیل زتا یک شاخص بسیار خوب برای تعیین برهمکنش‌های الکترواستاتیکی بین سطح ذرات است به طوریکه تجمع بار در لایه سکون و شدت یون‌های مخالف بر روی سطوح را نشان می‌دهد [۱۸]. نتایج مربوط به پتانسیل زتا ذرات نانوامولسیون در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود پتانسیل زتا در تمام نمونه‌های مورد بررسی منفی است و اختلاف معنی‌دار آماری بین نمونه‌ها دیده نمی‌شود. به عبارت دیگر می‌توان گفت تاثیر هموژنیزاسیون بر پتانسیل زتا معنی‌دار نبوده است. به طور کلی امولسیون‌های با پتانسیل زتا در محدوده ۳۰- تا ۳۰+ میلی ولت ناپایدار هستند. لذا با توجه به مقادیر به دست آمده می‌توان گفت تمامی نانوامولسیون‌ها پایدار هستند. در این حالت بار الکتریکی قطرات به اندازه ای قوی است که فرض بر این است که نیروهای دافعه بین قطرات در سیستم نانوامولسیون غالب هستند. محققین پتانسیل زتا اسانس علف لیمو ریزپوشانی شده در صمغ آلژینات را در محدوده ۱۸- تا ۵۰- میلی ولت گزارش نمودند که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد [۲۰].

۳-۲- راندمان ریزپوشانی اسانس پوست گریپ فروت

نتایج راندمان ریزپوشانی اسانس پوست گریپ فروت ریز پوشانی شده با صمغ آلژینات در جدول ۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود راندمان ریزپوشانی بیش از ۷۸ درصد می‌باشد که راندمان بسیار مطلوبی (≥ 50)

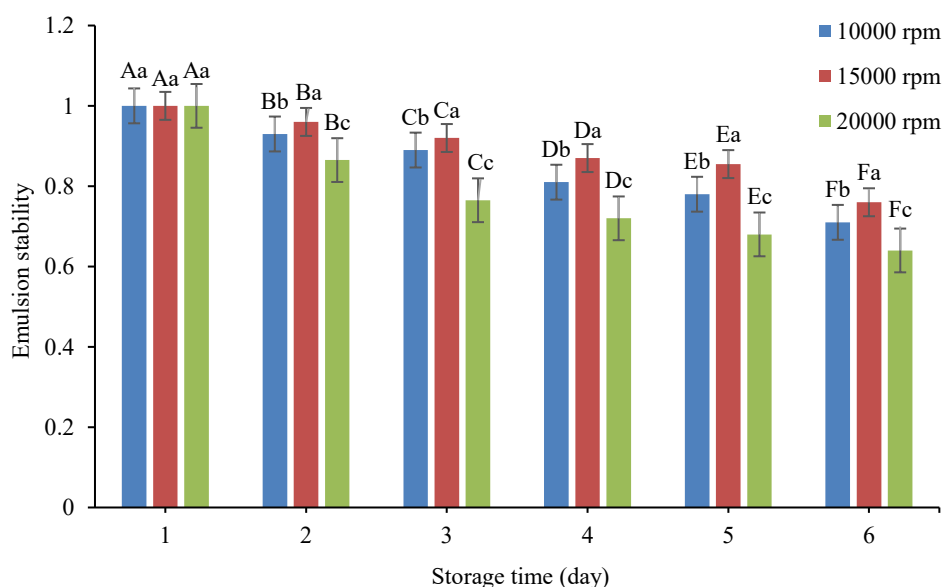
می‌باشد. همچنین با افزایش سرعت هموژنیزاسیون، راندمان ریزپوشانی اسانس کاهش یافته است و اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است. اندازه قطرات امولسیون و ویسکوزیته از عوامل تاثیر گذار بر روی راندمان ریزپوشانی هستند. محققین راندمان ریزپوشانی اسانس‌های آویشن، میخک و دارچین را در پوشش آلژینات را در محدوده ۷۰ تا ۹۰ درصد اعلام نمودند که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است [۲۱]. در پژوهش دیگر، راندمان اسانس نعنا فلفلی ریزپوشانی شده در آلژینات و موم کارنوبا را در محدوده ۷۲/۹ تا ۹۶/۵ درصد گزارش نمودند که در محدوده اعداد گزارش شده از پژوهش حاضر است [۲۲]. نتایج مشابهی برای اوژنول ریزپوشانی شده در دیواره آلژینات/ژلاتین [۲۳] و پلی فنول‌های کنجد در دیواره صمغ دانه شنبلیله و خرفه گزارش شده است [۲۴].

۳-۳- پایداری امولسیون

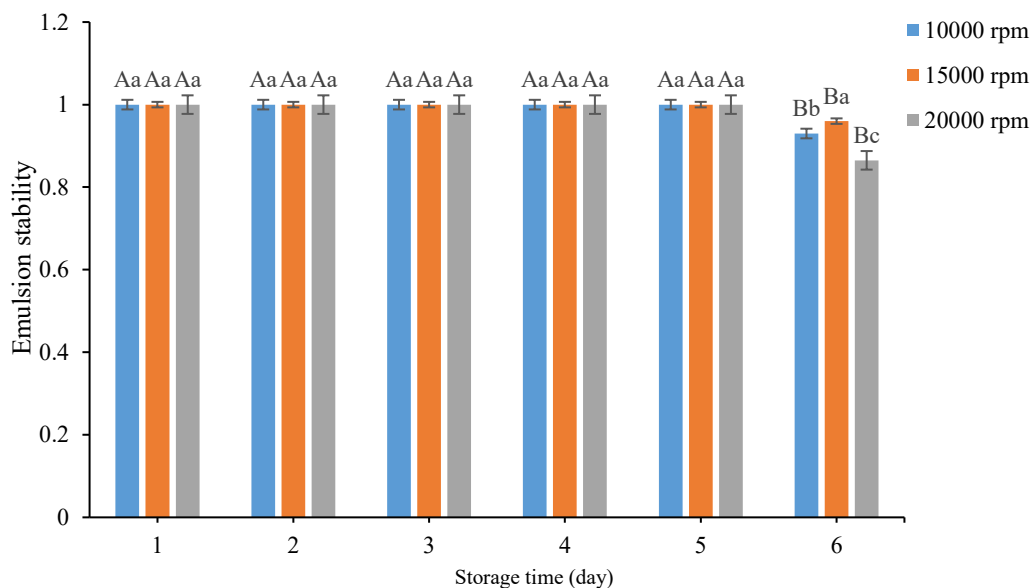
پایداری یک پارامتر بسیار مهم برای ارزیابی خصوصیات یک امولسیون است. تولید یک امولسیون پایدار اسانس ریزپوشانی شده بسیار دشوار است چراکه قطرات کوچک اسانس تمایل به بی ثباتی دارند و در نتیجه فازهای امولسیون از هم جدا می‌شوند [۲۲]. در امولسیون‌های روغن در آب، مکانیسم‌های مختلف بی ثباتی نظیر کرمی شدن گرانشی، ترسیب، فلوکه و کوآگوله شدن منجر به کاهش پایداری می‌شود. شکل ۱ نتایج مربوط به پایداری امولسیون اسانس پوست گریپ فروت ریزپوشانی شده با صمغ آلژینات در دمای ۴ و ۲۵ درجه سانتی گراد را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود در دمای ۴ درجه سانتی گراد امولسیون تا روز ۵ دوره نگهداری پایدار است و پس از آن از روز ۶ پایداری کاهش و اختلاف معنی‌دار آماری ایجاد می‌شود. روند پایداری امولسیون در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد کاهش بود و بین روزهای مختلف اختلاف معنی‌دار آماری مشاهده شد. در روز اول نمونه‌ها از پایداری خوبی برخوردار بودند اما در روزهای بعدی پایداری کاهش یافت. همانطور که گفته شد افزایش سرعت هموژنیزاسیون منجر به کاهش اندازه ذرات شد اما

تحت فشارهای هموژنیزاسیون بالاتر، از ثبات کمتری برخوردار بودند، و این نشان دهنده سطح کواگوله شدن بالاتر است [۲۵]. محققین دیگر نشان دادند سرعت هموژنیزاسیون بر پایداری امولسیون موثر است. آن‌ها روند کاهش پایداری برای تمام امولسیون‌های اسانس میخک در سدیم آلزینات طی دوره نگهداری را اعلام نمودند. همچنین پایداری امولسیون با افزایش سرعت هموژنیزاسیون کاهش یافت [۲۶]. پایداری امولسیون با نتایج به دست آمده از پتانسیل زتا مطابقت دارد و امولسیون تهیه شده در سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه به علت پتانسیل زتا کمتر، دارای پایداری بیشتری است.

امولسیون تهیه شده با سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه دارای بالاترین پایداری در هر دو دما بودند. مطالعه ای توسط گارسیا و همکاران (۲۰۱۲) اگرچه در هیچ یک از امولسیون‌ها جدایی فازی مشاهده نشد، اما قطرات ممکن است در طول دوره نگهداری به هم کواگوله شوند، که می‌تواند شاخص پایداری امولسیون را کاهش دهد [۲۵]. پس از هموژنیزاسیون، زمانی که امولسیون برای مدت زمان مشخصی در حالت استراحت باقی می‌ماند، انرژی اتلاف می‌شود و منجر به تشکیل قطرات بزرگتر می‌شود که نشان دهنده کواگوله شدن قطرات است. طبق نتایج گارسیا و همکاران (۲۰۱۲) افزایش فشار هموژنیزاسیون باعث کاهش اندازه قطرات می‌شود، اما امولسیون‌های تولید شده



(A)



(B)

Figure 1- Stability of emulsions in different storage conditions: A) At room temperature (25 °C) B) At refrigerator temperature (4 °C) (Uppercase and lowercase letters show a statistically significant difference between different storage times in the same sample and different samples at the same time, respectively.)

و نشان دادند همگی اسانس‌ها در محدوده ۳۲۵۰ تا ۳۶۰۰ و همچنین در ۳۰۰۰ تا ۳۲۵۰ دارای پیک هستند [۲۷] و با نتایج طیف پژوهش حاضر مطابقت دارد. محدوده cm^{-1} ۲۹۲۷ حضور اسیدهای کربوکسیلیک در اسانس ریز پوشانی شده با صمغ آلزینات را نشان می‌دهد. پیک‌های cm^{-1} ۳۴۴۳، cm^{-1} ۲۹۲۸، cm^{-1} ۱۶۱۵، cm^{-1} ۱۰۹۶، cm^{-1} ۱۰۲۹ به ترتیب مربوط به گروه کربوکسیلیک، کشش نامتقارن نمک کربوکسیلات و کشش C-O اثر است اسانس ریزپوشانی شده با آلزینات سدیم دارای گروه کربوکسیل آزاد است که دارای بار منفی است [۱۳]. محققین دیگر نیز نتایج مشابهی برای اسانس نعنا ریزپوشانی شده در آلزینات گزارش دادند [۲۲].

۳-۴- طیف بینی فروسرخ تبدیل فوری

طیف بینی فروسرخ تبدیل فوری اسانس نانوریزپوشانی شده در دیواره صمغ آلزینات که با سرعت‌های مختلف هموژنیزاسیون تهیه شده بود و همچنین صمغ آلزینات به تنهایی در شکل ۲ نشان داده شده است. محدوده cm^{-1} ۳۶۰۰-۳۰۰۰ مربوط به پیوندهای کششی O-H است. همانطور که مشاهده میشود تمامی اسانس‌های نانوریزپوشانی شده در این محدوده دارای پیک هستند که مربوط به پیوند بین اسانس و آلزینات می‌باشد. محققین طیف FTIR برای اسانس پوست مرکبات لیمو، پرتقال، گریپ فروت قرمز و سفید و دارابی را اندازه گیری نمودند

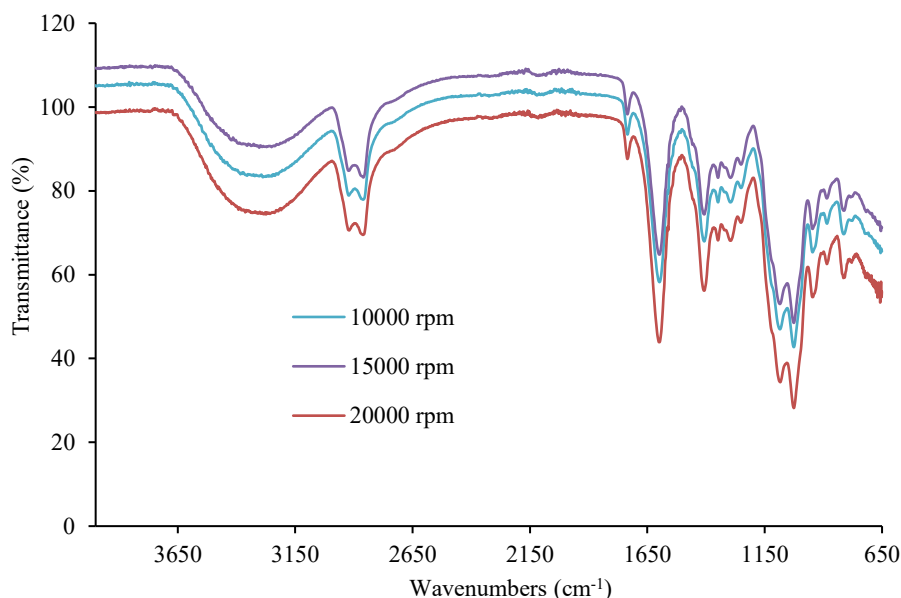


Figure 2. FTIR spectrum of encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate.

[۲۹]. محققین در مطالعه ای راندمان نانوریزپوشانی عصاره پوست پرتقال و لیمو را مورد بررسی قرار دادند، گزارش کردند که بعد از نانوریزپوشانی نقطه ذوب نمونه‌ها از ۷۳/۶ به ۲۳۱/۸ درجه سانتی‌گراد افزایش می‌یابد [۳۰]. بنابراین، نانوریزپوشانی می‌تواند پایداری عصاره پوست پرتقال را در برابر انتقال حرارتی بالا در هنگام فرآوری مواد غذایی بهبود بخشد. محققین پیک‌های کاهش و افزایش اسانس نعنا ریزپوشانی شده در صمغ آلزینات و موم کارنوبا را به ترتیب در محدوده دمایی ۹۰ الی ۲۰۰ و ۲۰۰ الی ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد گزارش نمودند [۲۲]. همانطور که مشاهده می‌شود اسانس ریزپوشانی شده در سرعت ۱۰۰۰ دور بر دقیقه از نظر خصوصیات DSC به آلزینات خالص نزدیک تر است. لذا می‌توان نتیجه گرفت که در سرعت‌های بالاتر هموژنیزاسیون برخی از ترکیبات اسانس تجزیه و به ترکیبات جدیدتری تبدیل شده‌اند. محققین دیگر، دو پیک در نمودار اسانس ریزپوشانی شده با آلزینات گزارش نمودند که پیک اول مربوط به تبخیر آب از آلزینات و پیک دوم مربوط به اسانس می‌باشد [۳۱].

۳-۵- تجزیه و تحلیل گرماسنجی روبشی تفاضلی DSC

تجزیه و تحلیل گرماسنجی روبشی تفاضلی DSC می‌تواند برای تشخیص رفتار حرارتی بیومولکول‌ها که مربوط به ساختار، خواص آب دوست و حالت تعاملی آن‌ها است، استفاده شود. نمودار DSC آلزینات خالص و اسانس پوست گریپ فروت نانوریزپوشانی شده در صمغ آلزینات در شکل ۳ نشان داده شده است. طبق شکل ۳ دو محدوده 110°C - $25/9^{\circ}\text{C}$ و $265/8^{\circ}\text{C}$ - $224/8^{\circ}\text{C}$ برای نمونه اسانس نانوریز پوشانی شده در صمغ آلزینات به ترتیب مربوط به پیک‌های گرماگیر (تبخیر آب) و گرمازا است. با توجه به یافته‌های محققین پیک‌های گرمازا در دمای بالا مربوط به تجزیه حرارتی پلی ساکاریدها و شروع تقسیم تصادفی پیوندهای گلیکوزیدیک و پروتئین‌ها می‌باشند [۲۸]. طبق نتایج رزمخواه و همکاران (۲۰۱۶) دو ناحیه گرمازا در دمای $262/56^{\circ}\text{C}$ و $304/44^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد که احتمال زیاد مربوط به تخریب نمونه است

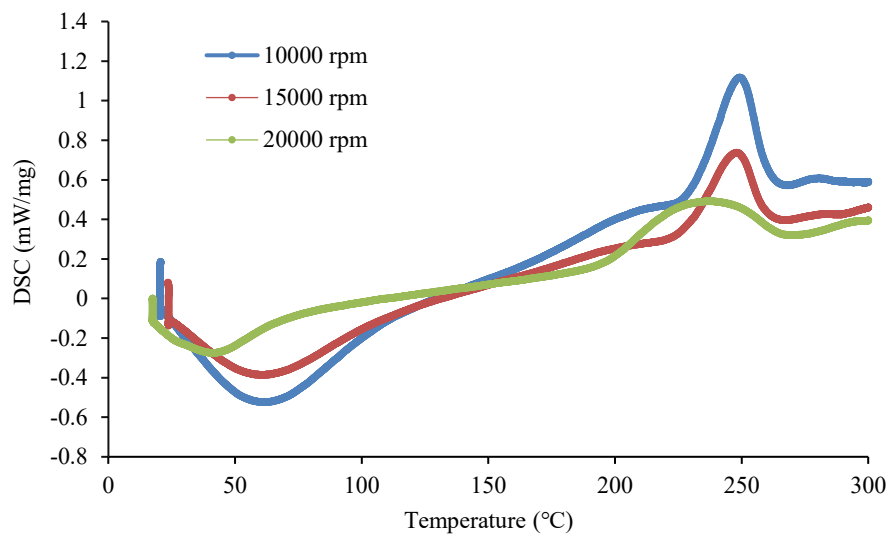


Figure 3- DSC diagram of encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate gum.

لیپیدها جلوگیری کند [۳۲]. از آنجایی که فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس به ساختار شیمیایی خاص آن‌ها مرتبط است، به نظر می‌رسد فعالیت آنتی اکسیدانی نانومولسیون‌های تولید شده می‌تواند شاخص خوبی برای حفظ ترکیبات فعال آن‌ها باشد. بنابراین، اثرات نانومولسیون اسانس پوست گریپ فروت بر فعالیت رادیکال DPPH برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی نانومولسیون‌های تهیه شده تعیین شد.

۳-۶- فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس پوست گریپ فروت ریز پوشانی شده (DPPH)

اسانس پوست گریپ فروت مانند سایر اسانس‌های گیاهی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است، زیرا ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی این ترکیبات می‌توانند با خاموش کردن رادیکال‌های پراکسی و چلات کردن آهن از پراکسیداسیون

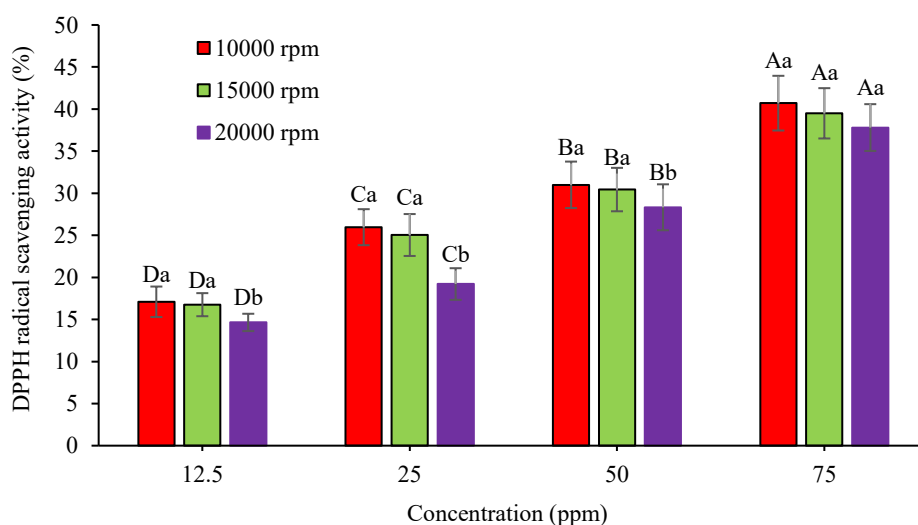


Figure 4 - The effect of Ultra-Turrax speed on the antioxidant properties of encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate gum. (*Different lower case letters in the same concentration and upper case letters in the same rpm indicate significantly different ($p < 0.05$))

همانطور که در شکل ۴ نشان داده شده است، با افزایش غلظت نانوامولسیون فعالیت آنتی اکسیدانی افزایش یافته است و اختلاف از نظر آماری معنی دار است. در تمام غلظت‌های مورد بررسی، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به آلزینات ۱۰ می‌باشد. دلیل این امر می‌تواند مرتبط با راندمان ریزپوشانی بالاتر اسانس در سرعت ۱۰۰۰۰ دور بر دقیقه باشد. پژوهش قبلی ما نشان داد، اسانس پوست گریپ فروت ریزپوشانی شده در صمغ دانه ریحان دارای فعالیت آنتی اکسیدانی است [۳۳]. کاربوفیلین و α -پنین ترکیبات شیمیایی اسانس پوست گریپ فروت به ترتیب فعالیت مهار DPPH ضعیف و متوسطی را نشان می‌دهند. محققین دیگر، فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی را در اسانس‌های غنی از مونو ترپن (دی لیمونن و α -پنین) مشاهده کردند. به طور کلی اسانس‌های غنی از ترکیبات اکسیژن دار، فعالیت ضد رادیکالی بسیار مهمی از خود نشان می‌دهند. ارتباط مستقیم بین فعالیت آنتی اکسیدانی و مقدار α -پنین وجود دارد [۳۴]. به همین ترتیب میمیکا-دوکچ و همکاران (۲۰۰۴) گزارش دادند که مونوترپن‌ها (لیمونن) و سزکوئی ترپن‌ها (کاربوفیلین) مسئول خنثی‌سازی رادیکال DPPH هستند [۳۵]. علاوه بر این، کلن و تپه (۲۰۰۸) تشخیص داده اند که مونوترپن‌ها (لیمونن و α -پنین) به تنهایی در مقایسه با ترکیبات مشابه، فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی ندارند [۳۶].

۳-۷- آنالیز رفتار جریان برشی پایا

با توجه به شکل ۵ نمونه اسانس‌های ریزپوشانی شده با صمغ آلزینات در سرعت‌های هموژنیزاسیون ۱۰۰۰۰،

۱۵۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ دارای رفتار رقیق شونده با برش هستند. با توجه به مدل‌های برازش شده (مدل پاورلا، هرشل بالکلی، کاسون و بینگهام) مدل پاورلا و هرشل بالکلی دارای R^2 بالاتری هستند. همچنین مقدار اندیس جریان مدل پاورلا (n_p) و هرشل بالکلی (n_H) $0/66 - 0/68$ به دست آمده است که رفتار رقیق شونده با برش نمونه‌ها را تایید می‌کند. اما سرعت‌های هموژنیزاسیون بر روی مقدار k_p و k_H معنی دار نبوده است ($p > 0.05$). محققین در تحقیقی اثر فشار هموژنیزاسیون روی ویژگی‌های امولسیونی و ماندگاری روغن اسانس ریحان ریزپوشانی شده را بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که هموژنیزاسیون روی ویسکوزیته امولسیون بی تاثیر بوده است [۲۵]. طبق گفته فلوری و همکاران (۲۰۰۰) اگرچه هموژنایزر در یک فشار بسیار زیاد، ویسکوزیته امولسیون را تا مقدار محدود کننده کاهش می‌دهد. این بدان معنی است که در امولسیون‌هایی با ویسکوزیته کم، مانند امولسیون‌های بر پایه صمغ عربی، اثر هموژنیزاسیون با فشار بالا بر روی ویسکوزیته احتمالاً قابل توجه نخواهد بود [۳۷]. کوفلیس و همکاران (۲۰۲۱) رفتار رقیق شونده با برش برای نانوامولسیون‌های اسانس بادرنجبویه در دیواره صمغ آلزینات گزارش نمودند [۳۸]. در پژوهش دیگر داسیلوا کامپلو و همکاران (۲۰۲۱) رفتار غیر نیوتونی رقیق شونده با برش برای نانوامولسیون‌های اسانس میخک در صمغ آلزینات و کربوکسی متیل سلولز گزارش نمودند که مطابق با نتایج پژوهش حاضر است [۳۹].

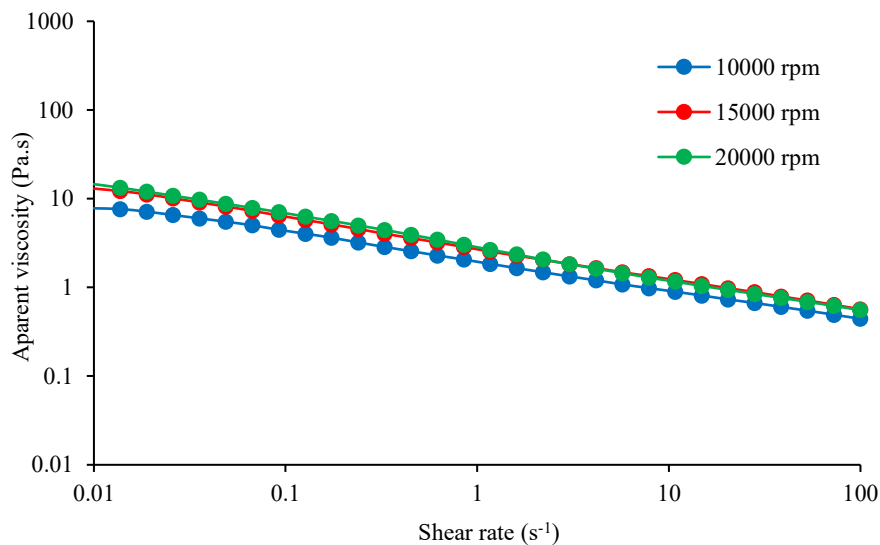


Figure 5- Flow behavior diagram encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate gum.

Table 2 - Rheological parameters of Herschel–Bulkley and Power law model for encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate gum

Ultraturrax Speed (rpm)	Power Law model			Herschel–Bulkley model			
	$K_p (\text{Pa s}^n)$	n_p	R^2	$k_H (\text{Pa} \times \text{s}^n)$	n_H	$\tau_{0H} (\text{Pa})$	R^2
10000	1.91 ± 0.05^b	0.68 ± 0.01^a	1	1.90 ± 0.04^c	0.68 ± 0.01^a	0.02 ± 0.01^a	1
15000	2.73 ± 0.03^a	0.66 ± 0.01^b	1	2.74 ± 0.04^a	0.66 ± 0.01^a	0.02 ± 0.01^a	1
20000	2.60 ± 0.17^a	0.66 ± 0.00^a	1	2.51 ± 0.13^b	0.67 ± 0.00^{ab}	0.03 ± 0.00^a	1

* Different lower case letters in the same column indicate significantly different ($p < 0.05$)

Table 3- Rheological parameters of Bingham and Casson model for encapsulated grapefruit peel essential oil with alginate gum

Ultraturrax Speed (rpm)	Bingham model			Casson model		
	$\tau_{0\beta} (\text{Pa})$	η_β	R^2	$\tau_{0c} (\text{Pa})$	η_c	R^2
10000	1.79 ± 0.06^c	0.47 ± 0.00^b	0.97	3.58 ± 0.11^c	0.21 ± 0.01^a	0.97
15000	2.56 ± 0.00^a	0.61 ± 0.05^a	0.97	5.11 ± 0.00^a	0.20 ± 0.01^a	0.98
20000	2.42 ± 0.03^b	0.58 ± 0.00^a	0.98	4.84 ± 0.07^b	0.20 ± 0.00^a	0.97

* Different lower case letters in the same column indicate significantly different ($p < 0.05$)

استفاده از سرعت‌های مختلف هموژنیزاسیون (۱۰۰۰،

۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ دور بر دقیقه) در صمغ آلژینات

نانوریزپوشانی شد. نتایج نشان داد نانوامولسیون‌های

تشکیل شده دارای اندازه نانومتری (کمتر از ۳۰۰ نانومتر)

و از PDI مناسبی برخوردار بودند. همچنین تمامی

نانوامولسیون پتانسیل زتا منفی و راندمان نانوریزپوشانی

۴- نتیجه گیری

امروزه استفاده از ترکیبات طبیعی به عنوان نگهدارنده‌های

مواد غذایی به طور فزاینده ای در میان مصرف کنندگان

محبوب شده است چراکه آن‌ها را ایمن و سالم قلمداد می-

کنند. در این پژوهش اسانس پوست گریپ فروت با

نمونه‌ها معنی دار نبود. در نهایت با توجه به پایداری بالاتر نانوامولسیون‌های تهیه شده در سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه و همچنین با در نظر گرفتن سایر پارامترهایی که در این مطالعه بررسی گردید، نانوریزپوشانی اسانس در سرعت ۱۵۰۰۰ دور بر دقیقه می‌تواند برای نانوریزپوشانی اسانس پوست گریپ فروت در دیواره صمغ آلزینات مناسب باشد.

۵- منابع

[1] Deng, W., Liu, K., Cao, S., Sun, J., Zhong, B., & Chun, J. (2020). Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *Molecules*, 25(1), 217.

[2] Sahay, S. (2015). A review on pharmacological uses of essential oil. *Int. J. Curr. Pharm. Rev. Res*, 6, 71-79.

[3] Okunowo, W. O., Oyediji, O., Afolabi, L. O., & Matanmi, E. (2013). Essential oil of grape fruit (*Citrus paradisi*) peels and its antimicrobial activities.

[4] Kavosi, G., Derakhshan, M., Salehi, M., & Rahmati, L. (2018). Microencapsulation of zataria essential oil in agar, alginate and carrageenan. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 45, 418-425.

[5] Bozkurt, T., Gülnaz, O., & Kaçar, Y. A. (2017). Chemical composition of the essential oils from some citrus species and evaluation of the antimicrobial activity. *Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology*, 11(10), 29-33.

[6] Đorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A. Nedović, V. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452-490.

[7] Choukaife, H., Doolaanea, A. A., & Alfatama, M. (2020). Alginate nanoformulation: Influence of process and selected variables. *Pharmaceuticals*, 13(11), 335.

[8] Dehghan, B., Esmaeilzadeh Kenari, R., & Raftani Amiri, Z. (2020). Nano-encapsulation of orange peel essential oil in native gums (*Lepidium sativum* and *Lepidium perfoliatum*): Improving oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(11), e14889.

[9] Radünz, M., da Trindade, M. L. M., Camargo, T. M., Radünz, A. L., Borges, C. D., Gandra, E. A., & Helbig, E. (2019). Antimicrobial and antioxidant activity of unencapsulated and encapsulated clove (*Syzygium aromaticum*, L.) essential oil. *Food Chemistry*, 276, 180-186.

[10] Granata, G., Stracquandano, S., Leonardi, M., Napoli, E., Consoli, G. M. L., Cafiso, V., . . . Geraci,

بالتر از ۷۵ درصد داشتند که ایده آل می‌باشد. نانوامولسیون اسانس پوست گریپ فروت به دلیل دارا بودن ترکیبات زیست فعال موجود در اسانس خاصیت آنتی اکسیدانی به صورت مهار رادیکال آزاد نشان داد. تجزیه و تحلیل ساختاری نانوامولسیون‌ها نشان دهنده به دام افتادن ذرات اسانس در داخل صمغ آلزینات بود. از نظر پارامترهای رئولوژیکی، اسانس‌های پوست گریپ فروت نانوریزپوشانی شده دارای رفتار رقیق شونده با برش بودند. اما سرعت‌های مختلف هموژنیزاسیون بر روی ویسکوزیته

C. (2018). Essential oils encapsulated in polymer-based nanocapsules as potential candidates for application in food preservation. *Food Chemistry*, 269, 286-292.

[11] Raeisi, S., Ojagh, S. M., Quek, S. Y., Pourashouri, P., & Salaün, F. (2019). Nano-encapsulation of fish oil and garlic essential oil by a novel composition of wall material: Persian gum-chitosan. *LWT*, 116, 108494.

[12] Razavi, R., Kenari, R. E., Farmani, J., & Jahanshahi, M. (2020). Fabrication of zein/alginate delivery system for nanofood model based on pumpkin. *International journal of biological macromolecules*, 165, 3123-3134.

[13] Naji-Tabasi, S., Razavi, S. M. A., & Mehdiabari, H. (2017). Fabrication of basil seed gum nanoparticles as a novel oral delivery system of glutathione. *Carbohydrate Polymers*, 157, 1703-1713.

[14] Himed, L., Merniz, S., Monteagudo-Olivan, R., Barkat, M., & Coronas, J. (2019). Antioxidant activity of the essential oil of citrus limon before and after its encapsulation in amorphous SiO₂. *Scientific African*, 6, e00181.

[15] Li, W., Wang, Y., Li, J., Jiao, Y., & Chen, J. (2019). Synergistic and competitive effects of monoglycerides on the encapsulation and interfacial shear rheological behavior of soy proteins. *Food Hydrocolloids*, 89, 631-636.

[16] Benavides, S., Cortés, P., Parada, J., & Franco, W. (2016). Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. *Food Chemistry*, 204, 77-83.

[17] Carmona, P. A., Tonon, R. V., da Cunha, R. L., & Hubinger, M. D. (2013). Influence of emulsion properties on the microencapsulation of orange essential oil by spray drying. *Journal of Colloid Science and Biotechnology*, 2(2), 130-139.

[18] Firoozi, M., Rezapour-Jahani, S., Shahvegharasl, Z., & Anarjan, N. (2020). Ginger essential oil nanoemulsions: Preparation and physicochemical characterization and antibacterial activities evaluation. *Journal of Food Process Engineering*, 43(8), e13434.

- [19] Ruiz Márquez, D., Partal López, P., Franco Gómez, J. M., & Gallegos Montes, C. (2010). Emulsiones alimentarias aceite-en-agua estabilizadas con proteínas de atún.
- [20] Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, M. A., Soliva-Fortuny, R., & Martín-Belloso, O. (2013). Effect of processing parameters on physicochemical characteristics of microfluidized lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions. *Food Hydrocolloids*, 30(1), 401-407.
- [21] Soliman, E. A., El-Moghazy, A. Y., El-Din, M. M., & Massoud, M. A. (2013). Microencapsulation of essential oils within alginate: formulation and in vitro evaluation of antifungal activity.
- [22] Yilmaztekin, M., Lević, S., Kalušević, A., Cam, M., Bugarski, B., Rakić, V. Nedović, V. (2019). Characterisation of peppermint (*Mentha piperita* L.) essential oil encapsulates. *Journal of microencapsulation*, 36(2), 109-119.
- [23] Shinde, U., & Nagarsenker, M. (2011). Microencapsulation of eugenol by gelatin-sodium alginate complex coacervation. *Indian journal of pharmaceutical sciences*, 73(3), 311.
- [24] Esmaeilzadeh Kenari, R., & Razavi, R. (2022). Phenolic profile and antioxidant activity of free/bound phenolic compounds of sesame and properties of encapsulated nanoparticles in different wall materials. *Food science & nutrition*, 10(2), 525-535.
- [25] Garcia, L. C., Tonon, R. V., & Hubinger, M. D. (2012). Effect of homogenization pressure and oil load on the emulsion properties and the oil retention of microencapsulated basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.). *Drying Technology*, 30(13), 1413-1421.
- [26] Purwanti, N., Zehn, A. S., Pusfitasari, E. D., Khalid, N., Febrianto, E. Y., Mardjan, S. S. Kobayashi, I. (2018). Emulsion stability of clove oil in chitosan and sodium alginate matrix. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 566-581.
- [27] Manaila, E., Berechet, M. D., Stelescu, M. D., Craciun, G., Mihaiescu, D. E., Purcareaanu, B. Radu, M. (2016). Comparation between chemical compositions of some essential oils obtained by hydrodistillation from citrus peels. *Revista de Chimie*, 67, 106.
- [28] Krekora, M., Markiewicz, K. H., Wilczewska, A. Z., & Nawrocka, A. (2023). Raman and thermal (TGA and DSC) studies of gluten proteins supplemented with flavonoids and their glycosides. *Journal of Cereal Science*, 103672.
- [29] Razmkhah, S., Mohammadifar, M. A., Razavi, S. M. A., & Ale, M. T. (2016). Purification of cress seed (*Lepidium sativum*) gum: Physicochemical characterization and functional properties. *Carbohydrate Polymers*, 141, 166-174.
- [30] Mahmoud, K. F., Ibrahim, M. A., Mervat, E. D., Shaaban, H. A., Kamil, M. M., & Hegazy, N. A. (2016). Nano-encapsulation efficiency of lemon and orange peels extracts on cake shelf life. *American Journal of Food Technology*, 11(3), 63-75.
- [31] Laurienzo, P., Malinconico, M., Motta, A., & Vicinanza, A. (2005). Synthesis and characterization of a novel alginate-poly (ethylene glycol) graft copolymer. *Carbohydrate Polymers*, 62(3), 274-282.
- [32] Ahmed, S., Rattanpal, H., Gul, K., Dar, R. A., & Sharma, A. (2019). Chemical composition, antioxidant activity and GC-MS analysis of juice and peel oil of grapefruit varieties cultivated in India. *Journal of Integrative Agriculture*, 18(7), 1634-1642.
- [33] Mohammad Kheshtchin, S., Farahmandfar, R., & Farmani, J. (2022). Effect of homogenization on encapsulation of grapefruit (*Citrus paradisi*) peel essential oil with basil seed gum. *Innovative Food Technologies*, 9(3), 223-238 [In Persian].
- [34] Wei, A., & Shibamoto, T. (2007). Antioxidant activities and volatile constituents of various essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(5), 1737-1742.
- [35] Mimica-Dukic, N., Bozin, B., Sokovic, M., & Simin, N. (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (*Lamiaceae*) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(9), 2485-2489.
- [36] Kelen, M., & Tepe, B. (2008). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia* species from Turkish flora. *Bioresource technology*, 99(10), 4096-4104.
- [37] Floury, J., Desrumaux, A., & Lardières, J. (2000). Effect of high-pressure homogenization on droplet size distributions and rheological properties of model oil-in-water emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1(2), 127-134.
- [38] Cofelice, M., Cinelli, G., Lopez, F., Di Renzo, T., Coppola, R., & Reale, A. (2021). Alginate-assisted lemongrass (*Cymbopogon nardus*) essential oil dispersions for antifungal activity. *Foods*, 10(7), 1528.
- [39] Da Silva Campelo, M., Melo, E. O., Arrais, S. P., do Nascimento, F. B. S. A., Gramosa, N. V., de Aguiar Soares, S. Ricardo, N. M. P. S. (2021). Clove essential oil encapsulated on nanocarrier based on polysaccharide: A strategy for the treatment of vaginal candidiasis. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 610, 125732.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Effect of ultraturrax speed on properties of grapefruit peel essential oil microencapsulated with alginate gum

Samaneh Mohammad Kheshtchin¹, Reza Farahmandfar^{2*}, Jamshid Farmani³

1- MSc, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

2- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Iran

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

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/5/7 Accepted:2024/12/11 Keywords: Homogenization, Microencapsulation, Alginate gum, Grapefruit peel essential oil, Rheology DOI: 10.22034/FSCT.22.162.156. *Corresponding Author E- r.farahmandfar@sanru.ac.ir	In this study, the effect of different homogenization speed (10,000, 15,000 and 20,000 rpm) on the structural, rheological and antioxidant properties of nanoencapsulated grapefruit peel essential oil coated in alginate gum wall was investigated. Increasing the homogenization speed led to a decrease in particle size (from 264.0 to 226.9 nm) and PDI index (from 0.32 to 0.19) of nanoemulsion. All nanoemulsions had negative zeta potential (-23.6 to -21.65 mV). The nanoencapsulation efficiency of the essential oil decreased from 83.92 to 78.76% with increasing the speed of homogenization. Nanoemulsion of essential oil at 4 ° C had full stability (100%) for 5 days, while at 25 ° C over time, the stability of the nanoemulsion decreased and the highest stability was related to the prepared nanoemulsions at 15000 rpm because of a smaller zeta potential. The results of Fourier transform infrared spectroscopy and differential scanning calorimetry showed that the essential oil was encapsulated by alginate. The produced nanoemulsions had antioxidant activity and with increasing the concentration of nanoemulsions, the speed of DPPH free radical scavenging increased. The highest antioxidant activity was related to the prepared nanoemulsion at 10,000 rpm. All nanoemulsions showed pseudoplastic (shear thinning) behavior. Herschel–Bulkley and Power law models had higher R^2 than other fitted models. Homogenization had almost no effect on k_p and k_H. The results of this study introduce the use of 15,000 rpm to produce a nanoemulsion of grapefruit peel essential oil in the alginate gum wall.



تولید کیک روغنی حاوی آرد گندم کامل با استفاده از اصلاح شیمیایی و آنزیمی فرمولاسیون

زهرا شیخ الاسلامی^۱، مهدی کریمی^۲، بهاره صحرانیان^{۳*}، مجتبی هادیان^۴

۱- استاد بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۲- دانشیار بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۳- استادیار گروه پژوهشی کیفیت و ایمنی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و فناوری مواد غذایی جهاددانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران.

۴- مدیرعامل و عضو هیات مدیره شرکت صنایع غذایی رضوی

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۱/۲۶

کلمات کلیدی:

کیک فراسودمند،

آرد کامل،

امولسیفایر داتم،

آنزیم زایلاناز،

سوربیتول

مسئله جداسازی سبوس از گندم به عنوان چالش اصلی برنامه تولید و مصرف گندم در کشور خودنمایی می‌کند. بجز معضلات اقتصادی ناشی از حذف سبوس به دلیل بافت سلولزی و اندازه ذرات درشت آن که از عوامل کاهش کیفیت فراورده‌های آردی سبوس‌دار است، کاهش ارزش تغذیه‌ای آرد سبوس‌گیری شده در مقایسه با آرد کامل نیز مطرح است. جهت بهبود کیفیت فراورده‌های پخت سبوس‌دار از افزودنی‌های مختلفی استفاده می‌شود. بنابراین هدف از انجام این پژوهش تولید کیک روغنی از آرد با درجه استخراج ۷۸، ۸۸ و ۹۶ درصد و استفاده از آنزیم زایلاناز (۰/۰۴ درصد)، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) (۰/۵ درصد) و قند الکلی سوربیتول (۳ درصد) و ارزیابی کمیت و کیفیت فراورده نهایی بود. نتایج نشان داد با افزایش درجه استخراج آرد و حضور افزودنی‌ها در فرمولاسیون بر رطوبت نمونه‌ها افزوده شد. با افزایش درصد سبوس (افزایش درجه استخراج) حجم مخصوص و تخلخل کیک کاهش یافت. حضور بهبوددهنده (مخلوط آنزیم، امولسیفایرها و قند الکلی) باعث افزایش این دو پارامتر شد. نمونه کیک حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، آنزیم، امولسیفایرها و قند الکلی دارای کمترین سفتی بافت طی یک ماه نگهداری بود. با افزایش درجه استخراج آرد و حضور بهبوددهنده در کیک به ترتیب سطح پوسته تیره‌تر و روشن‌تر شد. در نهایت نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و SSL و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول بیشترین امتیاز پذیرش کلی را کسب نمودند و به عنوان بهترین نمونه معرفی می‌شوند.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.171.

* مسئول مکاتبات:

Baharehsahraiyani@yahoo.com

۱- مقدمه

امروزه اکثر فراورده‌های پخت از جمله کیک از آرد نول یا مخلوطی از آرد نول و ستاره (آردهای سبوس‌گیری شده) تهیه می‌شوند که به دلیل درجه استخراج پایین، این نوع آردها دارای مقدار اندکی از مواد مغذی، ویتامین‌ها و فیبرهای رژیمی هستند [۱]. وجود ۵/۴-۸/۴ درصد اسیدفیتیک در سبوس گندم موجب محدودیت مصرف این ترکیب می‌گردد. همچنین نسبت بالای فیبرهای نامحلول به محلول، آرایینوزایلان‌های نامحلول و گلوکاتیون از جمله عوامل ایجاد مشکلات تکنولوژیکی در فراورده‌های نانوائی غنی از سبوس گندم است [۲]. تاکنون روش‌های مختلفی همچون کاهش اندازه ذرات، استفاده از آرد مالت، تخمیر، روش‌های هیدروترمال، اکستروژن کردن و تیمار با آنزیم جهت کاهش و یا حذف عوامل ضدتغذیه‌ای موجود در سبوس استفاده شده است که کاربرد روش‌های ترکیبی جهت فراوری سبوس عملکرد بهتری در کاهش اسید فیتیک و افزایش ترکیبات مغذی داشته است [۳، ۴، ۵ و ۶]. به منظور اصلاح اثرات نامطلوب سبوس گندم بر ساختار پروتئین و نشاسته، می‌توان از افزودنی‌های متداول صنعت پخت نظیر انواع آنزیم‌ها، امولسیفایرها و قندهای الکلی استفاده نمود. آنزیم زایلاناز جزو دسته مهمی از آنزیم‌های همی‌سلولازها است که پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای را به قند زایلوز و لیگوساکاریدها هیدرولیز می‌کند [۷]. آنزیم زایلاناز با شکستن پیوندهای گلیکوزیدی ساختار پایه زایلان در آرایینوزایلان‌ها، باعث کاهش درجه پلیمریزاسیون و آزادسازی اجزای کوچکتر می‌شود [۸]. در نتیجه با تبدیل آرایینوزایلان‌های غیرمحلول به فرم محلول، موجب بهبود قابلیت انعطاف خمیر و کاهش اثرات منفی آن‌ها می‌شود [۹]. آنزیم زایلاناز به منظور تثبیت ساختار خمیر، افزایش انعطاف‌پذیری آن، بهبود مقاومت گلوتن و کاهش رترورگراسیون در صنعت نانوائی استفاده می‌شود [۱۰]. امولسیفایر سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات

(SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) از جمله امولسیفایرهای متداول در صنعت پخت هستند. امولسیفایرها ترکیبات فعال سطحی هستند که نقش آن‌ها به عنوان افزودنی در صنایع نانوائی، نرم کردن بافت درونی و تولید محصولی با ماندگاری بالاست، که علت آن می‌تواند به واسطه توانایی این ترکیبات در ایجاد پیوند با پروتئین‌های گلوتهن و نشاسته باشد [۱۱]. همچنین پلی‌ال‌ها به دلیل دارا بودن خواص جاذبه الرطوبه بالا، می‌توانند باعث کاهش فعالیت آبی و بهبود بافت درونی محصولات پخت می‌شوند [۱۲]. قندهای الکلی نظیر سوربیتول به طور معمول در مواد غذایی بر پایه نشاسته به منظور بهینه‌سازی فرایند تولید و بهبود کیفیت آن‌ها از طریق اصلاح ژلاتیناسیون و رترورگراسیون نشاسته مورد استفاده قرار می‌گیرند [۱۳]. در زمینه کاربرد آنزیم زایلاناز، امولسیفایرها و قند الکلی سوربیتول در فراورده‌های پخت مطالعات متعددی انجام شده است. مطالعات لو و همکاران (۲۰۲۰) نشان داد که افزودن آنزیم زایلاناز به فاز مایع خمیر حاصل از آرد کامل گندم موجب تشکیل ساختار لایه‌ای قوی‌تر در سطح مشترک هوا-آب در خمیر شد که به علت ایجاد پیوند عرضی میان پروتئین-پلی‌ساکارید و پروتئین-پروتئین بود و در نتیجه این امر ساختار فومی خمیر پایدارتر شد [۱۴]. دودو و همکاران (۲۰۲۰) بیان کردند افزودن امولسیفایر SSL به نان حاصل از مخلوط آرد گندم و کاساوا موجب کاهش رترورگراسیون آمیلوپکتین (کاهش بیاتی) طی مدت زمان ماندگاری شد. همچنین اضافه کردن این امولسیفایر نقش مهمی در افزایش جذب آب و خصوصیات پایداری خمیر و در نتیجه افزایش حجم و کاهش سفتی بافت داشت [۱۵]. بهیس و کار (۲۰۱۷) با بررسی اثر پلی‌ال‌ها (مانیتول، سوربیتول و گلیسرول) و فیبرهای مختلف (جو دوسر، اسفرزه و جو) بر کیفیت نان مشاهده کردند افزودن ۴ درصد سوربیتول به نان‌های حاوی فیبر سبب کاهش سفتی بافت درونی نان شد که این امر تحت

تاثیر افزایش ظرفیت نگهداری آب توسط پلی‌ال‌ها بود [۱۶]. بنابراین با توجه به نقش مثبت آنزیم زایلاناز، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) و قند الکلی سوربیتول در بهبود کمیت و کیفیت فراورده‌های پخت از جمله دسته حاوی آرد کامل یا آردهای سبوس‌دار، هدف از انجام این تحقیق اصلاح شیمیایی و آنزیمی آرد کامل جهت تولید کیک روغنی سبوس‌دار بود.

۲-مواد

آرد گندم (با سه درجه استخراج ۷۸، ۸۸ و ۹۶ درصد) از کارخانه آرد رضا تهیه و در انبار خشک و خنک نگهداری شد. همچنین سایر مواد شامل مواد شیمیایی از شرکت مرک (آلمان)، شکر، نمک، روغن نباتی مایع و بیکینگ پودر از یک فروشگاه قنادی خریداری گردید. تخم مرغ تازه یک روز قبل از تولید کیک روغنی تهیه و در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) از شرکت پارس بهبود (مشهد)، آنزیم زایلاناز و قند الکلی سوربیتول از شرکت بتازن (دانشگاه فردوسی مشهد) تهیه شد.

۳-روش‌ها

۳-۱-تهیه کیک روغنی

به منظور تولید کیک روغنی ابتدا مواد اولیه شامل آرد (۱۰۰ گرم) (با درجه استخراج ۷۸، ۸۸ و ۹۶ درصد)، شکر (۷۲ گرم)، روغن مایع (۵۷ گرم)، تخم‌مرغ (۷۲ گرم)، شیر خشک (۲ گرم)، نمک طعام (۱ گرم)، وانیل (۰/۵ گرم)، بیکینگ پودر (۱/۳۴ گرم) و آب (به مقدار لازم) توزین شدند. جهت تهیه کیک روغنی در مرحله اول روغن و پودر شکر با هم مخلوط و توسط یک همزن برقی (Electra EK-230M, Japan) با سرعت ۱۲۸ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه همزده تا کرم روشنی با حباب‌های هوا ایجاد و تخم مرغ در چهار مرحله به مخلوط کرمی اضافه شد. در پایان آب اضافه گردید و مخلوط یکنواختی ایجاد شد. در ادامه مخلوط تهیه شده داخل کپسول‌های کیک روغنی

ریخته و پخت آن در فر آزمایشگاهی گردان (Zucchelli Forni, Italy) با دمای ۱۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۳۰ دقیقه انجام شد. سپس کیک روغنی‌های پخت شده در دمای اتاق خنک و در بسته‌بندی‌های پلی‌اتیلنی به منظور انجام آزمایشات نگهداری شدند. این پژوهش دارای ۶ تیمار به شرح زیر بود:

تیمار ۱: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده.

تیمار ۲: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول.

تیمار ۳: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد و فاقد بهبوددهنده.

تیمار ۴: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول.

تیمار ۵: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۹۶ درصد و فاقد بهبوددهنده.

تیمار ۶: نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۹۶ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول.

۳-۲-رطوبت

جهت انجام این آزمایش از استاندارد AACC، ۲۰۰۰ شماره ۱۶-۴۴ استفاده شد. برای این منظور نمونه‌ها در فاصله زمانی ۲ ساعت، یک و دو هفته و یک ماه پس از پخت در آون با حرارت ۱۰۵-۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت [۱۷].

۳-۳-حجم مخصوص

برای این منظور در فاصله زمانی ۲ ساعت، ابتدا از روش جایگزینی حجم با دانه کلزا مطابق با استاندارد AACC، ۲۰۰۰ شماره ۱۰-۷۲ حجم یک عدد کیک (نمونه کامل) و

سپس با استفاده از ترازو جرم همان نمونه اندازه گیری شد. در انتها از تقسیم حجم به جرم، حجم مخصوص براساس میلی لیتر بر گرم گزارش گردید [۱۷].

۳-۴- تخلخل

به منظور ارزیابی میزان تخلخل بافت درونی کیک روغنی در بازه زمانی ۲ ساعت پس از پخت، از تکنیک پردازش تصویر استفاده شد. بدین منظور برشی به ابعاد ۲ در ۲ سانتی متر از بافت درونی کیک روغنی با استفاده از چاقو اره ای برقی ۱۲۰ وات مدل ۴۱۶۰۰ تهیه و به وسیله اسکنر (مدل: HP Scanjet G3010) با وضوح ۳۰۰ پیکسل تصویربرداری شد. تصویر تهیه شده در اختیار نرم افزار Image J قرار گرفت. با فعال کردن قسمت ۸ بیت، تصاویر سطح خاکستری ایجاد خواهد شد. جهت تبدیل تصاویر خاکستری به تصاویر دودویی، قسمت دودویی نرم افزار فعال شد. در عمل با فعال کردن قسمت آنالیز نرم افزار، این نسبت محاسبه و درصد تخلخل نمونه ها اندازه گیری شد [۱۸].

۳-۵- بافت

ارزیابی بافت کیک روغنی در فاصله زمانی ۲ ساعت، یک و دو هفته و یکماه پس از پخت، با استفاده از دستگاه بافت سنج QTS مدل CNS Farnell, UK ساخت کشور انگلستان انجام گرفت. حداکثر نیروی مورد نیاز برای نفوذ یک پروب با انتهای استوانه ای (۲ سانتی متر قطر در ۲/۳ سانتی متر ارتفاع) با سرعت ۶۰ میلی متر در دقیقه از مرکز کیک، به عنوان شاخص سفتی محاسبه شد. نقطه شروع و نقطه هدف به ترتیب ۰/۰۵ نیوتن و ۲۵ میلی متر بود [۱۹].

۳-۶- رنگ پوسته

آنالیز رنگ پوسته در فاصله زمانی ۲ ساعت پس از پخت، از طریق تعیین سه شاخص L^* ، a^* و b^* صورت پذیرفت. جهت اندازه گیری این شاخص ها ابتدا برشی به ابعاد ۲ در ۲ سانتی متر از پوسته تهیه شد و به وسیله اسکنر (مدل: HP Scanjet G3010) با وضوح ۳۰۰ پیکسل تصویر برداری شد. سپس تصاویر در اختیار نرم افزار Image J قرار گرفت.

با فعال کردن فضای LAB در بخش Plugins، شاخص های فوق محاسبه شد [۲۰].

۳-۷- ویژگی های حسی

بدین منظور ۱۰ داور انتخاب شد. سپس خصوصیات حسی کیک روغنی از نظر فرم و شکل، خصوصیات سطح بالایی، پوکی و تخلخل، سفتی و نرمی بافت، قابلیت جویدن و بو، طعم و مزه ارزیابی شد. ضریب ارزیابی صفات از بسیار بد (۱) تا بسیار خوب (۵) و براساس هدونیک ۵ نقطه ای بود. خصوصیات بررسی شده در ارزیابی حسی به یک اندازه مؤثر نیستند. بنابراین پس از بررسی منابع به هریک از ویژگی ها، ضریب رتبه ای داده شد. ضریب رتبه صفات به ترتیب ۴، ۲، ۱، ۲، ۲، ۳ و بود. نهایت امتیاز پذیرش کلی که تحت تأثیر سایر پارامترهای ارزیابی شده به همراه ضریب آن ها بود، گزارش شد [۲۱].

۳-۸- تجزیه و تحلیل آماری

تحلیل آماری داده ها در قالب یک طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم افزار Mini-Tab نسخه ۱۷ در سطح معنی داری ۵ درصد انجام شد. برای مقایسه میانگین از روش توکی استفاده شد. علاوه بر این شکل ها با نرم افزار MS-Office Excel، نسخه ۲۰۱۰ ترسیم شدند.

۴- نتایج و بحث

۴-۱- رطوبت

جدول ۱ نشان دهنده میزان رطوبت نمونه های تولیدی طی یک ماه نگهداری (۲ ساعت، یک و دو هفته و یک ماه پس از پخت) است. همانطور که نتایج نشان می دهد با افزایش درجه استخراج آرد و حضور آنزیم زایلاناز، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲- لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) و قند الکلی سوربیتول بر میزان رطوبت نمونه های کیک افزوده شد. به طوری که کمترین میزان رطوبت در نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده (تیمار ۱) و بیشترین میزان آن به طور مشترک در نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲- لاکتیلات

و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول و در نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۹۶ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول مشاهده شد. لازم به ذکر است در تمام نمونه‌های تولیدی میزان رطوبت طی یک ماه نگهداری کاهش یافت که افت رطوبت در نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده بیش از سایر نمونه‌ها بود. تیان و همکاران (۲۰۲۰) با بررسی عملکرد آنزیم زایلاناز بر رطوبت نان حاوی آرد کامل گزارش کردند، نمونه‌های حاوی این آنزیم در حفظ رطوبت طی فرایند پخت موفق‌تر از نمونه‌های فاقد این آنزیم عمل کردند و حضور این آنزیم در نان سبوس‌دار منجر به کاهش افت وزن طی مدت زمان نگهداری شد [۲۲]. شاه و همکاران (۲۰۰۶) به این نتیجه دست یافتند که استفاده از آنزیم زایلاناز در فرمولاسیون نان حاوی آرد کامل منجر به حفظ ۸ درصد رطوبت بیشتر در مقایسه با نمونه شاهد (فاقد آنزیم) شد [۲۳]. پورفرزاد و همکاران (۲۰۱۱) از سطوح ۱ و ۵ درصد قند الکلی سوربیتول در نان غنی‌شده با فیبر استفاده کردند. براساس گزارشات این محققان مشخص شد حضور قندهای الکلی در فرمولاسیون فراورده‌های پخت باعث افزایش محتوای رطوبت نسبت به نمونه شاهد شد [۲۴]. وجود گروه‌های هیدروکسیل در ساختار قندهای الکلی موجب ایجاد ظرفیت بالایی برای

اتصال با مولکول‌های آب در آن‌ها می‌شود که در نتیجه آن از خروج رطوبت طی فرایند پخت و مدت زمان نگهداری جلوگیری می‌کند [۲۵]. دینگ و همکاران (۲۰۱۹) نیز حضور قندهای الکلی از جمله سوربیتول رو یکی از اجزای مهم فرمولاسیون جهت حفظ رطوبت فراورده‌های صنعت پخت می‌دانند. دارا بودن گروه‌های آلدوست و آبگریز در زنجیره امولسیفایرها موجب ایجاد خصوصیات عملگرایی در آن‌ها می‌شود. این بدین معناست که ساختار مولکولی این ترکیبات به صورت همزمان تمایل به قرارگیری به سمت ترکیبات روغنی به دلیل دارا بودن سر غیرقطبی و تمایل جهت اتصال به مولکول‌های آب به دلیل دارا بودن سر قطبی دارد. از این رو افزودن این ترکیبات به ساختار-های غذایی موجب قرارگیری آن‌ها در سطح مشترک آب و روغن در ماتریکس ترکیبات حاضر می‌گردد. گروه‌های آلدوست زنجیره امولسیفایر با ایجاد اتصال با آب آزاد، ظرفیت نگهداری آب را افزایش داده و به نوبه خود اثر بازدارندگی در کاهش رطوبت نشان می‌دهد [۲۶]. پورفرزاد و همکاران (۲۰۱۴) نیز دریافتند امولسیفایرها با دارا بودن خاصیت آب دوستی، نسبت به سایر اجزای نان توانایی برقراری پیوندهای قوی‌تری با مولکول‌های آب دارد و از این طریق از مهاجرت رطوبت از مغز به پوسته ممانعت می‌کنند [۲۷].

Table 1- The effect of treatments on the moisture of cupcakes during one month.

Treatments	Moisture (%)			
	2 hours	1 week	2 week	1 month
1	19.2±0.7 ^c	18.0±0.4 ^b	15.6±0.7 ^d	14.1±0.8 ^d
2	20.1±0.2 ^b	19.7±0.9 ^a	18.2±0.2 ^b	17.2±0.5 ^b
3	19.9±0.1 ^b	18.4±0.2 ^b	16.8±0.5 ^c	14.9±0.2 ^c
4	21.2±0.8 ^a	20.9±0.1 ^a	20.2±0.9 ^a	18.9±0.4 ^a
5	20.3±0.2 ^b	18.3±0.5 ^b	17.1±0.2 ^c	15.2±0.9 ^c
6	21.5±0.4 ^a	21.0±0.7 ^a	19.8±0.3 ^a	19.2±0.3 ^a

Different letters in each column represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

همچنین نتایج به وضوح نشان داد حضور بهبوددهنده (آنزیم، امولسیفایر و قند الکلی) در فرمولاسیون کیک روغنی باعث افزایش حجم نمونه‌ها شد. عملکرد مثبت بهبوددهنده بر نمونه حاوی آرد ۸۸ درصد بیش از نمونه‌های حاوی آرد ۷۸ و ۹۶ درصد بود. از این رو نمونه

۲-۴-حجم مخصوص
شکل ۱ نشان‌دهنده میزان حجم مخصوص نمونه‌های تولیدی است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد با افزایش درصد سبوس در فرمولاسیون (افزایش درجه استخراج) میزان حجم مخصوص نمونه‌های کیک کاهش یافت.

کیک حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول از بیشترین و نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۹۶ درصد و فاقد بهبوددهنده کمترین حجم مخصوص را در مقایسه با سایر نمونه‌های تولیدی داشت. سبوس گندم با دارا بودن ظرفیت نگهداری آب بالاتر نسبت به سایر اجزای خمیر، می‌تواند باعث تولید نانی با جرم بیشتر گردد. اگرچه بین ظرفیت نگهداری آب سبوس گندم و حجم، رابطه منفی وجود دارد. تفاوت در رفتار اتصال آب و توزیع پروتون در سبوس، به طور عمده به حضور سلولز، آرابینوزایلان‌های نامحلول و لیپیدها بستگی دارد [۲۸]. آرابینوزایلان‌ها یکی از مهم‌ترین فیبرهای رژیمی موجود در سبوس گندم و ترکیب اصلی ساختار دیواره سلولی آن هستند که می‌توانند بر خصوصیات فیزیکی و شیمیایی فراورده‌های پخت اثرگذار باشند. آرابینوزایلان‌های نامحلول از طریق رقابت برای جذب با پروتئین‌ها، مانع از توسعه شبکه گلوتهنی و در نتیجه ناپایداری ساختار خمیر می‌شوند [۲۹]. همچنین اثر تضعیف‌کنندگی سبوس گندم بر حجم می‌تواند به دلیل ممانعت از گسترش سلول‌های گاز تا حد بهینه باشد. این اثر از طریق ایجاد یک مانع فیزیکی به وسیله ذرات فیبر موجود در سبوس در اطراف سلول‌های گازی، نمود پیدا می‌کند [۲۸]. بات و همکاران (۲۰۲۰)، گوشال و همکاران (۲۰۱۷)، شیخ الاسلامی و همکاران (۲۰۲۱) و تبان و همکاران (۲۰۲۰) حضور آنزیم زایلاناز در فرمولاسیون فراورده‌های پخت حاوی آرد کامل یا سبوس‌دار را عاملی موثر بر افزایش حجم دانستند [۳۰، ۳۱، ۳۲ و ۲۲]. مکانیسم‌های متعددی باعث ایجاد توانایی افزایش حجم

فراورده‌های پخت حاصل از آرد کامل گندم به وسیله آنزیم زایلاناز می‌شود. آنزیم زایلاناز آرابینوزایلان‌های غیرقابل استخراج با آب را به فرم قابل استخراج با آب تبدیل می‌کند که این امر باعث بهبود ظرفیت نگهداری گاز در خمیر حاوی آرد کامل و در نتیجه افزایش حجم می‌شود [۱۰]. به علاوه آنزیم زایلاناز پلی‌ساکاریدهای غیرنشاسته‌ای را به ساکاریدهای کوتاه زنجیر تجزیه می‌کند که این ترکیبات نسبت به پلی‌ساکاریدها مداخله کمتری در تشکیل شبکه گلوتهنی می‌کنند [۳۳]. از سوی دیگر نقش امولسیفایرهای SSL و داتم و قند الکلی سوربیتول را در افزایش حجم مخصوص نمونه‌های کیک نباید نادیده گرفت. این افزایش حجم تحت تاثیر حضور امولسیفایرها در فرمولاسیون فراورده‌های پخت را می‌توان مرتبط با فراهم آوردن مقدار آب زیاد به وسیله این افزودنی‌ها در ماتریکس آرد دانست که سبب تسهیل برقراری پیوندهای عرضی میان پروتئین و نشاسته و تشکیل شبکه گلوتهنی قوی‌تر می‌شود که طی فرایند پخت دارای ظرفیت نگهداری گاز بالاتری هستند [۳۴]. زو و همکاران (۲۰۱۶) با افزودن قند الکلی سوربیتول در فرمولاسیون نان حاصل از آرد سفید گزارش کردند استفاده از این افزودنی در مقادیر کمتر از ۸ درصد منجر به افزایش حجم مخصوص شد. این در حالی بود که با استفاده نامناسب از سوربیتول (سطوح بیش از ۸ درصد) اثر عکس (کاهش حجم مخصوص) مشاهده گردید [۳۵]. افزایش بیش از حد قندهای الکلی در فرمولاسیون فراورده‌های پخت سبب کاهش هیدراتاسیون شبکه گلوتهنی و پیوستگی این شبکه و در نتیجه کاهش ظرفیت نگهداری گاز در خمیر و حجم مخصوص فراورده نهایی می‌شود [۳۶].

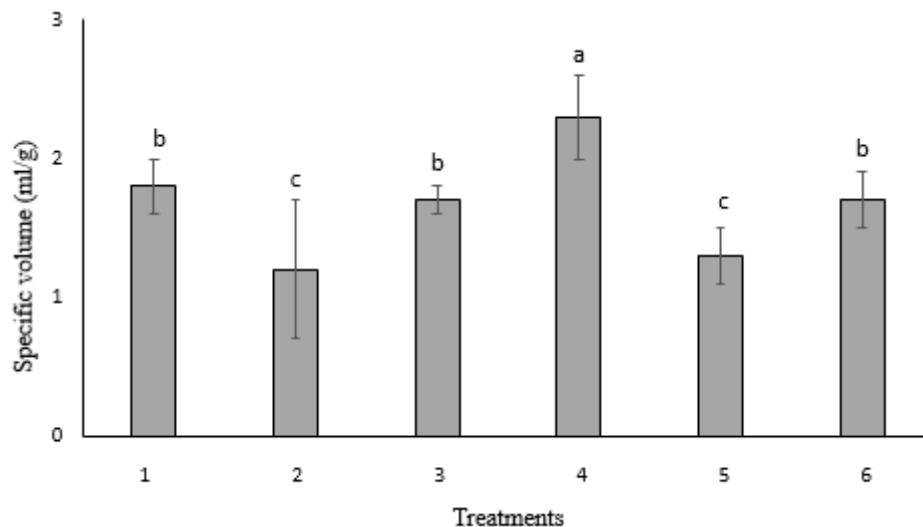


Fig 1- The effect of treatments on the specific volume of cupcakes.
Different letters represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

۳-۴- تخلخل

(۲۰۱۷) براساس نتایج مطالعه خود نمودند خلل و فرج و منافذ بزرگتری در خمیر نان‌های حاصل از آرد کامل حاوی آنزیم زایلاناز در مقایسه با نان شاهد مشاهده شد. علت این امر انتشار میزان بیشتری از حباب‌های گاز در نان حاوی این آنزیم گزارش شد. این در حالی بود که در نان شاهد ساختار غیریپوسته با تعداد حفرات کمتر بود [۳۱]. دودو و همکاران (۲۰۲۰) در خصوص اثر افزودن امولسیفایر به فرمولاسیون فراورده‌های پخت به این نتیجه دست یافتند که امولسیفایرها باعث افزایش تعداد حفرات، فراکسیون سطح آن‌ها و افزایش تخلخل بافت درونی این دسته از محصولات می‌شوند که این امر منطبق با جذب آب بالا به وسیله امولسیفایرها و بهبود خصوصیات مرتبط با پایداری خمیر و افزایش ظرفیت نگهداری گاز در آن است [۱۵]. پژوهش پورفرزاد و همکاران (۲۰۱۲) نیز نشان داد امولسیفایر سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر افزایش اندازه سلول‌ها و تخلخل مغز نان داشت. این محققان گزارش کردند حصول چنین نتیجه‌ای به علت برهمکنش امولسیفایر SSL با اجزای آرد و افزایش ظرفیت نگهداری گاز در شبکه گلوتهنی بود. طی فرایند پخت سلول‌های گاز با اندازه کوچک به حباب‌های گاز با

شکل ۲ نشان‌دهنده میزان تخلخل نمونه‌های تولیدی است. همانطور که نتایج نشان می‌دهد بین درصد استخراج آرد و میزان تخلخل رابطه عکس وجود داشت. بدین معنا که با افزایش میزان سبوس در فرمولاسیون کیک (افزایش درجه استخراج آرد) از میزان تخلخل نمونه‌های تولیدی کاسته شد. همچنین نتایج نشان داد حضور بهبوددهنده (آنزیم، امولسیفایر و قند الکلی) در فرمولاسیون کیک‌های روغنی سبوس‌دار باعث افزایش میزان تخلخل نمونه‌ها شد که به نظر می‌رسد، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) در افزایش میزان تخلخل نمونه‌های تولیدی نقش موثری داشتند. بیشترین میزان تخلخل به طور مشترک در نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده (تیمار ۱) و نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول (تیمار ۴) مشاهده شد. پاکیا-داس و همکاران (۲۰۱۹) گزارش کردند افزودن مقادیر بالای سبوس به نان باعث تضعیف ساختار حفرات مغز نان و کاهش میزان تخلخل شد [۳۷]. گوشال و همکاران

اندازه بزرگتر می پیوندند و هرچه میزان بهم آمیختگی آن‌ها بیشتر باشد اندازه حفرات مغز نان بیشتر می شود [۳۸].

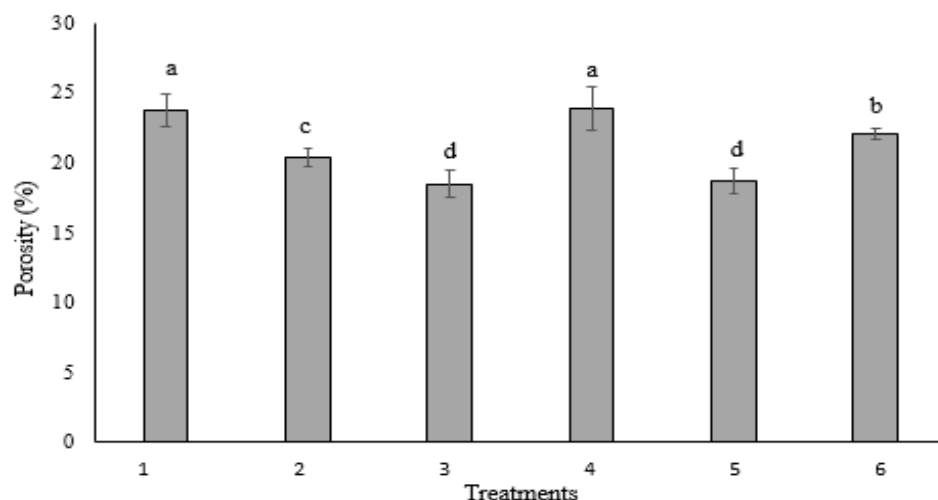


Fig 2- The effect of treatments on the porosity of cupcakes. Different letters represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول دارای کمترین میزان سفتی بافت بود. سبوس گندم از طریق از هم گسیختن پیوندهای عرضی میان نشاسته و گلوتن، موجب کاهش الاستیسیته و افزایش سفتی بافت درونی فراورده‌های نانویی می شود [۳۹]. همچنین فیبرهای رژیمی موجود در سبوس به خصوص انواع نامحلول آن‌ها به طور معمول باعث تضعیف بافت محصولات پخت می گردد که علت آن رقابت برای جذب آب بین آن‌ها و شبکه گلوتنی است [۴۰]. بات و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند آنزیم زایلاناز به واسطه افزایش فیبرهای محلول و بهبود جذب آب در شبکه گلوتن- نشاسته باعث کاهش سفتی مغز نان شد [۳۰]. از طرفی باید گفت امولسیفایرها در فراورده‌های پخت به عنوان تقویت کننده ساختار خمیر عمل می کنند و ساختاری لایه لایه در سطح مشترک گلوتن و نشاسته تشکیل می دهند و موجب توسعه شبکه گلوتنی می شوند. همچنین از طریق بهبود خصوصیات رئولوژیکی خمیر از جمله افزایش خصوصیات پایداری خمیر و گسترش پذیری آن در محصولات پخت حاوی آرد کامل و غنی شده با سبوس، موجب کاهش سفتی می شوند [۴۱]. سوربیتول نیز از طریق بهبود ظرفیت نگهداری آب در شبکه گلوتنی، باعث افزایش

۴-۴-بافت

جدول ۲ نشان دهنده میزان سفتی بافت نمونه‌های تولیدی طی یک ماه نگهداری (۲ ساعت، یک و دو هفته و یک ماه پس از پخت) است. همانطور که نتایج نشان می دهد با افزایش درجه استخراج آرد بر سفتی بافت نمونه‌های تولیدی افزوده شد. این در حالی بود که حضور آنزیم زایلاناز، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) و قند الکلی سوربیتول منجر به کاهش سفتی بافت کیک‌ها شدند. همچنین نتایج بیانگر افزایش میزان سفتی بافت تمام نمونه‌های تولیدی بود. لازم به ذکر است در روزهای اول نگهداری نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده (تیمار ۱) و نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول (تیمار ۴) دارای کمترین میزان سفتی بافت در مقایسه با سایر نمونه‌های تولیدی داشت. در حالی که پس از یک ماه نگهداری کیک‌ها نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم

(۲۰۲۱) استفاده از امولسیفایر و آنزیم زایلاناز به طور همزمان را عاملی موثر بر بهبود بافت نان حاوی آرد با درجات مختلف استخراج (۸۸ و ۹۶ درصد) دانستند [۳۲].

نرمی بافت درونی محصولات نانوائی می شود. در واقع ترکیب فیبرها و قندهای الکلی باعث بهبود ویژگی های بافتی و نرمی بافت می شود. این امر می تواند بنا به افزایش ظرفیت نگهداری آب در اثر افزودن فیبرها و خاصیت جذب آب پلی آل ها باشد [۳۵]. شیخ الاسلامی و همکاران

Table 2- The effect of treatments on the firmness of cupcakes during one month.

Treatments	Firmness (N)			
	2 hours	1 week	2 week	1 month
1	5.2±1.3 ^c	7.9±0.4 ^b	12.1±0.2 ^c	22.1±0.4 ^a
2	7.7±1.9 ^b	8.3±1.7 ^a	14.7±0.5 ^b	19.5±0.5 ^b
3	9.0±1.2 ^a	12.8±0.2 ^b	19.2±0.2 ^a	20.2±0.2 ^b
4	4.9±0.8 ^c	6.1±0.2 ^a	8.9±0.9 ^d	9.4±0.7 ^d
5	9.2±0.2 ^a	12.2±1.4 ^b	14.5±0.6 ^b	20.2±0.3 ^b
6	7.4±0.9 ^b	6.5±0.1 ^a	9.2±0.5 ^d	12.2±0.3 ^c

Different letters in each column represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

کردند آنزیم زایلاناز باعث افزایش روشنایی نان حاوی آرد کامل گندم شد [۴۲]. افزایش مولفه رنگی L^* در فراورده های نانوائی حاوی آنزیم زایلاناز ممکن است به واسطه توانایی این آنزیم در تبدیل آرابینوزایلان ها از فرم نامحلول به محلول و جذب آب آزاد شده از پتوزان ها به وسیله شبکه گلوتهنی باشد. این امر نشان می دهد که فراورده های نانوائی با جذب آب بیشتر دارای پارامتر روشنایی بالاتری هستند [۴۳]. ماتسوهیتا و همکاران (۲۰۱۷) دریافتند که افزودن آنزیم زایلاناز به نان حاوی آرد کامل گندم منجر به کاهش میزان قرمزی (a^*) پوسته نان در مقایسه با نمونه فاقد آنزیم شد [۳۳]. گوشال و همکاران (۲۰۱۶) حضور آنزیم زایلاناز در نان تهیه شده از آرد کامل را عاملی بر افزایش زردی (b^*) دانستند [۴۴]. امولسیفایرها نیز با توجه به ظرفیت جذب آب بالا و افزایش جذب آب در خمیر، با رقیق سازی آمینواسیدها و قندها موجب افزایش پارامترهای روشنایی پوسته فراورده های نانوائی می شوند [۴۵]. احمد (۲۰۱۶) و بهیس و کار (۲۰۱۴) گزارش کردند قندهای الکلی از جمله سوربیتول منجر به افزایش روشنایی و کاهش زردی پوسته نان شد که علت آن عدم شرکت قندهای الکلی در واکنش میلارد و برهمکنش با آمینواسیدها بود [۴۶ و ۳۶].

۴-۵-رنگ پوسته (مولفه های $L^*a^*b^*$)

جدول ۳ نشان دهنده مولفه های $L^*a^*b^*$ پوسته نمونه های تولیدی است. همانطور که نتایج نشان می دهد با افزایش درجه استخراج آرد از میزان روشنایی (L^*) و زردی (b^*) کاسته و بر میزان قرمزی (a^*) افزوده شد. این در حالی بود که حضور مجموع آنزیم زایلاناز، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) و قند الکلی سوربیتول در قالب یک بهبوددهنده منجر به افزایش روشنایی (L^*) و کاهش زردی (b^*) و قرمزی (a^*) پوسته نمونه های کیک شد. ایجاد رنگ قهوه ای مایل به زرد در پوسته فراورده های نانوائی یکی از عوامل نشان دهنده کیفیت محصول است. اما افزودن مقادیر بالای سبوس گندم در این دسته از محصولات، باعث کاهش روشنایی پوسته می شود، زیرا وجود قندهای احیاکننده در سبوس گندم نقش مهمی در واکنش های قهوه ای شدن غیرآنزیمی دارد و در نتیجه موجب کاهش مولفه رنگی L^* می شود [۴۱ و ۳۱]. گوشال و همکاران (۲۰۱۳) بیان نمودند غنی سازی نان با ذرات سبوس گندم، منجر به کاهش رنگ زرد و ایجاد رنگ قرمز مایل به خاکستری در پوسته شد. این محققان نیز گزارش

Table 3- The effect of treatments on the crust color of cupcakes

Treatments	Crust color values		
	L^*	a^*	b^*

1	52.07±1.92 ^b	6.52±0.77 ^c	23.41±0.09 ^a
2	55.49±1.76 ^a	5.87±0.19 ^d	20.97±1.87 ^b
3	47.09±1.21 ^c	8.41±1.24 ^a	20.31±0.76 ^b
4	50.94±0.22 ^b	7.28±1.09 ^b	18.58±0.25 ^c
5	45.81±0.95 ^d	8.53±0.21 ^a	18.98±1.80 ^c
6	48.04±1.89 ^c	7.40±0.38 ^b	18.21±0.59 ^c

Different letters in each column represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

(۲۰۱۳) در خصوص تاثیر آنزیم زایلاناز بر کیفیت نان تولید

شده با آرد کامل گندم نیز حاکی از بهبود قابل توجه ویژگی های حسی نان حاوی آنزیم زایلاناز بود. براساس نتایج این محققان مشخص شد نان های حاوی آنزیم زایلاناز بافت نرم تر، ساختار سلولی یکنواخت تر (تخلخل بیشتر) و بو و مزه بهتری نسبت به نمونه های فاقد این افزودنی داشتند [۴۲]. کومار و ساتینانا (۲۰۱۴) گزارش کردند افزودن آنزیم زایلاناز به حاصل از آرد گندم کامل منجر به افزایش امتیاز ویژگی های حسی شد و نمونه های تولیدی مورد استقبال مصرف کنندگان شد [۴۷]. همچنین مطالعات شیخ الاسلامی و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد بیشترین امتیاز ویژگی های حسی نان حاوی آرد سبوس دار به نان های حاوی مخلوط آنزیم زایلاناز و امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) تعلق گرفت. این فرضیه مطرح است که ترکیب امولسیفایرها و آنزیم زایلاناز، باعث ایجاد ساختار همگن و یکنواخت در بافت فراورده های پخت می شود که در آن گرانول های نشاسته، پیوند نزدیکی با پروتئین های گلوتنی دارند [۳۲]. دینگ و یانگ (۲۰۲۱) افزودن قند الکلی سوربیتول به فراورده های نانوائی را عاملی موثر در بهبود ویژگی های حسی به ویژه سفتی و نرمی بافت و قابلیت جویدن از طریق افزایش ظرفیت اتصال آب به اجزای آرد دانست [۲۵].

۶-۴- ویژگی های حسی

جدول ۴ و شکل ۳ به ترتیب نشان دهنده امتیاز ویژگی های حسی و پذیرش کلی نمونه های تولیدی است. همانطور که نتایج نشان می دهد در بین نمونه های فاقد بهبوددهنده، نمونه تهیه شده از آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد از بیشترین امتیاز فرم و شکل، پوکی و تخلخل، قابلیت جویدن و سفتی و نرمی بافت برخوردار بود. این بدین معناست که نمونه کیک های سبوس دار در غیاب بهبوددهنده (آنزیم زایلاناز، امولسیفایرهای سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات (SSL) و استرهای مونو و دی گلیسرید تارتاریک اسید (داتم) و قند الکلی سوربیتول) نتوانستند رضایت حداکثری ارزیابان حسی را به لحاظ پارامترهای بافتی کسب کنند و افزایش درجه استخراج آرد با کسب امتیاز این چهار ویژگی حسی رابطه عکس داشت. این در حالی بود که بیشترین امتیاز ویژگی های حسی و در نهایت امتیاز پذیرش کلی به نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۰۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲-لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول تعلق گرفت. سبوس گندم باعث تضعیف ویژگی های بافتی و ایجاد مزه و بوی نامطلوب در نان می شود [۸]. بررسی گوشال و همکاران

Table 3- The effect of treatments on the crust color of cupcakes

Treatments	Sensory properties					
	Form	upper surface	Texture	Porosity	Chewiness	Odor&Taste
1	3.40±0.96 ^b	4.00±0.81 ^b	4.00±0.47 ^a	3.20±0.44 ^b	3.00±0.87 ^b	4.40±0.81 ^a
2	3.30±0.48 ^b	3.30±0.67 ^c	2.80±0.78 ^c	3.30±0.51 ^b	2.80±0.56 ^b	3.30±0.67 ^b
3	3.70±0.95 ^b	2.50±0.53 ^d	2.60±0.56 ^c	4.00±0.85 ^a	3.00±0.49 ^b	3.30±0.53 ^b
4	4.20±0.92 ^a	4.80±0.42 ^a	4.00±0.81 ^a	4.20±0.82 ^a	4.10±0.78 ^a	4.20±0.42 ^a
5	2.40±0.51 ^c	2.70±0.67 ^d	1.90±0.57 ^d	2.60±0.51 ^c	2.20±0.64 ^c	3.10±0.67 ^b
6	4.10±0.60 ^a	3.90±0.87 ^b	3.40±0.52 ^b	4.10±0.58 ^a	3.90±0.55 ^a	4.20±0.87 ^a

Different letters in each column represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

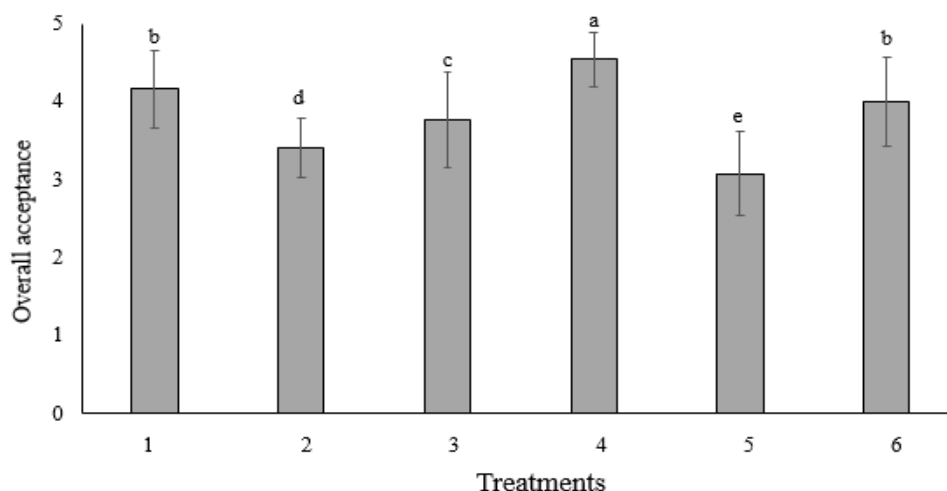


Fig 3- The effect of treatments on the overall acceptance of cupcakes. Different letters represent significant differences from one another ($p < 0.05$).

و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول به لحاظ سفتی بافت، حجم مخصوص، تخلخل، رنگ و ویژگی‌های حسی نسبت به سایر نمونه‌های تولیدی حتی نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۷۸ درصد و فاقد بهبوددهنده و نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲- لاکتیلات و ۳ درصد قند الکلی سوربیتول برتری داشت و به عنوان بهترین نمونه این مطالعه به لحاظ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و حسی معرفی می‌گردد و تاییدکننده موفقیت تولید کیک روغنی سبوس‌دار با اصلاح شیمیایی (امولسیفایرها و قند الکلی سوربیتول) و آنزیمی (آنزیم زایلاناز) آرد است.

۵- منابع

[1] Ferng, L., Liou, C., Yeh, R., & Hsin, S. (2015). Food Hydrocolloids physicochemical property and glycemic response of chiffon cakes with different rice flours. *Food Hydrocolloids*, 53: 172–179.
 [2] Javed, M. M., Zahoor, S., Shafaat, S., Mehmooda, I., Gul, A., Rasheed, H. and Aftab, M. N. (2012). Wheat bran as a brown gold: Nutritious value and its biotechnological applications. 6: 724–733.
 [3] Fekri, A., Torbati, M., Yari Khosrowshahi, A., Bagherpour Shamloo, H. and Azadmard-Damirchi, S. (2020). Functional effects of phytate-degrading, probiotic lactic acid bacteria and yeast strains isolated from Iranian traditional sourdough on the technological and nutritional properties of whole wheat bread. *Food Chemistry*, 306: 1–11.

۵- نتیجه‌گیری

براساس نتایج این پژوهش مشخص شد استفاده از آردهای سبوس‌دار (آرد با درجه استخراج بالا: ۸۸ و ۹۶ درصد) جایگزین آرد سفید (آرد با درجه استخراج ۷۸) در فرمولاسیون کیک روغنی به تنهایی امکان‌پذیر نیست و ویژگی‌های تکنولوژیکی و حسی فراورده تولیدی دستخوش تغییرات نامطلوب می‌شود. این در حالی است که با کاربرد مخلوطی از افزودنی‌ها (در قالب یک بهبوددهنده) نظیر آنزیم‌ها، امولسیفایرها و قندهای الکلی در فرمولاسیون فراورده‌های پخت سبوس‌دار می‌توان محصولی با کمیت و کیفیت مناسب ارائه نمود. همانطور که یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد نمونه حاوی آرد با درجه استخراج ۸۸ درصد، ۰/۰۴ درصد آنزیم زایلاناز، ۰/۵ درصد امولسیفایرهای داتم و سدیم استئاروئیل ۲- لاکتیلات

[4] Rezaei, S., Najafi, M. A. and Haddadi, T. (2019). Effect of fermentation process, wheat bran size and replacement level on some characteristics of wheat bran, dough, and high-fiber Tafton bread. *Journal of Cereal Science*, 85, 56–61.
 [5] Spaggiari, M., Ricci, A., Calani, L., Bresciani, L., Neviani, E., Asta, C. D. and Galaverna, G. (2019). Solid state lactic acid fermentation: A strategy to improve wheat bran functionality. *LWT - Food Science and Technology*, 108668.
 [6] Ozkaya, B. and Duman, B. (2016). Dephytinization of Wheat and Rice Brans by Hydrothermal Autoclaving Process and the Evaluation of Consequences for Dietary Fiber Content, Antioxidant Activity and Phenolics.

- Innovative Food Science and Emerging Technologies, 39: 209–215.
- [7] Jiang, Y., Zhao, Y., Zhu, Y., Qin, S., Deng, Y., & Zhao, Y. (2019). Effect of dietary fiber-rich fractions on texture, thermal, water distribution, and gluten properties of frozen dough during storage. *Food Chemistry*, 297: 124902.
- [8] Tebben, L., Shen, Y. and Li, Y. (2018). Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. *Trends in Food Science and Technology*, 81: 10–24.
- [9] Liu, W., Brennan, M. A., Serventi, L. and Brennan, C. S. (2017). Effect of cellulase, xylanase and α -amylase combinations on the rheological properties of Chinese steamed bread dough enriched in wheat bran. *Food Chemistry*, 234: 93–102.
- [10] Altinel, B. and Ünal, S. S. (2017b). The effects of certain enzymes on the rheology of dough and the quality characteristics of bread prepared from wheat meal. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 1628–1637.
- [11] Colakoglu, A. S. and Ozkaya, H. (2012). Potential use of exogenous lipases for DATEM replacement to modify the rheological and thermal properties of wheat flour dough. *Journal of Cereal Science*, 55: 397–404.
- [12] Suhendro, E. L., Waniska, R. D., Rooney, L. W. and Gomez, M. H. (1995). Effects of polyols on the processing and qualities of wheat tortillas. *Cereal Chemistry*, 72: 122–127.
- [13] Tian, Y., Xu, X., Li, Y., Jin, Z., Chen, H. and Wang, H. (2009). Effect of β -cyclodextrin on the long-term retrogradation of rice starch. *European Food Research and Technology*, 228: 743–748.
- [14] Liu, L., Sun, Y., Yue, Y., Yang, J., Chen, L., Ashraf, J. and Tong, L. (2020). Composition and foam properties of whole wheat dough liquor as affected by xylanase and glucose oxidase. *Food Hydrocolloids*, 108, 106050.
- [15] Dudu, O. E., Ma, Y., Adelekan, A., Oyediji, A. B., Oyeyinka, S. A. and Ogungbemi, J. W. (2020). Bread-making potential of heat-moisture treated cassava flour-additive complexes. *LWT*, 130: 109477.
- [16] Bhise, S. and Kaur, A. (2017). Synergistic Effect of Polyols and Fibres on Baking, Sensory and Textural Quality of Bread with Improved Shelf Life. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6: 1–12.
- [17] AACC, I. (2000). Approved Methods of the AACC. Association of Cereal Chemists, St. Paul.
- Abdul-Hamid, A., & Luan, Y. S. (2000). Functional properties of dietary fibre prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry*, 68, 15–19.
- [18] Bárcenas, M. E. and Rosell, C. M. (2006). Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: Low temperatures and HPMC addition. *Journal of Food Engineering*, 72: 92–99.
- [19] Ronda, F. and Gomez, M. (2005). Effect of polyols and nondigestible oligosaccharids on the quality sugar free sponge cakes. *Food Chemistry*, 90: 549–555.
- [20] Sabbaghi, H., Ziaifar, A. and Kashaninejad, M. (2018). Fractional conversion modeling of color changes in apple during simultaneous dry-blanching and dehydration process using intermittent infrared irradiation. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 14(2): 383–397.
- [21] Jalali, M., Sheikholeslami, Z., Elhamirad, A. H., Haddad Khodaparast, M. H. and Karimi, M. (2019). The effect of Balangu Shirazi (*Lallemantia Royleana*) gum on the quality of gluten-free pan bread containing pre-gelatinization simple corn flour with microcave Carpathain. *Journal of Food Science and Technology*.
- [22] Tebben, L., Chen, G., Tilley, M. and Li, Y. (2020). Individual effects of enzymes and vital wheat gluten on whole wheat dough and bread properties. *Journal of Food Science*, 85: 4201–4208.
- [23] Shah, A. R., Shah, R. K., & Madamwar, D. (2006). Improvement of the quality of whole wheat bread by supplementation of xylanase from *Aspergillus foetidus*. *Bioresource Technology*, 97: 2047–2053.
- [24] Pourfarzad, A., Khodaparast, M. H. H., Karimi, M., Mortazavi, S. A., Davoodi, M. G., Sourki, A. H. and Razavizadegan Jahromi, S. H. (2011). Effect of polyols on shelf-life and quality of flat bread fortified with soy flour. *Journal of Food Process Engineering*, 34: 1435–1448.
- [25] Ding, S. and Yang, J. (2021). The effects of sugar alcohols on rheological properties, functionalities, and texture in baked products – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 111: 670–679.
- [26] Ding, S., Peng, B., Li, Y. and Yang, J. (2019). Evaluation of specific volume, texture, thermal features, water mobility, and inhibitory effect of staling in wheat bread affected by maltitol. *Food Chemistry*, 283: 123–130.
- [27] Pourfarzad, A., Hossein, M. and Khodaparast, H. (2014). Optimization of a novel improver gel formulation for Barbari flat bread using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 51: 2344–2356.
- [28] Hemdane, S., Langenaeken, N. A., Jacobs, P. J., Verspreet, J., Delcour, J. A. and Courtin, C. M. (2018). Study of the role of bran water binding and the steric hindrance by bran in straight dough bread making. *Food Chemistry*, 253: 262–268.
- [29] Courtin, C. M. and Delcour, J. A. (2002). Arabinoxylans and endoxylanases in wheat flour bread-making. *Journal of Cereal Science*, 35, 225–243.
- [30] Both, J., Biduski, B., Gómez, M., Bertolin, T. E., Friedrich, M. T. and Gutkoski, L. C. (2020). Micronized whole wheat flour and xylanase

- application: dough properties and bread quality. *Journal of Food Science and Technology*, 56: 3902–3912.
- [31] Ghoshal, G., Shivhare, U. S. and Banerjee, U. C. (2017). Rheological properties and microstructure of xylanase containing whole wheat bread dough. *Journal of Food Science and Technology*, 54: 1928–1937.
- [32] Sheikholeslami, Z., Mahfouzi, M., Karimi, M. and Ghiafehdavoodi, M. (2021). Modification of dough characteristics and baking quality based on whole wheat flour by enzymes and emulsifiers supplementation. *LWT – Food Science and Technology*, 139: 110794.
- [33] Matsushita, K., Santiago, D. M., Noda, T., Tsuboi, K., Kawakami, S. and Yamauchi, H. (2017). The bread making qualities of bread dough supplemented with whole wheat flour and treated with enzymes. *Food Science and Technology Research*, 23: 403–410.
- [34] Kurek, M. A., Wyrwisz, J., Piwińska, M. Wierzbicka, A. (2015). Influence of the wheat flour extraction degree in the quality of bread made with high proportions of β -glucan. *Food Science and Technology*, 35: 273–278.
- [35] Zhou, C. F., Qian, P., Meng, J., Gao, S. M. and Lu, R. R. (2016). Effect of glycerol and sorbitol on the properties of dough and white bread. *Cereal Chemistry*, 93, 196–200.
- [36] Bhise, S. and Kaur, A. (2014). Baking quality, sensory properties and shelf life of bread with polyols. *Journal of Food Science and Technology*, 51: 2054–2061.
- [37] Packkia-Doss, P. P., Chevallier, S., Pare, A. and Le-Bail, A. (2019). Effect of supplementation of wheat bran on dough aeration and final bread volume. *Journal of Food Engineering*, 252: 28–35.
- [38] Pourfarzad, A., Mohebbi, M. and Mazaheri-Tehrani, M. (2012). Interrelationship between image, dough and Barbari bread characteristics; use of image analysis to predict rheology, quality and shelf life. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 1354–1360.
- [39] Penella, J. M. S., Collar, C. and Haros, M. (2008). Effect of wheat bran and enzyme addition on dough functional performance and phytic acid levels in bread. *Journal of Cereal Science*, 48: 715–721.
- [40] Rosell, C. M. (2019). Trends in Science of Doughs and Bread Quality. In *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention* (2nd ed.). Elsevier Inc.
- [41] Atalay, M. H., Bilgiçli, N., Elgün, A. and Demir, M. K. (2013). Effects of buckwheat (*fagopyrum esculentum moench*) milling products, transglutaminase and sodium stearyl-2-lactylate on bread properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 37: 1–9.
- [42] Ghoshal, G., Shivhare, U. S. and Banerjee, U. C. (2013). Effect of xylanase on quality attributes of whole-wheat bread. *Journal of Food Quality*, 36: 172–180.
- [43] Niu, M., Hou, G. G., Kindelspire, J., Krishnan, P. Zhao, S. (2017). Microstructural, textural, and sensory properties of whole-wheat noodle modified by enzymes and emulsifiers. *Food Chemistry*, 223: 16–24.
- [44] Ghoshal, G., Shivhare, U. S. and Banerjee, U. C. (2016). Thermo-mechanical and microstructural properties of xylanase containing whole wheat bread. *Food Science and Human Wellness*, 5: 219–229.
- [45] Bilgiçli, N., Demir, M. K. and Yilmaz, C. (2014). Influence of some additives on dough and bread properties of a wheat-lupin flour blend. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 6: 167–173.
- [46] Ahmad, A. (2016). Optimization of Gluten Free Bread Formulation by Adding Xanthan Gum , Potato Starch and Sorbitol Using Response Surface Methodology. *The National Conference for Postgraduate Research*, 607–615.
- [47] Kumar, Vikash, and Satyanaana, T. (2014). Production of thermo-alkali-stable xylanase by a novel polyextremophilic *Bacillus halodurans* TSEV1 in cane molasses medium and its applicability in making whole wheat bread. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 37: 1043–1053.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Production of cup cake containing whole wheat flour using chemical and enzymatic modification of the formulation

Zahra Sheikholeslami¹, Mahdi Karimi², Bahareh Sahraian^{3*}, Mojtaba Hadiyan⁴

1- Professor of Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.

2- Associate professor of Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.

3- Assistant professor Food Quality and Safety Research Department, ACECR, Khorasan Razavi Branch, Mashhad, Iran.

4- CEO and member of the board of directors of Razavi Food Industry Company

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/8/12 Accepted:2025/4/15	The issue of separating bran from wheat has emerged as a principal challenge in the production and consumption of wheat within the country. Beyond the economic implications stemming from the exclusion of bran, which is characterized by its fibrous texture and large particle size—both of which contribute to the diminished quality of bran-containing flour products—there is also a notable reduction in the nutritional value of refined flour compared to whole flour. To enhance the quality of baked goods made with bran, various additives are employed. Therefore, the objective of this research was to produce cupcakes using flour with extraction rates of 78%, 88%, and 96%, while incorporating xylanase enzyme (0.4%), sodium stearyl lactylate (SSL) emulsifiers, and mono- and diglyceride esters of tartaric acid (DATEM) (0.5%) as well as sorbitol (3%) as a sugar alcohol, followed by the evaluation of the quantity and quality of the final product. The results indicated that increasing the flour extraction rate and the presence of additives in the formulation led to an increase in the moisture content of the samples. Conversely, as the percentage of bran increased (resulting from a higher extraction rate), both the specific volume and porosity of the cupcakes decreased. The inclusion of the improvement agents (a mixture of enzyme, emulsifiers, and sugar alcohol) contributed to an increase in these two parameters. The cupcake sample containing flour with an extraction rate of 88%, along with the enzyme, emulsifiers, and sugar alcohol, exhibited the lowest textural firmness over a one-month storage period. Additionally, the increase in flour extraction and the presence of improvement agents corresponded to a diversification in the surface coloration of the cupcakes, resulting in darker and lighter shades, respectively. Ultimately, the sample comprising flour with an extraction rate of 88%, 0.4% xylanase enzyme, 0.5% DATEM and SSL emulsifiers, and 3% sorbitol emerged with the highest overall acceptance score, thus being recognized as the optimal sample.
Keywords: Functional cupcake, Whole flour, DATEM emulsifier, Xylanase enzyme, Sorbitol	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.171. *Corresponding Author E- Baharehsahraian@yahoo.com	



بررسی تاثیر اینولین و کلرید کلسیم بر ویسکوزیته و ویژگی‌های رنگی پنیر ریکوتا سین بیوتیک

مرجانه صدقاتی*، ریحانه کاوند

۱- عضو هیات علمی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم زیستی، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۶

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۱۰

کلمات کلیدی:

اینولین،

پنیر،

ریکوتا،

شاخص رنگی،

ویسکوزیته.

این تحقیق با هدف بررسی تغییرات ویسکوزیته و خصوصیات رنگی پنیر ریکوتا سین بیوتیک با افزودن اینولین و نمک کلرید کلسیم در طول دوره نگهداری انجام شد. برای تولید پنیر ریکوتا سین بیوتیک از آب پنیر، لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، اینولین و کلرید کلسیم استفاده شد. بدین منظور از اینولین در سه سطح ۰، ۱٪ و ۳٪ و نمک کلرور کلسیم در سه سطح ۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر استفاده گردید. تغییرات ویسکوزیته و تغییرات رنگی (شاخص‌های رنگی L^* ، b^* و a^*) و زنده‌مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در طول دوره نگهداری بررسی شد. طبق نتایج افزودن اینولین و نمک کلرور کلسیم سبب افزایش معنی‌دار ویسکوزیته پنیر ریکوتا سین بیوتیک شد ($p < 0.05$). نمودار ویسکوزیته ظاهری-سرعت برشی مشخص کرد با افزایش سرعت برشی ویسکوزیته ظاهری نمونه‌ها کاهش یافت؛ بنابراین نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک جز مواد غذایی غیر نیوتنی هستند. در ارزیابی پارامترهای رئولوژیکی پنیر ریکوتا سین بیوتیک نمونه‌های پنیر همبستگی بالایی با مدل توان داشته و پنیر ریکوتا سین بیوتیک مورد استفاده رفتار سودوپلاستیک نشان دادند. تغییرات شاخص رنگی L^* را در پنیر ریکوتا سین بیوتیک نشان داد افزودن هیدروکلوئید اینولین به نمونه‌های پنیر شاخص رنگی L^* را به صورت معنی‌داری افزایش و حضور کلرور کلسیم شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک را به صورت معنی‌داری کاهش داد ($p < 0.05$). همچنین، افزایش غلظت اینولین و نمک کلرور کلسیم در نمونه‌های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک با کاهش معنی‌دار شاخص رنگی b^* و a^* در نمونه‌های پنیر همراه بود ($p < 0.05$). طبق نتایج حاصل افزودن هیدروکلوئید اینولین و نمک کلرور کلسیم سبب بهبود زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس شد ($p < 0.05$). با توجه به نتایج حاصل در نمونه پنیر ریکوتا سین بیوتیک حاوی ۳٪ اینولین و ۳۰۰ mg/L کلرور کلسیم ویسکوزیته بهبود یافته و خصوصیات رنگی نمونه مطلوب بود. ضمناً این نمونه بیشترین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را در بین نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک دارا بود.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.185.

* مسئول مکاتبات:

marjanehsedaghati@yahoo.com

۱- مقدمه

زرد مایل به سفید دارد. پنیر ریکوتا معروفترین پنیر سنتی است که با حرارت دهی آب پنیر تولید می‌شود. ویسکوزیته پنیر ریکوتا به عنوان خصوصیت فیزیکی و بافتی پنیر و رنگ آن به عنوان جذابیت بصری تاثیر کلیدی در پذیرش محصول توسط مصرف‌کنندگان دارد [۷،۶].

تولید پنیر ریکوتا با استفاده از ترکیبی از آب پنیر و شیر کامل در تحقیقات قبلی گزارش شده است [۶]. با این وجود در تحقیقات قبلی تغییرات ویسکوزیته و خصوصیات رنگی پنیر ریکوتا پروبیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس / سیدوفیلوس* گزارش نشده است. در گزارشی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر ریکوتا سین بیوتیک حاوی *لاکتوباسیلوس پاراکازنی* ارزیابی شده است [۸]. همچنین در تحقیقی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر ریکوتا پروبیوتیکی حاصل از شیر گاو میش بررسی شده است [۹]. اما تا کنون تحقیقی در زمینه تاثیر استفاده از اینولین و نمک کلرید کلسیم بر تغییرات ویسکوزیته و خصوصیات رنگی پنیر ریکوتا پروبیوتیک انجام نشده است لذا در مطالعه اخیر به این موضوع پرداخته خواهد شد.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد مورد نیاز

این پژوهش در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران (آزمایشگاه تحقیقاتی گروه مهندسی علوم و صنایع غذایی) و شرکت پگاه تهران انجام شد. به منظور انجام این پژوهش، آب پنیر حاصل از شیر گاو (ماده جامد کل ۶.۸۲٪، چربی ۰.۴٪ و پروتئین ۱.۰۳٪) از شرکت پگاه تهران تهیه شد. اینولین بلند زنجیر (درجه پلیمریزاسیون ۲۳-۲۵، درجه خلوص ۹۹.۸٪) از شرکت بنئو (مانهایم، آلمان)، کلرید کلسیم و اسید سیتریک خوراکی از شرکت توژاوا (تهران، ایران) تهیه شد. *لاکتوباسیلوس / سیدوفیلوس (LA-5)* لیوفیلیزه از شرکت کریستین هانسن (هورشلم، آلمان) خریداری شد. کلیه مواد شیمیایی و محیط های کشت

غذاهای عملکردی حاوی یک یا تعدادی ترکیبات نظیر پروبیوتیک‌ها و پری بیوتیک‌ها هستند که توانایی ارتقا سلامتی مصرف‌کنندگان را از طریق مکانیسم‌های غیر تغذیه‌ای دارند. پروبیوتیک‌ها به عنوان میکروارگانیسم‌های زنده‌ای تعریف می‌شوند که وقتی به اندازه کافی مصرف شوند (10^9 تا 10^6 cfu/ml) برای میزبان مفید هستند. میکروارگانیسم‌های پروبیوتیک باید جز فلور میکروبی طبیعی روده انسان باشند، تعداد زیادی از آنها هنگام عبور از بخش‌های فوقانی دستگاه گوارش بقا پیدا کنند و اثرات مفیدی در روده داشته باشند [۱]. باکتری‌های اسید لاکتیک (LAB) معیارهای مشخصی باید داشته باشند تا به عنوان باکتری پروبیوتیک برای تولید پنیر پروبیوتیک انتخاب شوند. این باکتری‌ها باید منشا روده انسانی داشته، توانایی تحمل اسیدها و نمک‌های صفراوی داشته و سازگاری با فرآیندهای تکنولوژیکی تولید پنیر را داشته باشند [۳،۲].

در تحقیقات پیشین مشخص شده است باکتری *لاکتوباسیلوس / سیدوفیلوس* خصوصیات پروبیوتیکی داشته و می‌تواند در حضور پری بیوتیک‌های مختلف رشد کند. پری بیوتیک‌ها ترکیبات غذایی غیر قابل هضم هستند که محرک رشد یک یا تعدادی از باکتری‌های سلامتی بخش در روده بزرگ هستند. انواع مختلفی از کربوهیدرات‌ها نظیر اینولین، فروکتان، ترانس گالاکتوالیگوساکاریدها و لاکتولوز جز پری بیوتیک‌ها هستند. مواد غذایی سین بیوتیک حاوی باکتری‌های پروبیوتیک و پری بیوتیک‌ها هستند [۵،۴].

پنیر ریکوتا نوعی پنیر تازه است که از اسیدی کردن و حرارت دهی آب پنیر حاصل از فرآیند پنیرسازی تولید می‌شود. پنیر ریکوتا نوعی پنیر با رطوبت بالاست و pH حدود ۶ دارد، بنابراین مدت ماندگاری محدودی داشته و نسبت به فساد میکروبی حساس می‌باشد. این نوع پنیر ساختاری فشرده، بافتی گرانولی، طعم محسوس و رنگ

میکروبی مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) تهیه شد.

۲-۲-۲- روش ها

۲-۲-۲-۱- تست های تاییدی باکتری پروبیوتیک

به منظور اطمینان از خواص پروبیوتیکی لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس (LA-5) تهیه شده، مورفولوژی کلنی های رشد یافته بر محیط کشت MRS آگار حاوی سالیسین (۰.۵٪) به وسیله مشاهده میکروسکوپی بررسی و آزمون گرم بر روی نمونه ها انجام شد. بعلاوه آزمون مقاومت به اسید، مقاومت به حرارت، مقاومت به نمک های صفراوی، کاتالاز و تخمیر قند بر روی نمونه ها صورت پذیرفت [۱۱، ۱۰].

۲-۲-۲-۲- تولید پنیر ریکوتا سین بیوتیک

آب پنیر شیرین تولید شده از خط تولید پنیر سنتی جمع آوری، ۰.۱٪ (w/v) نمک و کلرید کلسیم (۰ mg/L) و ۱۵۰ و ۳۰۰ به آن اضافه شد. مخلوط حاصل تا ۹۰ درجه سانتیگراد و با افزودن محلول اسید سیتریک (۰.۱۱ mg/L) در وت تهیه پنیر حرارت داده شد. در ادامه، پروتئین موجود در آب پنیر کوآگوله و دلمه پنیر ریکوتا تشکیل شده و با صافی پارچه ای از آب پنیر جداسازی شده و برای مدت ۳۰ دقیقه نگهداری گردید. سپس، با افزودن اینولین (۰.۱٪ و ۰.۳٪) و LA-5 (۱۰^۷ cfu/g) پنیر ریکوتا در ۵۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه هموژنیزه (ویگنر، آلمان) گردید. در ادامه نمونه های پنیر ریکوتا در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ دقیقه در انکوباتور (ممرت، آلمان) گرمخانه گذاری و در شیشه های استریل درب دار در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ روز در یخچال نگهداری شد [۸].

۲-۲-۳- اندازه گیری ویسکوزیته با رئومتر

خصوصیات رئومتری نظیر ویسکوزیته نمونه های پنیر ریکوتا با بکارگیری رئومتر (MCR52، آنتون پار، آلمان) دارای توانایی کنترل تنش برشی اندازه گیری شد. رئومتری

رئومتر از نوع صفحه موازی بوده و فاصله بین رئومتر از صفحه زیر آن حدود ۴ میلی متر تنظیم و از نرم افزار وی ۳.۶۱ استفاده شد. ارزیابی ویسکوزیته نمونه های پنیر در روز ۵ نگهداری نمونه ها انجام شد. به منظور اندازه گیری ویسکوزیته به صورت تابعی از سرعت برشی و تعیین رفتار جریانانی نمونه ها، سرعت برشی در محدوده ی 10^{-3} تا 10^{-1} در دمای ۴ درجه سانتیگراد بکار گرفته شد. داده های حاصل از آزمون با مدل توان (معادله ۱) برازش شدند تا مناسب ترین مدل برای توصیف رفتار جریان تعیین شود [۱۲].

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad (\text{معادله ۱})$$

۲-۲-۴- اندازه گیری شاخص های رنگی

رنگ نمونه های پنیر ریکوتا با دستگاه رنگ سنج هانترلب (UltraScanvis، آمریکا) بررسی گردید. اساس رنگ سنجی در این سیستم سنجش شاخص های b^* (شاخص زردی-آبی)، a^* (شاخص قرمزی-سبزی) و L^* (شاخص روشنایی) بود [۱۴، ۱۳].

۲-۲-۵- ارزیابی زنده مانایی لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس (LA-5)

برای شمارش باکتری های لاکتوباسیلوس /اسیدوفیلوس (LA-5) با استفاده از سرم فیزیولوژی از نمونه های پنیر ریکوتا (۱۰ g) سریال رقت (۱۰^{-۱} تا ۱۰^{-۷}) تهیه شده و نمونه ها با استفاده از روش پور پلیت، در محیط کشت MRS آگار حاوی سالیسین (۰.۵٪) کشت داده شدند. پلیت ها به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور CO₂ دار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری و نتایج شمارش به صورت Log cfu/ml گزارش شدند [۱۶، ۱۵].

۲-۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

در این تحقیق تاثیر افزودن اینولین و نمک کلرور کلسیم بر اساس طرح فاکتوریل سه عاملی کاملاً تصادفی با سه تکرار مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها به ترتیب با روش ANOVA و آزمون چند

دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۹۵٪ توسط نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲) انجام شد و رسم نمودارها نیز با نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ انجام پذیرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ارزیابی ویسکوزیته در نمونه‌های پنیر

ریکوتا سین بیوتیک

نمودار ۱ تغییرات ویسکوزیته ظاهری را در نمونه های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک در روز پنجم دوره نگهداری نشان می دهد. نتایج حاصل مشخص کرد با افزایش غلظت اینولین ویسکوزیته نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک افزایش معنی داری یافت ($p < 0.05$). همچنین غنی سازی نمونه های پنیر ریکوتا با نمک کلرور کلسیم سبب افزایش معنی دار ویسکوزیته نمونه‌های پنیر شد

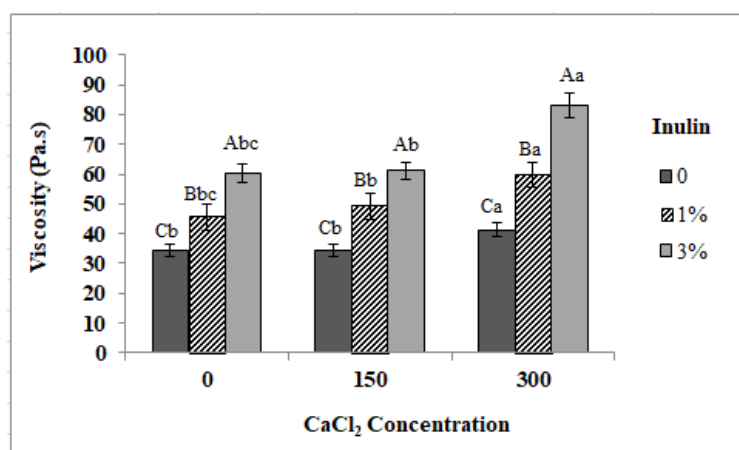


Fig 1. The effect of inulin and CaCl₂ on viscosity of synbiotic ricotta cheese during storage

^aMeans followed by different letters (a–d) show significant different ($p < 0.05$) between treatments with same inulin concentration

^bMeans followed by different letters (A–D) show significant different ($p < 0.05$) between treatments with same CaCl₂ concentration

تاثیر نمک کلرور کلسیم بر کوآگولاسیوسیون پروتئین شیر

و دلمه حاصل مشاهده شد با افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم ویسکوزیته دلمه پنیر افزایش می یابد [۱۹].

۳-۲- ارزیابی ویسکوزیته ظاهری-سرعت

برشی در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک

در تحقیقی در زمینه تاثیر نمک های مختلف بر خصوصیات رئولوژیکی پنیر گزارش شد نمک کلسیم بر ویسکوزیته و استحکام دلمه تاثیرگذار است و غلظت های بالاتر کلسیم منجر به خروج آب پنیر بیشتری از دلمه شده و ویسکوزیته و استحکام دلمه افزایش می یابد [۱۸]. در گزارشی در زمینه

نمونه‌های تیمار و نمونه شاهد وابسته به غلظت اینولین و نمک کلرور کلسیم بود. نمونه‌های حاوی غلظت‌های بالاتر اینولین و نمک کلرور کلسیم تفاوت ویسکوزیته ظاهری بیشتری با نمونه شاهد نشان دادند. با این وجود، در سرعت‌های برشی بالاتر تفاوت بین ویسکوزیته ظاهری نمونه‌های تیمار با نمونه شاهد کاهش یافت.

نمودار ۲ نمودار جریان نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک بوده و رابطه بین ویسکوزیته ظاهری و سرعت برشی را در نمونه‌های پنیر نشان می‌دهد. طبق نمودار ویسکوزیته ظاهری کلیه نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک با افزایش سرعت برشی کاهش یافت؛ بنابراین نمونه‌های پنیر به عنوان مواد غذایی غیر نیوتنی در نظر گرفته می‌شوند. در سرعت‌های برشی پایین، تفاوت بین ویسکوزیته ظاهری

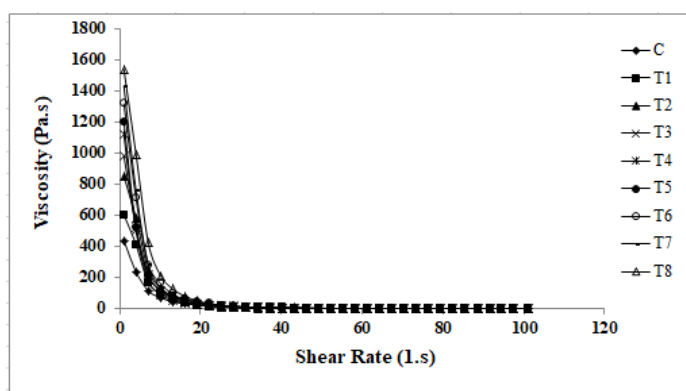


Fig 2. The flow curve of synbiotic ricotta cheese samples (C(0%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₁(0%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₂(0%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₃(1%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₄(1%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₅(1%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₆(3%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₇(3%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₈(3%Inulin, 300mg/L CaCl_2))

کلسیم به دلیل برهمکنش‌های الکتروستاتیک بین پروتئین-

های شیر و نمک کلرور کلسیم و اینولین اندیس جریان (n) بزرگتر، نسبت به سرعت‌های برشی پایین مقاوم‌تر بودند [۲۱]. در گزارشی در زمینه تاثیر هیدروکلوئیدها بر خصوصیات رئولوژیکی پنیر فراوری شده، افزایش معنی دار ویسکوزیته نمونه‌های پنیر در حضور هیدروکلوئیدهای آگار، کاپا کاراگینان و ژلاتین گزارش شد [۲۲]. در تحقیقی در خصوص ویژگی‌های رئولوژیکی پنیر موزارلا رفتار رقیق شونده با برش با افزایش سرعت برشی مشاهده شد [۲۰].

۳-۳- ارزیابی مدل رئولوژیکی در نمونه‌های

پنیر ریکوتا سین بیوتیک

جدول ۱ پارامترهای رئولوژیکی حاصل از مدل توان نمونه‌های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک را در روز ۵

طبق نتایج حاصل نمونه‌های پنیر شاهد و تیمار از نظر خصوصیات رئولوژیکی جز مواد غذایی غیر نیوتنی بوده و رفتار رقیق شونده با برش نشان می‌دهند. در مواد غذایی با رفتار رقیق شونده با برش، ویسکوزیته با افزایش سرعت برشی کاهش می‌یابد. شدت ارتباط بین ویسکوزیته و سرعت برشی وابسته به غلظت ترکیبات تشکیل دهنده و دمای محصول است. علت رفتار رقیق شونده با برش در پنیر ریکوتا سین بیوتیک بازآرایی ذرات تشکیل دهنده مواد غذایی با افزایش سرعت برشی است که سبب مقاومت به جریان و کاهش ویسکوزیته می‌شود [۲۰]. در نمونه پنیر ریکوتا شاهد با اندیس جریان (n) کوچک، در سرعت‌های برشی پایین به دلیل کاهش اندازه ذرات تحت تاثیر نیروهای اعمال شده ویسکوزیته کاهش ناگهانی داشت. در نمونه-های پنیر ریکوتا تیمار شده حاوی اینولین و نمک کلرور

نگهداری نشان می دهد. طبق نتایج جدول کلیه نمونه ها در محدوده سرعت برشی مورد استفاده رفتار سودوپلاستیک از خود نشان دادند. برای ماده غذایی سودوپلاستیک، شاخص رفتار جریان نشان دهنده انحراف از رفتار نیوتنی ماده غذایی است و با دور شدن شاخص رفتار جریان از ۱ رفتار ماده از نیوتنی به رفتار غیر نیوتنی تغییر می یابد.

Table1. Parameters of Power law model of synbiotic ricotta cheese samples

$t = k(\dot{\gamma})^n$ Power law					
Samples	Inulin	CaCl ₂ (mg/L)	K(Pa.s)	N	R ²
C	0	0	2196	0.98	0.966
T ₁	0	150	2330	0.95	0.984
T ₂	0	300	2557	0.94	0.958
T ₃	1%	0	3072	0.86	0.984
T ₄	1%	150	3230	0.85	0.973
T ₅	1%	300	3457	0.84	0.934
T ₆	3%	0	3777	0.73	0.988
T ₇	3%	150	4115	0.65	0.953
T ₈	3%	300	4318	0.52	0.941

افزایش یافته و به پنیر با بافت منسجم تر کمک می کند. اینولین نیز به عنوان ترکیب هیدروکلوئیدی با جذب آب نقش تغلیظ کننده را داشته و به افزایش ویسکوزیته کمک می کند [۶، ۱۹]. مشابها، در تحقیقی در زمینه خواص رئولوژیکی پنیر موزارلا مدل توان به عنوان مدل رئولوژیکی مناسب برای ارزیابی رفتار رئولوژیکی پنیر موزارلا گزارش شد [۲۳]. همچنین در گزارشی در ارزیابی خواص رئولوژیکی پنیر فرسکو از مول توان برای برازش داده های رئومتر استفاده گردید [۲۴].

۳-۴- ارزیابی شاخص های رنگی در نمونه های

پنیر ریکوتا سین بیوتیک

نمودار 3 تغییرات شاخص رنگی L^* را در نمونه های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول دوره نگهداری را نشان می دهد. افزودن هیدروکلوئید اینولین به نمونه های پنیر سین بیوتیک ریکوتا شاخص رنگی L^* نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک را به صورت معنی داری افزایش می دهد ($p < 0.05$); نمونه های حاوی اینولین بیشتر نسبت به سایر نمونه ها روشن تر بودند. طبق نتایج حاصل، با افزایش غلظت کلرور کلسیم شاخص رنگی L^* نمونه های

بیشترین میزان شاخص جریان مربوط به نمونه شاهد بود و با افزایش غلظت کلرور کلسیم شاخص رفتار جریان کاهش یافت. همچنین افزایش غلظت اینولین نیز سبب کاهش شاخص جریان گردید و این کاهش شاخص رفتار جریان در نمونه های حاوی کلرور کلسیم و اینولین به بالاترین مقدار خود رسید که موید افزایش رفتار سودوپلاستیک نمونه های پنیر است. طبق نتایج حاصل با افزایش غلظت اینولین و نمک کلرور کلسیم شاخص قوام افزایش یافت و نمونه شاهد کمترین شاخص قوام و نمونه پنیر ریکوتا سین بیوتیک حاوی ۳٪ اینولین و ۳۰۰ mg/L کلرور کلسیم بیشترین شاخص قوام را داشت.

طبق نتایج حاصل رفتار رئولوژیکی نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک از مدل توان تبعیت می کند و در کلیه نمونه ضریب همبستگی بالایی با مدل توان دارد. در کلیه نمونه ها شاخص جریان کمتر از ۱ بود لذا نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک رفتار غیر نیوتنی داشتند و ضریب قوام با افزایش غلظت اینولین و نمک کلرور کلسیم افزایش می یافت. به نظر می رسد با افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم برهمکنش های الکتروستاتیک بین مولکول های پروتئین

پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک حاوی ۳٪ اینولین و ۰ mg/L نمک کلرور کلسیم در روز اول نگهداری بالاترین شاخص رنگی L^* را به خود اختصاص داد.

پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک به صورت معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). همچنین، شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک در طول دوره نگهداری ۵ روزه کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). طبق نتایج حاصل نمونه‌های

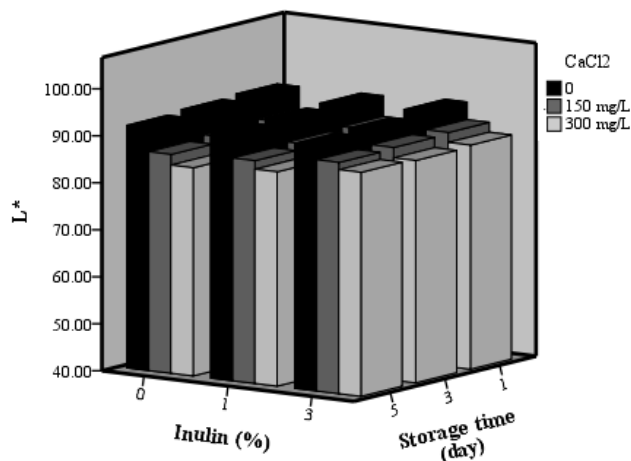


Fig ۳. The effect of inulin and CaCl_2 on L^* color indexes of synbiotic ricotta cheese during storage (C(0%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₁(0%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₂(0%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₃(1%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₄(1%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₅(1%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₆(3%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₇(3%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₈(3%Inulin, 300mg/L CaCl_2))

بیوتیک فاقد اینولین شاخص رنگی b^* بالاتری در مقایسه با نمونه‌های پنیر حاوی ۳٪ اینولین داشتند. همچنین با افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم حتی در غلظت ۱۵۰ mg/L سبب کاهش معنی‌دار شاخص رنگی b^* در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک می‌شود ($p < 0.05$). طبق نتایج حاصل نمونه شاهد در روز اول نگهداری بالاترین مقدار شاخص رنگی b^* و نمونه تیمار حاوی ۳٪ اینولین و ۳۰۰ mg/L کلرور کلسیم در روز ۵ نگهداری کمترین مقدار شاخص رنگی b^* را به خود اختصاص دادند.

نمودار ۴ تغییرات شاخص رنگی b^* را در نمونه‌های مختلف پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک در طول دوره نگهداری را نشان می‌دهد. طبق نتایج حاصل شاخص رنگی b^* نمونه‌های مختلف پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک کاهش معنی‌داری در طول دوره نگهداری داشت ($p < 0.05$). به‌علاوه، افزایش غلظت اینولین در نمونه‌های مختلف پنیر ریکوتا سین‌بیوتیک با کاهش معنی‌دار شاخص رنگی b^* در نمونه‌های پنیر همراه بود ($p < 0.05$). نمونه‌های پنیر

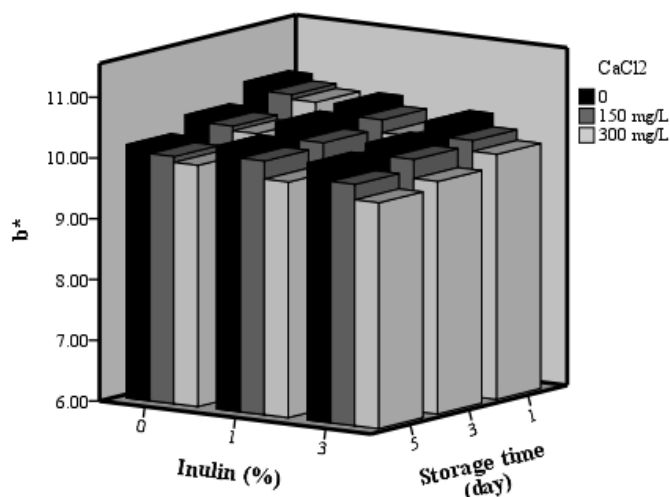


Fig 4. The effect of inulin and CaCl_2 on b^* color indexes of synbiotic ricotta cheese during storage (C(0%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₁(0%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₂(0%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₃(1%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₄(1%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₅(1%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₆(3%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₇(3%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₈(3%Inulin, 300mg/L CaCl_2))

نمونه های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک افزایش معنی -

دار داشت ($p < 0.05$). نمونه تیمار حاوی ۳٪ اینولین و ۳۰۰ mg/L کلرور کلسیم در روز اول نگهداری بیشترین مقدار شاخص رنگی a^* را به خود اختصاص دادند؛ در حالیکه کمترین مقدار شاخص رنگی a^* به نمونه شاهد اختصاص داشت. همچنین در طول دوره نگهداری شاخص رنگی a^* نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک کاهش یافته و با پیشرفت زمان نگهداری، شاخص رنگی a^* منفی تر شد.

نمودار ۵ تغییرات شاخص رنگی a^* را در نمونه های مختلف پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول دوره نگهداری را نشان می دهد. افزودن هیدروکلوئید اینولین به نمونه های پنیر سین بیوتیک ریکوتا شاخص رنگی a^* نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک را به عنوان شاخص رنگی منفی به صورت معنی داری افزایش می دهد ($p < 0.05$); نمونه های حاوی اینولین بیشتر نسبت به سایر نمونه ها قرمزتر بودند. همچنین با افزایش غلظت کلرور کلسیم شاخص رنگی a^*

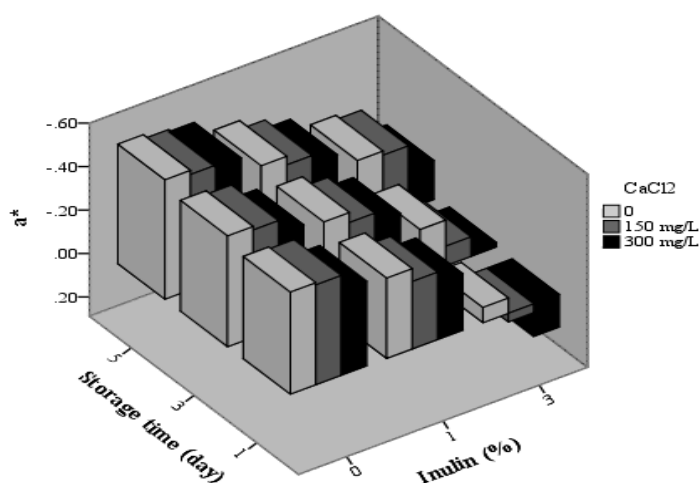


Fig 5. The effect of inulin and CaCl_2 on a^* color indexes of synbiotic ricotta cheese during storage (C(0%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₁(0%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₂(0%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₃(1%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₄(1%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₅(1%Inulin, 300mg/L CaCl_2), T₆(3%Inulin, 0mg/L CaCl_2), T₇(3%Inulin, 150mg/L CaCl_2), T₈(3%Inulin, 300mg/L CaCl_2))

تولید شده از آب پنیر نیز شاخص رنگی b^* بین ۹.۱ تا ۱۴.۸۱ را نشان داد [۲۷]. به نظر می‌رسد، کاهش معنی‌دار شاخص رنگی b^* در طول دوره نگهداری ناشی از اکسیداسیون و هیدرولیز رنگدانه‌های کاروتنوئیدی نمونه‌های پنیر باشد. بعلاوه، افزایش غلظت اینولین با کاهش شاخص رنگی b^* در نمونه‌های پنیر همراه بود که احتمالاً به دلیل تشکیل کمپلکس با رنگدانه‌ها و جلوگیری از واکنش میلارد است [۲۹]. مشابهاً در گزارشی در زمینه تاثیر جایگزینی اینولین با چربی در پنیر آنالوگ مشخص شد در نمونه‌های پنیر حاوی اینولین شاخص رنگی b^* کاهش یافت و ارتباط مثبت بین غلظت اینولین و کاهش شاخص رنگی b^* وجود داشت. بر خلاف نتایج تحقیق اخیر در پژوهشی در زمینه خصوصیات فیزیکیوشیمیایی پنیر کفیر سوئسی حاوی اینولین کاهش غیر معنی‌دار شاخص رنگی b^* در نمونه‌های پنیر مشاهده شد [۲۹]. طبق نتایج حاصل کاهش معنی‌دار شاخص رنگی b^* در نمونه‌های پنیر با افزایش غلظت کلرور کلسیم ممکن است ناشی از واکنش نمک کلسیم با رنگدانه‌های عامل رنگ زرد یا تاثیر بر بهمکنش کاروتنوئیدها با سایر ترکیبات موثر در ایجاد رنگ است [۲۶]. در گزارشی در زمینه تاثیر نمک کلسیم بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی پنیر شیر بز کاهش شدت رنگ زرد را با افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم مشاهده شد [۳۰].

شاخص رنگی a^* در نمونه‌های پنیر نشان‌دهنده رنگ قرمز بوده و یک شاخص رنگی منفی است و با افزایش مقدار شاخص رنگی a^* شدت رنگ قرمز افزایش می‌یابد. طبق نتایج حاصل با افزایش غلظت اینولین، شاخص رنگی a^* نمونه‌های پنیر ریکوتا افزایش یافته و رنگ نمونه‌ها از سبزی به قرمزی متمایل می‌شود. به نظر می‌رسد اینولین ظرفیت جذب آب نمونه‌های پنیر ریکوتا را افزایش داده و به عنوان تشدید کننده رنگ عمل کرده و سبب بهبود رنگ نمونه‌های پنیر می‌شود [۲۷]. در تحقیق اخیر شاخص

رنگ پنیر ریکوتا یکی از خصوصیات فیزیکی است که بر انتخاب محصول به وسیله مصرف کنندگان تاثیرگذار است. افزایش شاخص رنگی L^* معرف افزایش روشنایی و کاهش آن نشان‌دهنده افزایش تیرگی در ماده غذایی است. طبق نتایج حاصل با افزایش غلظت اینولین در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک، شاخص رنگی L^* در نمونه‌های پنیر افزایش یافت. احتمالاً اینولین با اتصال به قندهای احیا کننده در پنیر مانع واکنش آنها با اسیدهای آمینه و بهمکنش میلارد و تشکیل رنگدانه‌های قهوه‌ای می‌شود و در نتیجه روشنایی پنیر ریکوتا سین بیوتیک افزایش می‌یابد [۲۵]. بعلاوه افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم سبب کاهش روشنایی نمونه‌های پنیر شد. احتمالاً افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم بر پیوندهای عرضی بین میسل‌های کازئین تاثیر گذاشته و سبب تغییر شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر می‌شود. همچنین، افزودن نمک کلسیم سبب تغییر محتوی مواد معدنی پنیر می‌شود که بر شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر تاثیرگذار است. طبق نتایج حاصل، شاخص رنگی L^* در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول دوره نگهداری کاهش معنی‌دار داشت و به نظر می‌رسد این کاهش به دلیل افزایش شدت پروتئولیز و لیپولیز، تغییر در ساختار پروتئین و چربی و ترکیبات رنگی در طول ذخیره سازی باشد [۲۶]. مشابهاً، در تحقیقی بر روی پنیر آنالوگ فرآوری شده افزایش در شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر با افزایش غلظت اینولین گزارش شد و علت این افزایش به تاثیر هیدروکلوئید اینولین بر پراکندگی نور نسبت داده شد [۲۷]. همچنین در تحقیقی در زمینه تاثیر نمک‌های سدیم و کلسیم بر خصوصیات فیزیکیوشیمیایی پنیر فتا، کاهش شاخص رنگی L^* نمونه‌های پنیر با افزایش غلظت نمک کلرور کلسیم گزارش شد [۲۱].

طبق نتایج حاصل شاخص رنگی b^* نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک بین ۹.۷ تا ۱۰.۷۶ بود. مشابهاً پنیر رکوسان

نمودار ۶ تغییرات زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول زمان نگهداری نشان می‌دهد. طبق نتایج حاصل افزودن هیدروکلونید اینولین به نمونه‌های پنیر سین بیوتیک ریکوتا زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک را به صورت معنی‌داری افزایش می‌دهد ($p < 0.05$); نمونه‌های حاوی اینولین بیشتر نسبت به سایر نمونه‌ها حاوی تعداد بالاتری باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس بودند. طبق نتایج حاصل، با افزایش غلظت کلرور کلسیم زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$). درحالی‌که، زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول دوره نگهداری ۵ روزه کاهش معنی‌دار داشت ($p < 0.05$). طبق نتایج حاصل در روز پنجم نگهداری نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک حاوی ۳٪ اینولین و ۳۰۰ mg/L نمک کلرور کلسیم بالاترین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس را به خود اختصاص داد.

رنگی a^* کلیه نمونه‌ها در محدوده ۰.۱۵ تا ۰.۵۵- قرار داشت. مشابها، در تحقیقی در زمینه ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر ریکوتا غنی شده با هیدروکلونیدها، شاخص رنگی a^* کلیه نمونه‌ها در محدوده ۰.۱۴- تا ۰.۴۲- گزارش شده است. طبق نتایج حاصل شدت شاخص رنگی a^* نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک در طول دوره نگهداری کاهش یافت. احتمالاً، اکسیداسیون و تخریب رنگدانه‌هایی که عامل رنگ قرمز در نمونه‌های پنیر ریکوتا در طول دوره نگهداری سبب کاهش شدت رنگ قرمز می‌شود [۲۶]. همچنین در گزارشی در بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر کفیر سوئسی حاوی اینولین کاهش معنی‌دار شاخص رنگی a^* در طول زمان نگهداری مشاهده شد [۲۹]. مشابها، در تحقیقی در بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر ریکوتا روند کاهشی در شاخص رنگی a^* در طول دوره نگهداری گزارش شد [۳۱].

۳-۵- تعیین زنده‌مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس (LA-5) در نمونه‌های پنیر ریکوتا سین بیوتیک

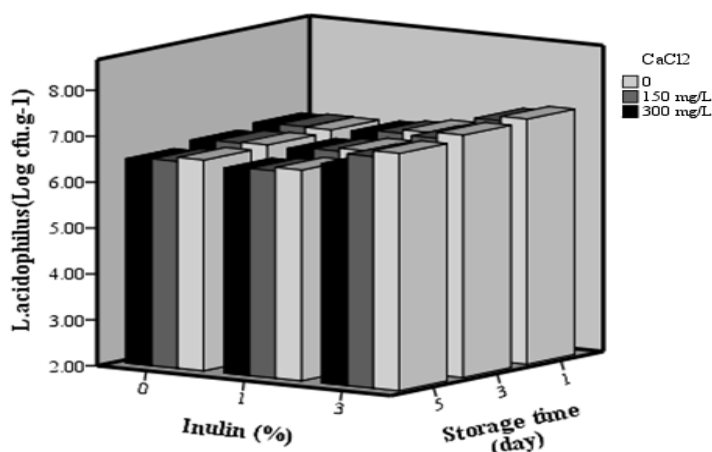


Fig 6. The effect of inulin and CaCl₂ on *L. acidophilus* LA-5 Survival (CFU/g) in synbiotic ricotta cheese (C(0%Inulin, 0mg/L CaCl₂), T₁(0%Inulin, 150mg/L CaCl₂), T₂(0%Inulin, 300mg/L CaCl₂), T₃(1%Inulin, 0mg/L CaCl₂), T₄(1%Inulin, 150mg/L CaCl₂), T₅(1%Inulin, 300mg/L CaCl₂), T₆(3%Inulin, 0mg/L CaCl₂), T₇(3%Inulin, 150mg/L CaCl₂), T₈(3%Inulin, 300mg/L CaCl₂))

پنیر از مهم ترین مواد غذایی است که به عنوان ناقل باکتری-های سلامتی بخش پروبیوتیک بکار می رود. با توجه به میزان بالای آب پنیر تولیدی در کارخانجات لبنی کشور، تولید پنیر ریکوتا از آب پنیر راهکاری مناسب برای استفاده بهینه از آب پنیر تولیدی به عنوان ضایعات کارخانجات لبنی است. تولید پنیر ریکوتا سین بیوتیک سبب ایجاد ارزش افزوده در آب پنیر تولیدی شده و منجر به ارتقا سلامت مصرف کنندگان نیز می شود. در این تحقیق تغییرات خصوصیات فیزیکی پنیر ریکوتا سین بیوتیک در حضور اینولین و نمک کلرور کلسیم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه افزایش معنی دار زنده مانی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در پنیر ریکوتا سین بیوتیک را در حضور اینولین و نمک کلرور کلسیم نشان داد. طبق نتایج حاصل نمونه های پنیر شاهد و تیمار از نظر خصوصیات رئولوژیکی جز مواد غذایی غیر نیوتنی بوده و رفتار رقیق شونده با برش نشان می دادند. با افزایش غلظت اینولین و نمک کلرور کلسیم ویسکوزیته نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک افزایش یافت که ناشی از قابلیت جذب آب هیدروکلوئید اینولین و نقش اساسی کلسیم در ساختار ژل پروتئینی پنیر است. طبق نتایج حاصل افزودن هیدروکلوئید اینولین و نمک کلرور کلسیم سبب کاهش روشنایی تشدید زردی و قرمزی در نمونه های پنیر می شود. به طور کلی، نتایج تحقیق اخیر تولید پنیر ریکوتا از آب پنیر به عنوان ضایعات صنایع لبنی جهت تولید ماده غذایی فراسودمند و استفاده بهینه از آب پنیر توصیه می کند.

۵- منابع

[1] Maftai, N. M., Raileanu, C. R., Balta, A. A., Ambrose, L., Boev, M., Marin, D. B., Lisa, E. L. (2024). The Potential Impact of Probiotics on Human

طبق استاندارد ملی ایران حداقل میزان میکروارگانیسم های پروبیوتیک در مواد غذایی برای بهره مندی از مزایای سلامتی بخش 6 Log cfu/g از ماده غذایی می باشد. طبق نتایج حاصل میزان زنده مانی باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نمونه های پنیر ریکوتا سین بیوتیک در محدوده $6.34-7.41 \text{ Log cfu/g}$ می باشد، لذا کلیه نمونه های پنیر ریکوتا در دوره نگهداری سطح استاندارد باکتری پروبیوتیک را دارا می باشند و با توجه به حضور اینولین به عنوان ماده ای پری بیوتیک، کلیه نمونه های پنیر ریکوتا جز مواد غذایی سین بیوتیک ها هستند [۳۱]. طبق نتایج حاصل زنده مانی باکتری های لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در حضور اینولین و نمک کلرور کلسیم افزایش و در طول زمان نگهداری کاهش معنی دار داشت. طبق گزارشات پیشین کاهش pH، تولید اسیدهای آلی، پتانسیل اکسیداسیون-احیا بالا، تولید پراکسید هیدروژن، حضور اکسیژن مولکولی، رقابت باکتریایی و تغییرات دمایی در طول دوره ذخیره سازی سبب کاهش زنده مانی باکتری های پروبیوتیک در طول دوره نگهداری می شود [۳]. اینولین به عنوان یک ترکیب پری بیوتیک تاثیر تحریک کنندگی رشد باکتری های پروبیوتیک را دارد [۲۱]. مشابها، در تحقیقی در زمینه تاثیر نمک های کلسیم بر خصوصیات پنیر فتا گزارش شد نمک کلسیم سبب افزایش رشد باکتری های آغازگر در نمونه های پنیر می شود [۳۲]. در پژوهشی در زمینه خصوصیات فیزیکوشیمیایی پنیر ماسکارپونه پروبیوتیک مشخص شد اینولین سبب بهبود رشد بیفیدوباکتریوم/انیمالیس در نمونه های پنیر می شود [۳۳].

۴- نتیجه گیری

Health: An Update on Their Health-Promoting Properties. *Microorganisms*. 12: 234.

[2] Khushboo, K. A., Malik, T. (2023). Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for

- development of functional foods. *Frontiers in Microbiology*. 14:1170725.
- [3] Arabshahi, S. S., Sedaghati, M. (2022). Production of synbiotic doogh enriched with *Plantago psyllium* mucilage. *Journal of Food Science and Technology*. 1–8.
- [4] Davani-Davari, D., Negahdaripour, M., Karimzadeh, I., Seifan, M., Mohkam, M., Masoumi, S., Berenjian, A., Ghasemi, Y. (2019). Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. *Foods*. 8(3): 92.
- [5] Chaves, K. S., Gigante, M. L. (2016). Prato cheese as suitable carrier for *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium* Bb12. *International Dairy Journal*. 52: 10–18.
- [6] Rubel, I. A., Iraporda, C., Gallo, A., Manrique, G. D., Genovese, D. B. (2019). Spreadable ricotta cheese with hydrocolloids: Effect on physicochemical and rheological properties. *International Dairy Journal*. 94: 7-15.
- [7] Islam, M., Alharbi, M. A., Alharbi, N. K., Rafiq, S., Shahbaz, M., Murtaza, S., Raza, N., Farooq, U., Ali, M., Imran, M., Ali, S. (2022). Effect of Inulin on Organic Acids and Microstructure of Synbiotic Cheddar-Type Cheese Made from Buffalo Milk. *Molecules*. 27: 5137.
- [8] Niro, S., Succi, M., Cinquanta, L., Fratiavvi, A., Tremonte, P., Sorrentino, E., Panfili, G. (2013). Production of functional Ricotta Cheese. *Agro food Industry Hi Tech*. 24: 56-59.
- [9] Rashid, A. A., Huma, N., Zahoor, T., Asgher, M. (2017). Optimization of pH, temperature, and CaCl₂ concentrations for Ricotta cheese production from Buffalo cheese whey using Response Surface Methodology. *Journal of Dairy Research*. 84: 109-116.
- [10] Zawistowska-Rojek, A., Zaręba, T., Tyski, S. (2022). Microbiological Testing of Probiotic Preparations. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 19: 5701.
- [11] Ansari, J. M., Colasacco, C., Emmanouil, E., Kohlhepp, S., Harriott, O. (2019). Strain-level diversity of commercial probiotic isolates of *Bacillus*, *Lactobacillus*, and *Saccharomyces* species illustrated by molecular identification and phenotypic profiling. *Plos One*. 14: e0213841.
- [12] Hemati, F., Arianfar, A. (2018). Effect of microbial transglutaminase and gelatin on the rheological and sensory properties of low-fat cream cheese. *Journal of Food Process Preservative*. 10(1): 47–60.
- [13] Jiang, Y., Zhang, M., Zhang, Y., Zulewska, J., Yang, Z. (2021). Calcium (Ca²⁺)-regulated exopolysaccharide biosynthesis in probiotic *Lactobacillus plantarum* K25 as analyzed by an omics approach. *Journal of Dairy Science*. 104: 2693-2708.
- [14] Nosrati, G., Jooyandeh, H., Hojjati, M., Noshad, M. (2023). Impact of ultrafiltrated whey powder and lactulose on survival of *Bifidobacterium bifidum* and color and sensory characteristics of ultrafiltrated synbiotic cheese. *Journal of food science and technology*. 20: 238-252.
- [15] Sameer, B., Ganguly, S., Khetra, Y., Sabikhi, L. (2020). Development and Characterization of Probiotic Buffalo Milk Ricotta Cheese. *LWT-Food Science and Technology*. 121: 108944.
- [16] Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*. 83: 894–907.
- [17] Amer, D. A., Albadri, A. A., El-Hamshary, H. A., Nehela, Y., El-Hawary, M. Y., Makhlof, A. H., Awad, S. A. (2023). Impact of Salting Techniques on the Physio-Chemical Characteristics, Sensory Properties, and Volatile Organic Compounds of Ras Cheese. *Foods*. 12(9): 1855.
- [18] Fosberg, H., Joyner, H. S. (2018a). The impact of salt reduction on cottage cheese cream dressing rheological behavior and consumer acceptance. *International Dairy Journal*. 79: 62–72.
- [19] Landfeld, A., Novotna, P., Houska, M. (2002). Influence of the amount of rennet, calcium chloride addition, temperature, and high-pressure treatment on the course of milk coagulation. *Czech Journal of Food Sciences*. 20: 237–244.
- [20] Zhu, C., Brown, C., Gillies, G., Watkinson, P., Bronlund, J. (2015). “Characterizing the rheological properties of mozzarella cheese at shear rate and temperature conditions relevant to pizza baking”. *LWT–Food Science and Technology*. 64: 82-87.
- [21] Vasheghani Farahani, M., Sedaghati, M., Mooraki, N. (2022). Production and characterization of synbiotic *Doogh* by Gum Tragacanth, Date Seed Powder, and *L.casei*. *Journal of Food Process and Preservative*. 46: e16946.
- [22] Kratochvílová, A., Salek, R.N., Vašina, M., Lorencová, E., Kurová, V., Lazárková, Z., Dostálová, J., Šenkýřová, J. (2022). The Impact of Different Hydrocolloids on the Viscoelastic Properties and Microstructure of Processed Cheese Manufactured without Emulsifying Salts in Relation to Storage Time. *Foods*. 11: 3605.
- [23] Leach, M. R., Farkas, B. E., Daubert, C. R. (2003). Rheological Characterization of Process Cheese Using Tube Viscometry. *International Journal of Food Properties*. 6: 259-267.
- [24] Tunick, M. H., Van Hekken, D. L. (2012). The power law and dynamic rheology in cheese analysis. *ACS Symposium Series*. 1098: 191-199.
- [25] Kathuria, D. H., Gautam, S., Thakur, A. (2023). Maillard reaction in different food products: Effect on product quality, human health and mitigation strategies. *Food Control*. 153:109911.
- [26] Zonoubi, R., Goli, M. (2020). The effect of complete replacing sodium with potassium, calcium, and magnesium brine on sodium-free ultrafiltration Feta cheese at the end of the 60-day ripening period: Physicochemical, proteolysis–lipolysis indices,

- microbial, colorimetric, and sensory evaluation. *Food Science and Nutrition*. 9: 866–874.
- [27] Solowiej, B., Glibowski, P., Muszynski, S., Wydrych, J., Gawron, A., Jelinski, T. (2015). The effect of fat replacement by inulin on the physicochemical properties and microstructure of acid casein processed cheese analogues with added whey protein polymers. *Food Hydrocolloids*. 44: 1-11.
- [28] Mazorra-Manzano, M. A., Ramirez-Montejo, H., Lugo-Sanchez, M. E., Gonzalez-Cordova, A. F., Vallejo-Cordoba, B. (2019). Characterization of whey and whey cheese request from the production of asadero cheese (cooked cheese) Sonoran region. *Nova Science*. 11: 220-233.
- [29] Sousa, P. B. D., Guimaraes, T. L. F., Silva, P. L. D., Miranda, E. S. M., Castro, E. D. A., Moncao, E. D. C., Santos, S. M. L. D., Mendes, L. G., Cavalcante, A. B. D., Damaceno, M. N. (2021). Effect of inulin addition on the physicochemical, microbiological, and sensory characteristics from guava-flavored petit-suisse kefir cheese. *Agricultural Biological Science*. 10: e7010817139.
- [30] Pawlos M, Znamirska-Piotrowska A, Kowalczyk M, Zagula G (2022) Application of Calcium Citrate in the Manufacture of Acid Rennet Cheese Produced from High-Heat-Treated Goat's Milk from Spring and Autumn Season. *Mol* 27:5523.
- [31] Ortiz LC, Darre M, Ortiz CM, Massolo JF, Vicente AR (2017) Quality and yield of Ricotta cheese as affected by milk fat content and coagulant type. *Int J Dairy Technol* 71: 340-346.
- [32] Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V. (2015). Technology and potential applications of probiotic encapsulation in fermented milk products. *Journal of Food Science and Technology*. 52: 4679-4696.
- [33] Almeida, J. D. S. O. D., Dias, C. O., Pinto, S. S., Pereira, L. C., Verruck, S., Fritzen-Freire, C. B., Amante, E. R., Prudencio, E., Amboni, RDMC. (2017). Probiotic Mascarpone-type cheese: Characterisation and cell viability during storage and simulated gastrointestinal conditions. *International Journal of Dairy Technology*. 71: 195-203.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

The effect of inulin and calcium chloride on the viscosity and color characteristics of synbiotic ricotta cheese

Marjaneh Sedaghati*, Reyhaneh Kavand

1- Department of Food Science and Technology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- MS student of Food Science and Technology, Faculty of Biological Sciences, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Article History:

Received: 2024/8/27

Accepted: 2024/12/30

Keywords:

cheese,
color indexes,
inulin,
ricotta,
and viscosity.

DOI: 10.22034/FSCT.22.162.171.

*Corresponding Author E-

marjanehsedaghati@yahoo.com

ABSTRACT

This research was conducted with the aim of investigating changes in viscosity and color characteristics of synbiotic ricotta cheese with the addition of inulin and calcium chloride during the storage time. To produce synbiotic ricotta cheese, whey, *Lactobacillus acidophilus*, inulin, and calcium chloride were used. Inulin at three levels of 0, 1% and 3% and calcium chloride salt at three levels of 0, 150 and 300 mg/L were applied and changes in viscosity and color (color indexes L^* , b^* and a^*) and the survival of *Lactobacillus acidophilus* during the storage investigated. The results showed the addition of inulin and calcium chloride significantly increased the viscosity of synbiotic ricotta cheese ($p < 0.05\%$). The diagram of apparent viscosity-shearing rate indicated that with increasing shearing rate, the apparent viscosity of the samples decreased; Therefore, synbiotic ricotta cheese are non-Newtonian food. In the evaluation of the rheological parameters of different synbiotic ricotta cheese, it was found the cheese had a high correlation with the power law model and the synbiotic ricotta cheese showed pseudoplastic behavior. The changes of L^* color index of synbiotic ricotta cheese revealed the addition of inulin to cheese significantly increased the L^* color index and the presence of calcium chloride decreased the L^* color index of synbiotic ricotta cheese significantly ($p < 0.05$). Also, increasing the concentration of inulin and calcium chloride in different synbiotic ricotta cheese was associated with a significant decrease in b^* and a^* color index of cheese ($p < 0.05$). According to the results, the addition of inulin and calcium chloride improved the survival of *Lactobacillus acidophilus* ($p < 0.05$). According to the results, in the synbiotic ricotta cheese containing 3% inulin and 300 mg/L calcium chloride, the viscosity and color characteristics of the sample was favorable. In addition, this sample had the highest survival rate of *Lactobacillus acidophilus* among the synbiotic ricotta cheese.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تهیه امولسیون ساختار یافته آب در روغن (W/O) کم - اشباع بدون ترانس بر پایه روغن کانولا و اولئوژلاتور های لیپیدی به عنوان جایگزین کره

محمد رزم پور^{۱*}، جمشید فرمانی^۲، جعفر محمد زاده میلانی^۳، تیمور محمدی^۴

۱- دانشجوی دکتری، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۲- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۳- استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ایران.

۴- دکترای علوم و صنایع غذایی، نایب رئیس هیات مدیره و مدیر عامل شرکت روغنکشی خرمشهر، تهران، ایران

چکیده

اطلاعات مقاله

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۶/۱۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۳

کلمات کلیدی:

روغن کانولا،

امولسیون،

هسته پالم،

گلیسرول،

سوربیتان،

اولئوژل

این مطالعه به بررسی تولید و ارزیابی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O) کم اشباع و بدون اسید چرب ترانس بر پایه روغن کانولا و اولئوژلاتور های لیپیدی به عنوان جایگزین کره پرداخته است. این پژوهش تلاش نمود تا با بهره گیری از روغن کانولا، که دارای میزان کمتری اسید های چرب اشباع و میزان بیشتری اسید های چرب غیر اشباع نظیر اسید لینولنیک و اسید اولئیک است، امولسیون هایی را ایجاد کند که از نظر ارزش تغذیه ای و عملکردی، مشابه یا برتر از نمونه های تجاری کره باشند. در این پژوهش، از استتارین هسته پالم به عنوان جزء سخت و دو نوع امولسیفایر شامل گلیسرول مونو استئارات و سوربیتان مونو استئارات استفاده شده است. امولسیون های تهیه شده تحت تأثیر متغیر های مختلفی مانند میزان استتارین هسته پالم، نوع امولسیفایر و نسبت روغن به آب قرار گرفتند و خصوصیات آن ها از جمله ترکیب اسید های چرب، پایداری حرارتی، پایداری فیزیکی و خصوصیات بافتی و حسی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش درصد استتارین هسته پالم منجر به افزایش سختی و پایداری حرارتی امولسیون ها شده، در حالی که انتخاب نوع امولسیفایر تأثیر بسزایی بر روی پایداری فیزیکی و اکسایشی داشت. همچنین، نمونه های حاوی سوربیتان مونو استئارات در مقایسه با گلیسرول مونو استئارات، پایداری فیزیکی بیشتری داشتند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که امولسیون های ساختار یافته تولید شده با این روش می توانند به عنوان جایگزین مناسبی برای کره در کاربردهای غذایی مورد استفاده قرار گیرند، بدون اینکه کیفیت حسی و عملکردی محصول نهایی تحت تأثیر قرار گیرد. این تحقیق نشان دهنده ظرفیت زیاد روغن های گیاهی اصلاح شده در تولید محصولات غذایی سالم و با کیفیت مناسب است.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.199.

* مسئول مکاتبات:

mh_razmpour@yahoo.com

۱- مقدمه

کره یکی از فرآورده های لبنی است که دارای مصارف متنوعی می باشد. با این حال، در زمینه تولید کره دو موضوع دارای اهمیت زیادی می باشد: (۱) وجود محدودیت در زمینه تولید و بسته بندی آن و (۲) حضور میزان زیادی اسید های چرب اشباع در آن [۲،۱]. بنابراین، با توجه به اینکه منابع ارزان و همچنین دارای ارزش تغذیه ای مناسب برای تولید جایگزین برای کره بصورت فراوان در دسترس است، لازم است توجه بیشتری به تولید جایگزین های کره معطوف گردد. بطور معمول مارگارین (کره گیاهی) - که در تهیه آن بجای چربی شیر از منابع گیاهی استفاده می گردد- جایگزین کره می باشد [۴،۳]. در دهه های گذشته، روغن های هیدروژنه شده نسبی با میزان بیشتری از اسید های چرب ترانس (بیشتر از میزان ۲۰ درصد)، در تهیه و تولید مارگارین ها مورد استفاده قرار گرفته اند [۵]. امروزه بر اساس استاندارد های موجود، بیشینه مجاز اسید های چرب ترانس در مارگارین های با مصرف خانگی ۱-۲ درصد و در مارگارین قنادی صنعتی ۵ درصد می باشد [۶،۳]. علاوه بر این، این محصولات می توانند حاوی حداکثر ۳۵ درصد (در مورد پخشینه)، ۳۷ درصد (در مورد مارگارین پخت و پز)، ۴۸ درصد (در مورد مارگارین سفره) یا ۶۵ درصد (در مورد مارگارین قنادی) اسید های چرب اشباع باشند. واضح است که اگرچه در زمینه حذف اسید های چرب ترانس از فرآورده های روغن و چربی اقدام مناسبی انجام گرفته است، اما این فرآورده ها هنوز حاوی میزان بیشتری اسید های چرب اشباع می باشند. بنابراین کاهش میزان اسید های چرب اشباع همچنان یکی از چالش های موجود در زمینه تولید مارگارین هاست [۶،۵].

از گذشته از روش های مختلفی به منظور تغییر ویژگی های فیزیکی روغن ها/ چربی ها و مناسب کردن آنها برای مصارف مختلف استفاده شده است که از جمله آنها می توان هیدروژنه کردن، ایتر استریفیکاسیون^۱، جزء به جزء کردن، مخلوط کردن و اولئوژلاسیون/ ساختار دهی را نام برد. در بین روش های فوق، اولئوژلاسیون/ ساختار دهی روشی جدیدتری است که امکان تغییر حالت روغن از مایع به جامد را با حداقل (یا حتی بدون) دستکاری ترکیب اسید های چرب روغن پایه فراهم می کند. اولئوژلاسیون در واقع روشی است که در آن روغن های مایع در یک شبکه که توسط اولئوژلاتور ها ایجاد شده را محبوس نموده و در نهایت ساختاری مشابه ژل ایجاد می شود [۸،۷]. به طور کلی، سیستم های ساختار دهی شده را می توان به دو گروه سیستم های تک فاز - که تنها حاوی فاز روغنی بوده و معروف به اولئوژل یا روغن ساختار یافته هستند و سیستم های دو فاز - که حاوی فاز های روغنی و آبی بوده و معروف به امولسیون های ساختار یافته می باشند تقسیم بندی نمود. سیستم های دو فاز - روغن - آب می تواند به طور کلی در سه گروه اصلی دسته بندی شوند: امولسیون های با فاز پیوسته آبی ساختار یافته با زیست پلیمر ها (مانند پروتئین ها و پلی ساکارید ها) که هم به عنوان امولسیفایر و هم عوامل غلیظ / ژل کننده عمل می کنند؛ امولسیون های با فاز پیوسته آبی بسیار غلیظ که در آنها ساختار دهی در نتیجه نزدیک شدن قطرات بسیار زیاد پراکنده ایجاد می شود؛ و امولسیون های با فاز پیوسته روغنی ساختار یافته بوسیله شبکه بلوری ذرات چربی [۹]. در میان این سه گروه، محصولات مبتنی بر امولسیون های بر پایه روغن می توانند از روش های ساختار دهی روغن بیشترین بهره را ببرند، زیرا چربی جامد نقش بسزایی در بافت این محصولات دارد.

پژوهش های مختلفی در زمینه استفاده اولئوژل در زمینه تهیه جایگزین های کره انجام شده است. Hwang و همکاران (۲۰۱۳) به تهیه مارگارین بر پایه موم و روغن سویا پرداختند؛ نتایج این تحقیق نشان داده است که نوع اولئوژلاتور در ایجاد خصوصیات مارگارین تاثیرگذار می باشد؛ بطوری که نمونه های حاوی موم آفتابگردان دارای بیشترین سختی نسبت به سایر نمونه ها بودند [۱۰]. در پژوهش انجام شده توسط Ögütçü و Yılmaz (۲۰۱۵) با استفاده از دو نوع موم و همچنین دو نوع منبع روغنی اقدام به تهیه محصولات جایگزین کره ای شده است؛ نتایج نشان داده است که هر دو گروه تهیه شده نتایج مشابهی بخصوص در زمینه ویژگی حسی در مقایسه با نمونه های کره و مارگارین تجاری داشتند [۱۱]. در پژوهش انجام شده توسط Gaudino و همکاران (۲۰۱۹) جهت استفاده دو نوع ژلاتور در زمینه تهیه محصولات نیمه جامد، محققان به این نتیجه رسیدند که بر همکنش دو نوع هیدروژلاتور (لستین سویا و اسید استئاریک) می تواند منجر به سختی بیشتر در نمونه شد [۱۲]. Silva و همکاران (۲۰۲۱) به تهیه مارگارین بر اساس اولئوژل های حاوی درصد چربی مختلف (۳۵ و ۶۰ درصد) پرداختند، نتایج نشان داد که نمونه های حاوی ۶۵ درصد چربی دارای حالت سختی بیشتر، پخش پذیری کمتر و همچنین پایداری حرارتی بیشتری نسبت به نمونه شاهد (مارگارین ۶۰ درصد چربی) بودند [۱۳]. در پژوهش انجام شده توسط Naeli و همکاران (۲۰۲۲) در زمینه تهیه شورتینگ های کم اشباع بر پایه اولئوژل با استفاده از دو نوع اولئوژلاتور (اتیل سلولز و هیدروکسی پروپیل متیل سلولز)، روغن آفتابگردان و پالم استئارین، آنها با استفاده از روش بهینه سازی سطح پاسخ موفق به کاهش درصد اسیدهای چرب اشباع تا ۱۵/۱۹ درصد در شورتینگ شدند که خیلی کمتر از اشباعیت نمونه های تجاری (۵۸/۴۷-۶۵/۸۷ درصد) بودند. با این حال، اگرچه برخی خصوصیات شورتینگ

کم اشباع (نقطه ذوب، سفتی و رئولوژیکی) نسبت به نمونه های شاهد میزان کمی بیشتری داشتند، اما محتوای چربی جامد^۲ و همچنین پایداری اکسایشی آنها کمتر بود [۱۴].

این پژوهش با هدف طراحی امولسیون ساختار یافته کم اشباع از روغن کانولا به عنوان روغن پایه برای ساخت امولسیون انجام شد. در میان روغن های گیاهی، روغن کانولا دارای خصوصیات قابل توجهی مثل حضور میزان کم اسید های چرب اشباع (کمتر از ۱۲ درصد)، میزان بیشتری اسید لینولنیک (حدود ۸ درصد) و میزان بیشتری از اسید اولئیک (۶۰ درصد) بوده که این موضوع بیانگر ارزش تغذیه ای و مصرفی آن می باشد. علاوه بر این، روغن کانولا با قیمت مناسب و به طور فراوان در دسترس می باشد [۱۵، ۴]. بنابراین، با توجه به موارد ذکر شده، روغن کانولا منبع مناسبی جهت تهیه مارگارین می باشد. در این مقاله همچنین اثر متغیرهای فرمولاسیونی بر ویژگی های امولسیون ساختار یافته، تاثیر میزان جزء سخت^۳ (استئارین هسته پالم)، نوع امولسیفایر و نسبت فاز روغنی بررسی شده است.

۲-مواد و روش ها

۲-۱-مواد

روغن کانولای تصفیه شده و نمونه کره تجاری از فروشگاه های در ساری، ایران خریداری شد. استئارین هسته پالم (PKS) از شرکت PT Wilmar، اندونزی تهیه شد. امولسیفایر گلیسرول مونو استئارات از شرکت آرایشی - بهداشتی کیا شیمی یاسوج، ایران تهیه شد. امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات از شرکت محصولات دانش بنیان و صنایع خلاق ویتفا، ایران تهیه شد.

۲-۲- طرح پژوهش

امولسیون های تهیه شده در این پژوهش، امولسیون ساختار یافته آب در روغن بودند. اجزای بکار رفته در این نوع امولسیون ها شامل: (۱) روغن کانولا (روغن پایه)، (۲) استئارین هسته پالم (جزء سخت)، (۳) گلیسرول مونو استئارات و سوربیتان مونو استئارات (امولسیفایر) و (۴) آب (نقش فاز آبی) بودند. در این نوع امولسیون از درصد ثابت ۷ درصد امولسیفایر و دو سطح ۷ و ۱۰ درصد استئارین هسته پالم استفاده شد. علاوه بر این درصد فاز کل روغنی (روغن کانولا + استئارین هسته پالم) در ۳ سطح ۶۰، ۷۰ و ۸۰ درصد تعیین گردید. در این پژوهش از طرح فاکتوریل کامل برای بررسی تاثیر مجزای هر فاکتور به تنهایی، تاثیر دوتایی و تاثیر کلی فاکتور ها برای هر نوع آزمون استفاده شد.

۲-۳- تهیه نمونه امولسیون ساختار یافته آب در روغن (W/O)

تهیه امولسیون های آب در روغن ساختار یافته با استفاده از روش ارائه شده توسط Garcia-Ortega (۲۰۲۱) انجام شد [۱۶]. توزین نمونه ها با ترازوی الکتریکی انجام شد. ابتدا فاز روغنی کل توزین و سپس تحت حرارت تا دمای ۷۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه هیتر همزن قرار گرفت. البته همزمان با فاز روغنی کل، فاز آبی نیز بصورت جداگانه تحت شرایط حرارتی مشابه قرار گرفت. امولسیفایر در میزان ثابت مورد نظر (۷ گرم) توزین، به فاز روغنی کل افزوده و تحت شرایط همزنی - دمایی بصورت rpm ۳۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه تحت دمای ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. در ادامه پس از انجام شرایط مذکور، از ظرف حاوی فاز روغنی کل - امولسیفایر به میزان ۴۰ درصد جدا شده، به آن فاز آبی را افزوده و تحت شرایط همزنی - دمایی ذکر شده قرار داده شد. البته ۶۰ درصد فاز روغنی کل - امولسیفایر نگهداری شد. در

ادامه مخلوط ۴۰ درصد فاز روغنی کل - امولسیفایر + فاز آبی در ظرف استوانه ای شکل مناسب جهت انجام همگن سازی تحت تیمار با دستگاه اولتراتوراکس (Heidolph Instruments GmbH & Co., KG, Germany) قرار گرفت. قدرت مورد استفاده اولتراتوراکس جهت انجام همگن سازی به میزان rpm ۲۰۰۰۰ به مدت ۳۰ ثانیه بود. پس از همگن سازی، ۶۰ درصد مخلوط فاز روغنی کل - امولسیفایر به نمونه همزن شده افزوده، و با استفاده از یک همزن دیجیتال در یک حمام آب و یخ هم زده شد. شرایط همزنی در این قسمت بصورت rpm ۱۹۰ به مدت ۱۰ دقیقه بود تا دمای نمونه به ۲۰ درجه سانتی گراد کاهش یابد. پس از رسیدن به دمای ۲۰ درجه سانتی گراد (تکمیل کریستالیزاسیون نمونه)، نمونه از حمام آب و یخ برداشته شد و در ادامه نمونه تحت شرایط همزنی مذکور (rpm ۱۹۰ به مدت ۱۰ دقیقه) قرار گرفت. در نهایت ظرف حاوی نمونه در شرایط فریزر تا زمان انجام آزمون های مربوطه نگهداری شد.

۲-۴- روش های آزمون امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۲-۴-۱- آنالیز ترکیب اسید چرب امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی ترکیب اسید های چرب از دستگاه کروماتوگرافی گازی و طبق استاندارد AOCS به شماره هایی Ce 1-91 (۱۹۹۶) و Ce 2-66 (۱۹۹۶) استفاده شد [۱۷]. دستگاه کروماتوگرافی گازی (شیمادزو، مدل ECD۲۰۱۴، ژاپن) مجهز به ستونی با مشخصات معین $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm ID} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ و از نوع موئینه با عنوان RTX-WAX بود. نمونه به میزان ۱ میکرولیتر

با نسبت اسپلیت به میزان ۱۵۰ تزریق شد. دمای قسمت تزریق کننده در 250°C و دمای آشکارساز در 280°C تنظیم شد. نیتروژن بعنوان گاز حامل به میزان ۱/۲۶ میلی لیتر بر دقیقه تزریق شد. برنامه دمایی برای آنالیز نمونه شامل: شروع از دمای 155°C و نگهداری در دمای مذکور به مدت ۳ دقیقه؛ افزایش دما تا 220°C با نرخ $20^{\circ}\text{C}/\text{min}$ و در نهایت نگهداری در دمای نهایی ب مدت ۶۰ دقیقه بود. سرانجام نرم افزار دستگاه، پیک ها و درصد های مربوط به اسیدهای چرب را گزارش داد.

۲-۴-۲- تعیین خصوصیات حرارتی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی آنالیز حرارتی نمونه ها از روش گرماسنجی روبشی افتراقی^۵ (model 400, SANAF, Electronic Industries, Tehran, Iran) استفاده شد. ۱۵-۲۰ میلی گرم نمونه در ظروف مربوط به دستگاه توزین و در محفظه دستگاه قرار داده شد. در ادامه نمونه ها در دامنه دمایی ۲۵-۹۵ درجه سانتی گراد با نرخ حرارتی دهی / خنک کردن ۱۰ درجه سانتی گراد بر دقیقه آنالیز شدند. در نهایت خصوصیات حرارتی بصورت ΔH ، T_{onset} ، T_{peak} و T_{offset} گزارش شد [۱۸]. تعیین نقطه ذوب لغزشی با استفاده از روش لوله موئینه باز و استاندارد AOCS به شماره Cc 3-25 انجام شد [۱۷].

۲-۴-۳- خصوصیات بافتی و اکسایشی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۲-۴-۳-۱- اندازه گیری سختی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

اندازه گیری بافت امولسیون ها (خصوصیت سختی) با استفاده از دستگاه بافت سنج TA-XT2i (Stable

Microsystems, Godalming, UK) و نیروی نفوذی انجام شد [۱۱]. اندازه گیری ها در دمای محیط (25°C) درجه سانتی گراد) و پروب استفاده شده از نوع شیشه ای با ابعاد مشخص ($4 \times 4 \times 4$ سانتی متر) بود. سرعت پروب دستگاه برای نفوذ در نمونه بصورت ۳ میلی متر بر ثانیه بود. پروب به میزان ۲۳ میلی متر در نمونه نفوذ کرد و سرعت جداسدن پروب ۱۰ میلی متر بر ثانیه بود. در نهایت بیشترین میزان نیروی نفوذی بعنوان سختی (g force) در نظر گرفته شد.

۲-۴-۳-۲- پایداری اکسایشی-اکسی تست^۶ امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

پایداری اکسایشی با استفاده از روش اکسی تست طبق استاندارد AOCS، به شماره Cd 12c-16 (۱۹۹۶) و دستگاه Oximeter (Velp Scientifica, Usmate, Italy) تعیین شد [۱۷]. ۱۰ گرم نمونه در ظروف مربوط به دستگاه توزین و در محفظه دستگاه قرار گرفت. نمونه ها در دستگاه در معرض دمای ۹۰ درجه سانتی گراد و فشار اکسیژن ۶ بار قرار گرفتند. دوره القا^۷ توسط نرم افزار دستگاه ارائه شد و بعنوان میزان پایداری اکسایشی (بر حسب ساعت) گزارش شد.

۲-۴-۳-۲- پایداری های فیزیکی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۲-۴-۳-۲-۱- پایداری سانتیفرژی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی پایداری سانتیفرژی نمونه ها از دستگاه سانتیفرژ (Hermle Laboratechnik, GmbH, type: Z 366, Germany) استفاده شد. جهت بررسی پایداری در برابر سانتیفرژ، ابتدا به میزان ۵ گرم نمونه (WA) در داخل لوله پلاستیکی با حجم مشخص (۵۰ میلی

7 -Induction period (IP)

5- Differential scanning calorimetry (DSC)

6- Oxitest

معادله زیر (معادله ۳) و با توجه به S (شاخص سدیمانتاسیون)، CS (پایداری یخچالی)، H (ارتفاع فاز روغنی جدا شده در قسمت بالای لوله)، H₀ (ارتفاع اولیه امولسیون در لوله) محاسبه شد.

$$S \text{ or } CS (\%) = (H/H_0) * 100 \quad (3)$$

۲-۴-۵- بررسی خصوصیات حسی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی خصوصیات حسی از روش امتیازدهی استفاده شد. ۷ خصوصیت حسی بررسی، میزان امتیاز ۰ بعنوان کمترین و امتیاز ۱۰ بعنوان بیشترین در نظر گرفته شد. خصوصیات حسی در شرایط محیطی (۲۵ درجه سانتی گراد)، به کمک افراد به همراه نمونه کره تجاری، تکه های سیب و لیوان آب (جهت پاک سازی نمونه)، انجام شد [۱۱].

۳- تجزیه و تحلیل آماری

تمامی تیمارها در این پژوهش در سه تکرار انجام شد. بررسی تاثیر تکی، دوتایی و سه تایی فاکتور های این پژوهش، با استفاده از طرح فاکتوریل کامل و نرم افزار Minitab Inc., State College,) Minitab16 (PA, USA انجام شد. سطح معنی داری بصورت ۹۵ درصد (۰.۰۵) مورد استفاده قرار گرفت و نتایج بصورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شد.

۴- نتایج و بحث

۳-۱- ترکیب اسیدهای چرب امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

عواملی مانند نوع پایه روغنی، نوع عوامل ساختاردهی/امولسیفایری و میزان بکار گیری اجزاء می توانند بر ترکیب اسید های چرب موثر باشند [۲۲،۳]. بر اساس جدول ۱،

لیتری) توزین شد. سپس لوله های حاوی نمونه در معرض شرایط سانتریفوژی مشخص (۳۶۰۰rpm، ۳۰ دقیقه و ۲۵ درجه سانتی گراد) قرار گرفتند [۱۹]. پس از شرایط مذکور، قسمت فاز جدا شده را حذف، قسمت باقیمانده نمونه را توزین (W_B) و در نهایت میزان پایداری سانتریفوژی بر اساس معادله زیر تعیین شد (معادله ۱).

$$CS (\%) = (W_B / W_A) \times 100 \quad (1)$$

۲-۴-۲- افت روغن امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی شاخص افت روغن از روش توزین کاغذ صافی استفاده شد [۲۰]. ۱۰ گرم از هر نمونه (W_s) بصورت جداگانه بر روی کاغذ صافی (واتمن نمره ۴) از پیش توزین شده (W_{before})، توزین شد. پس از ۴ ساعت نگهداری در دمای محیط (۲۵ درجه سانتی گراد)، نمونه از کاغذ صافی جدا شده و کاغذ صافی توزین شد (W_{after}). بر اساس معادله زیر (معادله ۲)، میزان افت روغن برای هر نمونه محاسبه شد.

$$\text{Oil loss } (\%) = (W_{\text{after}} - W_{\text{before}}) / W_s \times 100 \% \quad (2)$$

۲-۴-۳- پایداری یخچالی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

جهت بررسی پایداری یخچالی (شاخص سدیمانتاسیون)، از روش نگهداری نمونه ها در شرایط یخچالی (۴ درجه سانتی گراد) و تغییرات ارتفاع نمونه ها در ظروف نگهداری استفاده شد [۲۱]. جهت بررسی پایداری یخچالی، نمونه ها در لوله های پلاستیکی با حجم مشخص (۱۵ میلی لیتری)، به میزان ۱۰ گرم توزین و در ادامه با پارافیلیم (Neenah, WI 54956, Bemis Flexible) (Packaging) درزبندی شد. نمونه ها در شرایط یخچالی (۴ درجه سانتی گراد) و در جا لوله ای به مدت ۹۰ روز نگهداری شدند. پایداری یخچالی در نهایت با استفاده از

کمتر از نمونه های ارائه شده بصورت ۲۴ درصد توسط Lumor و همکاران (۲۰۰۷) و همچنین دامنه ۲۰/۱۷-۲۴/۹۳ درصد توسط Silva و همکاران (۲۰۲۱) بود [۱۳و۲۲].

بیشترین میزان اشباعیت مربوط به نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم بود؛ درحالیکه بیشترین میزان تک غیر اشباعیت، چند غیر اشباعیت و غیر اشباعیت کل مربوط به نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم بود. بر طبق جدول ۱، میزان اسید های چرب ترانس در کمترین میزان برای استئارین هسته پالم (۰/۰۳ درصد) و بیشترین میزان مربوط به کره تجاری (۰/۹۷ درصد) بود. مقایسه ترکیب اسید های چرب نمونه کره تجاری و نمونه های بر پایه ۷ و ۱۰ درصد استئارین هسته پالم نشان داد که نمونه های تهیه شده دارای میزان اشباعیت کمتر، غیر اشباعیت کل بیشتر و همچنین اسید های چرب ترانس کمتری نسبت به نمونه کره تجاری بود (جدول ۱).

استفاده از منابع روغنی گیاهی با میزان اشباعیت کم، میزان غیر اشباعیت زیاد و در حد مناسب (با توجه به نوع و میزان اسید های چرب موردنظر)، برای تهیه جایگزین های محصولات کره ای از نظر بخش سلامتی زایی و تغذیه ای دارای اهمیت زیادی می باشند [۱۳]. میزان اسید های چرب اشباع نمونه های ارائه شده در این پژوهش بسیار

Table 1 Fatty acid composition of canola oil (CO), palm kernel stearin (PKS), commercial butter (CB) and blends of CO and PKS

Fatty acids	CB	PKS	CO	CO:PKS (93:7)	CO:PKS (90:10)
C6:0	1.75±0.00	-	-	-	-
C8:0	1.10±0.01	1.88±0.00	-	0.13	0.19
C10:0	2.64±0.01	2.73±0.00	-	0.19	0.27
C12:0	3.38±0.01	54.33±0.00	-	3.80	5.43
C14:0	11.09±0.01	21.51±0.00	-	1.51	2.15
C14:1	0.14±0.00	-	-	-	-
C15:0	0.99±0.01	-	-	-	-
C15:1	0.19±0.00	-	-	-	-
C16:0	38.19±0.01	9.55±0.00	3.92±0.01	4.31	4.48
C16:1	1.68±0.00	-	-	-	-
C17:0	0.63±0.01	-	-	-	-
C17:1	0.20±0.00	-	-	-	-
C18:0	9.73±0.00	9.36±0.00	1.75±0.00	2.28	2.51
C18:1	24.74±0.02	0.60±0.00	56.71±0.00	52.78	51.10
C18:2	2.63±0.00	-	31.77±0.00	29.55	28.59
18:3	-	-	4.91±0.00	4.57	4.42
C22:0	-	-	0.29±0.01	0.27	0.26
SFA	69.43±0.13	99.37±0.01	5.96±0.00	12.50	15.30
MUFA	26.97±0.01	0.60±0.00	56.71±0.00	52.78	51.10
PUFA	2.63±0.00	-	36.68±0.00	34.11	33.01
UFA	29.60±0.00	0.60±0.00	93.39±0.00	86.89	84.11

TFA	0.97±0.00	0.03±0.00	0.65±0.00	0.61±0.00	0.60±0.00
-----	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

Data are shown as means ± standard deviation of three replicates. SFA: sum of saturated fatty acids; MUFA: sum of monounsaturated fatty acids; PUFA: sum of polyunsaturated fatty acids; UFA: sum of unsaturated fatty acids; TFA: Trans fatty acids.

میزان T_{offset} به ترتیب بصورت $38/28^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و $41/26^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات)؛ کمترین میزان ΔH در حد $7/86 \text{ J/kg}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت روغنی ۶۰ به ۴۰ و به همراه گلیسرول مونو استئارات و نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و بیشترین میزان ΔH در حد $9/68 \text{ J/kg}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات) ثبت شد (جدول ۲).

به عبارت دیگر نتایج آنالیز حرارتی نشان داد که مصرف استئارین هسته پالم در میزان ۷ درصد، امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات و نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد منجر به ایجاد خصوصیات حرارتی در حداقل میزان شد (جدول ۲). در مقابل، مصرف ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات، منجر به تقویت خصوصیات حرارتی شد (جدول ۲). از نظر مقایسه خصوصیات حرارتی نمونه های تهیه شده با کره تجاری، نتایج نشان می دهد که خصوصیات حرارتی نمونه های امولسیونی در میزان کمتری نسبت به کره تجاری بود (جدول ۲). مقایسه خصوصیات حرارتی بر حسب امولسیفایر بطور کلی نشان داد که نتایج مربوط از نظر میزان در نزدیکی هم قرار داشته، اگرچه در برخی موارد تفاوت های اندکی وجود داشت (جدول ۲).

۲-۳- خصوصیات حرارتی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۳-۲-۱- آنالیز حرارتی نمونه ها-روش گرماسنجی روبشی افتراقی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به آنالیز حرارتی در جدول ۲، نشان داده شده است. آنالیز آماری داده های T_{onset} و T_{peak} حاکی از وجود تفاوت معنی دار بین نمونه ها ناشی از فاکتور ها و بر همکنش آنها (دوتایی و کلی) بود ($p < 0.05$). با این حال، آنالیز آماری داده های T_{offset} هیچ گونه تفاوت معنی داری را نشان نداد ($p > 0.05$). از نظر ΔH ، اثر برخی بر همکنش ها (شامل استئارین هسته پالم × نوع امولسیفایر؛ استئارین هسته پالم × نوع امولسیفایر × درصد فاز روغنی) معنی دار نبود ($p > 0.05$)، در صورتی که اثر سایر بر همکنش ها و اثر تکی فاکتور ها معنی دار بودند ($p < 0.05$).

کمترین و بیشترین میزان T_{onset} به ترتیب بصورت $19/20^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و $29/46^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات)؛ کمترین و بیشترین میزان T_{peak} به ترتیب بصورت $28/74^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و $36/17^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات)؛ کمترین و بیشترین

نمونه حاوی ۳۵ درصد فاز روغنی، دارای میزان خصوصیت T_{peak} کمتری بود [۱۳].

مصرف میزان آب بیشتری در نمونه ها، می تواند منجر به بهبود ساختار جامد در نمونه شده و در نهایت مقاومت به ذوب شدگی را نیز در نمونه ها ایجاد نماید [۱۳]. اولئوزل ها در تشابه با محصولات کره ای، دارای رفتار حرارتی مشابه هستند [۲۸]. برخی اولئوزل ها دارای خصوصیات حرارتی کمتری بودند، اگرچه دارای میزان بیشتری فاز آبی بودند [۱۳]. در برخی مواقع عوامل امولسیفایری دارای تاثیر زیادی در مقایسه با عوامل اولئوزلاتوری در بروز تفاوت خصوصیات حرارتی اولئوزل می باشند [۱۳]. گزارش شده که دو خصوصیت آنالیز حرارتی و همچنین حسی، در مناسب بودن نوع اولئوزل های جایگزین محصولات چربی گونه می تواند مدنظر قرار گیرند [۱۱].

خصوصیات حرارتی مربوط به اولئوزل ها با توجه به نوع و میزان اجزای اصلی و بطور ویژه عوامل اولئوزلاتوری/امولسیفایری می تواند متغیر باشد [۲۵،۲۴]. گزارش شده که عوامل اولئوزلاتوری (از جمله موم ها) دارای تاثیر متفاوتی بر خصوصیات حرارتی با توجه به نوع و درصد بکارگیری بودند [۲۶،۲۴]. گزارش شده که نمونه های ساخته شده با اولئوزلاتور اتیل سلولز میزان ΔH کمتر، اما پایداری حرارتی بیشتری نسبت به اولئوزل ساخته شده با اولئوزلاتور مومی داشتند [۲۷]. میزان اشباعیت منابع چربی / روغن جایگزین و همچنین عوامل ساختاردهنده، نیز بر خصوصیات حرارتی اولئوزل ها موثرند [۱۳]. در پژوهش انجام شده توسط Silva و همکاران (۲۰۲۱) گزارش دادند که نمونه های دارای میزان برابری از عوامل ساختاردهنده، خصوصیات حرارتی متفاوتی داشتند [۱۳]. Silva و همکاران (۲۰۲۱) همچنین گزارش دادند که در صورت استفاده از میزان مساوی عوامل ساختاردهنده، نمونه مارگارین حاوی ۶۰ درصد فاز روغنی نسبت به

Table 2 Thermal characteristics of the structured W/O emulsion samples

Sample code	Thermal characteristics				
	$T_{onset} (^{\circ}C)$	$T_{peak} (^{\circ}C)$	$T_{offset} (^{\circ}C)$	$\Delta H (J/kg)$	SMP ($^{\circ}C$)
P7GO60	19.23±0.00	28.77±0.00	38.32±0.00	7.86±0.00	38.35±0.01
P7SO60	19.20±0.00	28.74±0.00	38.28±0.00	7.86±0.00	38.33±0.00
P7GO70	19.32±0.00	28.86±0.00	38.40±0.01	7.89±0.00	38.39±0.00
P7SO70	19.26±0.00	28.80±0.00	38.34±0.00	7.87±0.00	38.37±0.00
P7GO80	19.45±0.00	29.01±0.00	38.56±0.00	7.94±0.01	38.45±0.00
P7SO80	19.40±0.00	28.90±0.00	38.41±0.00	7.90±0.00	38.43±0.00
P10GO60	28.12±0.00	34.61±0.00	41.13±0.00	9.46±0.00	41.17±0.01
P10SO60	28.12±0.00	34.61±0.00	41.13±0.00	9.46±0.00	41.16±0.01
P10GO70	28.40±0.00	36.17±2.31	41.20±0.00	9.52±0.00	41.23±0.01
P10SO70	28.36±0.00	34.77±0.00	41.19±0.00	9.51±0.00	41.21±0.00
P10GO80	28.53±0.00	35.44±0.00	41.26±0.00	9.68±0.00	41.28±0.00
P10SO80	29.46±0.00	35.34±0.00	41.23±0.01	9.66±0.00	41.26±0.00
CB	36.64±0.00	49.53±0.00	60.42±0.00	166.82±0.00	35.89±0.00

Data are shown as means $\pm$ standard deviation of three replicates. T_{onset} = Initial temperature of melting; T_{peak} = Peak temperature; T_{offset} = Final temperature of melting; ΔH = Enthalpy of the peak; SMP= Slip melting point; PG/SO=Palm kernel stearin, Glycerol monostearate/Sorbitan monostearate, Oil ratio (P7&10% and O 60, 70&80%); CB= Commercial butter.

۳-۲-۲- نقطه ذوب لغزشی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به نقطه ذوب لغزشی در جدول ۲، نشان داده شده است. در بررسی آنالیز آماری مربوط به نقطه ذوب، نتایج نشان از وجود تاثیر معنی دار ($p < 0.05$) برای فاکتور ها (استئارین هسته پالم، نوع امولسیفایر و نسبت فاز روغنی) داشت. آنالیز آماری نقطه ذوب همچنین نشان داد که برهمکنش آنها (دوتایی و کلی)، تاثیر معنی دار بر نقطه ذوب نداشتند ($p > 0.05$). کمترین و بیشترین میزان نقطه ذوب لغزشی از نظر درصد اجزای روغنی (استئارین هسته پالم - روغن کانولا)، به ترتیب بصورت $38/33^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و $41/28^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات) بود (جدول ۲).

نقطه ذوب لغزشی در نمونه های تهیه شده به کمک امولسیفایر گلیسرول مونو استئارات، در کمترین میزان بصورت $38/35^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات) و بیشترین میزان بصورت $41/28^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات) بود (جدول ۲). همچنین نقطه ذوب لغزشی نمونه های ساخته شده با امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات، در حد کمترین میزان بصورت $38/33^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) و حداکثر میزان بصورت $41/26^{\circ}\text{C}$ (نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استئارات) بود (جدول ۲).

در بررسی نقطه ذوب لغزشی بر حسب نسبت روغن به فاز آبی مشخص شد که نمونه های حاوی نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد در مقایسه با نمونه ۸۰ به ۲۰ درصد، دارای نقطه ذوب لغزشی کمتری بودند (جدول ۲). طبق جدول ۲، نقطه ذوب لغزشی مربوط به نمونه های بر پایه گلیسرول مونو استئارات برای هر دو نسبت استئارین هسته پالم (۷ و ۱۰ درصد) و همچنین هر سه نسبت فاز روغنی به آبی (۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد) در میزان بیشتری بود. میزان نقطه ذوب لغزشی به عوامل مختلفی بستگی دارد، دلیل تفاوت موجود میان نتایج نقطه ذوب لغزشی نمونه های پژوهش حاضر با نمونه های تجاری می تواند بدلیل نوع و میزان بکارگیری اجزاء در تهیه نمونه های نهایی باشد [۲۹، ۳۰، ۳۱ و ۳۲].

نقطه ذوب بیشتر می تواند بدلیل سطح کمتر غیر اشباعیت و اسید های چرب اشباع با طول زنجیر کربنی بلندتر باشد [۳۱]. نقطه ذوب در واقع شاخصی مهم در تعیین محصولات مناسب بعنوان جایگزین محصولات کره ای محسوب می شود [۲۹]. نقطه ذوب نشان دهنده امکان ذوب با کمک گرمای دهان در هنگام مصرف می باشد [۳۱، ۳۲]. دامنه نقطه ذوب استاندارد مربوط به مارگارین اسپرد بصورت $33-37^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی گراد بوده و در دمای دهان به هنگام مصرف بدون هیچگونه کار مکانیکی شروع به پخش شدگی و ذوب می کند [۲۹، ۳۰]. Bentayeb و Ait Lounis و همکاران (۲۰۱۸) در مقایسه انواع مارگارین الجزایری دریافتند که بر اساس نوع و مصرف، دارای نقطه ذوب لغزشی متفاوتی (دامنه $35-46^{\circ}\text{C}$ درجه سانتی گراد) می باشند [۳۲].

۳-۳- خصوصیات بافتی و اکسایشی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۳-۳-۱- سختی بافت امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به سختی (خصوصیت بافتی) در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری نشان داد که فاکتور ها (استئارین هسته پالم؛ نوع امولسیفایر و درصد فاز روغنی)، همچنین بر همکنش ها (دو تایی و کلی)، دارای تاثیر معنی دار بر سختی بودند ($p < 0.05$). بر این اساس، نتایج مربوط به سختی بافت نشان می دهد که افزایش میزان استئارین هسته پالم (از ۷ به ۱۰ درصد) منجر به افزایش سختی شده است. نتایج سختی بطور کلی نشان داد که کمترین سختی مربوط به نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، گلیسرول مونواستئارات و نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و بیشترین سختی مربوط به نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، سوربیتان مونواستئارات و نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد بود (جدول ۳). نتایج سختی از نظر اثر نوع امولسیفایر نشان داد که بیشترین سختی در نمونه های تهیه شده از امولسیفایر گلیسرول مونواستئارات مربوط به نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم بود؛ در صورتی که برای امولسیفایر سوربیتان مونواستئارات بیشترین سختی مربوط به نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم بود (جدول ۳). امولسیون های ساختار یافته تهیه شده در پژوهش حاضر از نظر سختی بافت با نمونه های تجاری در تفاوت بودند (جدول ۳).

شاخص سختی بافت، در واقع یکی از شاخص های مهم در زمینه پذیرش محصولات کره ای توسط مصرف کنندگان می باشند [۳۳]. بر اساس تحقیقات گذشته، تفاوت بافتی از نظر سختی در مورد نمونه های کره و مارگارین وجود دارد؛ بطوریکه برخی مارگارین ها دارای سختی بیشتری نسبت به کره می باشند [۱۰]. سختی بافت نمونه های اولئوژل می تواند در تشابه با کره و مارگارین و حتی در تفاوت باشد [۳۳]. اجزای سازنده اولئوژل ها

دارای تاثیر مختلفی بسته به نوع و میزان اجزاء بر سختی نمونه های اولئوژل می باشند [۳۳]. Bascuas و همکاران (۲۰۱۹) به تهیه اسپرد شکلاتی بر پایه اولئوژل پرداختند، گزارش دادند در صورتی که اسپرد ها بصورت ترکیبی با استفاده از روغن نارگیل، روغن زیتون و آفتابگردان تهیه شوند دارای سختی بیشتری می باشند [۳۳]. همچنین میزان سختی نمونه های اولئوژل بر پایه روغن نارگیل - روغن زیتون نسبت به نمونه روغن نارگیل - روغن آفتابگردان در میزان بیشتری قرار داشت [۳۳].

گزارش شده که نمونه های محصولات جایگزین بر پایه اولئوژل بر پایه یک نوع روغن/ چربی پایه + روغن/ چربی جایگزین شده (با توجه به درصد جایگزینی و نوع منبع)، دارای میزان سختی بافت بیشتری می باشند [۳۳]. نمونه های دارای سختی بیشتر در پژوهش تهیه اسپرد شکلاتی بر پایه اولئوژل انجام شده توسط Bascuas و همکاران (۲۰۱۹)، دارای تشابه با نمونه های دارای سختی بیشتر در پژوهش حاضر بودند [۳۳]. Kupiec و همکاران (۲۰۲۰)، اولئوژل حاوی روغن دانه کدو تهیه نموده و گزارش دادند که اولئوژل های بر پایه موم زنبورعسل ضعیف تر بوده، در صورتی که نمونه های بر پایه موم کارنوبا خصوصیت ویسکوالاستیک قوی تر، نگهداری روغن بیشتر و حالت سفتی بیشتر داشتند [۳۴]. طبق جدول ۳، رابطه مستقیمی میان افزایش اجزای مورد استفاده (بررسی جداگانه بر اساس نوع امولسیفایر و افزایش اجزای روغنی) و شاخص سختی نمونه وجود داشت. در پژوهش انجام شده توسط Dadalı و Elmacı (۲۰۱۹) در بررسی تاثیر میزان چربی و امولسیفایر بر مارگارین دریافتند که افزایش نسبت بخش روغنی در مارگارین منجر به افزایش میزان سختی نمونه ها می شود [۳۵].

Table 3 Physicochemical properties, physical stability and oxidative stability of structured W/O emulsion samples

Sample code	Physical Stabilities
-------------	----------------------

	Textural properties- Hardness (g force)	Oxidation stability- Oxitest (h)	CS (%)	OL (%)	RS (%)
P7GO60	59.96±0.15	1.12±0.00	100.00±0.00	0.91±0.01	0.00±0.00
P7SO60	84.02±0.09	4.23±0.00	100.00±0.00	2.03±0.06	0.00±0.00
P7GO70	38.03±0.06	8.29±0.00	100.00±0.00	1.04±0.13	0.00±0.00
P7SO70	130.86±0.41	11.04±0.00	98.80±0.01	1.22±0.08	4.37±0.00
P7GO80	35.10±0.10	12.30±0.00	100.00±0.00	2.44±0.04	0.00±0.00
P7SO80	153.01±0.08	13.17±0.00	100.00±0.00	2.68±0.04	0.00±0.00
P10GO60	84.70±0.01	3.15±0.00	100.00±0.00	0.93±0.06	0.00±0.00
P10SO60	100.99±0.00	5.32±0.00	100.00±0.00	2.12±0.02	2.50±0.10
P10GO70	53.50±0.00	11.58±0.00	100.00±0.00	1.12±0.11	0.00±0.00
P10SO70	158.06±0.05	12.05±0.00	100.00±0.00	1.15±0.01	3.75±0.01
P10GO80	49.80±0.00	12.31±0.06	100.00±0.00	2.10±0.11	0.00±0.00
P10SO80	185.02±0.59	15.18±0.00	98.00±1.00	2.65±0.05	5.00±1.00
CB	193.45±0.00	41.61±0.00	100.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

Data are shown as means $\pm$ standard deviation of three replicates. CS=Centrifugal stability; OL=Oil loss; RS=Refrigerator stability; PG/SO=Palm kernel stearin+ Glycerol monostearate/Sorbitan monostearate+ Oil ratio (P7&10% and O 60, 70&80%); CB=Commercial butter.

۳-۲-۳- پایداری اکسایشی بر پایه اکسی تست امولسیون

های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به پایداری اکسایشی بر پایه روش اکسی تست، در جدول ۳ نشان داده شده است. آنالیز آماری مربوط به اکسی تست نشان داد که تمامی فاکتور ها و بر همکنش آنها (دوتایی و کلی)، دارای تاثیر معنی دار ($p<0.05$) بودند. میزان پایداری اکسایشی با افزایش نسبت استئارین هسته پالم افزایش یافت (جدول ۳). بر این اساس کمترین میزان پایداری اکسایشی مربوط به نمونه حاوی ۷ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استئارات و بیشترین پایداری اکسایشی مربوط به نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ و به همراه سوربیتان مونو استئارات بود.

نتایج پایداری اکسایشی بطور کلی نشان داد که در صورت مصرف میزان بیشتر و مناسب جزء سخت (استئارین هسته پالم) و امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات، پایداری

اکسایشی بهتر و مناسب تری در نمونه های مورد نظر مشاهده خواهد شد. طبق جدول ۳، میزان پایداری اکسایشی نمونه کره تجاری نسبت به نمونه های تهیه شده بیشتر بود. پایداری اکسایشی بیشتر، می تواند بدلیل میزان اشباعیت بیشتر در ترکیب اسید چرب باشد [۳۲]. شاخص پایداری اکسایشی همچنین می تواند تحت تاثیر ساختار شیمیایی اولئوژلاتور ها در تهیه نمونه ها قرار گیرد [۳۴]. در مقایسه خصوصیات مربوط به ترکیب اسید چرب و پایداری اکسایشی چند نمونه مارگارین الجزایری انجام شده توسط Bentayeb Ait Lounis و همکاران (۲۰۱۸)، نتایج بطور کلی نشان داد که بیشترین پایداری اکسایشی مربوط به نمونه های دارای بیشترین میزان اشباعیت بود [۳۲]. Kupiec و همکاران (۲۰۲۰) در بررسی اثر نوع ترکیب مومی بر پایداری اکسایشی اولئوژل های حاوی روغن کلزا، دریافتند که نمونه اولئوژل حاوی موم آفتابگردان دارای بیشترین میزان پایداری اکسایشی (۶/۸ ساعت) نسبت به سایرین بود و بنابراین نشان دادند

که نوع اولئوژلاتور می تواند بر پایداری اکسایشی تاثیرگذار باشد [۳۴].

۳-۴- پایداری های فیزیکی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

۳-۴-۱- پایداری سانتیفرژی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به پایداری نمونه ها در برابر سانتیفرژ در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری پایداری سانتیفرژی نشان داد که فاکتور استتارین هسته پالم و برهمکنش استتارین هسته پالم $\times$ نوع امولسیفایر تفاوت معنی دار نداشتند ($p > 0.05$)؛ در حالی که سایر فاکتورها و برهمکنش آنها تاثیر معنی دار بر پایداری سانتیفرژی داشتند ($p < 0.05$). طبق جدول ۳، کمترین پایداری سانتیفرژی به میزان ۹۸/۸۰ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات) و ۹۸ درصد (نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات) ثبت شد. با این حال، سایر نمونه ها دارای پایداری مناسب سانتیفرژی (۱۰۰ درصد) بودند. به عبارت دیگر، نمونه های دارای پایداری سانتیفرژی کمتر مربوط به نمونه های حاوی امولسیفایر سوربیتان مونواستتارات بودند.

از نظر پایداری سانتیفرژی، میان نمونه های پایدار موجود در پژوهش حاضر و نمونه کره تجاری تشابه وجود داشت (جدول ۳). اولئوژل های تهیه شده از روغن کانولا حاوی موم کاندلیلا توسط Kupiec و همکاران (۲۰۲۰)، دارای پایداری سانتیفرژی مشابه با نمونه های حاوی مونو آسیل گلیسرول مربوط به پژوهش حاضر بودند [۳۴]. نوع اولئوژلاتور می تواند تاثیر متفاوتی بر پایداری سانتیفرژی داشته باشد [۳۴]. در تهیه اولئوژل های بر پایه روغن کلزا، پایداری سانتیفرژی بر پایه موم ها به ترتیب به صورت موم کاندلیلا (۹۹/۶۷ درصد)، موم زنبور عسل (۹۷/۸۰

درصد) و موم زنبور عسل زرد (۸۹/۳۰ درصد) بود [۳۴]. یکی از دلایل تفاوت نتایج نمونه های دارای پایداری سانتیفرژی کمتر مربوط به پژوهش حاضر با سایر پژوهش ها می تواند به دلیل روش مورد استفاده برای تعیین پایداری سانتیفرژی (10000 rpm) به مدت ۵ دقیقه و همچنین میزان اجزای سازنده اولئوژل باشد. بر اساس نتایج برخی پژوهش های انجام شده، نوع ژلاتور، نوع روغن و میزان اجزاء بر پایداری سانتیفرژی موثرند [۳۶، ۳۴].

در پژوهش انجام شده در زمینه تهیه امولسیون پر شده با ژل بر پایه روغن زیتون-اینولین و تیمار فراصوت توسط Nourbehesht و همکاران (۲۰۱۶)، بر خلاف پژوهش حاضر هیچ نمونه پایداری مشاهده نشد [۳۶]. در پژوهش تهیه امولسیون روغن در آب (O/W) بر پایه روغن کانولا و صمغ زانتان توسط Putra و همکاران (۲۰۲۰)، نتایج نشان داد که پایداری سانتیفرژی تمام نمونه ها کمتر از ۱۰۰ درصد بود که از این نظر مشابه با نمونه های دارای پایداری کمتر در پژوهش حاضر بود [۳۷]. در پژوهش تهیه سوسیس فرانکفورتر بر پایه جایگزین چربی توسط Wolfer و همکاران (۲۰۱۸)، نتایج پایداری سانتیفرژی مشابه با نمونه های کم پایدار در پژوهش حاضر وجود داشت [۳۸]. دلایل تفاوت در نتایج پایداری سانتیفرژی می تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی مانند نوع امولسیون/ اولئوژل، شرایط سانتیفرژی (قدرت، زمان و دما)، روش محاسبه پایداری سانتیفرژی و نوع و میزان اجزای سازنده باشد. مشتقات سلولزی (از جمله اتیل سلولز) به عنوان اولئوژلاتور، تاثیر خوبی در زمینه پایداری اولئوژل ها دارند. برخی اولئوژلاتور ها تاثیر منفی در زمینه پایداری سانتیفرژی دارند. به طور کلی میتوان گفت که بین طول زنجیره های کربنی و پایداری سانتیفرژی رابطه مستقیمی وجود دارد [۳۹].

۳-۴-۲- افت روغن امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به افت روغن نمونه‌ها در جدول ۳، نشان داده شده است. نتایج آنالیز آماری مربوط به افت روغن نشان داد که فاکتور استتارین هسته پالم و همچنین بر همکنش استتارین هسته پالم $\times$ نوع امولسیفایر فاقد تاثیر معنی دار ($p > 0.05$) بودند. در صورتی که سایر فاکتورها و همچنین سایر بر همکنش‌ها بر افت روغن تاثیر معنی دار داشتند ($p < 0.05$). میزان افت روغن مربوط به نمونه‌های این پژوهش در حد زیر ۳ درصد بود. طبق جدول ۳، کمترین میزان شاخص افت روغن بصورت ۰/۹۱ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استتارات) و بیشترین بصورت ۲/۶۸ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات) بود. میزان شاخص افت روغن بر اساس امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات، بصورت حداقل ۰/۹۱ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استتارات) و حداکثر ۲/۴۴ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه گلیسرول مونو استتارات) بود (جدول ۳). همچنین میزان شاخص افت روغن برای امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات بصورت کمترین میزان ۱/۱۵ درصد (نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات) و بیشترین میزان بصورت ۲/۶۸ درصد (نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات) بود (جدول ۳). نتایج شاخص افت روغن نشان داد که استفاده از نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد منجر به افزایش میزان افت روغن شده است (در حضور هر دو امولسیفایر)؛ در صورتی که فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ درصد در مورد امولسیفایر سوربیتان مونو

استتارات و همچنین نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد برای امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات منجر به شاخص افت روغن در حداقل میزان شده است (جدول ۳). میزان شاخص افت روغن برای نمونه‌های بر پایه سوربیتان مونو استتارات نسبت به گلیسرول مونو استتارات با توجه به مقایسه هر نسبت روغنی، در میزان بیشتری قرار داشت (جدول ۳). البته با وجود مصرف استتارین هسته پالم در دو درصد مجزا (۷ و ۱۰ درصد) نتایج مربوط به شاخص افت با توجه به در نظرگیری نوع امولسیفایر و همچنین نسبت فاز روغنی به آبی از نظر میزان نزدیک هم بودند (جدول ۳). میزان شاخص افت روغن در نمونه کره تجاری با نمونه‌های پژوهش حاضر متفاوت بود (جدول ۳).

افت روغن یکی از روش‌های بررسی پایداری محصولات چربی گونه از جمله کره می باشد [۲۰]. نمونه دارای پایداری بیشتر از نظر شاخص افت روغن، نمونه ای است که دارای حداقل میزان شاخص مورد نظر باشد [۲۰]. وجود تفاوت در افت روغن‌ها در نمونه‌ها می تواند متأثر از نوع نمونه‌ها و روش اندازه گیری باشد [۴۰]. عوامل مهم و تاثیرگذار بر افت روغن شامل اجزای اولئوژل (نوع و میزان)، روش تهیه اولئوژل و شرایط نگهداری (دما و زمان) می باشند [۴۱]. در پژوهش انجام شده در مورد تهیه اولئوژل‌های خوراکی بر پایه ۳ نوع روغن خوراکی (زیتون، آفتابگردان و بزرک) و دو عامل ساختار دهنده (هیدروکسی پروپیل متیل سلولز و صمغ زانتان) توسط Bascuas و همکاران (۲۰۱۹)، نتایج مربوط به شاخص افت روغن با توجه شرایط آزمون (نگهداری در ۲۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ روز)، نوع و درصد اجزای مورد استفاده دارای تفاوت با نتایج پژوهش حاضر (بیشتر بودن نتایج پژوهش مذکور نسبت به حاضر) بود [۳۳]. برخی پژوهش‌ها گزارش دادند که افت روغن کمتر مربوط به نمونه‌هایی بوده که میزان گلیسرول مونو استتارات کمتر و میزان اولئوژلاتور بیشتری داشتند [۲۵، ۴۰]. در پژوهش

تهیه اولئوژل بر پایه روغن هسته انگور، موم کاندلیلا و امولسیفایر گلیسرول مونواستئارات توسط Choi و همکاران (۲۰۲۰)، مشخص شد که میزان بکارگیری اجزای سازنده اولئوژل بر شاخص افت روغن موثر بوده است، بطوری که کمترین میزان شاخص افت روغن مربوط به نمونه حاوی میزان بیشتر موم (۷۵ درصد) و میزان کمتر امولسیفایر (۲۵ درصد) بود [۴۰].

در پژوهش انجام شده در زمینه تهیه شورتینگ جایگزین برای خامه پرکننده بر پایه روغن کانولا، موم کاندلیلا و گلیسرول مونو استئارات [۴۱]، نتایج بدست آمده نشان داد که در صورت تهیه نمونه ها بر اساس یک اولئوژلاتور (موم کاندلیلا یا گلیسرول مونو استئارات)، میزان شاخص افت روغن بیشتر بود. نتایج پژوهش تهیه اولئوژل حاوی روغن هسته انگور-موم کاندلیلا-گلیسرول مونواستئارات [۴۰] و پژوهش تهیه شورتینگ جایگزین برای خامه پر کننده [۴۱]، دارای تشابه با نتایج مربوط به پژوهش حاضر بویژه در زمینه نمونه های بر پایه گلیسرول مونو استئارات برای شاخص افت روغن بودند. پژوهشی به منظور تهیه یک محصول چربی با استفاده از روغن کلزا، مونوگلیسرید، روغن کلزای کاملاً "هیدروژنه، لسیتین و تیمار صوتی انجام شد، نتایج نشان داد که نوع، درصد مصرفی و ترکیب اجزاء با هم منجر به ایجاد شاخص افت روغن در حد مناسب شدند [۴۲].

da Silva و Danthine (۲۰۲۲) گزارش دادند که شاخص افت روغن برای اولئوژل های حاوی ترکیب سه تایی ژلاتور (مونو گلیسرید+روغن کلزا تمام هیدروژنه + لسیتین)، دارای میزان کمتری نسبت به نمونه های حاوی ترکیب دوتایی ژلاتوری (مونو گلیسرید + لسیتین؛ مونو گلیسرید + روغن کلزا تمام هیدروژنه؛ روغن کلزا تمام هیدروژنه + لسیتین) بود [۴۲]. نتایج مربوط به پژوهش تهیه اولئوژل های حاوی یک، دو و سه نوع ژلاتور [۴۲]، دارای نتایج مشابه بویژه در زمینه نمونه های بر پایه ترکیب دوتایی لسیتین - روغن کلزا کاملاً "هیدروژنه و ترکیب سه

تایی (مونو گلیسرید+روغن کلزا تمام هیدروژنه + لسیتین) با نمونه های پایدار از نظر افت روغن مربوط به پژوهش حاضر بود. در پژوهشی با استفاده از روغن کلزا، ترکیب مساوی مونوگلیسرید - لسیتین و ترکیب مونوگلیسرید - روغن کلزای کاملاً "هیدروژنه به همراه استفاده از تیمار صوتی، نتایج نشان داد که در صورت استفاده / عدم استفاده از تیمار صوتی میزان شاخص افت روغن بیشتری در ترکیب دوتایی مونوگلیسرید - لسیتین نسبت به ترکیب دیگر بود و نشان دهنده این بود که علاوه بر درصد اولئوژلاتور، نوع ترکیب اجزاء با هم نیز در ایجاد نتایج شاخص افت روغن نیز تاثیرگذار می باشد [۴۲].

در پژوهش انجام شده با هدف تهیه مارگارین بر پایه اولئوژل حاوی چربی کم و زیاد، نتایج نشان داد که میزان شاخص افت روغن نمونه ها تحت تاثیر اولئوژلاتور (نوع و درصد مصرفی)، میزان فاز چربی (۳۵ و ۶۰ درصد) و روش آزمون (نگهداری ۱۸۰-۰ روز در ۵ درجه سانتی گراد) قرار داشت [۱۳]. علت تفاوت نتایج شاخص افت پژوهش حاضر با پژوهش تهیه مارگارین حاوی اولئوژل کم چربی و پر چربی [۱۳]، می تواند بدلیل استفاده از اجزای متفاوت و همچنین نوع روش اندازه گیری شاخص افت روغن در پژوهش مذکور باشد [۲۰]. انتظار می رود میان میزان فاز روغنی و میزان عددی شاخص افت رابطه مستقیمی وجود داشته باشد؛ در صورتی که در پژوهش انجام شده روی تهیه ۴ نوع مارگارین با دو سطح میزان چربی (۳۵ و ۶۰ درصد) بر پایه اولئوژل رابطه متفاوتی را نشان داد [۱۳]. در پژوهش تهیه مارگارین بر پایه اولئوژل های حاوی ۳۵ و ۶۰ درصد چربی، میزان شاخص افت روغن برای نمونه ها از نظر میزان کمی بصورت ۶۰ درصد چربی - اجزای ساختاردهی کم < نمونه های ۳۵ درصد چربی - اجزای ساختاردهی متوسط < نمونه ۶۰ درصد چربی - اجزای ساختاردهی بیشتری، بودند [۱۳]. نتایج مربوط به شاخص افت روغن مربوط به پژوهش مارگارین بر پایه اولئوژل [۱۳]، نشان می دهد که نوع اجزاء، درصد

مصرفی اجزاء و همچنین ترکیب اجزاء با هم منجر به تفاوت نتایج مربوط به شاخص افت روغن گردد.

۳-۴-۳- پایداری یخچالی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به پایداری یخچالی در جدول ۳، نشان داده شده است. آنالیز آماری نشان داد که تمامی فاکتور ها و بر همکنش هایشان (دوتایی و کلی)، تاثیر معنی دار ($p < 0.05$) بر پایداری یخچالی داشتند. پایداری یخچالی نمونه های پایدار با عدد صفر و نمونه های دارای پایداری کمتر بصورت عددی بزرگتر از صفر گزارش شده است (جدول ۳). بر این اساس، تنها نمونه های حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت های فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد و به همراه سوربیتان مونو استتارات و همچنین تمامی نمونه های بر پایه گلیسرول مونو استتارات دارای پایداری یخچالی مناسب (عدد صفر) بودند. در پژوهش حاضر، دو گروه نمونه شامل: ۱) دارای امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات + ۷ یا ۱۰ درصد استتارین هسته پالم + نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد و ۲) دارای امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات + ۷ درصد استتارین هسته پالم + نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد، دارای پایداری یخچالی مناسبی بودند (جدول ۳). نمونه های دارای پایداری در حد متوسط (حدود ۲/۵۰ درصد) شامل: نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ درصد و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات و نمونه های با پایداری نامناسب/پایداری حداقلی (حدود ۵/۰۰ درصد) شامل: نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ درصد و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات بودند (جدول ۳). به این ترتیب، نتایج پایداری یخچالی نشان داد که در صورت استفاده از نسبت های مختلف فاز

روغنی به آبی (۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد)، استتارین هسته پالم (۷ و ۱۰ درصد) و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات، حالت پایداری در تمامی نمونه ها مشاهده خواهد شد (جدول ۳). از سوی دیگر، نتایج پایداری یخچالی مربوط به امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات نشان داد که تنها بکارگیری نسبت های فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و ۸۰ به ۲۰ به همراه ۷ درصد استتارین هسته پالم، منجر به ایجاد حالت پایدار در نمونه ها خواهد شد (جدول ۳). نتایج پایداری یخچالی مربوط به نمونه های پژوهش حاضر با نمونه کره تجاری دارای حالت تشابه بود (جدول ۳). البته یک مورد استثناء وجود داشته که مربوط به پایداری یخچالی نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم و سوربیتان مونو استتارات، با نسبت روغن به آب ۷۰ به ۳۰ درصد (۳/۷۵ درصد) بوده و می تواند ناشی از این باشد که بکارگیری نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ درصد منجر به حالت ناپایداری بر خلاف سایر نسبت های دیگر (۶۰ به ۴۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد) شده است. بر خلاف نمونه های دارای پایداری یخچالی بخصوص بر پایه گلیسرول مونو استتارات، نتایج مربوط به نمونه های ناپایدار نشان داد که استفاده از نسبت فاز روغنی به آبی (۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد) به همراه بکارگیری ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، بصورت روند افزایشی منجر به افزایش ناپایداری (از نظر شاخص نگهداری در شرایط یخچالی) می گردد.

در پژوهش انجام شده توسط Sun و همکاران (۲۰۰۷) در زمینه تاثیر صمغ زانتان و ایزوله پروتئینی آب پنیر بر پایداری سازی امولسیون روغن در آب (O/W)، نتایج نشان داد که رابطه ای معکوس میان غلظت مصرفی هیدروژلاتور زانتان و میزان ناپایداری (لخته شدن)^۸ در نمونه وجود دارد [۴۳]. پژوهشی نمونه های امولسیون ژلی را به حالت های پایدار (عدم حضور زانتان)، پایداری متوسط (۱۵/۰۲-۰/۰)

درصد وزنی زانتان)، ناپایدار (۰/۲ درصد وزنی زانتان) و همچنین لخته شدن جزئی / عدم لخته شدن (۰/۵ درصد وزنی زانتان) تقسیم بندی کرده است [۴۳]. برخی امولسیون ها دارای پایداری مناسبی بوده، اما افزایش مدت زمان نگهداری منجر به ناپایداری آنها شده است [۲۱]. گزارش شده که نوع هیدروژلاتور، درصد بکارگیری آن و نوع نمونه تولیدی در پایداری نمونه نهایی تاثیرگذار بوده و با توجه به میزان بکارگیری عامل هیدروژلاتوری، حالت های مختلفی از جمله عدم بروز حالت لخته ای (پایداری مناسب)، حالت لخته ای در حد ضعیف و محدود (شروع ناپایداری) و بروز حالت لخته ای مشهود (حالت ناپایدار) در نمونه امولسیونی ظاهر می شود [۴۳]. در زمینه تاثیر نوع و غلظت مناسب ماده مصرفی در تهیه اولئوژل، میان نتایج پایداری یخچالی مربوط به مصرف زانتان در کنار ایزوله پروتئینی آب پنیر برای امولسیون روغن در آب (O/W) با پژوهش حاضر شباهت وجود دارد [۴۲]. در مورد امولسیون های آب در روغن (W/O) حاوی پلی گلیسرول پلی ریسینولات، میزان پایداری در اثر نگهداری کاهش یافته است؛ اما در صورت استفاده از ژل های کازئینی در تهیه امولسیون، میزان پایداری بدست آمده نسبت به حالت قبل بیشتر بود [۲۱].

ناپایداری امولسیون ها می تواند تحت تاثیر نسبت فاز آبی و روغنی قرار داشته باشد [۴۴]. پژوهشی با هدف پایداری سازی امولسیون ها با استفاده از موم مایع (روغن جوجوبا)، موم جامد گیاهی (موم کارنوبا)، دو نوع موم جامد معدنی (موم پارافین و کرسین) و روغن پارافین انجام شد؛ نتایج نشان داد که حالت پایداری (عدم وجود انعقاد و جدا شدگی فاز)، تنها در صورت مصرف میزان مناسبی از موم های مختلف به همراه نسبت مناسب آب به روغن مشاهده شد [۴۵]. گزارش شده که موم های جامد معدنی منجر به ایجاد امولسیون های آب در روغن شده؛ در صورتی که امولسیون های سه گانه روغن-آب-روغن توسط موم جامد گیاهی ایجاد می شوند [۴۵]. گزارش شده که

جداشدگی فاز در امولسیون های حاوی روغن جوجوبا-موم کارنوبا (تاثیرگذار بر پایداری امولسیون) مشاهده می شود، که دلیل این رخداد می تواند بخاطر ویژگی نم پذیری زیاد سطوح مربوط به موم کارنوبا به روغن جوجوبا باشد، که منجر به ناپایداری سطوح موم شده و در نهایت ناپایداری امولسیون را ایجاد نماید [۴۵]. در پژوهش انجام شده در تهیه امولسیون های دو گانه (W/O) و سه گانه (O/W/O) بر پایه درصد های مختلف موم (۳۰-۵ درصد) و ۳ نسبت آب-روغن (۷۰:۳۰، ۸۰:۲۰ و ۹۰:۱۰) توسط Szumala و Luty (۲۰۱۶)، نتایج نشان داد که نوع و میزان موم به کار رفته و همچنین نسبت فاز آبی به فاز روغنی دارای تاثیر قطعی بر میزان پایداری یخچالی می باشند، بطوریکه نتایج پایداری با توجه به نوع موم، درصد موم و نسبت فاز آبی به فاز روغنی متفاوت بود [۴۵]. بیشتر بودن نسبت روغن، انتخاب مناسب نوع و درصد مصرفی اجزای ژلاتوری منجر به ایجاد حالت پایداری مناسب در نمونه های اولئوژلی می شود [۲۱، ۲۹ و ۴۵]. پژوهشی نشان داد که موم (نوع و درصد مصرفی) و نسبت فاز آبی و روغنی بر پایداری امولسیون ها تاثیر داشت، بطوری که نتایج مربوط به امولسیون های پایدار با نسبت فاز آبی به روغنی ۱۰ به ۹۰ درصد مربوط به موم پارافین (۱۰ تا ۳۰ درصد)، موم کرسین (۱۵، ۲۵ و ۳۰ درصد) و موم کارنوبا (۱۰، ۱۵ و ۲۰ درصد) بود [۴۵]. نتایج پژوهش انجام شده در زمینه بررسی پایداری امولسیون های دو گانه (W/O) و سه گانه (O/W/O) بر پایه چند نوع موم [۴۵]، دارای شباهت با پژوهش حاضر در زمینه نمونه های پایدار از نظر یخچالی شامل: ۱) براساس گلیسرول مونو استئارات + ۷ و ۱۰ درصد استئارین هسته پالم و هر سه نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد؛ ۲) بر اساس سوربیتان مونو استئارات + ۷ درصد استئارین هسته پالم و نسبت های فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد، بود. در پژوهش تهیه امولسیون های دو گانه (W/O) و سه گانه (O/W/O) بر پایه موم، نتایج مربوط به پایداری یخچالی بصورت تایید (+) و عدم تایید (-)

گزارش شد [۴۵]. در پژوهش امولسیون دو گانه و سه گانه، رابطه ای معکوس میان پایداری نمونه ها با میزان فاز آبی مورد استفاده در تهیه امولسیون ها وجود داشت [۴۵].

گزارش شده است که رابطه مستقیمی میان پایداری امولسیون با درصد مناسب هیدروژلاتور زانتان وجود دارد، اما در صورتی که از میزان مناسب زانتان عبور گردد منجر به ناپایداری می گردد [۴۳]. برخی پژوهش ها گزارش دادند که مصرف میزان بیشتری از ژلاتور/امولسیفایر، منجر به ایجاد ناپایداری در امولسیون های تولیدی می شود [۲۱، ۲۹ و ۴۵]. در پژوهش انجام شده بر پایه مارگارین حاوی اولئوژل های کم چربی و پرچربی، نتایج نشان داد که اولئوژلاتور های مومی با ایجاد سدهایی اطراف ذرات امولسیونی منجر به ایجاد پایداری مناسب می گردد [۱۳].

۳-۵- خصوصیات حسی امولسیون های ساختار یافته آب در روغن (W/O)

نتایج مربوط به خصوصیات حسی در جدول ۴ نشان داده شده است. آنالیز آماری نتایج پخش پذیری، میزان ذوب شدگی، ترشیدگی و پوشش دهی دهان نشان از وجود اثر معنی دار ($p < 0.05$) برای تمامی فاکتورها و بر همکنش هایشان (دوتایی و کلی) داشت. در مورد خصوصیت شیری بودن، آنالیز آماری عدم معنی دار بودن ($p > 0.05$) بر همکنش استتارین هسته پالم × نوع امولسیفایر × درصد فاز روغنی را نشان داد. علاوه بر این، آنالیز آماری عدم وجود تفاوت معنی دار ($p > 0.05$) برای فاکتور استتارین هسته پالم و همچنین بر همکنش استتارین هسته پالم × نوع امولسیفایر × درصد فاز روغنی، را در مورد خصوصیت سختی نشان داد. در مورد خصوصیت چربی ماندی آنالیز آماری اثر معنی دار ($p < 0.05$) دو فاکتور استتارین هسته پالم و نوع امولسیفایر و همچنین بر همکنش استتارین هسته پالم × درصد فاز روغنی را نشان داد.

بررسی نتایج آنالیز حسی نشان داد که کمترین و بیشترین میزان سختی بترتیب مربوط به نمونه حاوی ۷ درصد

استتارین هسته پالم و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات با نسبت های فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰، ۴۰ به ۷۰، ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ می باشد. نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ ضعیف ترین و نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ قوی ترین ویژگی پخش پذیری را نشان دادند. در مورد ویژگی میزان ذوب شدگی کمترین میزان مربوط به نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ و بیشترین میزان مربوط به نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ بود. ضعیف ترین ویژگی شیری در نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ و قویترین در نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ مشاهده شد. ویژگی ترشیدگی در نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ کمترین امتیاز و در نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۷۰ به ۳۰ بیشترین امتیاز را کسب کرد. ویژگی چربی ماندی در نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ ضعیف ترین و در نمونه حاوی ۷ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر گلیسرول مونو استتارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ قویترین بود. بالاخره این که نمونه حاوی ۱۰ درصد استتارین هسته پالم، و امولسیفایر سوربیتان مونو استتارات

با نسبت فاز روغنی به آبی ۸۰ به ۲۰ کمترین و نمونه حاوی ۱۰ درصد استئارین هسته پالم، و امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات با نسبت فاز روغنی به آبی ۶۰ به ۴۰ بیشترین امتیاز از نظر ویژگی پوشش دهی دهان را کسب کردند (جدول ۴). از نظر مقایسه، خصوصیات حسی کره تجاری نسبت به نمونه های پژوهش حاضر، امتیازات بیشتری کسب کرد (جدول ۴).

دو مورد از شاخص های مهم در زمینه محصولات کره ای و اسپرد، سختی و پخش پذیری می باشد که نسبت به سایر شاخص ها از اهمیت بیشتری (بخصوص پذیرش مصرف کننده) برخوردار می باشند [۲۸]. بررسی خصوصیات حسی جایگزین های کره می تواند بسته به نوع و میزان بکارگیری اجزای سازنده (چربی / روغن جایگزین، عوامل امولسیفایری / اولئوزلاتوری)، دارای نتایج متفاوتی باشد [۴۶]. Ögütçü و Yılmaz (۲۰۱۵) رابطه عکسی میان خصوصیات سختی و پخش پذیری گزارش کردند که از این نظر مشابه پژوهش حاضر می باشد [۱۱]. در پژوهش انجام شده توسط Ögütçü و Yılmaz (۲۰۱۴) در زمینه تهیه اولئوزل بر پایه روغن زیتون بکر، موم کارنوبا و مونوگلیسرید بعنوان یک محصول پخش پذیر و نگهداری در دو دمای مختلف (۴ و ۲۰ درجه سانتی گراد)، نتایج نشان داد که افزایش میزان اولئوزلاتور منجر به افزایش شاخص سختی شد (مشابه با پژوهش حاضر)، بطوری که نمونه های بر پایه ۱۰ درصد موم کارنوبا نسبت به نمونه های ۳ درصد دارای سختی بیشتر بودند [۲۸]. در غنی سازی کره بر پایه روغن بزرک و همچنین ترکیب روغن بزرک-کنسانتره پروتئین آب پنیر، Nasirpour-Tabrizi و همکاران (۲۰۲۰) دریافتند که بکارگیری بیشتر اجزاء منجر به کاهش پخش پذیری می گردد [۴۷].

پژوهش انجام شده توسط Nasirpour-Tabrizi و همکاران (۲۰۲۰)، دارای نتایج متفاوت با پژوهش حاضر در زمینه رابطه میزان مصرفی اجزاء با میزان شاخص پخش پذیری داشت [۴۷]. در پژوهش حاضر با افزایش اجزاء در تمامی نمونه ها (بجز نمونه های بر پایه سوربیتان مونو استئارات و ۱۰ درصد استئارین هسته پالم)، رابطه مستقیمی میان شاخص پخش پذیری و درصد بکارگیری اجزاء وجود دارد (جدول ۶). در ایجاد خصوصیت پخش پذیری امولسیفایر گلیسرول مونو استئارات در هر دو درصد مصرفی استئارین هسته پالم (۷ و ۱۰ درصد)، منجر به ایجاد رابطه مستقیمی میان نتایج مربوط به پخش پذیری و نسبت های روغنی به آبی (۶۰ به ۴۰، ۷۰ به ۳۰ و ۸۰ به ۲۰ درصد) شد (جدول ۴). در صورتی که امولسیفایر سوربیتان مونو استئارات تنها در ۷ درصد استئارین هسته پالم رابطه مستقیمی را همانند گلیسرول مونو استئارات نشان داد (جدول ۴). نتایج پخش پذیری مربوط به سوربیتان مونو استئارات نشان داد که در صورت مصرف میزان کم استئارین هسته پالم (۷ درصد)، میزان پخش پذیری مناسبی در نمونه ها ایجاد شده؛ در صورت افزایش میزان جزء سخت و کمکی (استئارین هسته پالم از ۷ به ۱۰ درصد) منجر به ایجاد کاهش پخش پذیری و افزایش سفتی نمونه ها شد (جدول ۴). خصوصیات حسی مربوط به محصولات کره ای و پخش پذیر، با توجه به نوع و میزان منبع جایگزین (چربی / روغن جایگزین)، نوع و درصد اجزای سازنده و کمکی (هیدروژلاتور / اولئوزلاتور، امولسیفایر) و همچنین غلظت موثر مصرفی اجزاء می تواند قابل تغییر باشد.

Table 4 Sensory evaluation of the structured W/O emulsion samples prepared in this study (means±SD)

Sample name	Sensory evaluation						
	H	S	L	M	R	F	MC
P7GO60	4.23±1.66	0.66±0.01	0.40±0.00	0.85±0.00	0.14±0.00	2.16±0.05	2.51±0.01
P7SO60	3.86±0.05	1.25±0.00	1.85±0.00	0.82±0.01	0.13±0.00	2.26±0.02	2.75±0.00
P7GO70	5.76±0.41	2.13±0.02	3.81±0.01	0.92±0.02	0.11±0.00	2.75±0.00	2.91±0.00
P7SO70	4.27±0.01	1.35±0.01	2.25±0.01	0.95±0.00	0.17±0.00	2.65±0.00	2.72±0.01

P7GO80	4.62±1.14	1.00±0.10	4.11±0.01	0.46±0.01	0.19±0.00	3.00±0.17	2.96±0.00
P7SO80	4.17±0.06	2.23±0.05	3.36±0.11	0.61±0.01	0.13±0.00	2.86±0.02	2.81±0.01
P10GO60	4.10±0.17	0.85±0.01	0.71±0.01	0.83±0.04	0.12±0.00	2.81±0.01	3.51±0.00
P10SO60	6.13±0.02	7.73±0.02	8.13±0.11	0.65±0.00	0.23±0.01	2.53±0.02	3.66±0.01
P10GO70	7.71±0.01	5.43±0.05	5.95±0.01	0.52±0.02	0.28±0.00	2.23±0.02	2.76±0.00
P10SO70	7.97±0.02	6.13±0.02	5.45±0.00	0.45±0.01	0.26±0.00	2.36±0.01	2.61±0.01
P10GO80	7.11±0.01	8.06±0.05	6.10±0.01	0.65±0.00	0.21±0.00	2.57±0.01	2.54±0.00
P10SO80	7.65±0.00	5.75±0.00	5.71±0.01	0.74±0.00	0.22±0.00	2.41±0.01	2.41±0.01
CB	3.71±0.00	7.94±0.00	5.41±0.00	2.09±0.00	1.49±0.00	7.28±0.00	2.91±0.00

Data are shown as means $\pm$ standard deviation of three replicates. H=Hardness; S=Spreadability; L=Liquefaction; M= Milky; R=Rancid; F= Fatty; MC= Mouth coating; PG/SO=Palm kernel stearin, Glycerol monostearate/Sorbitan monostearate, Oil ratio (P7&10% and O 60, 70&80%); CB= Commercial butter.

۵- نتیجه گیری

اکسایشی مناسب، خصوصیات حسی مطلوبی نیز داشتند که می‌تواند منجر به پذیرش مصرف کنندگان شود. به طور کلی، یافته‌های این پژوهش نشان داد که با استفاده از روغن‌های گیاهی نظیر روغن کانولا و روش‌های نوین ساختار دهی، می‌توان محصولاتی با ارزش تغذیه‌ای بیشتر و خصوصیات فیزیکی و حسی مشابه یا حتی برتر از کره تولید کرد. این موضوع می‌تواند به طور قابل توجهی در کاهش مصرف چربی‌های اشباع و ترانس در رژیم‌های غذایی کمک کند. از این رو، تولید این نوع امولسیون‌ها می‌تواند به عنوان یک استراتژی مؤثر در صنعت غذا برای تولید محصولات سالم و با کیفیت از نظر تغذیه‌ای مورد توجه قرار گیرد.

۶- منابع

- [1] Panchal, B., & Bhandari, B. (2020). Butter and Dairy Fat Spreads. *Dairy Fat Products and Functionality*, 509–532. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41661-4_21
- [2] Bobe, G., Hammond, E. G., Freeman, A. E., Lindberg, G. L., & Beitz, D. C. (2003). Texture of Butter from Cows with Different Milk Fatty Acid Compositions. *Journal of Dairy Science*, 86(10), 3122–3127. [https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302\(03\)73913-7](https://doi.org/10.3168/jds.s0022-0302(03)73913-7)
- [3] Silva, T. J., Barrera-Arellano, D., & Ribeiro, A. P. B. (2021). Margarines: Historical approach, technological aspects, nutritional profile, and global trends. *Food research international* (Ottawa, Ont.), 147, 110486. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110486>

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که امولسیون‌های ساختار یافته آب در روغن (W/O) کم اشباع و بدون اسید چرب ترانس، که با استفاده از روغن کانولا و اولئوژلاتورهای لیپیدی تهیه شده‌اند، پتانسیل زیادی برای جایگزینی کره در محصولات غذایی مختلف دارند. افزایش میزان استتارین هسته پالم در این امولسیون‌ها باعث بهبود ویژگی‌های فیزیکی و حرارتی از جمله سختی و پایداری حرارتی شده است. همچنین، انتخاب نوع امولسیفایر تأثیر معنی داری بر پایداری فیزیکی و اکسایشی امولسیون‌ها داشت؛ به طور خاص، نمونه‌های حاوی سوربیتان مونو استتارات پایداری فیزیکی و اکسایشی بیشتری نسبت به نمونه‌های حاوی گلیسرول مونو استتارات نشان دادند. از سوی دیگر، این امولسیون‌ها علاوه بر داشتن پایداری فیزیکی و

- [4] Silva, T. J., Barrera-Arellano, D., & Ribeiro, A. P. B. (2021). Oleogel-based emulsions: Concepts, structuring agents, and applications in food. *Journal of Food Science*, 86(7), 2785–2801. Portico. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15788>
- [5] Ajmal, M., Nadeem, M., Batool, M., & Khan, I. T. (2018). Review Probable Ingredients for Trans Free Margarine with Omega-3 Fatty Acids. *Biological Sciences - PJSIR*, 61(3), 182–186. <https://doi.org/10.52763/pjsir.biol.sci.61.3.2018.182.186>
- [6] Šoronja-Simović, D., Šereš, Z., Nikolić, I., Šimurina, O., Djordjević, M., & Maravić, N. (2017). Challenges related to the application of high and low trans margarine in puff pastry production. *Journal of*

- Food Processing and Preservation, 41(6), e13265. Portico. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13265>
- [7] Dassanayake, L. S. K., Kodali, D. R., & Ueno, S. (2011). Formation of oleogels based on edible lipid materials. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 16(5), 432–439. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2011.05.005>
- [8] Ristanti, E. Y., Loppies, J. E., Ramlah, S., Wahyuni, & Ariyanti, M. (2018). Preparation of restructured palm oil for industrial specialty fat using beeswax-cocoa butter as oleogelator. *AIP Conference Proceedings*. <https://doi.org/10.1063/1.5082417>
- [9] Patel, A. R., & Dewettinck, K. (2016). Edible oil structuring: an overview and recent updates. *Food & Function*, 7(1), 20–29. <https://doi.org/10.1039/c5fo01006c>
- [10] Hwang, H., Singh, M., Bakota, E. L., Winkler-Moser, J. K., Kim, S., & Liu, S. X. (2013). Margarine from Organogels of Plant Wax and Soybean Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90(11), 1705–1712. Portico. <https://doi.org/10.1007/s11746-013-2315-z>
- [11] Yılmaz, E., & Ögütçü, M. (2015). Oleogels as spreadable fat and butter alternatives: sensory description and consumer perception. *RSC Advances*, 5(62), 50259–50267. <https://doi.org/10.1039/c5ra06689a>
- [12] Gaudino, N., Ghazani, S. M., Clark, S., Marangoni, A. G., & Acevedo, N. C. (2019). Development of lecithin and stearic acid based oleogels and oleogel emulsions for edible semisolid applications. *Food Research International*, 116, 79–89. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.12.021>
- [13] Silva, T. J., Fernandes, G. D., Bernardinelli, O. D., Silva, E. C. da R., Barrera-Arellano, D., & Ribeiro, A. P. B. (2021). Organogels in low-fat and high-fat margarine: A study of physical properties and shelf life. *Food Research International*, 140, 110036. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.110036>
- [14] Naeli, M. H., Milani, J. M., Farmani, J., & Zargaraan, A. (2022). Developing and optimizing low-saturated oleogel shortening based on ethyl cellulose and hydroxypropyl methyl cellulose biopolymers. *Food Chemistry*, 369, 130963. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130963>
- [15] Astiasarán, I., Abella, E., Gatta, G., & Ansorena, D. (2017). Margarines and Fast-Food French Fries: Low Content of trans Fatty Acids. *Nutrients*, 9(7), 662. <https://doi.org/10.3390/nu9070662>
- [16] García-Ortega, M. L., Toro-Vazquez, J. F., & Ghosh, S. (2021). Development and characterization of structured water-in-oil emulsions with ethyl cellulose oleogels. *Food Research International*, 150, 110763. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110763>
- [17] AOCS 1996. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists, Society, Champaign, AOCS Press.
- [18] Wang, X., Wang, S., Nan, Y., & Liu, G. (2021). Production of Margarines Rich in Unsaturated Fatty Acids Using Oxidative-stable Vitamin C-Loaded Oleogel. *Journal of Oleo Science*, 70(8), 1059–1068. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20264>
- [19] Soddu, E., Rassu, G., Cossu, M., Giunchedi, P., Cerri, G., & Gavini, E. (2014). The effect of formulative parameters on the size and physical stability of SLN based on “green” components. *Pharmaceutical Development and Technology*, 21(1), 98–107. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.971376>
- [20] Dibildox-Alvarado, E., Rodrigues, J. N., Gioielli, L. A., Toro-Vazquez, J. F., & Marangoni, A. G. (2004). Effects of Crystalline Microstructure on Oil Migration in a Semisolid Fat Matrix. *Crystal Growth & Design*, 4(4), 731–736. <https://doi.org/10.1021/cg049933n>
- [21] Wang, P., Cui, N., Luo, J., Zhang, H., Guo, H., Wen, P., & Ren, F. (2016). Stable water-in-oil emulsions formulated with polyglycerol polyricinoleate and glucono- δ -lactone-induced casein gels. *Food Hydrocolloids*, 57, 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.01.013>
- [22] Lumor, S. E., Jones, K. C., Ashby, R., Strahan, G. D., Kim, B. H., Lee, G.-C., Shaw, J.-F., Kays, S. E., Chang, S.-W., Foglia, T. A., & Akoh, C. C. (2007). Synthesis and Characterization of Canola Oil–Stearic Acid-Based Trans-Free Structured Lipids for Possible Margarine Application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26), 10692–10702. <https://doi.org/10.1021/jf0710175>
- [23] da Silva, T. L. T., Chaves, K. F., Fernandes, G. D., Rodrigues, J. B., Bolini, H. M. A., & Arellano, D. B. (2018). Sensory and Technological Evaluation of Margarines With Reduced Saturated Fatty Acid Contents Using Oleogel Technology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 95(6), 673–685. Portico. <https://doi.org/10.1002/aocs.12074>
- [24] Borriello, A., Masi, P., & Cavella, S. (2021). Novel pumpkin seed oil-based oleogels: development and physical characterization. *LWT*, 152, 112165. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112165>
- [25] Hwang, H., & Winkler-Moser, J. K. (2020). Properties of margarines prepared from soybean oil oleogels with mixtures of candelilla wax and beeswax. *Journal of Food Science*, 85(10), 3293–

3302. Portico. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15444>
- [26] Pang, M., Shi, Z., Lei, Z., Ge, Y., Jiang, S., & Cao, L. (2020). Structure and thermal properties of beeswax-based oleogels with different types of vegetable oil. *Grasas y Aceites*, 71(4), 380. <https://doi.org/10.3989/gya.0806192>
- [27] Qiu, H., Qu, K., Zhang, H., & Eun, J.-B. (2023). Characterization and comparison of physical properties and in vitro simulated digestion of multi-component oleogels with different molecular weights prepared by the direct method. *Food Hydrocolloids*, 142, 108850. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108850>
- [28] Yılmaz, E., & Ögütçü, M. (2014). Oleogels of virgin olive oil with carnauba wax and monoglyceride as spreadable products. *Grasas y Aceites*, 65(3), e040. <https://doi.org/10.3989/gya.0349141>
- [29] Luo, S.-Z., Hu, X.-F., Pan, L.-H., Zheng, Z., Zhao, Y.-Y., Cao, L.-L., Pang, M., Hou, Z.-G., & Jiang, S.-T. (2019). Preparation of camellia oil-based W/O emulsions stabilized by tea polyphenol palmitate: Structuring camellia oil as a potential solid fat replacer. *Food Chemistry*, 276, 209–217. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.161>
- [30] Aktas, A. B., & Ozen, B. (2021). Chemical and physical properties of fats produced by chemical interesterification of tallow with vegetable oils. *Grasas y Aceites*, 72(3), e418. <https://doi.org/10.3989/gya.0552201>
- [31] Karabulut, I., Turan, S., & Ergin, G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*, 218(3), 224–229. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0847-4>
- [32] Bentayeb Ait Lounis, S., Mekimène, L., Mazi, D., Hamidchi, T., Hadjal, S., Boualit, S., & Benalia, M. (2018). Nutritional quality and safety of Algerian margarines: Fatty acid composition, oxidative stability and physicochemical properties. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 11(3), 331–342. <https://doi.org/10.3233/mnm-18208>
- [33] Bascuas, S., Hernando, I., Moraga, G., & Quiles, A. (2019). Structure and stability of edible oleogels prepared with different unsaturated oils and hydrocolloids. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(4), 1458–1467. Portico. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14469>
- [34] Kupiec, M., Zbikowska, A., Marciniak-Lukasiak, K., & Kowalska, M. (2020). Rapeseed Oil in New Application: Assessment of Structure of Oleogels Based on their Physicochemical Properties and Microscopic Observations. *Agriculture*, 10(6), 211. <https://doi.org/10.3390/agriculture10060211>
- [35] Dadalı, C., & Elmacı, Y. (2019). Characterization of Volatile Release and Sensory Properties of Model Margarines by Changing Fat and Emulsifier Content. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(6). Portico. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900003>
- [36] Nourbehesht, N., Shekarchizadeh, H., & Soltanizadeh, N. (2018). Investigation of stability, consistency, and oil oxidation of emulsion filled gel prepared by inulin and rice bran oil using ultrasonic radiation. *Ultrasonics sonochemistry*, 42, 585–593. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.12.029>
- [37] Putra, A. M., Syarifuddin, A., & Dirpan, A. (2020). Characterization pH, stability of emulsion, and viscosity canola oil (*Brassica napus* L.) emulsion (O/W). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 575(1), 012007. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/575/1/012007>
- [38] Wolfer, T. L., Acevedo, N. C., Prusa, K. J., Sebranek, J. G., & Tarté, R. (2018). Replacement of pork fat in frankfurter-type sausages by soybean oil oleogels structured with rice bran wax. *Meat science*, 145, 352–362. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.07.012>
- [39] Hwang, H.-S. (2020). A critical review on structures, health effects, oxidative stability, and sensory properties of oleogels. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 26, 101657. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101657>
- [40] Choi, K., Hwang, H., Jeong, S., Kim, S., & Lee, S. (2020). The thermal, rheological, and structural characterization of grapeseed oil oleogels structured with binary blends of oleogelator. *Journal of Food Science*, 85(10), 3432–3441. Portico. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15442>
- [41] Kim, M., Hwang, H.-S., Jeong, S., & Lee, S. (2022). Utilization of oleogels with binary oleogelator blends for filling creams low in saturated fat. *LWT*, 155, 112972. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112972>
- [42] da Silva, T. L. T., & Danthine, S. (2022). Influence of sonocrystallization on lipid crystals multicomponent oleogels structuration and physical properties. *Food Research International*, 154, 110997. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.110997>
- [43] Sun, C., Gunasekaran, S., & Richards, M. P. (2007). Effect of xanthan gum on physicochemical properties of whey protein isolate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*, 21(4), 555–564. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2006.06.003>

- [44] Mohamed, A. I. A., Sultan, A. S., Hussein, I. A., & Al-Muntasheri, G. A. (2017). Influence of Surfactant Structure on the Stability of Water-in-Oil Emulsions under High-Temperature High-Salinity Conditions. *Journal of Chemistry*, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2017/5471376>
- [45] Szumala, P., & Luty, N. (2016). Effect of different crystalline structures on W/O and O/W/O wax emulsion stability. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 499, 131–140. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2016.04.022>
- [46] Paradiso, V. M., Giarnetti, M., Summo, C., Pasqualone, A., Minervini, F., & Caponio, F. (2015). Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil. *Food Hydrocolloids*, 45, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.027>
- [47] Nasirpour-Tabrizi, P., Azadmard-Damirchi, S., Hesari, J., Khakbaz Heshmati, M., & Savage, G. P. (2020). Production of a spreadable emulsion gel using flaxseed oil in a matrix of hydrocolloids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8). Portico. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14588>



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Preparation of Structured Low-Saturated Water-in-Oil (W/O) Emulsion Based on Canola Oil and Lipidic Oleogelators as Butter Substitute

Mohammad Razmpour^{1*}, Jamshid Farmani², Jafar.M Milani³, Teimoor Mohammadi⁴

1- Ph.D. Student of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

2- Full Professor of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

3- Full Professor of the Department of Food Industry Science and Engineering, Faculty of Agricultural Engineering, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Iran

4- PhD in Food Science and industry, Vice Chairman of the Board of Directors and Managing Director of Khorramshahr Oil Company, Tehran, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received: 2024/9/7 Accepted: 2025/1/22 Keywords: Canola oil, Emulsion, Palm kernel, Glycerol, Sorbitan, Oleogel DOI: 10.22034/FSCT.22.162.199. *Corresponding Author E- Mh_razmpour@yahoo.com	This study investigates the production and evaluation of low-saturated, trans-fat-free water-in-oil (W/O) structured emulsions based on canola oil and lipidic oleogelators as a butter substitute. This research aims to create emulsions by utilizing canola oil, which is low in saturated fatty acids and high in unsaturated fatty acids such as linolenic and oleic acid, that are nutritionally and functionally comparable to or superior to commercial butter. In this study, palm kernel stearin used as the hard component, along with two types of emulsifiers: glycerol monostearate and sorbitan monostearate. Their properties were evaluated, including fatty acid composition, thermal stability, physical stability, and textural and sensory characteristics. The results showed that increasing the percentage of palm kernel stearin led to increasing for hardness and thermal stability of emulsions, while the choice of emulsifier type had a significant effect on physical and oxidative stability. Additionally, samples containing sorbitan monostearate showed higher physical stability compared to those with glycerol monostearate. The findings from this study suggests that the produced structured emulsions could serve as a suitable substitute for butter in the food applications without compromising the sensory and functional quality of the final product. This research highlights the high potential of modified vegetable oils for producing healthy and high-quality food products.



بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی و خاصیت ضدقارچی عصاره پوست انار با استفاده از حلال‌های مختلف

الهام آذرپژوه^۱، شهین زمردی^{۲*}، پروین شرایعی^۱

۱-دانشیار پژوهشی بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.

۲-دانشیار پژوهشی بخش تحقیقات فنی و مهندسی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان غربی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ارومیه، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۲۰

کلمات کلیدی:

استخراج،

پوست انار،

حلال،

ترکیبات موثره،

ضد قارچی

به منظور بررسی ویژگی‌های بیوشیمیایی ترکیبات عصاره پوست انار، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل نوع حلال (آب، متانول ۷۰ درصد و اتانول ۷۰ درصد) و زمان استخراج (۱، ۱۲ و ۲۴ ساعت) بود. نتایج نشان داد که قدرت احیاکنندگی آهن و فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد در عصاره‌های استخراج شده با متانول ۷۰ درصد بالاتر از سایر حلال‌ها بود. همچنین با افزایش زمان استخراج در تمام حلال‌های مورد استفاده، مقدار ترکیبات پلی‌فنلی، قدرت احیاکنندگی (FRAP) و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد (DPPH) به طور معنی‌داری افزایش یافت که افزایش مقدار ترکیبات پلی‌فنلی و FRAP در استفاده از حلال آب بیشترین مقدار اما در حلال متانول کمترین مقدار بود. اما افزایش DPPH در استفاده از حلال اتانول بیشترین مقدار و در حلال متانول کمترین مقدار بود. نتایج حاصل از بررسی اثرات ضد قارچی عصاره متانولی پوست انار نشان داد که عصاره متانولی پوست انار با غلظت ۰/۳ درصد، دارای خاصیت ضدقارچی تقریباً معادل با سوربات پتاسیم با غلظت ۰/۱ درصد بود، به طوری که میانگین قطر هاله عدم رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر* تحت تاثیر عصاره پوست انار ۱۷/۷ میلی‌متر و تحت تاثیر سوربات پتاسیم ۱۸/۳ میلی‌متر بود. لذا عصاره پوست انار می‌تواند به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نگهدارنده طبیعی، جایگزین مناسبی برای نگهدارنده‌های شیمیایی مانند سوربات پتاسیم در محصولات غذایی استفاده شود.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.223.

* مسئول مکاتبات:

s.zomorodi@areeo.ac.ir

۱- مقدمه

امروزه محدوده وسیعی از افزودنی‌ها با اهداف گوناگون در تهیه فرآورده‌های غذایی مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند. اهمیت این افزودنی‌ها به حدی است که بدون بهره‌گیری از آنها، تولید و مصرف بسیاری از فرآورده‌های غذایی تقریباً غیرممکن می‌شود. یکی از مهمترین افزودنی‌های غذایی، ترکیبات ضداکسایشی و ضد میکروبی سنتزی است که نقش مهمی در طولانی شدن عمر نگهداری مواد غذایی و کاهش ضایعات دارد. صدها ترکیب افزودنی سنتزی از سوی سازمان‌های مسئول، به عنوان ترکیبات مجاز و قابل استفاده در مواد خوراکی معرفی شده‌اند؛ اما کاربرد آنها در مواد غذایی بدلیل ایمن نبودن محدود می‌باشد. افزودنی‌های طبیعی از بافت‌های مختلف گیاهی و حیوانی استخراج می‌شوند که میزان ترکیبات فعال آنها بسته به نوع منبع متفاوت است. در دنیای امروز توجه ویژه‌ای به استفاده بهینه از ضایعات گیاهی و استخراج ترکیبات زیست فعال (مانند ترکیبات ضد اکسایشی و ضد میکروبی) شده است. عصاره پوست انار منبعی سرشار و غنی از ترکیبات پلی‌فنلی، تانن‌ها، آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فلاونوئیدی است. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از این منبع ضایعاتی برای تولید ترکیبات زیست فعال، علاوه بر کاهش ضایعات محصولات کشاورزی موجب ایجاد ارزش افزوده و کاهش آلودگی‌های زیست محیطی نیز خواهد شد [۱، ۲].

در ایران سالیانه، میلیون‌ها دلار ارز جهت واردات موادی همچون انواع اسانس، عصاره و رنگ از کشور خارج می‌شود که این روند هر ساله سیر صعودی دارد. ضایعات و پسماندهای مزارع در دیگر کشورها منبع اصلی تامین موارد مذکور برای صادرات به ایران و کشورهای مشابه می‌باشد. این در حالی است که حجم ضایعات کشاورزی در مزارع و کارخانجات صنایع غذایی کشور قابل تأمل

است. این مسئله زمانی اهمیت خود را نشان می‌دهد که بدانیم در کشورهای پیشرفته با جمع‌آوری و فرآوری پسماند از مواد ارزان قیمت آنها را به محصولات با ارزش افزوده بالاتر تبدیل می‌کنند. پسماندهای کارخانجات تولید آب میوه یکی از مهمترین منابع تولید افزودنی‌های غذایی، آنتی‌اکسیدان‌ها و ترکیبات ضد میکروبی سنتزی می‌باشند که نقش مهمی در طولانی شدن عمر نگهداری مواد غذایی و کاهش ضایعات دارند. استخراج ترکیبات موثر از پسماندها با حداکثر کارایی دارای اهمیت ویژه‌ای است. روش استخراج عصاره‌های گیاهی، از جمله عواملی است که می‌تواند خواص ترکیبات موثر عصاره‌ها را تحت تاثیر قرار دهد [۳-۵].

انار با نام علمی *پونیکاگران/انار* ^۱ از خانواده پونیکاسه ^۲، به طور گسترده در بسیاری از کشورهای گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می‌شود [۳، ۶]. ایران مرکز تنوع ارقام و یکی از بزرگترین تولیدکنندگان و صادرکنندگان انار در جهان است. براساس آمارنامه کشاورزی وزارت جهاد کشاورزی، سطح زیر کشت باغات انار در سال ۱۴۰۲ حدود ۹۷ هزار هکتار (۹۲ هزار هکتار بارور و مابقی غیربارور) و تعداد درختان پراکنده انار حدود ۵۶ هزار می‌باشد. متوسط عملکرد هر هکتار باغ انار در همان سال ۹ تن گزارش شده است. یکی از منابع با ارزش برای تولید افزودنی‌های طبیعی پوست انار می‌باشد. پوست انار یکی از مهمترین محصولات جانبی کارخانه‌های فرآوری میوه انار (عمدتاً کارخانه‌های آب انارگیری) است. حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد وزن میوه انار را پوست آن تشکیل می‌دهد [۷]. با توجه به افزایش میزان تولید میوه انار، به دلیل افزایش آگاهی مصرف کننده از خواص بالقوه و سلامتی بخش آن، لزوم استفاده صنعتی و بهینه از چنین حجم وسیعی از ضایعات ضروری به نظر می‌رسد. ترکیبات تشکیل دهنده

پوست انار در جدول ۱ نشان داده شده است [۸]. میوه انار شامل فلاونوئیدهای متنوعی است که حدود ۰/۲ تا ۱ درصد وزن میوه را به خود اختصاص می‌دهند. پوست انار حاوی بیشترین میزان ترکیبات فنلی در مقایسه با سایر بخش‌های ساختمانی میوه است و حدود ۳۰ درصد کل این

ترکیبات، مخصوصاً آنتوسیانیدین‌ها^۳ (دلفینیدین^۴، سیانیدین، پلارگونیدین^۵ و پلارگونیدین^۳ و ۵ دی‌گلوکوزید) بسته به نوع و مرحله رشد میوه، در پوست میوه تجمع یافته و سبب تغییر رنگ پوست می‌شوند [۹].

[۸]

Table 1. Approximate composition of pomegranate peel

Compositions	Amount
Moisture (% of dry matter)	69.93
Ash (%)	5.49
crude fiber (%)	3.95
Lignin (%)	4.29
Total phenols (mg/g)	40.53
Vitamin A (μg/g)	14.06
Sodium (mg/kg)	763.66
Calcium (mg/kg)	645.70
Magnesium (mg/kg)	1644.70
Phosphorus (mg/kg)	33.96
Iron (μg/g)	22.6
Copper (μg/g)	6.20
Zinc (μg/g)	8.03
Selenium (μg/g)	ND

ND: not detect

به طور کلی، ترکیبات فنلی پوست انار متنوع بوده و دارای ترکیبات فنلی با وزن مولکولی کم و یا متوسط مانند آنتوسیانین‌ها، گالوتانین‌ها^۶، اسید هیدروکسی سینامیک، اسید هیدروبنزوئیک^۷ و یا ترکیبات فنلی با جرم مولکولی بالا همانند الایثانین^۸، استرهای گالاژیل^۹ و پروآنتوسیانیدین‌ها می‌باشد. ترکیبات فنلی، به دلیل ساختار شیمیایی خاص خود، دارای خصوصیات ضد اکسایشی و ضد میکروبی هستند [۱۰]. هر چند ترکیبات فنلی پوست انار، بیشتر از دیدگاه بروز فعالیت آنتی‌اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته‌اند اما، این ترکیبات دارای فعالیت‌های بیولوژیکی مهم در موجودات می‌باشند و آثار سودمندی در مبارزه با بیماری‌های مرتبط با تولید رادیکال اکسیژن با غلظت‌های بیش از ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن انسان و اثرات ضد میکروبی نیز نشان داده‌اند [۱۱]. پوست انار

محصولات جانبی فرآوری آب انار هستند. امروزه، پوست انار و عصاره‌های آن در چندین محصول مختلف مانند ماهی [۱۲]، نان [۱۳]، آبمیوه [۱۴]، پودر ماست [۱۵] و غیره مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. این علاقه فزاینده به مصرف پوست انار به دلیل خواص مختلف پوست، به ویژه خواص آنتی‌اکسیدانی آن است. در واقع، اکنون به خوبی اثبات شده است که عصاره پوست انار دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشد [۱۶]. محتوای کل ترکیبات فنولی عصاره پوست تقریباً ۱۰ برابر بیشتر از عصاره پالپ گزارش شده است [۱۷]. مطالعات نشان داده است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی پوست انار با محتوای فنلی آن‌ها مرتبط است. پلی‌فنل‌ها فراوان‌ترین و گسترده‌ترین گروه‌های متابولیت‌های گیاهی هستند و بخش جدایی‌ناپذیری از رژیم غذایی انسان و حیوان محسوب

7 -PHydroxybenzoic Acids

8 -Ellagitannins

9 -Gallagyl Esters

3- Anthocyanidins

4 -Cyanidin

5 -Pelargonidin 3-Glucosides

6- Gallotannins

می‌شوند. فناوری استخراج یک عنصر کلیدی برای توسعه پایدار صنایع غذایی-کشاورزی است [۱۸]. پلی‌فنل‌ها به‌طور سنتی از مواد گیاهی توسط حلال‌های آلی استخراج می‌شوند. با این حال، بهینه‌سازی روش استخراج قبل از هر مطالعه کیفی و کمی، دقت نتایج را تضمین خواهد کرد. در میان متغیرهای استخراج، نسبت حلال به نمونه، نوع حلال، زمان و دمای استخراج، برای اطمینان از کارایی استخراج، آن اهمیت زیادی دارد [۱۹]. انتخاب حلال یک گام مهم برای به دست آوردن عصاره‌هایی با بازده قابل قبول و فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی است [۲۰].

هدف مطالعه حاضر استخراج ترکیبات موثره از پوست انار با استفاده از حلال‌ها و زمان‌های مختلف است تا بتوان بهترین حلال را از نظر بازده استخراج، مقدار ترکیبات فنلی، اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی بدست آورد. همچنین اثرات ضدقارچی عصاره متانولی پوست انار به عنوان یک جایگزین مناسب برای نگهدارنده شیمیایی سوربات پتاسیم بررسی گردید.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-مواد

پوست انار از شرکت آب انار ملس واقع در شهرستان مشهد به مقدار ۵۰ کیلوگرم تهیه و پس از جداسازی ضایعات در فیلم پلی‌اتیلن با دانسیته پایین با ضخامت ۱۴۰ میکرون بسته‌بندی گردید و تا زمان انجام آزمایش‌ها در دمای ۱۸- درجه سلسیوس نگهداری شد. مواد شیمیایی مورد استفاده شامل اتانول ۷۰ درصد، متانول، معرف فولین سیوکالچو، معرف DPPH، اسید گالیک، کربنات سدیم، TPTZ، سولفات آهن II و کلرید آهن از شرکت مرک، سیگما-آلدریچ، شارلو و کالدون تهیه شدند.

۲-۲-روش‌ها

۲-۲-۱-استخراج ترکیبات موثر پوست انار

استخراج ترکیبات موثر پوست انار با استفاده از حلال‌های اتانول ۷۰ درصد، متانول ۷۰ درصد و آب انجام شد. بدین منظور برای هر آزمایش ۱۰۰ گرم از پوست انار به دقت در یک بشر توزین شد و مقدار ۴۰۰ میلی‌لیتر از هر حلال به بشر اضافه گردید و در دمای اتاق به مدت ۱، ۱۲ و ۲۴ ساعت همزده شد. سپس محلول تحت خلاء صاف گردید و با تبخیر کننده دوار تحت خلاء (مدل Laborota 4000 efficient، ساخت کشور آلمان) تحت دمای ۴۵ درجه سلسیوس تا آبگیری کامل تغلیظ گردید [۲۱].

۲-۲-۲-اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره

برای تعیین مقدار ترکیبات فنلی، به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره استخراجی با متانول، مقدار ۶ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر شده و ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالچو اضافه گردید، پس از مدت ۸ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، مقدار ۱/۵۵ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۲۰ درصد وزنی/حجمی اضافه و کاملاً مخلوط شد و پس از نگهداری به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، مقدار جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید.

برای رسم منحنی استاندارد محلول‌هایی با غلظت ۱۰۰ تا ۹۵۰ پی‌پی‌ام از اسید گالیک تهیه و همانند روش تهیه نمونه، جذب محلول‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت شد و منحنی استاندارد رسم گردید. مقدار ترکیبات فنلی کل موجود در نمونه‌ها از روی منحنی استاندارد تعیین شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسیدگالیک بر گرم نمونه خشک گزارش شد [۲۲].

۲-۲-۳-اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی آهن III¹⁰ (FRAP)

ابتدا ۱۰۰ میلی‌گرم عصاره استخراجی در ۲ میلی‌لیتر متانول حل شد و سپس ۳۰ میکرولیتر از آن با ۹۰۰ میکرولیتر محلول FRAP و ۹۰ میکرولیتر آب مقطر در لوله آزمایش مخلوط شد. لوله آزمایش پس از همزدن در بن ماری قرار

گرفت و پس از رسیدن دمای آن به ۳۷ درجه سلسیوس، مقدار جذب در مقابل شاهد و در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد.

برای تهیه منحنی استاندارد محلول‌های با غلظت‌های ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ میکرومول در لیتر از سولفات آهن II تهیه و جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر به دست آمد و مقدار آهن II با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد [۲۲].

۲-۲-۴- اندازه‌گیری قدرت مهارکنندگی

رادیکال آزاد DPPH

ابتدا محلول ۰/۰۰۶ درصد رادیکال آزاد DPPH در متانول تهیه شد. سپس به لوله‌های آزمایش حاوی یک میلی‌لیتر محلول استخراجی متانولی با غلظت‌های مختلف (بسته به قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد)، یک میلی‌لیتر از محلول DPPH اضافه گردید. لوله‌های آزمایش پس از مخلوط شدن کامل، به مدت یک ساعت در جای تاریک نگهداری شدند و سپس جذب آنها در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد قرائت گردید [۲۳].

۲-۲-۵- تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی رشد کپک با

استفاده از روش انتشار دیسک

پس از انتخاب مناسب‌ترین غلظت عصاره از پوست انار، تعدادی کاغذ صافی واتمن شماره ۷ با استفاده از پانچ بصورت یکنواخت سوراخ و دیسک تهیه گردید (قطر هر دیسک به طور متوسط ۷ میلی‌متر بود). دیسک‌ها در ظرف مناسب اتوکلاو و خشک شدند. سپس دیسک‌ها بر روی پلیت شیشه‌ای قرار گرفته و با حجم‌های مختلف (۵ تا ۲۵ میکرولیتر) از عصاره پوست انار با غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و سوربات پتاسیم با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر آغشته و در شرایط استریل خشک شدند.

سپس کپک *آسپرژیلوس نایجر* ATCC-۱۶۴۰۴، در محیط کشت مایع حاوی ۱ درصد گلوکز، ۰/۵ درصد عصاره مخمر و ۰/۵ درصد تریپتون به مدت ۴۸ ساعت تکثیر شد. سپس محیط کشت مایع به صورت یکنواخت بر روی

محیط کشت جامد اختصاصی کپک (دکستروز کلرامفینیکل آگار) پخش شد. محیط کشت جامد مذکور، برای ۱۰ دقیقه در یخچال برای جذب کشت مایع به محیط جامد قرار داده شد. دیسک‌های تهیه شده با حجم‌های مختلف بر روی محیط کشت جامد قرار داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. سپس قطر هاله‌های عدم رشد با کولیس اندازه‌گیری و میانگین مربوطه گزارش گردید [۲].

۲-۳- تجزیه و تحلیل آماری

آزمایشات مربوط در قالب فاکتوریل برپایه کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل حلال (آب، متانول ۷۰ درصد و اتانول ۷۰ درصد) و زمان استخراج (۱، ۱۲ و ۲۴ ساعت) بود. میانگین‌های حاصل از انجام آزمون‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ و بر اساس آزمون دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه شدند ($P < ۰/۰۵$). برای رسم منحنی‌ها از نرم‌افزار Microsoft Excel ۲۰۱۳ استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱-۱- تاثیر نوع حلال و زمان استخراج بر ترکیبات فنلی

عصاره پوست انار

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات مستقل حلال و زمان استخراج و تاثیر متقابل آنها بر مقدار ترکیبات فنلی عصاره‌های استخراج شده از پسماند انار معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۵$). با توجه به شکل ۱ با افزایش زمان استخراج در تمام حلال‌های مورد استفاده، مقدار ترکیبات پلی‌فنلی به طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در استفاده از حلال آب بیشترین مقدار اما در حلال متانول کمترین مقدار بود. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی در اثر استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد (۵۳/۰۵) و اتانول ۷۰ درصد (۳۶/۱۱) نسبت به حلال آب (۱۷/۸۷) به ترتیب حدود ۲/۹۶ و ۲ برابر افزایش یابد. همچنین مقدار این ترکیبات در اثر استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد (۵۳/۰۵) در مقایسه با حلال اتانول ۷۰ درصد (۳۶/۱۱) حدود ۱/۵ برابر افزایش پیدا کرد. زیرا حلال‌های اتانول و

می‌شود [۲۴]. متانول به دلیل قطبیت مناسب، قابلیت بالایی در استخراج فلاونوئیدها و دیگر ترکیبات فنولی از پوست انار دارد [۲۵].

متانول نسبت به آب و متانل نسبت به اتانول قطبیت کمتری دارند و موجب تخریب بیشتر دیواره سلولی شده و منتج به افزایش استخراج بیشتر ترکیبات پلی فنلی و آنتوسیانین‌ها

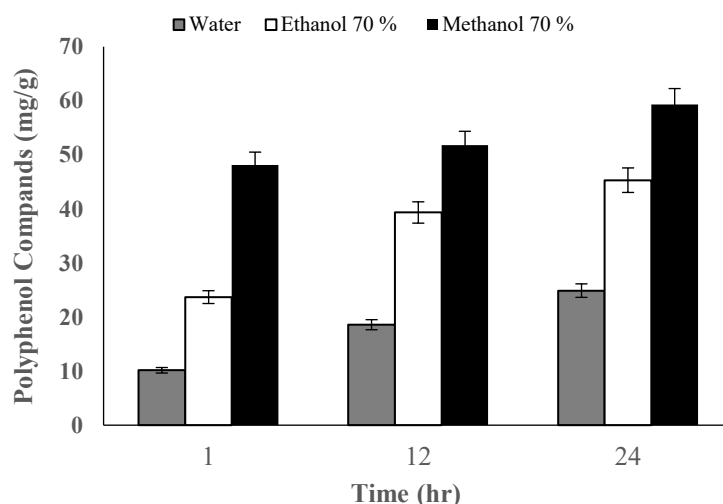


Figure 1. The interaction effect of solvent type and extraction time on the amount of phenolic compounds from pomegranate peel extract

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثرات مستقل حلال و زمان استخراج و اثرات متقابل آن‌ها بر قدرت احیاکنندگی آهن در عصاره‌های استخراج شده از پسماند انار معنی‌دار بود ($P < 0.05$). با توجه به شکل ۲ با افزایش زمان استخراج در تمام حلال‌های مورد استفاده، مقدار FRAP به طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در استفاده از حلال آب بیشترین مقدار اما در حلال متانول کمترین مقدار بود.

۳-۲- تاثیر نوع حلال و زمان استخراج بر فعالیت

آنتی‌اکسیدانی عصاره پوست انار

تعیین قدرت احیاکنندگی آهن، روشی سریع و مناسب برای اندازه‌گیری قدرت احیاکنندگی ترکیبات شیمیایی است و می‌توان آن را به عنوان شاخصی از قدرت آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده قرار داد. در این روش توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن ۳ ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاءکننده (آنتی‌اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری‌سیانید و تبدیل آن‌ها به فرم فرو می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاءکنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ از آبی به درجات مختلفی از رنگ سبز و زرد همراه است. آنتی‌اکسیدان‌هایی با قدرت احیاکنندگی آهن بالاتر از توانایی بیشتری در پایان دادن به واکنش‌های مخرب زنجیره‌ای رادیکالی برخوردارند. بسیاری از آنتی‌اکسیدان‌ها با غیرفعال کردن رادیکال‌های آزاد از اکسایش لیپیدها ممانعت به عمل می‌آورند.

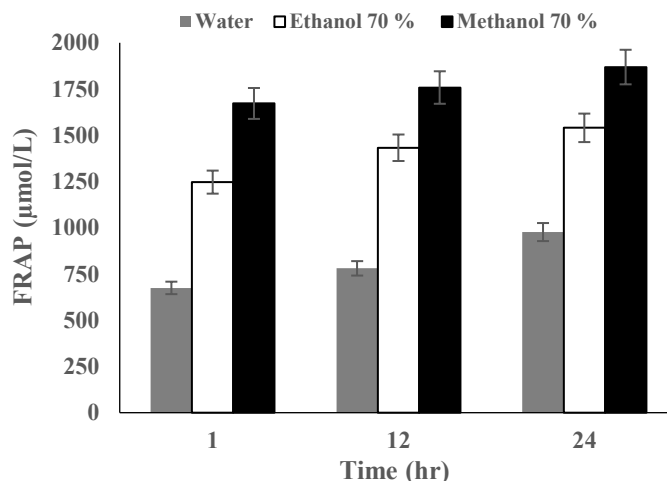


Figure 2. The interaction effect of solvent type and extraction time on the amount of Ferric reducing activity of plasma (RRAP) from pomegranate peel extract

روش رنگ ارغوانی رادیکال‌های آزاد DPPH در اثر آنتی‌اکسیدان‌های موجود در عصاره خنثی شده و بی‌رنگ می‌گردد. لذا درجه بی‌رنگ شدن این ترکیب بیانگر قدرت به دام اندازی رادیکال آزاد توسط آنتی‌اکسیدان‌های موجود می‌باشد [۲۷].

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات مستقل حلال و زمان و اثرات متقابل آن‌ها بر قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی‌اکسیدان‌ها در عصاره‌های استخراج شده از پسماند انار معنی‌دار بودند ($P < 0.05$). با توجه به شکل ۳ با افزایش زمان استخراج در تمام حلال‌های مورد استفاده، مقدار DPPH به طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش در استفاده از حلال اتانل بیشترین مقدار اما در حلال متانول کمترین مقدار بود.

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی در اثر استفاده از حلال متانل ۷۰ درصد و اتانل ۷۰ درصد نسبت به حلال آب به ترتیب حدود ۲/۲۵ و ۱/۲۳ برابر افزایش یابد. همچنین مقدار این ترکیبات در اثر استفاده از حلال متانل ۷۰ درصد در مقایسه با حلال اتانل ۷۰ درصد حدود ۱/۸۳ برابر افزایش پیدا کرد. استخراج با حلال متانول به مدت ۲۴ ساعت بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن در عصاره‌های استخراج شده از پسماند را داشت. این نتایج با گزارش ستلودی^{۱۱} و همکاران مطابقت داشت [۲۶].

برای تعیین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد آنتی‌کسیدان‌ها از رادیکال‌های آزاد مختلفی مثل رادیکال‌های DPPH، پراکسی، هیدروکسیل و سوپراکسی استفاده می‌شود. بررسی فعالیت به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH یکی از روش‌های تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. در این

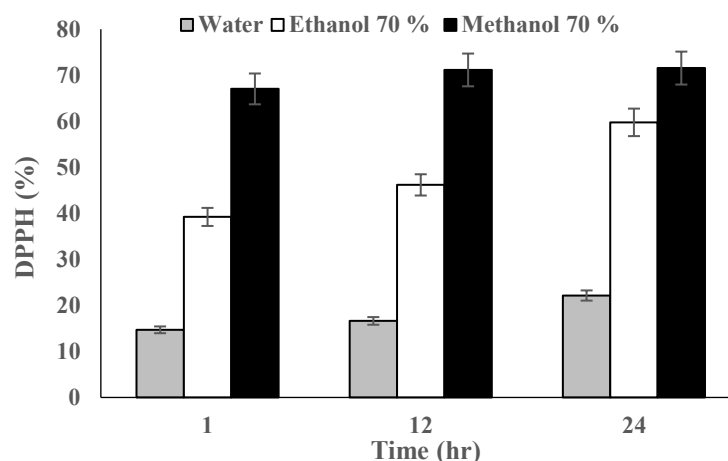


Figure 3. The interaction effect of solvent type and extraction time on the amount of DPPH free radical-scavenging from pomegranate peel extract

محصولات نانوائی، لبنیات، مرباها و شربت‌ها، ترشی‌ها، آب‌میوه‌ها، و میوه‌های خشک قابل استفاده است. سوربات پتاسیم، دمای بالای فرآیند را تحمل نموده و تاثیری بر عطر و طعم مواد غذایی ندارد و با ویتامین‌ها و مواد معدنی و آنزیم‌ها واکنش نمی‌دهد [۲۹]. مصرف سوربیک اسید و نمک‌های حاصل از آنها به عنوان مواد نگهدارنده در مواد غذایی توسط سازمان‌های تنظیم مقررات بین‌المللی و ملی تعیین می‌شود و مصرف آنها در غلظت بسیار کم توصیه شده است. عوارض مصرف این گونه مواد به صورت اثرات پوستی مانند جوش، کهیر و درماتیت تماسی گزارش شده است. نگرانی‌های مرتبط با ایمنی افزودنی‌های شیمیایی، محدودیت در حدود مجاز مصرف و نیز خطرات احتمالی آنها بر سلامت انسان، تمایل فزاینده‌ای را در خصوص جایگزینی این نوع از ترکیبات با انواع طبیعی را فراهم آورده است. بنابراین، در پژوهش حاضر، اثرات ضدقارچی عصاره متانولی پوست انار به عنوان جایگزین نگهدارنده شیمیایی سوربات پتاسیم مورد مطالعه قرار گرفت. تاثیر حجم‌های مختلف (۵ تا ۲۵ میکرولیتر) از عصاره استخراج شده با متانول ۷۰ درصد پوست انار (غلظت ۳۰۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) در مقایسه با نگهدارنده سنتزی سوربات پتاسیم، بر بازدارندگی از رشد کپک *آسپرژیلوس نایچر* بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در ۳۷ درجه سلسیوس،

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی در اثر استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد و اتانول ۷۰ درصد نسبت به حلال آب به ترتیب حدود ۳/۹۳ و ۱/۴۵ برابر افزایش یابد. همچنین مقدار این ترکیبات در اثر استفاده از حلال متانول ۷۰ درصد در مقایسه با حلال اتانول ۷۰ درصد حدود ۲/۷۲ برابر افزایش پیدا کرد. این نتایج با گزارش سینگ و همکاران مطابقت داشت [۲۸]. استخراج با حلال متانول به مدت ۲۴ ساعت بیشترین قدرت احیاکنندگی آهن در عصاره‌های استخراج شده از پسماند را داشت.

۳-۳- بررسی تاثیر عصاره متانولی پوست انار (استخراج شده در شرایط بهینه) بر بازدارندگی رشد *آسپرژیلوس نایچر*

کنترل رشد میکروارگانیسم‌ها یکی از مهم‌ترین جنبه‌های نگهداری مواد غذایی است. مواد افزودنی از جمله موادی هستند که بطور عمدی در فرآیند تولید مواد غذایی افزوده شده تا از تغییرات نامطلوب و فساد ناشی از میکروارگانیسم‌ها جلوگیری و موجب افزایش ماندگاری مواد غذایی شوند. سوربات پتاسیم از جمله موادی است که در طبقه مواد نگهدارنده قرار داشته و سبب جلوگیری از فساد میکروبی در مواد غذایی و افزایش عمر انبارداری می‌شود. این ماده به عنوان نگهدارنده در نان و سایر

در شکل ۴ و نتایج مربوط به قطر هاله عدم رشد عصاره متانولی پوست انار در جدول ۲ نشان داده شده است.

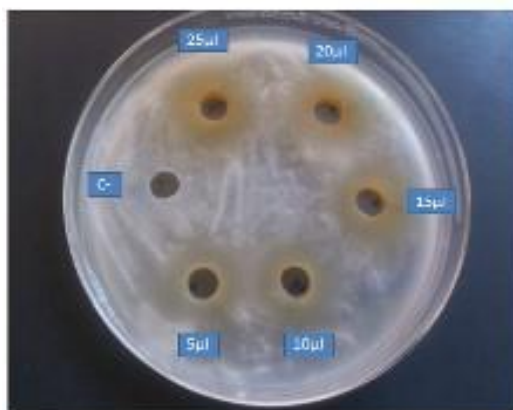


Figure 4- The effect of different amounts of 70% methanol extract of pomegranate peel (concentration 0.3%) on the growth and inhibition of *Aspergillus niger* after 24 hr at 37 °C

پوست انار در غلظت ۰/۳ درصد، دارای خاصیت ضدقارچی تقریباً معادل با اثر ضدقارچی سوربات پتاسیم (در غلظت ۰/۱ درصد) بود. نتایج مشابهی توسط سایر محققان نیز گزارش شده است [۳۰، ۳۱].

همانطوری که از جدول ۲ مشاهده می شود، میانگین قطر هاله عدم رشد کپک *آسپرژیلوس نایجر* تحت تاثیر عصاره متانولی پوست انار و نگهدارنده سنتزی سوربات پتاسیم به ترتیب، ۱۷/۷ و ۱۸/۳ میلی متر بود. بنابراین، عصاره متانولی

Table 2- Comparison of the mean effect of different treatments on the diameter of *Aspergillus niger* growth inhibition zone

Extract	Diameter of growth inhibition zone (mm)
Pomegranate peel methanolic extract (3000 mg/ml)	17.7±0.28 ^a
Methanol 70% (negative control)	ND
Potassium sorbate (1000 mg/ml)	18.3±0.21 ^a

The same superscript lower letters (a) beside mean values indicate a not significant difference from each other (t- test, P<0.05). ND: not detect.

غشای سلولی، استرس اکسیداتیو، مهار تنفس و فرآیندهای انتقال یون اعمال می کند. میزان تاثیر این ترکیبات بسته به نوع ترکیبات فنلی، غلظت ترکیبات فنلی، روش عصاره گیری و حلال مورد استفاده برای عصاره گیری و غیره متفاوت است [۳۳].

۴- نتیجه گیری کلی

در این پژوهش به بررسی ویژگی های انار، استخراج ترکیبات موثره از پوست انار و تاثیر حلال ها و زمان های مختلف بر مقدار ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی و صد قارچی آن پرداخته شده است. نتایج حاصل نشان داد که مقدار ترکیبات پلی فنلی کل، قدرت احیاکنندگی آهن و

سوربات پتاسیم، بر طیف وسیعی از کپک ها و مخمرها موثر است. علت این پدیده، به دلیل مهار آنزیم های دهیدروژناز در اکسیداسیون اسید چرب، مهار آنزیم های حاوی سولفیدریل و در نتیجه جفت نشدن فسفوریلاسیون اکسایشی و مهار کاتالاز و در نتیجه آن افزایش هیدروژن پراکسید در سلول می باشد [۳۲]. اثر ضدقارچی عصاره متانولی پوست انار نیز احتمالاً به دلیل ترکیبات فنلی (فلاونوئیدها و تانن) موجود در آن است. ترکیبات فنلی نقش مهمی در جلوگیری از رشد باکتری ها و قارچ ها دارند. این ترکیبات اثر ضد میکروبی خود را از طریق اختلال در غشای باکتریایی از طریق تغییر در ترکیب و نفوذپذیری

آسپرژیلوس نایجر تحت تاثیر عصاره پوست انار ۱۷/۷ میلی‌متر و تحت تاثیر سوربات پتاسیم ۱۸/۳ میلی‌متر بود. لذا عصاره پوست انار می‌تواند به عنوان یک جایگزین طبیعی و موثر برای نگهدارنده‌های شیمیایی مانند سوربات پتاسیم در محصولات غذایی استفاده شود.

۵-تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (INSF) برای حمایت مالی از این پروژه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

۶-منابع

- [1] Pirs, S., et al., *Smart film based on chitosan/Melissa officinalis essences/pomegranate peel extract to detect cream cheeses spoilage*. Food Additives & Contaminants: Part A, 2020. **37**(4): p. 634-648.
- [2] Sharayei, P., et al., *Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from pomegranate (Punica granatum L.) peel*. Lwt, 2019. **101**: p. 342-350.
- [3] Hamed, F., et al., *Ultrasound-assisted osmotic treatment of model food impregnated with pomegranate peel phenolic compounds: Mass transfer, texture, and phenolic evaluations*. Food and Bioprocess Technology, 2018. **11**: p. 1061-1074.
- [4] Hassani, D., I.K. Sani, and S. Pirs, *Nanocomposite film of potato starch and gum Arabic containing boron oxide nanoparticles and anise hyssop (Agastache foeniculum) essential Oil: investigation of physicochemical and antimicrobial properties*. Journal of Polymers and the Environment, 2024. **32**(4): p. 1972-1983.
- [5] Eghbaljoo, H., et al., *Development of smart packaging halochromic films embedded with anthocyanin pigments; recent advances*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2023: p. 1-17.
- [6] Azarpazhooh, E., et al., *Physicochemical and phytochemical characterization and storage stability of freeze-dried encapsulated pomegranate peel anthocyanin and in vitro evaluation of its antioxidant activity*. Food and Bioprocess Technology, 2019. **12**(2): p. 199-210.
- [7] Sharayei, P., E. Azarpazhooh, and H.S. Ramaswamy, *Effect of microencapsulation on antioxidant and antifungal properties of aqueous extract of pomegranate peel*. Journal of food science and technology, 2020. **57**(2): p. 723-733.
- [8] Kushwaha, S., M. Bera, and P. Kumar, *Nutritional composition of detanninated and fresh*

قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در روش استخراج با اتانول و متانول بیشتر از استخراج با آب بود. حلال‌های اتانول و متانول به دلیل خاصیت قطبیت کمتر، دیواره سلولی را تخریب کرده و موجب استخراج بیشتر پلی‌فنل‌ها و آنتوسیانین‌ها می‌شوند. همچنین، با افزایش زمان استخراج، مقدار ترکیبات فنلی، قدرت احیاکنندگی آهن و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در تمام حلال‌های مورد استفاده افزایش یافت. همچنین عصاره متانولی پوست انار با غلظت ۰/۳ درصد، دارای خاصیت ضدقارچی تقریباً معادل با سوربات پتاسیم با غلظت ۰/۱ درصد بود، به طوری که میانگین قطر هاله عدم رشد کپک

- pomegranate peel powder*. IOSR J. Environ. Sci. Toxicol. Food Technol, 2013. **7**(1): p. 38-42.
- [9] Fischer, U.A., R. Carle, and D.R. Kammerer, *Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (Punica granatum L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD-ESI/MSn*. Food chemistry, 2011. **127**(2): p. 807-821.
- [10] Heim, K.E., A.R. Tagliaferro, and D.J. Bobilya, *Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. The Journal of nutritional biochemistry, 2002. **13**(10): p. 572-584.
- [11] Dikmen, M., N. Ozturk, and Y. Ozturk, *The antioxidant potency of Punica granatum L. Fruit peel reduces cell proliferation and induces apoptosis on breast cancer*. Journal of medicinal food, 2011. **14**(12): p. 1638-1646.
- [12] Al-Zoreky, N., *Antimicrobial activity of pomegranate (Punica granatum L.) fruit peels*. International journal of food microbiology, 2009. **134**(3): p. 244-248.
- [13] Altunkaya, A., et al., *Antioxidant capacity versus chemical safety of wheat bread enriched with pomegranate peel powder*. Food & function, 2013. **4**(5): p. 722-727.
- [14] Ventura, J., et al., *Quality and antioxidant properties of a reduced-sugar pomegranate juice jelly with an aqueous extract of pomegranate peels*. Food chemistry, 2013. **136**(1): p. 109-115.
- [15] Kennas, A., et al., *Effect of pomegranate peel and honey fortification on physicochemical, physical, microbiological and antioxidant properties of yoghurt powder*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 2020. **19**(1): p. 99-108.
- [16] Kumar, N., et al., *Effects of drying methods and solvent extraction on quantification of major*

- bioactive compounds in pomegranate peel waste using HPLC*. Scientific Reports, 2022. **12**(1): p. 8000.
- [17] Li, B., B. Smith, and M.M. Hossain, *Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method*. Separation and purification technology, 2006. **48**(2): p. 189-196.
- [18] Çam, M. and Y. Hışıl, *Pressurised water extraction of polyphenols from pomegranate peels*. Food chemistry, 2010. **123**(3): p. 878-885.
- [19] Singh, M., et al., *Influence of the solvents on the extraction of major phenolic compounds (punicalagin, ellagic acid and gallic acid) and their antioxidant activities in pomegranate aril*. Journal of Food Science and Technology, 2014. **51**: p. 2070-2077.
- [20] Shalini Malviya, S.M., et al., *Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts*. 2014.
- [21] Farhoosh, R., J. Tavakoli, and M.H.H. Khodaparast, *Chemical composition and oxidative stability of kernel oils from two current subspecies of Pistacia atlantica in Iran*. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2008. **85**: p. 723-729.
- [22] Arjeh, E., et al., *Phenolic compounds of sugar beet (Beta vulgaris L.): Separation method, chemical characterization, and biological properties*. Food Science & Nutrition, 2022. **10**(12): p. 4238-4246.
- [23] Saray Tarkasheh, S., et al., *Investigating the Structural and Physicochemical Properties of Vicia ervilia Protein Isolate/Launaea acanthodes Gum Nanocomposite Film Containing Graphene Oxide Nanoparticles and Silybum marianum Extract Microcapsules*. Journal of Polymers and the Environment, 2024: p. 1-22.
- [24] Lapornik, B., M. Prošek, and A.G. Wondra, *Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time*. Journal of food engineering, 2005. **71**(2): p. 214-222.
- [25] Mandal, V., Y. Mohan, and S. Hemalatha, *Microwave assisted extraction—an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research*. Pharmacognosy reviews, 2007. **1**(1): p. 7-18.
- [26] Setlhodi, R., et al., *Effect of solvent extraction on the antioxidant and phytochemical profiles of ellagitannins from “wonderful” pomegranate peel: an advanced chemometrics analysis*. European Food Research and Technology, 2023. **249**(7): p. 1807-1820.
- [27] Nikmaram, P., et al., *Evaluation and prediction of metabolite production, antioxidant activities, and survival of Lactobacillus casei 431 in a pomegranate juice supplemented yogurt drink using support vector regression*. Food science and biotechnology, 2015. **24**: p. 2105-2112.
- [28] Singh, J., et al., *Pomegranate peel phytochemistry, pharmacological properties, methods of extraction, and its application: a comprehensive review*. ACS omega, 2023. **8**(39): p. 35452-35469.
- [29] Rangan, C. and D.G. Barceloux, *Food additives and sensitivities*. Disease-a-month: DM, 2009. **55**(5): p. 292-311.
- [30] Chen, J., et al., *Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation*. Journal of Food Quality, 2020. **2020**(1): p. 8850339.
- [31] Ismail, T., et al., *Antioxidant, antimicrobial and urease inhibitory activities of phenolics-rich pomegranate peel hydro-alcoholic extracts*. Journal of Food Biochemistry, 2016. **40**(4): p. 550-558.
- [32] Buazzi, M.M. and E.H. Marth, *Mechanisms in the inhibition of Listeria monocytogenes by potassium sorbate*. Food microbiology, 1991. **8**(3): p. 249-256.
- [33] Das, K., R. Tiwari, and D. Shrivastava, *Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends*. Journal of medicinal plants research, 2010. **4**(2): p. 104-111.



Scientific Research

Investigation of biochemical properties and antifungal activity of pomegranate peel extract using different solvents

Elham Azarpazhooh¹, Shahin Zomorodi^{2*}, Parvin Sharayi¹

1- Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran

2 -Agricultural Engineering Research Department, West Azerbaijan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Urmia, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/9/24 Accepted:2024/11/10	The results showed that the Ferric reducing activity of plasma (RRAP) and free radical scavenging activity (DPPH) in extracts obtained with 70% methanol were higher than those with other solvents. Also, in water and methanol solvents, with increasing extraction time, the amount of polyphenol compounds and FRAP were the highest and the lowest, respectively, but the increase of DPPH was the highest in ethanol solvent and the lowest in methanol solvent. The results of the investigation of the antifungal effects of the methanol extract of pomegranate peel (MEPP) showed that this extract with a concentration of 0.3% had an antifungal effect nearly equivalent to that of potassium sorbate at a concentration of 0.1%, so that the mean diameter on the diameter of <i>Aspergillus niger</i> growth inhibition zone was 17.7 mm for pomegranate peel extract and 18.3 mm for potassium sorbate. Therefore, pomegranate peel extract can be used in food products as antioxidant compounds and preservatives as a natural and effective alternative to chemical preservatives like potassium sorbate.
Keywords: extraction, pomegranate peel, solvent, effective compounds, Antifungal.	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.223. *Corresponding Author E- s.zomorodi@areeo.ac.ir	



بررسی تاثیر پیش تیمار اولتراسونیک و آبگیری اسمزی بر خصوصیات آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی میوه سیب زرد

احمد رضا اسکندری^۱، درنوش جعفرپور^{۲*}

۱-دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران

۲-استادیار گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، واحد فسا، دانشگاه آزاد اسلامی، فسا، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۷/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۹/۲۱

کلمات کلیدی:

سیب زرد،

پیش-تیمار اولتراسونیک،

آبگیری اسمزی،

باکتری های بیماری زا،

فنول کل محلول

آبگیری اسمزی، فرآیند خارج سازی آب بر اساس قرار گرفتن مواد غذایی در محلول هیپرتونیک است. مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر آبگیری اسمزی به کمک اولتراسوند بر کاهش پاتوژن های غذایی (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi* و *Shigella sonnei*) روی برش های سیب انجام شد. علاوه بر این، اثر آبگیری اسمزی به کمک اولتراسوند بر میزان رطوبت، مقدار کل فنول های محلول و فعالیت مهار رادیکال DPPH در سیب های تیمار شده اندازه گیری شد. برش های سیب زرد با هر پاتوژن جداگانه تلقیح شدند و به مدت ۲۰ دقیقه تحت امواج اولتراسونیک در دو سطح دامنه (۴۰ و ۷۰ درصد) قرار گرفتند. سپس فرآیند آبگیری اسمزی با غوطه ور کردن نمونه ها در محلول ساکارز ۷۰ درصد برای دوره تماس ۴، ۸ و ۱۲ ساعت انجام شد. نتایج نشان داد که پیش-تیمار اولتراسوند به تنهایی تعداد پاتوژن های مورد مطالعه را کاهش داد و سطوح کاهش چهار باکتری بیماری زا با افزایش دامنه اولتراسوند افزایش یافت. علاوه بر این، نتایج نشان داد که میزان کاهش تعداد پاتوژن ها به مدت زمان فرآیند آبگیری اسمزی و دامنه تیمار اولتراسوند بستگی دارد. بیشترین کاهش در تعداد پاتوژن ها در دامنه ۷۰ درصد و پس از نگهداری ۱۲ ساعته در محلول اسمزی مشاهده شد که در آن میانگین تعداد *E. coli*, *E. faecalis*, *S. Typhi* و *S. sonnei* به ترتیب به ۰/۱، ۰/۸، ۴/۰ و ۳/۷ و ۰/۱ log CFU/g کاهش یافت. علاوه بر این، تیمار آبگیری اسمزی به طور معنی داری ($P < 0/05$) میزان رطوبت، فنول کل و فعالیت ضد رادیکال DPPH نمونه ها را کاهش داد و این کاهش در نمونه های اولتراسوند شده نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود. همچنین، افزایش دامنه اولتراسوند منجر به کاهش بیشتر پارامترهای مذکور شد. بنابراین، این فرآیند ترکیبی غیرحرارتی می تواند جهت افزایش ایمنی و کیفیت کلی میوه سیب مورد استفاده قرار گیرد.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.235.

* مسئول مکاتبات:

d.jafarpour84@yahoo.com;
Do.Jafarpour@iau.ac.ir

۱- مقدمه

عدم وجود صنایع تبدیلی برای فرآوری محصولات باغی باعث می‌شود که کشاورزان محصولات خود را به صورت خام و با نازلترین قیمت به فروش برسانند. در بین روش‌های مختلف فرآوری، فرآیند خشک کردن به دلیل افزایش دما، کاهش وزن و حجم و سهولت حمل و نقل و انبارداری محصولات باغی مورد توجه بیشتری قرار گرفته است [۱]. در فرآیند خشک کردن به منظور افزایش ماندگاری محصولات غذایی، میزان رطوبت کاهش یافته و به عبارت دقیق‌تر فعالیت آبی کاهش می‌یابد، که این مسئله کاهش فعالیت عوامل فساد را نظیر آنزیم‌ها و میکروب‌ها را در پی دارد [۲]. با توجه به پتانسیل‌های بالای موجود در کشور ما جهت تولید انواع میوه و سبزی، به منظور افزایش قابلیت نگهداری و کاهش میزان ضایعات، خشک کردن میوه‌ها و سبزی‌ها از دیر باز در کشور ما مرسوم بوده است [۳]. بدون شک، خشک کردن سنتی از معایب عدیده‌ای برخوردار است که از جمله آنها می‌توان به سرعت پایین و زمان طولانی فرآیند، سفت شدن، قهوه‌ای شدن، چروکیدگی، رنگ نامطلوب و کاهش ارزش غذایی اشاره نمود [۴]. از این رو روش‌های سنتی و بسیاری روش‌های دیگر که طی قرون اخیر ابداع شده و مورد استفاده قرار گرفته‌اند همواره در حال تغییر، اصلاح و تکامل هستند. امروزه روش‌های نوینی نظیر استفاده از پرتوها، فشار بالا، اولتراسوند، میدان‌های الکتریکی پالسی، مقاومت الکتریکی و غیره با کاهش استفاده از مواد شیمیایی و نیز حفظ ترکیبات طبیعی و با ارزش در مواد غذایی نظیر ویتامین‌ها در مقایسه با روش‌های حرارتی، ابداع شده است [۵]. بنابراین با توجه به گرایش مصرف‌کنندگان به غذاهای سالم و مغذی، استفاده از روش‌های غیرحرارتی که بتوانند به طور موثر

عوامل بیماری‌زا را از بین ببرد مورد توجه قرار گرفته است.

آبگیری اسمزی جداسازی جزئی آب از بافت‌های گیاهی با تماس مستقیم با یک محلول غلیظ مناسب صورت می‌گیرد. انواع مختلف حلال مانند فروکتوز، شربت ذرت، گلوکز، کلرید سدیم و ساکارز به عنوان عامل اسمزی استفاده می‌شود [۶]. در این فرآیند، با غوطه ور کردن میوه‌ها یا سبزیجات در محلول هایپرتونیک، دیواره سلولی آن‌ها به عنوان یک غشای نیمه تراوا عمل می‌کند. به دلیل وجود گرادیان غلظت بین محلول هایپرتونیک و مایعات درون سلولی، نیروی محرک برای انتشار آب از بافت‌ها به محلول اسمزی تشکیل می‌شود. در نتیجه، آب و اجزای کوچک تشکیل دهنده سلول‌ها به داخل محلول اسمزی منتقل شده و همزمان املاح به سلول‌های گیاهی منتقل می‌شوند [۷]. اگرچه چندین مطالعه نشان داده‌اند که فشار اسمزی بالا بر جمعیت پاتوژن‌ها تأثیر می‌گذارد و بقای آن‌ها را کاهش می‌دهد [۸ و ۹]، این کاهش ممکن است با توجه به ایمنی مواد غذایی کافی نباشد. بنابراین، به منظور افزایش کارایی غیرفعال‌سازی میکروبی، باید از روش‌های غیرحرارتی دیگر به عنوان یک فناوری مانع^۱ استفاده کرد تا اطمینان حاصل شود که تعداد میکروارگانیسم‌ها به اندازه کافی کاهش می‌یابد.

در سال‌های اخیر، استفاده از امواج اولتراسونیک در صنایع غذایی به عنوان روشی برای پردازش غیر مخرب مورد توجه زیادی قرار گرفته است. امواج اولتراسونیک به امواج با فرکانس بیش از ۲۰-۱۸ کیلوهرتز اطلاق می‌شوند که توسط انسان قابل شناسایی نیستند [۱۰]. مشخص شده است که این امواج با ایجاد کاویتاسیون و بافت اسفنجی در ماده غذایی، سبب افزایش نرخ انتقال حرارت و جرم، طی فرآیند خشک کردن می‌شوند.

مهم‌ترین تفاوت امواج اولتراسونیک مورد استفاده در فرآوری یا آنالیز ترکیبات غذایی، توان آنها است. امواج اولتراسونیک با فرکانس پایین و توان بالا می‌توانند بطور مستقیم برای خشک کردن و یا به عنوان یک پیش‌تیمار قبل از خشک شدن استفاده شوند. این فناوری توسط سازمان غذا و دارو^۲ توصیه شده است که می‌تواند به عنوان جایگزینی برای درمان حرارتی غذاها استفاده شود [۱۱]. از آنجایی که اولتراسوند به تنهایی نمی‌تواند میکروارگانیسم‌ها را به طور کامل غیرفعال کند، این روش همراه با سایر فناوری‌ها یا به عنوان روش کمکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مطالعات نشان داده است که پیش تیمار اولتراسونیک اسمزی قبل از خشک کردن محصولات، سبب کاهش مدت زمان فرآیند خشک کردن شده و در نهایت موجب تولید محصولی با کیفیتی بهتر از لحاظ بافت و رنگ شده است [۱۲].

سیب زرد با نام علمی (*Malus Domestica*) از خانواده گل سرخیان (*Rosaceae*) و متعلق به رقم Golden Delicious می‌باشد. این میوه یکی از مهمترین محصولات باغی است که همه ساله سهم زیادی از تجارت جهانی محصولات کشاورزی را به خود اختصاص می‌دهد [۱۳]. بر اساس نتایج حاصل از طرح آمارگیری باغداری در سال ۱۴۰۱ مشخص شده است که، ۶۴ درصد از کل تولید محصولات باغی در سال ۱۴۰۱ مربوط به محصولات پرتقال و نارنگی، سیب، انگور و خرما بوده است. از بین محصولات مذکور بیشترین مقدار مربوط به تولید پرتقال و نارنگی می‌باشد که در سال ۱۴۰۱، در حدود ۳ میلیون تن و بعد از آن سیب با تولید حدود ۲ میلیون تن برآورد شده است [۱۴]. میوه سیب با داشتن ماهیت فرازگرا و افزایش تنفس در زمان رسیدن با تولید اتیلن و نرم شدن همراه است که منجر به تسریع پیری و کاهش بعضی خصوصیات کیفی و بازارپسندی آن می‌شود. این محصول به دلیل درصد بالای رطوبت،

فعالیت متابولیکی بالایی دارد که در حمل و نقل و نگهداری آن موثر است [۱۵]. بنابراین حذف رطوبت به طور گسترده‌ای برای افزایش ماندگاری و کیفیت محصولات کشاورزی پس از برداشت مورد استفاده قرار می‌گیرد.

اگرچه بسیاری از مطالعات اثرات اولتراسوند و اسمز را به تنهایی بر غیرفعال‌سازی میکروبی و کیفیت غذا نشان داده‌اند [۱۶ و ۱۷]، داده‌های بسیار محدودی در مورد تأثیر کم‌آبی اسمزی به کمک اولتراسوند بر پاتوژن‌ها و خواص آنتی‌اکسیدانی محصولات غذایی گزارش شده است. از این رو، هدف از این مطالعه، تعیین تأثیر تیمار اولتراسوند و آبگیری اسمزی بر کاهش تعداد چهار باکتری بیماری‌زای غذایی (*شریشیا کلی*، *انتروکوکوس فکالیس*، *سالمونلا تیفی* و *شیگلا سونئی*) بر روی میوه سیب زرد می‌باشد. همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی و محتوای رطوبت نمونه‌های سیب تیمار شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- آماده‌سازی نمونه‌ها و محلول اسمز

سیب زرد تازه و رسیده از بازار محلی فسا (فارس، ایران) خریداری شد و نمونه‌ها با آب شسته و با دست پوستگیری شدند. نمونه‌های پوستگیری شده به برش‌هایی به ضخامت 1 ± 10 میلی‌متر برش داده شدند. سپس محلول اسمز حاوی شکر سفید (ساکارز) آماده گردید. ۷۰ گرم شکر در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب حل شده تا محلولی با ۷۰ درصد شکر (w/v) و درجه بریکس $7/4$ تولید شود. سپس محلول بدست آمده در دمای ۸۰ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه تحت فرآیند حرارتی قرار گرفت.

۲-۲- تلقیح نمونه‌ها

در تحقیق حاضر از باکتری‌های پاتوژن شامل (PTCC 1533) *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* (PTCC 1393)، *Salmonella Typhi* (PTCC 1609) و *Shigella sonnei* (PTCC 1777) که از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی مرکز پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران خریداری شد استفاده گردید. روش کار بدین شرح بود که هر میکروارگانیسم در ۲۵ میلی‌لیتر محیط کشت مولر هینتون برات (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ ساعت کشت داده شد و بعد از آن در ۹/۳-۹/۱ log CFU/mL به دست آمده مجدداً در بافر پپتون واتر شستشو داده شدند تا مقدار ۹/۳-۹/۱ log CFU/mL به دست آید. سپس از هر سویه به میزان مذکور به طور جداگانه به صورت پاششی بر روی نمونه سیب آماده شده تلقیح صورت گرفت. پس از آن، نمونه‌ها در هوای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۲ ساعت خشک شدند تا امکان اتصال میکروارگانیسم‌ها فراهم شود.

۲-۳- تیمار نمونه‌ها

تیمار نمونه‌های تلقیح شده بدین صورت انجام پذیرفت که ابتدا ۲۵ گرم از برش‌های سیب زرد به ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول اسمز در یک ازلن استریل ۵۰۰ میلی‌لیتری افزوده شده و سپس تیمار اولتراسوند (دستگاه اولتراسونیک *Schaper Unique USC 25KHz*، آلمان؛ ۱۰۰ وات، ۲۵ کیلوهرتز) در دامنه‌های ۰، ۴۰ و ۷۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. دمای محیط فرآیند با استفاده از حمام آب (ZENITH LAB، چین) روی ۴۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. بعد از انجام فرآیند اولتراسوند، فرآیند آبگیری اسمزی به مدت ۴، ۸ و ۱۲ ساعت انجام شده و بر روی نمونه‌های تیمار شده آزمایشات مورد نظر صورت پذیرفت.

۲-۴- شمارش باکتری‌ها

هر نمونه سیب تیمار شده توسط فرآیند اسمودهدراتاسیون به یک کیسه استومیکر استریل حاوی ۰/۱ درصد پپتون واتر منتقل شده و همگن‌سازی به مدت ۲ دقیقه توسط دستگاه استومیکر (*BagMixer 400 W*, Interscience Co، فرانسه) انجام پذیرفت.

روش کار بر مبنای رقیق کردن نمونه در سرم فیزیولوژی استریل صورت گرفت. برای این کار در تعدادی لوله آزمایش هر کدام ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل اضافه شد. یک میلی‌لیتر از نمونه همگن شده به ۹ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل (لوله شماره ۱) اضافه شد. سپس لوله به خوبی ورتکس شده تا یکنواخت گردد. بعد از آن یک میلی‌لیتر از محلول فوق به لوله شماره ۲ منتقل و تا لوله ۸ رقت‌سازی انجام شد. سپس از رقت‌های مورد نظر، به میزان ۱ میلی‌لیتر (۱۰۰۰ میکرولیتر) از آن در کف پلیت استریل ریخته و از محیط کشت مناسب هر باکتری که قبلاً استریل شده و حرارت آن به حدود ۴۵ درجه سلسیوس رسیده به میزان ۱۵-۲۰ میلی‌لیتر به پلیت اضافه شد. سپس با حرکات دورانی بصورت عدد ۸ انگلیسی محتویات پلیت‌ها کاملاً مخلوط شدند.

لازم به ذکر است که برای شمارش باکتری *E. faecalis* از محیط کشت برین هارت اینفیوژن آگار و برای سویه‌های دیگر از محیط کشت نوترینت آگار استفاده شد. پس از آن، انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت صورت گرفت. بعد از اتمام گرمخانه‌گذاری، پلیت‌های با تعداد ۲۵ تا ۲۵۰ کلنی برای شمارش انتخاب شدند [۱۸].

۲-۵- تعیین محتوای رطوبت

محتوای رطوبت با استفاده از تبخیر در آون اندازه‌گیری شد. ابتدا پلیتی به مدت ۱ ساعت در آون ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. سپس پلیت در دسیکاتور، سرد و با ترازو وزن گردید. به میزان حدوداً ۲ گرم از نمونه سیب تیمار شده در آون تحت خلاء (*SH-Scientific*؛ *SH-VDO-08NG*؛ کره جنوبی) با

رادیکال DPPH نمونه‌ها به صورت میلی گرم اسید اسکوربیک بر گرم بیان گردید [۲۱].

۲-۸- آنالیز آماری

آزمایشات در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. نتایج ابتدا در معرض تجزیه واریانس یکطرفه قرار گرفت و سپس برای مقایسه میانگین‌ها و بررسی اختلاف معنی داری بین تیمارها از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح معنی داری ۹۵٪ استفاده گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ انجام شد. نمودارهای مربوطه در محیط EXCEL توسط نرم افزار OFFICE رسم شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- شمارش باکتری‌های بیماری‌زای تلقیح شده در نمونه‌های سیب تیمار شده

۳-۱-۱- تاثیر پیش-تیمار اولتراسوند بر تعداد باکتری‌های بیماری‌زا

تاثیر اولتراسوند علیه باکتری‌های بیماری‌زا (*E. coli*، *E. faecalis*، *S. Typhi* و *S. sonnei*) که به طور مصنوعی روی سیب زرد تلقیح شده‌اند در شکل ۱ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود، جمعیت اولیه باکتری‌های ذکر شده ($\log \text{CFU/g}$ ۹/۳-۹/۱) در سیب زرد زمانی که تحت پیش-تیمار اولتراسوند قرار گرفتند، به طور قابل توجهی کاهش یافت ($P < 0.05$). علاوه بر این، مطابق شکل ۱، سطوح کاهش چهار باکتری بیماری‌زا با افزایش دامنه اولتراسوند از ۴۰٪ به ۷۰٪ نسبت به نمونه شاهد (بدون تیمار اولتراسوند) افزایش یافت. تیمار اولتراسوند با دامنه ۴۰ درصد تعداد باکتری‌های *E. coli*، *E. faecalis*، *S. Typhi* و *S. sonnei* را به ترتیب به ۷/۹، ۸/۳، ۸/۲ و ۸/۰ $\log \text{CFU/g}$ کاهش داد در حالی که دامنه ۷۰ درصد جمعیت آنها را به ترتیب به ۷/۵، ۷/۷، ۷/۸ و ۷/۵ $\log \text{CFU/g}$ کاهش داد. تاثیر اولتراسوند بر غیرفعال شدن باکتری‌های بیماری‌زا مربوط به یک پدیده فیزیکی است که به آن کاویتاسیون می‌گویند [۲۲].

دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ ساعت قرار داده شد تا به وزن ثابت برسد. بعد از سرد کردن در داخل دسیکاتور، نمونه‌ها وزن شدند و درصد محتوای رطوبت آن‌ها محاسبه شد [۱۹].

۲-۶- اندازه‌گیری میزان فنول کل محلول

محتوای فنول کل نمونه‌های سیب تیمار شده بر اساس روش *Folin-Ciocalteu* انجام شد. ابتدا نمونه‌های سیب با استفاده از هموژنایزر *Ultra-Turrax (JKA-T10)* *Staufen* (آلمان) خرد و همگن شدند تا خمیر بدست آید. ۱۰ گرم خمیر با ۲۵ میلی لیتر متانول مخلوط شد تا ترکیبات فنولی استخراج شوند. ۵۰ میکرولیتر از عصاره نمونه‌ها با ۸۰۰ میکرولیتر آب و ۲۵ میکرولیتر معرف *Folin-Ciocalteu* (۲۵/۰ نرمال) مخلوط شده و انکوباسیون به مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس انجام شد. پس از آن، ۱۰۰ میکرولیتر کربنات سدیم (۱ نرمال) با محلول مخلوط شده و انکوباسیون به مدت ۲ ساعت صورت گرفت. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر *UV-VIS* در طول موج ۷۵۰ نانومتر جذب نمونه‌ها خوانده شد [۲۰].

۲-۷- اندازه‌گیری فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH

روش کار بدین شرح بود که ابتدا ۵ گرم از هر نمونه با ۲۰ میلی لیتر متانول مخلوط شده و پس از به هم زدن نمونه به مدت ۳۰ ثانیه، فرآیند سانتیفریوژ در $5000 \times g$ به مدت ۱۵ دقیقه انجام پذیرفت. سپس ۱۵۰ میکرولیتر مایع رویی با ۲۸۵۰ میکرولیتر محلول DPPH در متانول (0.047 گرم در لیتر) مخلوط شده و به مدت ۲۰ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب محلول تهیه شده در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. متانول به جای نمونه تحت همان روش قرار گرفت و به عنوان شاهد (بلانک) اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد برای غلظت ترکیب استاندارد (پیوست) و سرعت مهار رادیکال DPPH با استفاده از اسید اسکوربیک ترسیم شد ($y=0.0555x-0.0669$, $R^2=0.9983$). فعالیت مهار

Stasiak (۲۰۱۱)، نشان دادند که درمان اولتراسوند منجر به کاهش موثر تعداد میکروبی در سطح پوست مرغ شد [۲۲].

در طی این تحقیق انتقال میکروارگانیسم‌ها از سطح غذا به محلول آبی شناسایی شد. همانطور که مشاهده شد، با افزایش دامنه اولتراسوند، تعداد پاتوژن‌ها به طور چشمگیری کاهش یافت. دامنه نشان‌دهنده شدت و قدرت اولتراسوند است. با افزایش شدت اولتراسوند (اولتراسوند با قدرت بالا)، ناحیه محیط مایع در طول درمان اولتراسوند تحت تاثیر کاویتاسیون افزایش می‌یابد. در نتیجه کاویتاسیون افزایش می‌یابد و منجر به افزایش فشار موضعی و تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌شود که تاثیر بیشتری بر غیرفعال کردن میکروارگانیسم‌ها دارد [۲۵ و ۲۶].

فرآیندی است که طی آن یک حباب بخار در ناحیه‌ای از مایع کم فشار تشکیل می‌شود. اولتراسوند با ایجاد امواج فشاری شدید در یک محیط مایع کار می‌کند. این امواج در محیط مایع جریان ایجاد می‌کنند و باعث تشکیل سریع حباب‌های میکروبی می‌شوند. رشد و یکسان شدن این حباب‌ها و رسیدن به حداکثر اندازه، در نهایت منجر به ترکیدن می‌شود. نیروی برشی ناشی از انفجار حباب‌ها و هم‌چنین جریان‌های متلاطم ناشی از ارتعاش صوتی منجر به جدا شدن و تخریب سلول‌های باکتری از محصول غذایی می‌شود [۲۳]. به طور مشابه، *Sagong* و همکاران (۲۰۱۱)، نشان دادند که تیمار کاهو توسط اولتراسوند به طور قابل توجهی تعداد سلول‌های *سالمونلا تیفی* موربوم، *لیستریا مونوسیترنرز* و *اشریشیا کلی* O157:H7 را کاهش داد که به دلیل جداسازی فیزیکی عوامل بیماری‌زا از سطح کاهو بود [۲۴]. علاوه بر این، Kordowska-Wiater و

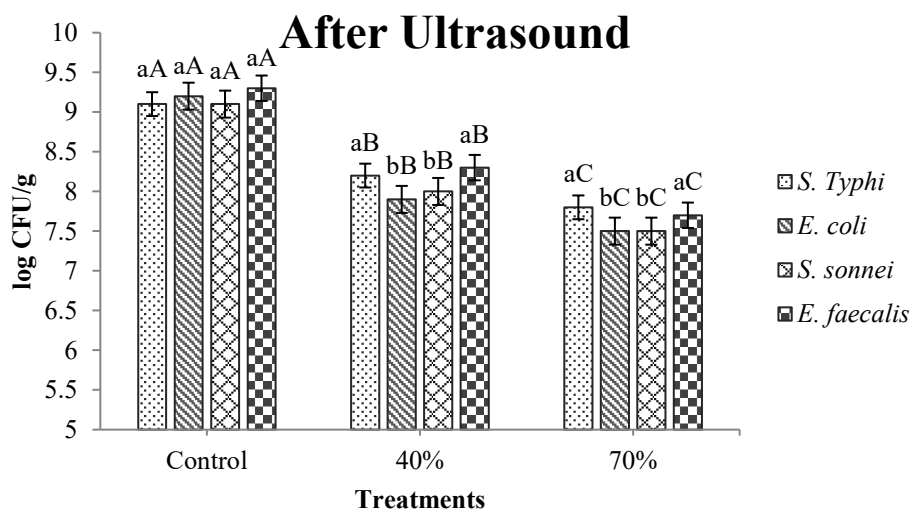


Fig. 1. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration treatment against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi* and *Shigella sonnei*) artificially inoculated on yellow apple. Error bars indicate the standard deviation of microbial population in treated samples. The same lowercase letters are not significantly different between various bacteria strains within the same study treatment at $P > 0.05$. Different capital letters indicate a significant difference between different treatments in the same studied strain at $P < 0.05$.

گرفتند (اشکال ۲، ۳ و ۴). بر اساس داده‌ها، مشخص شد که جمعیت باکتری‌های بیماری‌زا در طول مدت فرآیند اسمزی به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد ($P < 0.05$). بیشترین تاثیر تیمارها بر کاهش باکتری‌ها برای *E. coli* و *S. sonnei* و بعد از آن *S. Typhi* و *E. faecalis* مشاهده

۳-۱-۲- تاثیر آبگیری اسمزی بر تعداد باکتری‌های بیماری‌زا

پس از پیش-تیمار اولتراسوند، سیب‌های تیمار شده به مدت ۴، ۸ و ۱۲ ساعت تحت آبگیری اسمزی قرار

دادند که کم آبی اسمزی به طور قابل توجهی تعداد لیستریا مونوسیژنوز، اشریشیا کلی و گونه های سالمونلا را که روی گوشت مرغ تلقیح شده بودند کاهش می دهد [۱۶].

با توجه به داده ها، کاهش پاتوژن بالاتری برای نمونه های فراصوتی در مقایسه با نمونه های غیرفراصوتی مشاهده شد. هنگامی که اولتراسوند اعمال می شود، سلول ها به هر استرسی حساس تر می شوند و با قرار گرفتن در یک محیط اسمزی، یکپارچگی سلول به شدت تحت تأثیر قرار می گیرد و منجر به مرگ سلول می شود. نتایج ما با گزارش های Wong و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد [۲۸]. همچنین مشاهده شد که در بین پاتوژن های مورد مطالعه، *E. faecalis* نسبت به تیمارها مقاوم تر بود. مشخص شده است که باکتری های گرم مثبت به دلیل چسبندگی و ضخیم بودن لایه پتیدوگلیکان دیواره سلولی خود، نسبت به اولتراسوند و خشک شدن مقاوم تر هستند [۸].

شد. علاوه بر این، نتایج نشان داد که کاهش میکروبی در نمونه های فراصوتی به طور قابل توجهی بیشتر از نمونه شاهد در شرایط آبیگری اسمزی بود. بیشترین کاهش در جمعیت پاتوژن های مورد مطالعه در دامنه ۷۰ درصد اولتراسوند مشاهده شد، به طوری که پس از ۱۲ ساعت آبیگری اسمزی، میانگین تعداد *E. coli*، *E. faecalis*، *S. Typhi* و *S. sonnei* به ترتیب به ۰/۱، ۴/۰، ۳/۷ و ۰/۱ log CFU/g کاهش یافت. در طول آبیگری اسمزی، زمانی که سلول های باکتریایی در معرض یک محلول غلیظ با فشار اسمزی بالاتر از فشار درون سلولی قرار می گیرند، آب سلولی از طریق غشای پلازما به محلول اسمزی منتشر می شود. این امر منجر به پدیده ای به نام پلاسمولیز می شود که از رشد میکروبی جلوگیری می کند [۲۷]. مطالعات نشان داده است که درمان اسمزی به طور موثر غشای سلولی را بی ثبات می کند و در نتیجه باعث مرگ سلولی می شود. در واقع، دو مکانیسم برای تأثیر کشندگی آبیگری اسمزی گزارش شده است، یکی انتقال فاز و تغییر ساختاری فسفولیپیدهای غشایی و دیگری تغییر حجم سلولی است [۸]. Filipović و همکاران (۲۰۱۹)، نشان

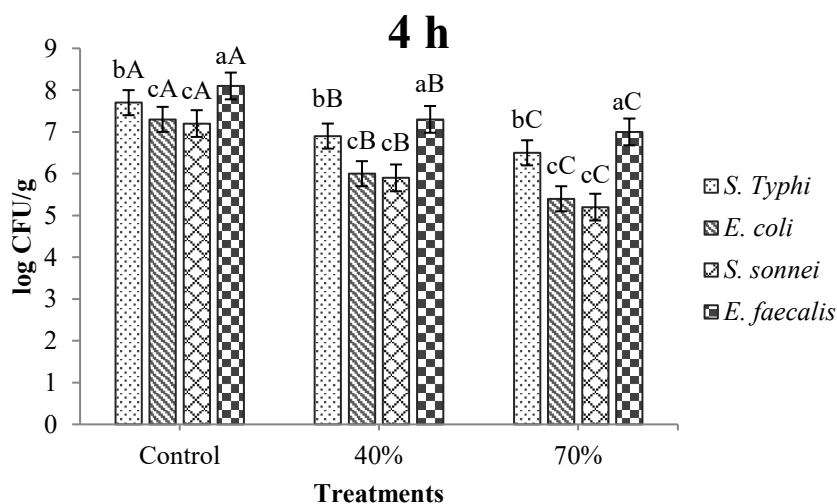


Fig. 2. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration treatment against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi* and *Shigella sonnei*) artificially inoculated on yellow apple. Error bars indicate the standard deviation of microbial population in samples subjected to the osmotic dehydration process for 4 h. The same lowercase letters are not significantly different between various bacteria strains within the same study treatment at $p > 0.05$. Different capital letters indicate a significant difference between different treatments in the same studied strain at $P < 0.05$.

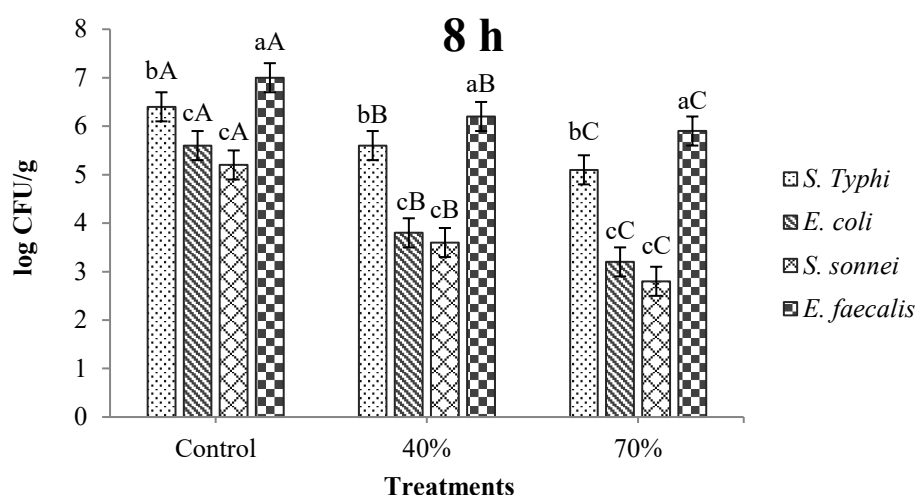


Fig. 3. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration treatment against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi* and *Shigella sonnei*) artificially inoculated on yellow apple. Error bars indicate the standard deviation of microbial population in samples subjected to the osmotic dehydration process for 8 h. The same lowercase letters are not significantly different between various bacteria strains within the same study treatment at $p > 0.05$. Different capital letters indicate a significant difference between different treatments in the same studied strain at $P < 0.05$.

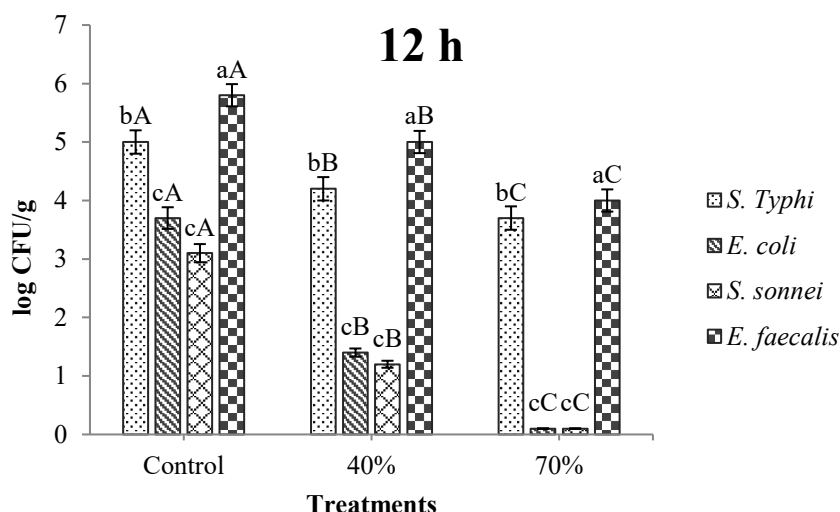


Fig. 4. Effect of ultrasound-assisted osmotic dehydration treatment against pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella Typhi* and *Shigella sonnei*) artificially inoculated on yellow apple. Error bars indicate the standard deviation of microbial population in samples subjected to the osmotic dehydration process for 12 h. The same lowercase letters are not significantly different between various bacteria strains within the same study treatment at $p > 0.05$. Different capital letters indicate a significant difference between different treatments in the same studied strain at $P < 0.05$.

می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، پیش-تیمار

اولتراسوند به تنهایی به طور معنی‌داری محتوای رطوبت

نمونه‌ها را تغییر نداده است ($P > 0.05$). یافته‌های ما با

گزارش‌های سایر محققان مطابقت دارد. مشاهده شده

است که محتوای رطوبت میوه فیسالیس [۲۹] و کیوی

۲-۳- تاثیر فرآیند اولتراسوند-اسمز بر میزان رطوبت

نمونه‌های سیب

شکل ۵، داده‌های محتوای رطوبت را برای نمونه‌های

سیب تیمار شده تحت فرآیند اولتراسوند-اسمز نشان

متعدد دیگری می‌توانند بر کاهش محتوای رطوبت تأثیر بگذارند، از جمله: زمان تیمار اولتراسوند، غلظت محلول اسمزی، نوع املاح و ساختار میوه [۳۵].

علاوه بر این، مطابق داده‌ها مشخص شد که افزایش دامنه اولتراسوند به طور قابل توجهی محتوای رطوبت نمونه‌ها را کاهش می‌دهد ($P < 0.05$). پس از دوره آبیگری اسمزی، میزان رطوبت اولیه نمونه‌های سیب (۷۸ درصد) به ترتیب به ۵۴، ۴۹ و ۴۳ درصد در تیمار شاهد، ۴۰ درصد و ۷۰ درصد در تیمارهای تحت اولتراسوند رسید. به طور مشابه، Bermúdez Aguirre و همکاران (۲۰۱۱)، نشان دادند که افزایش دامنه و قدرت اولتراسوند باعث ایجاد فشار بالایی در محیط اطراف می‌شود که باعث افزایش کاویتاسیون و تاثیر اسفنجی امواج اولتراسونیک شده که به دنبال آن از دست رفتن آب از میوه را افزایش می‌دهد [۳۶].

[۳۰] تحت تأثیر تیمار اولتراسوند قبل از آبیگری اسمزی قرار نگرفته است.

مطابق شکل ۵، افزایش طول مدت آبیگری اسمزی منجر به کاهش قابل توجه در محتوای رطوبت نمونه‌های سیب شد. این امر می‌تواند به دلیل گرا دیان غلظت بین سیب و محلول هایپرتونیک اطراف آن باشد [۳۱]. نتایج مشابهی توسط Rahaman و همکاران (۲۰۱۹) به دست آمد [۳۲]. همچنین مشخص شد که محتوای رطوبت نمونه‌های سیب در معرض پیش-تیمار اولتراسوند کمتر از نمونه شاهد در طول دوره آبیگری اسمزی بود. چندین مطالعه همین پدیده را در مورد کدو تنبل [۳۳] و [۳۲] نشان داده‌اند. این فرآیند می‌تواند مربوط به کاویتاسیون ناشی از امواج اولتراسوند باشد که همراه با فشار اسمزی کانال‌های میکروسکوپی ایجاد می‌کند و سلول‌های بافتی را مختل می‌کند و در نتیجه باعث افزایش انتقال آب از بافت میوه به محلول اسمزی می‌شود [۳۴]. بیان شده است که عوامل

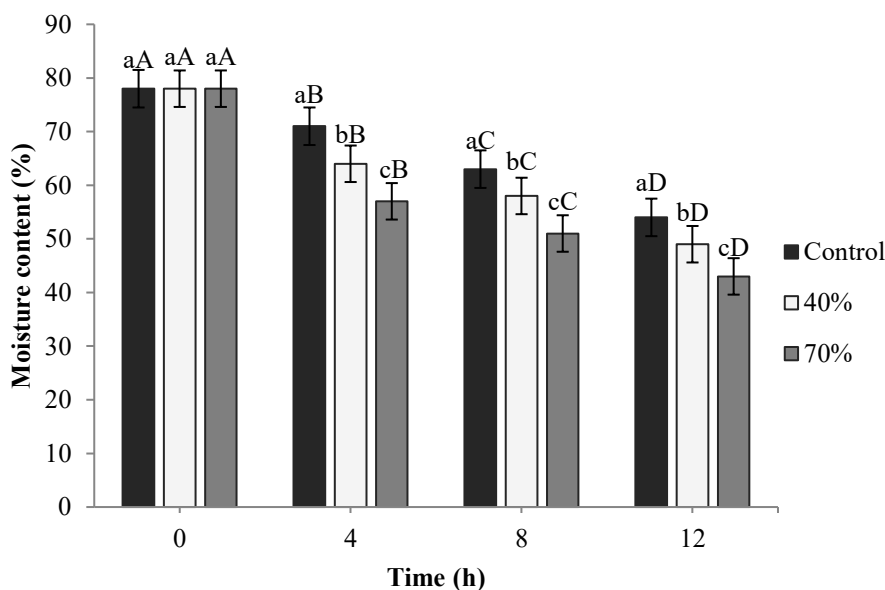


Fig 5. Changes in moisture content (%) of yellow apple samples. Error bars indicate the standard deviation of moisture content in sonicated (at 40 and 70 % amplitude) and unsonicated (control) yellow apple samples during 12 h of osmotic dehydration. The same lowercase letters are not significantly different between various treatments within the same study hour at $P > 0.05$. Different uppercase letters indicate significant differences between different times in the same study treatment at $P < 0.05$.

میزان فنول کل محلول نمونه‌های سیب تیمار شده تحت فرآیند اولتراسوند-اسمز در شکل ۶ نشان داده شده است. مطابق شکل، تفاوت معنی‌داری در محتوای فنول کل

۳-۳- تاثیر فرآیند اولتراسوند-اسمز بر میزان فنول کل

محلول

شاهد مشاهده شد. مقدار اولیه فنول کل در نمونه های اولتراسوند شده قبل از آبگیری اسمزی $306 \text{ mg}/100 \text{ g}$ بود که در نهایت پس از ۱۲ ساعت نگهداری در محلول اسمز به ترتیب به 163 ، 188 و $136 \text{ mg}/100 \text{ g}$ در نمونه شاهد، 40 درصد و 70 درصد اولتراسوند رسید. از دست دادن قابل توجه فنول کل که در طول دوره آبگیری اسمزی مشاهده شد ممکن است مربوط به انتقال جرم و مهاجرت فیزیکی ترکیبات فنولی به محلول ساکارز باشد. علاوه بر این، اتلاف بیشتر فنول کل برای نمونه های فراصوتی و همچنین برای دامنه بالاتر اولتراسوند ممکن است به پدیده کاویتاسیون و پارگی بیشتر ساختار سلولی نسبت داده شود که همراه با گرادیان غلظت در فرآیند اسمزی باعث نشت بیشتر املاح از بافت سیب و از بین رفتن ترکیبات فنولی در طی آبگیری اسمزی می شود [۳۹]. این نتایج با یافته های قبلی Osae و همکاران (۲۰۱۹)، مطابقت داشت که از پیش تیمار اولتراسوند برای خشک کردن نمونه های زنجبیل استفاده کردند [۱۷].

نمونه های پیش تیمار شده اولتراسوند وجود ندارد ($P > 0.05$). نتایج ما با Alighourchi و همکاران (۲۰۱۳)، همخوانی دارد، که گزارش کردند تفاوت ناچیزی در میزان فنول کل محلول آب لنار تیمار شده با اولتراسوند در سطوح دامنه متفاوت (۵۰، ۷۵ و 100%) وجود دارد [۳۷]. در حالی که، Bhat و همکاران (۲۰۱۱)، افزایش محتوای فنول کل در برخی از سطوح دامنه را به دلیل اثر سونوشیمیایی کاویتاسیون صوتی و افزودن رادیکال های هیدروکسیل به ترکیبات فنولی بیان کرده اند [۳۸]. از سوی دیگر، زمانی که نمونه های فراصوتی تحت آبگیری اسمزی قرار گرفتند، محتوای فنول کل به طور قابل توجهی در طول زمان کاهش یافت ($P < 0.05$).

علاوه بر این، با افزایش دامنه اولتراسوند، مقدار فنول کل به طور معنی داری ($P < 0.05$) در طول آبگیری اسمزی کاهش یافت، به طوری که بیشترین کاهش فنول کل در تیمار دامنه 70 درصد و سپس 40 درصد نسبت به نمونه

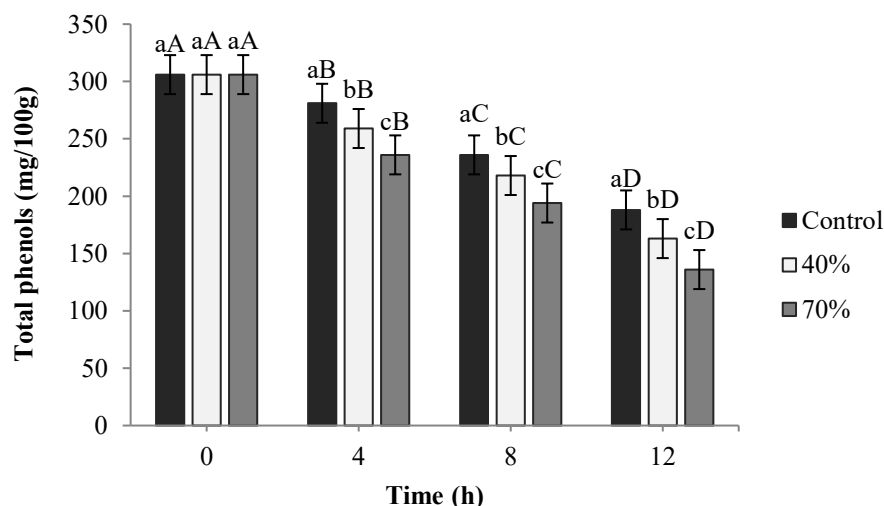


Fig 6. Changes in total phenols (mg/100g) of yellow apple samples. Error bars indicate the standard deviation of total phenols in sonicated (at 40 and 70 % amplitude) and unsonicated (control) yellow apple samples during 12 h of osmotic dehydration. The same lowercase letters are not significantly different between various treatments within the same study hour at $P > 0.05$. Different uppercase letters indicate significant differences between different times in the same study treatment at $P < 0.05$.

۴-۳- تاثیر فرآیند اولتراسوند-اسمز بر ظرفیت

آنتی اکسیدانی

ظرفیت آنتی اکسیدانی نمونه های سیب تیمار شده تحت فرآیند اولتراسوند-اسمز از طریق حذف رادیکال پایدار DPPH تعیین شد (شکل ۷). روند مشابهی همانند میزان

بیان کردند که از دست دادن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه آلو ممکن است به دلیل تخریب سلولی و انتشار بیشتر ترکیبات در طول آبگیری اسمزی باشد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی از خود نشان می‌دهند [۳۲]. همچنین Hamedی و همکاران (۲۰۱۸)، نشان دادند که در حین فرآیند اولتراسوند با قدرت بالا برای یک مدل غذایی غنی شده با ترکیبات فنولی پوست انار، اتلاف آب بیشتر و نشسته‌تر ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی اتفاق افتاده است [۴۰].

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میزان فنول و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های تیمار شده با آبگیری اسمزی به مدت زمان اسمز و قدرت اولتراسوند بستگی دارد. علاوه بر این، مطالعات عوامل دیگری مانند غلظت محلول اسمزی، نوع املاح اسمزی و دمای فرآیند را نشان دادند [۴۰ و ۴۱].

فنول کل برای ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد. این بدان معنی است که پیش-تیمار نمونه‌ها با فرآیند اولتراسوند به طور قابل توجهی بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تأثیرگذار نبود ($P > 0.05$)، در حالی که آبگیری اسمزی به طور معنی‌داری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها را کاهش داد ($P < 0.05$).

علاوه بر این، نمونه‌های فراصوت شده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به نمونه شاهد در طول آبگیری اسمزی نشان دادند و این کاهش با افزایش دامنه اولتراسوند افزایش یافت. Wong و همکاران (۲۰۱۰)، گزارش کردند که پیش-تیمار اولتراسونیک تأثیر معنی‌داری ($P > 0.05$) بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آب توت تیمار شده ندارد [۹]. کاهش میزان فنول کل محلول در طول آبگیری اسمزی به نوعی نشان داد که ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و فنول‌های محلول با یکدیگر مرتبط هستند. به طور مشابه، Rahaman و همکاران (۲۰۱۹)،

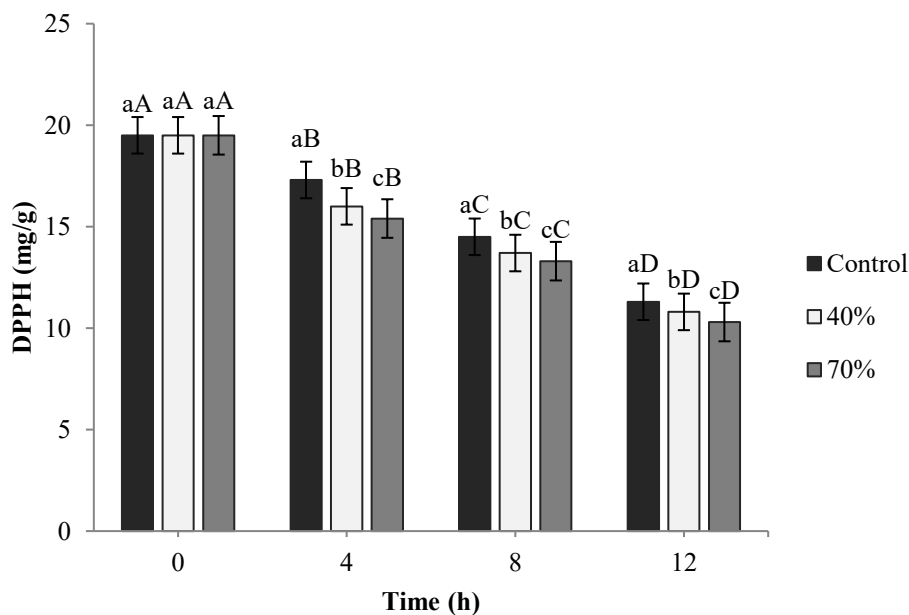


Fig 7. Changes in DPPH radical-scavenging effects (mg/g) of yellow apple samples. Error bars indicate the standard deviation of DPPH in sonicated (at 40 and 70 % amplitude) and unsonicated (control) yellow apple samples during 12 h of osmotic dehydration. The same lowercase letters are not significantly different between various treatments within the same study hour at $P > 0.05$. Different uppercase letters indicate significant differences between different times in the same study treatment at $P < 0.05$.

بر اساس نتایج بدست آمده در طی تحقیق حاضر، مشخص شد که استفاده از پیش-تیمار اولتراسوند به تنهایی می‌تواند

۴- نتیجه‌گیری

به دليل تشكيل كانال‌هاي ميكروسكوپي و انتقال بيشتر آب/املاح مشاهده شد. به علاوه، مشخص شد كه دامنه بالاتر اولتراسوند باعث كاهش بيشتر پارامترهاي مورد بررسي شده است. از اين رو، داده‌هاي به‌دست‌آمده تأييد كرد كه روش اولتراسوند-اسمز مي‌تواند به عنوان يك فناوري غيرحرارتي براي كاهش باكتري‌هاي بيماري‌زا در سيب مورد استفاده قرار گيرد، كه در آن دامنه بالاتر اولتراسوند در دوره‌هاي طولاني‌تر آبگيري اسمز مؤثرتر بود.

۵- منابع

- [1] Karami, Z., Yousefi, G. H., & Emam-Djomeh, Z. (2013). Modeling and optimization of ultrasound-assisted osmotic dehydration with finished freeze drying on black cherries—the effect on antioxidant activities. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 3, 11-22.
- [2] Rezaei, R., & Moghimi, M. (2024). Optimization of combined drying (osmotic-hot air) of aloe vera slice using response surface methodology. *Journal of food science and technology (Iran)*, 20(144), 1-24. [in Persian]
- [3] Campos, C. D. M., Sato, A. C. K., Tonon, R. V., Hubinger, M. D., & Cunha, R. L. D. (2012). Effect of process variables on the osmotic dehydration of star-fruit slices. *Food Science and Technology*, 32, 357-365.
- [4] Fathi, A. B., & Hesari, J. (2016). Drying of apricot slices using osmotic dehydration process (sucrose-salt solutions). *Food Research Journal*, 26(3), 491-506.
- [5] Sharafatkah, A. S., Fathi, A. B., & Alirezalu, K. (2017). Investigation on Dried Strawberries Using Osmotic Dehydration. *Journal of food science and technology (Iran)*, 66(14), 271-281. [in Persian]
- [6] Khan, M. R. (2012). Osmotic dehydration technique for fruits preservation—A review. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 22(2), 71-85.
- [7] Yadav, A. K., & Singh, S. V. (2014). Osmotic dehydration of fruits and vegetables: a review. *Journal of food science and technology*, 51, 1654-1673.
- [8] Mille, Y., Beney, L., & Gervais, P. (2005). Compared tolerance to osmotic stress in various microorganisms: towards a survival prediction test. *Biotechnology and Bioengineering*, 92, 479–84.
- [9] Wong, E., Vaillant, F., & Pérez, A. (2010). Osmosonication of blackberry juice: impact on selected pathogens, spoilage microorganisms, and main quality parameters. *Journal of Food Science*, 75, M468–M474.
- [10] Kaveh, S., Gholamhosseinpour, A., Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D., Castagnini, J. M., Phimolsiripol, Y., & Barba, F. J. (2023). Recent advances in ultrasound application in fermented and non-fermented dairy products: Antibacterial and bioactive properties. *International Journal of Food Science & Technology*, 58(7), 3591-3607.
- [11] United States Food and Drug Administration (U.S. FDA), Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies (2000). www.fda.gov/downloads/food/foodborneillnesscontaminants/ucm545175.pdf.
- [12] da Silva, G. D., Barros, Z. M. P., de Medeiros, R. A. B., de Carvalho, C. B. O., Brandão, S. C. R., & Azoubel, P. M. (2016). Pretreatments for melon drying implementing ultrasound and vacuum. *Lwt*, 74, 114-119.
- [13] Cárdenas-Pérez, S., Chanona-Pérez, J., Méndez-Méndez, J. V., Calderón-Domínguez, G., López-Santiago, R., Perea-Flores, M. J., & Arzate-Vázquez, I. (2017). Evaluation of the ripening stages of apple (*Golden Delicious*) by means of computer vision system. *Biosystems Engineering*, 159, 46–58.
- [14] National portal of statistics, 2023, <https://www.amar.org.ir>.
- [15] Delgado, J. M. P. Q., & da Silva, M. V. (2014). Food dehydration: Fundamentals, modelling and applications. *Transport Phenomena and Drying of Solids and Particulate Materials*, 69-94.
- [16] Filipović, I., Markov, S., Filipović, V., Filipović, J., Vujačić, V., & Pezo, L. (2019). The effects of

- the osmotic dehydration parameters on reduction of selected microorganisms on chicken meat. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), e14144.
- [17] Osae, R., Zhou, C., Tchabo, W., Xu, B., Bonah, E., Alenyorege, E. A., & Ma, H. (2019). Optimization of osmosonication pretreatment of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) using response surface methodology: Effect on antioxidant activity, enzyme inactivation, phenolic compounds, and physical properties. *Journal of Food Process Engineering*, 42(10), 1–17.
- [18] Fujikawa, H., & Tsubaki, H. (2019). Characteristics of microbial colony counts on agar plates for food and microbial culture samples. *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 60(4), 88–95.
- [19] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 15th edn. (Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, 1999).
- [20] Hillis, W. E., & Swain, T. (1959). The phenolic constituents of *Prunus domestica*. II.—The analysis of tissues of the Victoria plum tree. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 10(2), 135–144.
- [21] Lee, J. H., Jeong, C. S., & Kim, G. H. (2009). Antioxidant and suppressive effects of ethanolic extract fractions from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) flower on the biosynthesis of inflammatory mediators from LPS-stimulated RAW 264.7 cells. *Food science and biotechnology*, 18(1), 143–149.
- [22] Kordowska-Wiater, M., & Stasiak, D. M. (2011). Effect of ultrasound on survival of gram negative bacteria on chicken skin surface. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55, 207–210.
- [23] Dehghani, M. H. (2005). Effectiveness of ultrasound on the destruction of *E. coli*. *American journal of environmental sciences*, 1(3), 187–189.
- [24] Sagong, H., Lee, S., Chang, P., Heu, S., Ryu, S., Choi, Y., & Kang, D. (2011). Combined effect of ultrasound and organic acids to reduce *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* on organic fresh lettuce. *International Journal of Food Microbiology*, 145, 287–292.
- [25] Patist, A., & Bates, D. (2008). Ultrasonic innovations in the food industry: from the laboratory to commercial production. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 147–154.
- [26] Hashemi, S. M. B., Jafarpour, D., Soto, E. R., & Barba, F. J. (2022). Ultrasound-assisted lactic acid fermentation of Bakraei (*Citrus reticulata* cv. Bakraei) juice: Physicochemical and bioactive properties. *Fermentation*, 9(1), 37.
- [27] Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2013). *Microbiology: An introduction* (11th ed.). Glenview, IL: Pearson Education Inc.
- [28] Wong, E., Vaillant, F., Chaves-Olarte, E. (2012). Synergistic effect of sonication and high osmotic pressure enhances membrane damage and viability loss of *Salmonella* in orange juice. *Food Research International*, 45, 1072–1079.
- [29] Luchese, C. L., Gurak, P. D., & Ferreira Marczak, L. D. (2015). Short Communication: Osmotic Dehydration of *Physalis* – Influence of Ultrasound Pretreatment. *Food Engineering Reviews*, 7, 193–197.
- [30] Nowacka, M., Tylewicz, U., Romani, S., Dalla Rosa, M., & Witrowa-Rajchert, D. (2017). Influence of ultrasound-assisted osmotic dehydration on the main quality parameters of kiwifruit. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 71–78.
- [31] Shamaei, S., Emam-djomeh, Z., & Moini, S. (2012). Ultrasound-assisted osmotic dehydration of cranberries: effect of finish drying methods and ultrasonic frequency on textural properties. *Journal of Texture Studies*, 43(2), 133–141.
- [32] Rahaman, A., Zeng, X.-A., Kumari, A., Rafiq, M., Siddeeg, A., Manzoor, M.F., Bloch, Z., & Ahmad, Z. (2019). Influence of ultrasound-assisted osmotic dehydration on texture, bioactive compounds and metabolites analysis of plum. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104643.
- [33] Lee, J., & Lim, L. (2011). Osmo-dehydration pretreatment for drying of pumpkin slice. *International Food Research Journal*, 18(4), 1223.
- [34] Garcia-Noguera, J., Oliveira, F. I., Gallão, M. I., Weller, C. L., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. (2010). Ultrasound-assisted osmotic dehydration of strawberries: effect of pretreatment time and ultrasonic frequency. *Drying Technology*, 28(2), 294–303.
- [35] Çağlayan, D., & Barutçu Mazı, I. (2018). Effects of ultrasound -assisted osmotic dehydration as a pretreatment and finish drying methods on the quality of pumpkin slices. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42, e13679.
- [36] Bermúdez Aguirre, D., Mobbs, T., & Barbosa-Cánovas, G.V. (2011). Ultrasound applications in food processing. In: Feng, H., Barbosa-Cánovas, G.V., Weiss, J. (Eds.), *Ultrasound Technologies for Food and Bioprocessing*. Springer, New York, pp. 65–105.
- [37] Alighourchi, H. R., Barzegar, M., Sahari, M. A., & Abbasi, S. (2013). Effect of sonication on anthocyanins, total phenolic content, and antioxidant capacity of pomegranate juices. *International Food Research Journal*, 20(4), 1703–1709.
- [38] Bhat, R., Kamaruddin, N. S. B. C., Min-Tze, L. & Karim, A. A. (2011). Sonication improves kasturi

- lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(6), 1295-1300.
- [39] Jafarpour, D., Hashemi, S. M. B., & Ghaedi, A. (2021). Study the antibacterial properties of different parts of saffron extract and their application in cream. *Journal of food science and technology (Iran)*, 18(115), 339-349. [in Persian]
- [40] Hamed, F., Mohebbi, M., Shahidi, F., & Azarpazhooh, E. (2018). Ultrasound-assisted osmotic treatment of model food impregnated with pomegranate peel phenolic compounds: Mass transfer, texture, and phenolic evaluations. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 1061–1074.
- [41] Jafarpour, D. (2022). The effect of heat treatment and thermosonication on the microbial and quality properties of green olive. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(3), 2172-2180.



Scientific Research

The effect of ultrasonic pretreatment and osmotic dehydration on antioxidant and antimicrobial properties of yellow apple

ESkandari, A.R.¹, Jafarpour, D.^{2*}

1- M. Sc. Graduated of the Department of Food Science and Technology, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran

2-Assistant professor of the Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Fasa Branch, Islamic Azad University, Fasa, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/10/10 Accepted:2024/12/11 Keywords: Yellow apple, Ultrasonic pre-treatment, Osmotic dehydration, Pathogenic bacteria, Total soluble phenolics DOI: 10.22034/FSCT.22.162.235. *Corresponding Author E- d.jafarpour84@yahoo.com; Do.Jafarpour@iau.ac.ir	Osmotic dehydration is the process of extracting water based on placing food in a hypertonic solution. The current study was performed to investigate the effectiveness of ultrasound-assisted osmotic dehydration (UAOD) on reducing foodborne pathogens (<i>Escherichia coli</i>, <i>Enterococcus faecalis</i>, <i>Salmonella Typhi</i> and <i>Shigella sonnei</i>) on apple slices. Moreover, the effects of UAOD treatment on moisture content, amount of total soluble phenolics and DPPH radical scavenging activity in treated apples were measured. Yellow apple slices were inoculated with each pathogen separately and underwent ultrasonic waves at two levels of amplitudes (40 and 70 %) for 20 min. Afterwards, the osmotic dehydration process was performed by immersing the samples in 70% sucrose solution for a contact period of 4, 8 and 12 h. Results indicated that US pre-treatment alone markedly diminished the microbial count and the reduction levels of four pathogenic bacteria enhanced with the increase of US amplitude. Furthermore, the results showed that the degree of reduction of pathogens depended on the duration of the osmotic dehydration process and the amplitude of sonication treatment. The greatest reduction in pathogens was observed at 70% amplitude after 12 h storage in an osmotic solution, in which the mean number of <i>E. coli</i>, <i>E. faecalis</i>, <i>S. Typhi</i> and <i>S. sonnei</i> was reduced to 0.1, 4.0, 3.7 and 0.1 log CFU/g, respectively. Additionally, osmotic dehydration treatment significantly reduced the amount of moisture content, total phenolics and DPPH antiradical activity of samples, and this reduction was greater in sonicated samples as compared to the control sample. It should be added that increasing the ultrasound amplitude led to a further decrease in the mentioned parameters. Therefore, this non-thermal combination processing can be used to increase the overall safety and quality of apple fruit.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

تاثیر عصاره اتانولی دانه خار مریم (*Silybum marianum*) استخراج شده با کمک فراصوت بر پایداری اکسایشی روغن

سویا

مطهره مزیدی^۱، سعیده عربشاهی دلویی^{۲*}، سید حسین حسینی قابوس^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آزادشهر، آزادشهر، ایران.

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

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۰/۲

کلمات کلیدی:

دانه خارمریم،

پایداری اکسایشی،

روغن سویا،

فراصوت

با توجه به نگرانی‌های بهداشتی اخیر مرتبط با آنتی اکسیدان‌های سنتزی، تحقیقات زیادی در راستای استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی به عنوان نگهدارنده در مواد غذایی انجام شده است. در همین راستا، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی تاثیر عصاره استخراج شده از دانه گیاه خار مریم بر پایداری اکسایشی روغن سویا صورت گرفت. به این منظور، پس از عصاره‌گیری دانه خارمریم با حلال اتانول و به کمک فراصوت و بررسی برخی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی آن، عصاره حاصله در غلظت‌های مختلف (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ پی‌پی‌ام) به روغن سویای پالایش شده فاقد آنتی اکسیدان افزوده شد و سپس عدد پراکسید و شاخص تیوباربیتوریک اسید نمونه‌های روغن در طول نگهداری در شرایط اکسیداسیون تسریع شده (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، ۱۲ روز) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل در عصاره خار مریم به ترتیب برابر با ۳۴/۴ میلی‌گرم (معادل گالیک اسید) و ۲۶/۲ میلی‌گرم (معادل کوئرستین) در گرم ماده خشک بود. در بررسی ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره با سه روش توانایی مهار رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل، ۱-پیکریل هیدرازیل، ظرفیت آنتی اکسیدانی کل و قدرت احیاکنندگی یون آهن مشخص گردید که با افزایش غلظت عصاره از ۳۰ تا ۱۵۰ میکروگرم قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره افزایش یافت. نتایج ارزیابی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی بوتیلید هیدروکسی تولوئن و نمونه شاهد در روغن سویا نشان داد که با افزایش زمان نگهداری، میزان عدد پراکسید و تیوباربیتوریک اسید در تمامی نمونه‌ها افزایش یافت ولی با افزایش غلظت عصاره خارمریم در روغن سویا از شدت این افزایش کاسته شد. در نهایت این مطالعه نشان داد که افزودن ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره آنتی اکسیدانی دانه خارمریم منجر به کاهش بیشتری در سرعت اکسیداسیون روغن سویا در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی می‌شود.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.250.

* مسئول مکاتبات:

Saeedeh_arabshahi@yahoo.com

۱-مقدمه

روغن‌های خوراکی حاوی مواد مغذی ضروری بدن بوده و نقش مهمی در رژیم غذایی برای حفظ عملکرد طبیعی فیزیولوژیکی بدن دارند. از طرفی با افزایش آگاهی مصرف کنندگان، کیفیت و سلامت روغن‌های خوراکی مورد توجه قرار گرفته است. عوامل کیفی موثر بر روغن‌های خوراکی شامل ترکیب اسیدهای چرب، مواد مغذی و پایداری اکسایشی آنها می‌باشد. با این حال، روغن حاصل از یک منبع گیاهی، اغلب دارای خواص عملکردی متعادل، خواص تغذیه‌ای و پایداری اکسیداسیون مناسب نیست. اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه رژیم غذایی برای سلامتی انسان بسیار ضروری هستند ولی متأسفانه این روغن‌ها به اکسیداسیون حساس هستند. اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌تواند این ترکیبات را به‌عنوان مواد مغذی از دسترس خارج کند و همچنین طعم نامطلوب و ترکیبات سمی تولید کند. اکسیداسیون روغن کیفیت غذایی روغن را کاهش می‌دهد و به‌طور بالقوه محصولی تولید می‌کند که برای سلامت انسان مضر است [۱]. روغن سویا سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع چندگانه مانند اسید لینولئیک و لینولئیک است که به‌دلیل انرژی تفکیک پایین پیوندهای دوگانه آنها، در برابر اکسایش بسیار ناپایدار می‌باشد [۲]. برای جلوگیری از اکسایش روغن‌ها، روش‌های متعددی وجود دارد که یکی از این موارد افزودن موادی به نام آنتی‌اکسیدان‌ها است. آنتی‌اکسیدان‌ها ترکیباتی هستند که با مکانیسم‌های مختلفی مانند کنترل سوبسترهای اکسایش، کنترل پرواکسیدان و همچنین غیر فعال نمودن رادیکال‌های آزاد گسترش بد طعمی و تندشوندگی را به تأخیر می‌اندازند [۳]. با توجه به نگرانی‌های بهداشتی مرتبط با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی، تحقیقات زیادی در راستای استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان نگهدارنده در مواد غذایی انجام شده است. آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی شامل ویتامین‌ها، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها و ترکیبات فنولی هستند که قادر به افزایش عمر انبارمانی مواد غذایی هستند. ترکیبات فنولی موجود در آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی

پایدارتر از آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی در سیستم‌های غذایی در طول فراوری و انبارمانی در دمای بالا عمل می‌نمایند. این ترکیبات علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی دارای خواص ضد میکروبی نیز می‌باشند [۴]. روش‌های سنتی استخراج ترکیبات زیست فعال مانند خیساندن، سوکسله و غیره اغلب زمان‌بر بوده و راندمان پایینی دارند و موجب افزایش هزینه‌های تولید می‌گردند. از طرف دیگر از آنجا که وجود باقیمانده حلال‌های آلی (متانول، استن، هگزان و غیره) مورد استفاده در این روش‌ها علاوه بر اثرات نامطلوب بر روی محیط زیست، در محصول نهایی نیز ممکن است باعث ایجاد ناهنجاری‌ها و بیماری‌های مختلف برای مصرف کننده گردد، روش‌های نوین استخراج مورد توجه صنایع و گروه‌های تحقیقاتی قرار گرفته‌اند [۵]. فراصوت به امواجی گفته می‌شود که فرکانس آنها بیش از ۲۰-۱۸ کیلوهرتز باشد. روش استخراج با کمک فراصوت به دلیل بهره‌وری بالاتر و مصرف انرژی و آب کمتر، در حال تبدیل شدن به جایگزینی مناسب برای روش‌های سنتی استخراج می‌باشد و روشی بهبود یافته برای فراوری مواد گیاهی به‌خصوص استخراج ترکیبات با وزن مولکولی کم است. اثر افزایشی امواج فراصوت بر سرعت استخراج مواد گیاهی به شکستن سلول‌ها و انتشار محتویات آنها به محیط استخراج ارتباط دارد [۶]. از محققینی که از عصاره گیاهان به‌منظور پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی استفاده کردند، می‌توان به حسینی و همکاران (۲۰۲۱)، محمدی مقدم و همکاران (۲۰۲۴)، ابدو و همکاران (۲۰۲۳) و محمدی و عربشاهی (۲۰۱۶) که به ترتیب از عصاره کنجاله ذرت، پوست آلو، ضایعات محصولات کشاورزی و رزین کندر به‌منظور پایداری روغن‌های خوراکی استفاده کرده اند، اشاره نمود که این محققین تاثیر مثبت استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی را بر پایداری اکسایشی روغن‌های خوراکی بدون تغییر قابل ملاحظه‌ای بر پروفایل اسیدهای چرب آن روغن‌ها گزارش نمودند [۷، ۸، ۹ و ۱۰]. خار مریم با نام علمی *Silybum marianum* گیاهی از خانواده Asteraceae می‌باشد که توانایی رشد به صورت یک یا

دو ساله را دارا می‌باشد. از این گیاه دارویی قرن‌ها در درمان بیماری‌ها استفاده می‌شود که دارای خواصی از قبیل درمان کبد، ضد فشار خون، چاقی، آترواسکلروتیک و دیابت است، علاوه بر آن خار مریم حاوی فلاونوئیدها، تانن‌ها، روغن‌ها، ویتامین‌ها و مواد معدنی فراوانی می‌باشد [۱۱]. ترکیب اصلی دارویی خار مریم مخلوطی از فلاونولیگنان^۱ است که معمولاً سیلیمارین^۲ نامیده می‌شود که عمدتاً از سیلیبین^۳، سیلی کریستین^۴، سیلیدیانین^۵ و ایزوسیلیبین^۶ تشکیل شده است. سیلیمارین در تمام اجزای گیاه خار مریم شامل میوه، دانه، ریشه، ساقه و برگ‌ها یافت می‌شود، اما در دانه‌ها بیشترین فراوانی را دارد [۱۲]. هدف از این تحقیق، ارزیابی تاثیر عصاره اتانولی دانه خار مریم استخراج شده با فراصوت به عنوان یک منبع آنتی اکسیدانی طبیعی بر پایداری اکسایشی روغن سویا بود که تاکنون گزارش نشده است.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

دانه خار مریم از مزارع شهرستان گالیکش استان گلستان و روغن سویا بوگیری شده فاقد آنتی اکسیدان از شرکت غنچه تهیه شد. گالیک اسید، کوئرتستین، دی کلرید آهن، فروزین، فریک کلراید، تری کلرواستیک اسید، DPPH^۷، BHT^۲، فری سیانید سدیم و پتاسیم فری سیانید از شرکت سیگما، سود، اسید کلریدریک، اتانول ۹۶ درصد، اسید سولفوریک، هگزان، استات پتاسیم، آلومینیوم کلرید، فولین سیوکالتو، کربنات سدیم، فسفات سدیم و آمونیوم مولیبدات و معرف متیل رد از شرکت مرک تهیه شدند.

۲-۲- آماده سازی نمونه و استخراج عصاره از دانه خار مریم

ابتدا دانه‌های خارمریم در آون الکتریکی (Memmert، آلمان) با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد تا رطوبت دانه به حدود ۵ درصد برسد. سپس دانه‌ها توسط آسیاب آزمایشگاهی به پودر تبدیل گردید و پودر حاصل توسط هگزان با نسبت ۱ به ۵ به مدت ۴۸ ساعت چربی‌گیری شد. در نهایت پودر حاصل ابتدا در دمای محیط و سپس در آون با دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا عمل خروج هگزان به صورت کامل صورت گیرد. در مرحله بعد پودر از الک با مش ۴۵ عبور داده شد. پودر چربی‌گیری شده با اتانول (نسبت ۱ به ۵) در حمام فراصوت (Agilent، آمریکا) از جنس استیل ضد زنگ با فرکانس ۵۰ هرتز و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان ۳۰ دقیقه عصاره‌گیری شد. پس از گذشت مدت زمان مشخص محلول مورد نظر با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف شد، سپس محلول صاف شده توسط دستگاه تبخیرکننده چرخان (Heidolph Laborota 400، کره جنوبی) در دمای ۶۰ درجه سانتی-گراد و سرعت چرخش ۷۰ دور در دقیقه تغلیظ و خشک گردید. پودر حاصل در ظرف دربسته تا زمان انجام آزمون‌ها در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و آزمایشاتی به شرح ذیل روی عصاره‌ها صورت گرفت [۵ و ۶].

۲-۳- ارزیابی ویژگی های آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم

5-Sildianin

6-Isosilibinin

7-2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

1- Flavonolignan

2-Silymarin

3-Silibinin

4-Silychristin

۲-۳-۱- میزان فنول کل

میزان کل ترکیبات فنولی بر اساس روش اسلینکارد و سینگلتون (۱۹۷۷) اندازه گیری شد. به طور خلاصه ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره (قبل از خشک کردن) با ۱/۱۶۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد) به آن ها افزوده شد. لوله های آزمایش بعد از تکان دادن درون حمام آب (Memmert، آلمان) با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (PG Instrument، انگلستان) در طول موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. میزان کل ترکیبات فنولی موجود در عصاره بر حسب میلی گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد [۱۳].

۲-۳-۲- میزان فلاونوئید کل

سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید با روش چانگ و همکاران (۲۰۰۲)، اندازه گیری شد. در این روش میزان ۰/۵ میلی لیتر از محلول عصاره (قبل از خشک کردن) با ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه ها در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر جذب مخلوط در طول موج ۴۱۵ نانومتر خوانده شد. از کوئرتستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد. میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره بر حسب میلی گرم کوئرتستین در هر گرم عصاره بیان شد [۱۴].

۲-۳-۳- توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH

اندازه گیری توانایی مهار رادیکال های آزاد DPPH به روش وو و همکاران (۲۰۰۳) انجام شد. برای این منظور، محلول هایی با غلظت های مختلف (۱۵۰-۳۰ میکروگرم در میلی لیتر) از عصاره خارمریم و نیز آنتی اکسیدان سنتزی BHT در حلال اتانول آماده شدند. ۱/۵ میلی لیتر از محلول اتانولی DPPH (با غلظت ۰/۱۵ میلی مولار) به ۱/۵ میلی لیتر از عصاره افزوده و مخلوط حاصله به شدت هم زده شد و سپس در ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (Hanil، کره جنوبی) گردیدند. لوله های آزمایش به مدت ۲۰ دقیقه در محل تاریک قرار گرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی لیتر اتانول جایگزین شد. در نهایت توانایی مهار رادیکال های آزاد DPPH توسط عصاره با معادله ۱ محاسبه گردید.

معادله (۱)

$$DPPH\ Radical\ Scavenging\ Activity(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

که در این رابطه A_s و A_c به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه در اسپکتروفتومتر می باشد. معمولاً برای مقایسه فعالیت ضد رادیکالی عصاره های مختلف از فاکتوری تحت عنوان EC_{50} استفاده می شود. هم چنین EC_{50} نمونه ها یعنی غلظتی از عصاره که در آن ۵۰ درصد از رادیکال های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد، نشان دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری دارد [۱۵].

۲-۳-۴- ظرفیت آنتی اکسیدانی کل^۹

روش فسفومولیدنوم روش کمی برای ارزیابی ظرفیت آنتی اکسیدان های محلول در آب و محلول در چربی (ظرفیت آنتی اکسیدانی کل) می باشد. این روش بر مبنای

دور $1350 \times g$ به مدت ۵۰ دقیقه سانتریفوژ (Centorion، کانادا) شد. پس از آن، $2/5$ میلی لیتر از مایع رویی لوله‌ها با $2/5$ میلی آب مقطر و $0/2$ میلی لیتر فریک کلراید $0/1$ درصد مخلوط شده و جذب محلول در طول موج 700 نانومتر در اسپکتروفتومتر خوانده شد. افزایش میزان جذب نور نشانه افزایش قدرت احیاکنندگی نمونه می‌باشد. هم چنین EC_{50} نمونه‌ها یعنی غلظتی از عصاره که در طول موج 700 نانومتر جذبی معادل $0/5$ داشته باشد محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست [۱۷].

۲-۴- ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه خار

مریم در روغن سویا

به‌منظور ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه خارمریم، روغن سویای تصفیه شده بی‌بو و رنگبری شده بدون هیچ گونه افزودنی (از قبیل اسیدسیتریک و آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی) مورد استفاده قرارگرفت. عصاره دانه خار مریم در سه سطح 100 ، 200 و 400 پی‌پی‌ام و آنتی‌اکسیدان BHT در دو سطح 100 و 200 پی‌پی‌ام به روغن اضافه شد و مقداری از روغن سویا بدون افزودن هیچ‌گونه عصاره یا آنتی‌اکسیدان به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد. نمونه‌ها در ظروف شفاف پر شده و به آون الکتریکی با دمای 70 درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. نگهداری روغن در این شرایط 12 روز به‌طول انجامید و طی این مدت میزان پیشرفت اکسیداسیون روغن در روزهای 2 ، 4 ، 6 ، 8 ، 10 و 12 روز با اندازه‌گیری عدد پراکسید و تیوباریتوریک اسید تعیین گردید [۳ و ۸].

۲-۴-۱- تعیین عدد پراکسید

برای اندازه‌گیری عدد پراکسید از روش AOCS cd 8-53 (۱۹۹۴) استفاده شد. به 3 گرم نمونه روغن، 30 میلی-لیتر محلول اسید استیک کلروفرمی (نسبت اسید استیک به کلروفرم $2:3$) اضافه شد. سپس $0/5$ میلی‌لیتر محلول یدید پتاسیم اشباع به محلول اضافه و به‌شدت همزده شد. در

احیاء مولیبدن 6 ظرفیتی به مولیبدن 5 ظرفیتی در محیط اسیدی می‌باشد که با تشکیل کمپلکس سبز رنگ فسفومولیبدن با بیشینه جذب در 695 نانومتر همراه است. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بالاتری نیز دارند. در این روش محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف ($150-30$ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره خارمریم و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT، در حلال اتانول آماده شد. $0/1$ میلی‌لیتر از محلول عصاره با 1 میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک $0/6$ مولار، فسفات سدیم 28 میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات 4 میلی‌مولار) را در لوله اپندورف ریخته و پس از دربندی به مدت $1/5$ ساعت در حمام آب با دمای 95 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج 695 نانومتر خوانده شد. در نمونه کنترل به جای عصاره از $0/1$ میلی‌لیتر حلال مصرفی استفاده شد [۱۶]. هم چنین EC_{50} نمونه‌ها یعنی غلظتی از عصاره که در طول موج 695 نانومتر جذبی معادل $0/5$ داشته باشد محاسبه و مقایسه گردید. هر چه این غلظت کمتر باشد، بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست.

۲-۳-۵- قدرت احیاکنندگی یون آهن

در این روش، قدرت احیاکنندگی هر یک از نمونه‌ها بر اساس احیا شدن پتاسیم فریک سیانید و تغییر طیف رنگی از زرد به سبز یا آبی، مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. بدین منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف ($150-30$ میکروگرم در میلی‌لیتر) از عصاره‌ها و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال اتانول آماده شد. 1 میلی‌لیتر عصاره با $2/5$ میلی لیتر بافر فسفات سدیم با pH برابر با $6/6$ و $2/5$ میلی لیتر پتاسیم فریک سیانید 1 درصد مخلوط شده و به مدت 50 دقیقه در بن‌ماری 20 درجه نگهداری شد. سپس $2/5$ میلی لیتر از محلول تری کلرو استیک اسید (10 درصد) به لوله‌ها اضافه گردید و در دمای معمولی با

مرحله‌ی بعد ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شده و محلول حاصل مجدداً همزده شد. پس از آن محلول حاصل با تیوسولفات ۰/۰۱ نرمال تا زمان نمایان شدن رنگ زرد روشن تیترا شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر محلول نشاسته ۱ درصد به عنوان معرف برای ایجاد رنگ آبی به محلول اضافه شد. تیتراسیون تا زمان ناپدید شدن رنگ آبی ادامه یافت. عدد پراکسید با استفاده از معادله‌ی ۲ محاسبه شد.

$$\text{معادله (۲)} \quad \text{عدد پراکسید (meqO}_2/\text{Kg)} = \frac{S \times M \times 1000}{m}$$

در این معادله، S حجم تیوسولفات مصرفی (ml)، M مولاریته‌ی تیوسولفات و m وزن نمونه (g) می‌باشد [۱۸].

برای مقایسه بهتر داده‌ها، زمان القا (^{10}IP) به عنوان "زمان مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید نمونه‌ها به $\text{meqO}_2/\text{kg oil}$ ۲۰ در دمای ۷۰ درجه سانتی گراد" و فاکتور محافظتی (^{11}PF) نیز محاسبه گردید [19].

۲-۴-۲- تعیین عدد تیوباریتوریک اسید

جهت تعیین عدد تیوباریتوریک اسید به عنوان شاخصی از تشکیل ترکیبات ثانویه اکسیداسیون، از روش AOCS cd 19-90 استفاده شد. جهت تهیه محلول شناساگر اسید تیوباریتوریک، ۲۰۰ میلی گرم پودر واکنشگر اسید تیوباریتوریک را با ۶۰ میلی‌لیتر بوتانول مخلوط کرده و به مدت ۳ ساعت بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت تا کاملاً حل شود. سپس محلول به داخل یک بالن حجمی به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر منتقل و با بوتانول به حجم رسانیده شد. جهت انجام آزمون ۲۰۰ میلی‌گرم روغن را در بالن ۲۵ میلی‌لیتری وزن نموده و با بوتانول به حجم رسانیده و کاملاً هم زده تا روغن حل شود. ۵ میلی‌لیتر نمونه با ۵ میلی‌لیتر معرف اسید تیوباریتوریک مخلوط شده و بخوبی هم زده شد و سپس به مدت ۲ ساعت در حمام آب با دمای ۹۵

درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه‌ها تا دمای محیط خنک گردید و جذب محلول در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد (شامل حلال و شناساگر) اندازه‌گیری گردید. نتایج حاصل با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد.

$$\text{معادله (۳)} \quad \text{TBA} = 50 \times (A - B) / M$$

در این معادله، TBA عدد اسید تیوباریتوریک (بر حسب میلی‌گرم مالون آلدئید در کیلوگرم روغن)، A میزان جذب نمونه، B میزان جذب شاهد و M وزن نمونه بر حسب میلی‌گرم است [۱۸].

۲-۵- تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این پژوهش تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد. رسم نمودارها نیز با استفاده از نرم افزار Excel (۲۰۱۹) انجام گرفت. نتایج به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار سه تکرار گزارش گردید.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- ویژگی‌های آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم 1-1-3- میزان فنول کل و فلاونوئیدهای عصاره خارمریم

نتایج اندازه‌گیری میزان فنول کل و فلاونوئیدی عصاره حاصل از آرد چربی گیری شده دانه خار مریم در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی موجود در دانه گیاه خارمریم بستگی به واریته، نوع عصاره (آبی یا حلال دیگر)، بخش گیاه (ریشه، ساقه، برگ و دانه)، روش تغلیظ و خالص سازی آن دارد. جاوید و همکاران (۲۰۲۲) با استفاده از روش رنگ سنجی بر پایه فولین

10- Induction period

11 -Protection factor

مهمدی و همکاران (۲۰۱۶) میزان ترکیبات فنولی خار مریم را $29/00 \text{ mg gallic acid/g}$ و میزان فلاونوئیدها را $3/39 \text{ quercetin/g}$ گزارش نمودند، تفاوت نتایج این اعداد با نتایج مطالعه حاضر را می‌توان به واریته مورد مطالعه، شرایط کاشت و نحوه عصاره‌گیری نسبت داد [۲۱].

سیوکالتو و کلرید آلومینیوم میزان فنول و فلاونوئید بخش‌های مختلف گیاه خار مریم را بررسی نمودند. بر اساس نتایج آن مطالعه، میزان فنول کل عصاره حاصل از برگ‌ها، ساقه و دانه به ترتیب $21/79 \text{ mg gallic acid/g}$ ، $17/29$ و $1/70$ و میزان فلاونوئید آنها نیز به ترتیب $129/66 \text{ quercetin/g}$ ، $114/29$ و $24/79$ بود [۲۰].

Table 1- The total phenol and flavonoid contents of the whole extract obtained from the defatted flour of milk thistle seeds

Compound	Amount
Total phenols (mg gallic acid/g)	34.40 ± 1.85
Total Flavonoids (mg of quercetin/g)	26.20 ± 1.30

Data are mean of three replicates $\pm$ SD

بالتر ترکیبات فنولی به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهار کنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۲۳]. احمدی و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت ضد رادیکالی عصاره متانولی کرفس کوهی را در غلظت‌های مختلف اندازه‌گیری و با BHT، آلفا توکوفرول و اسید آسکوربیک مقایسه کردند و نشان دادند که با افزایش غلظت عصاره توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت که همراستا با نتایج این بخش بود [۲۴]. سرسه و همکاران (۲۰۱۶) قابلیت مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره دانه خار مریم را در مقایسه با آنتی-اکسیدان‌های سنتزی BHA و BHT مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که با افزایش غلظت، قدرت بازدارندگی عصاره افزایش یافت [۲۵]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل $62/7$ میکروگرم در میلی لیتر و در مورد BHT معادل $51/5$ میکروگرم در میلی لیتر بود که نشان‌دهنده قدرت کمتر عصاره خارمریم در مهار رادیکال‌های آزاد نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی می‌باشد.

۳-۱-۲- توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH یکی از شناخته شده‌ترین مکانیسم‌هایی است که به واسطه آن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌توانند، اکسیداسیون چربی‌ها را مهار نمایند. در این روش نتایج بر حسب درصد کاهش در میزان جذب محلول‌های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره بیان می‌گردد [۲۲]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH در شکل ۱ آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم توانایی مهار رادیکال‌های آزاد DPPH افزایش یافت و در تمامی غلظت‌ها توانایی مهار رادیکال آزاد DPPH به غیر از نمونه حاوی 150 میکروگرم در میلی لیتر در عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود ($p < 0/05$). در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال‌های آزاد افزایش داد ($p < 0/05$). در غلظت‌های

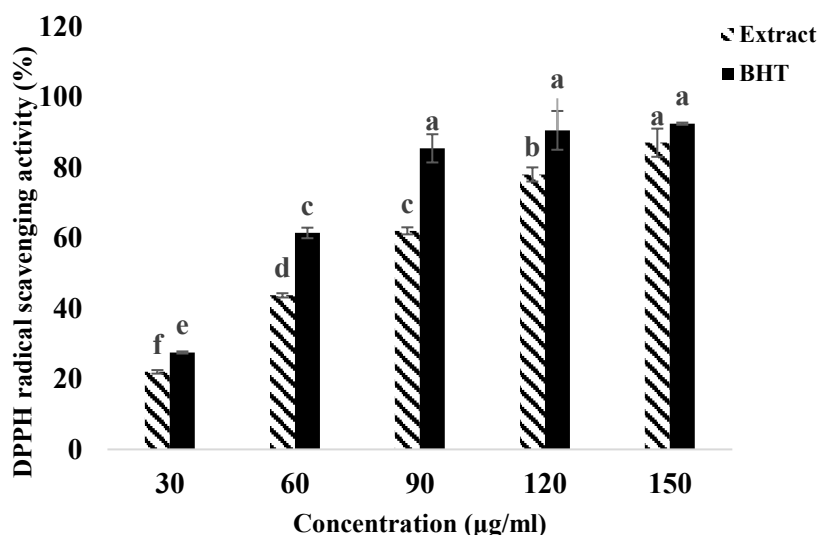


Figure 1- DPPH free radical scavenging activity (%) of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

غلظت‌های مورد آزمایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود ($p < 0.05$). روند صعودی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره را می‌توان به افزایش میزان ترکیبات فنولی عصاره نسبت داد. کوماران و کاروناکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که ارتباط مثبتی بین مقدار ترکیبات فنولی کل در واریته‌های مختلف گیاه *Phyllanthus* با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها وجود داشت [۲۶]. عربشاهی و اروج (۲۰۰۶) نیز نشان دادند که بین مقادیر ترکیبات فنولی عصاره‌های مختلف برگ گیاه شاه توت با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنها ارتباط مستقیمی وجود دارد که همراستا با نتایج این بخش بود [۲۷]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل ۱۳۲/۸ میکروگرم در میلی‌لیتر و در مورد BHT معادل ۱۱۲/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان‌دهنده ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کمتر عصاره خارمریم نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی می‌باشد.

۳-۱-۳- ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل

اساس کار در این روش احیاء مولیبدن ۶ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی و دمای بالا است. این واکنش با تشکیل کمپلکس‌های سبز رنگ فسفو مولیبدن همراه بوده که در طول موج ۶۹۵ نانومتر دارای حداکثر میزان جذب می‌باشند. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده جهت استخراج ترکیبات فنولی تحت تاثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری در این طول موج دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان می‌دهند [۱۶]. قابلیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل (جذب در ۶۹۵ نانومتر) در شکل ۲ آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل افزایش یافت و در تمامی

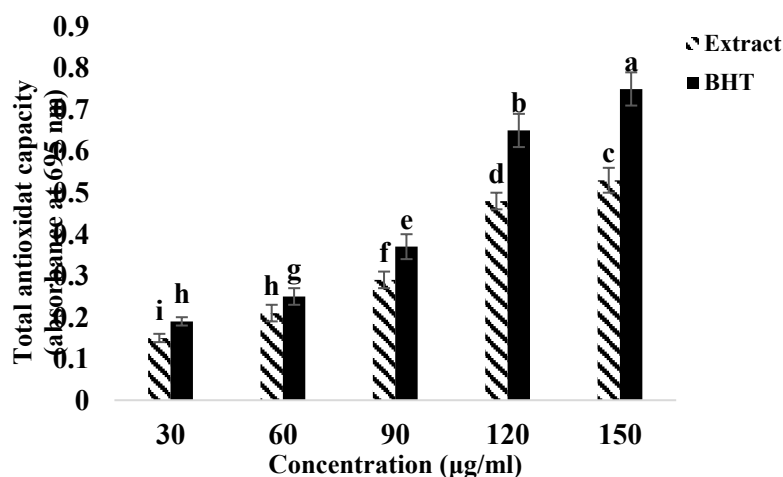


Figure 2- Total antioxidant capacity of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

کلروفرمی، اتیل استات و استونی سنج در غلظت‌های ۴/۸ - ۰/۴۸ میلی گرم در میلی لیتر گزارش کردند که میزان جذب عصاره‌های مختلف با افزایش غلظت افزایش یافت [۲۹]. اولیورا و همکاران (۲۰۰۸) مقدار ترکیبات فنولی و قدرت احیاکنندگی یون آهن عصاره‌ی آبی پوسته‌ی سبز ۵ رقم مختلف گردو را بررسی کردند و نشان دادند که عصاره‌های حاوی مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی EC_{50} کمتری داشتند [۳۰]. در تحقیق دیگر همبستگی بالایی بین میزان ترکیبات فنولی غلات با قدرت احیاء کنندگی یون آهن مشاهده شد که با نتایج به دست آمده در این بررسی مطابقت داشت [۳۱]. EC_{50} عصاره دانه خارمریم معادل ۸۲/۳ میکروگرم در میلی لیتر و در مورد BHT معادل ۷۰/۸ میکروگرم در میلی لیتر بود که نشان‌دهنده قدرت کمتر عصاره خارمریم نسبت به آنتی اکسیدان سنتزی در احیاکردن یون آهن می‌باشد. عزیز و همکاران (۲۰۲۱) میزان قدرت احیا یون آهن را در واریته‌های مختلف خارمریم موجود در پاکستان در دامنه ۱۷/۶۹ - ۹/۷۳ میلی گرم در گرم وزن خشک گزارش نمودند [۳۲].

۳-۱-۴- قدرت احیاکنندگی یون آهن

در این روش توانائی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دو ظرفیتی سنجیده می‌شود. حضور عوامل احیاء کننده (آنتی اکسیدان‌ها) منجر به احیاء کمپلکس‌های فری سیانید و تبدیل آنها به فرم فروس می‌گردد که بسته به ظرفیت احیاء کنندگی عصاره‌های مورد بررسی با تغییر رنگ محلول از زرد به درجات مختلفی از رنگ‌های سبز و آبی همراه است [۲۸]. قابلیت آنتی-اکسیدانی غلظت‌های مختلف عصاره دانه خار مریم بر اساس قدرت احیاکنندگی یون آهن (جذب در ۷۰۰ نانومتر) در شکل ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج، با افزایش غلظت عصاره دانه خار مریم قدرت احیاکنندگی یون آهن افزایش یافت و در تمامی غلظت‌ها قدرت احیاکنندگی یون آهن در عصاره کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود. نتایج به دست آمده توسط سایر محققین وجود ارتباط بین میزان ترکیبات فنولی عصاره و قدرت احیاء کنندگی آن را تأیید می‌نماید. نگی و همکاران (۲۰۰۵) با بررسی قدرت احیاء کنندگی عصاره‌های متانولی،

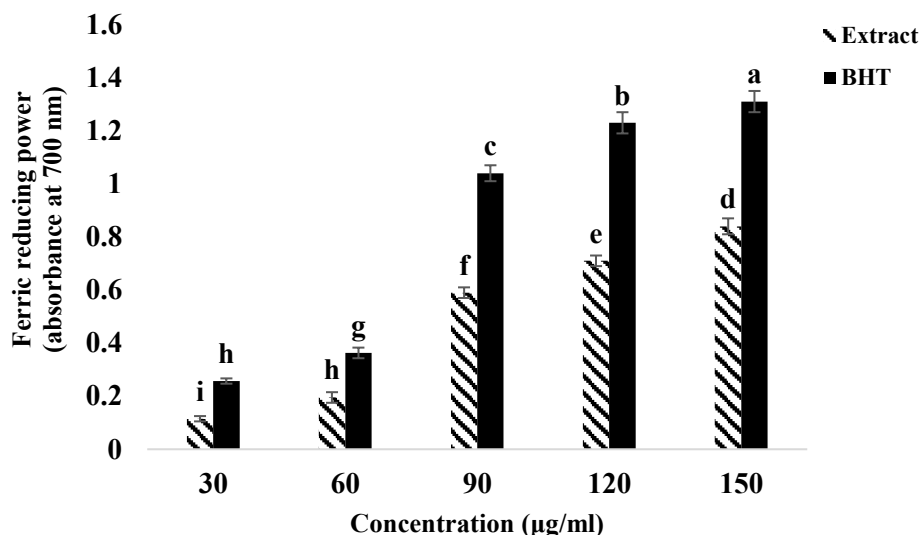


Figure 3- Ferric reducing power of different concentrations of milk thistle seed extract compared to BHT

تشکیل این محصولات پائین بود اما از روز ششم به بعد با سرعت بیشتری ادامه یافت ($p < 0.05$). بنابراین مشاهده می‌شود در روزهای پایانی آزمایش سرعت تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون کاهش یافته است. احتمالاً بخشی از هیدرو پراکسیدهای تشکیل شده در مرحله‌ی انتشار شروع به تجزیه شدن نموده و به محصولات ثانویه‌ی اکسیداسیون نظیر آلدهیدها و کتون‌ها تبدیل می‌شوند. افزایش چشمگیر عدد تیوباربیتوریک اسید در روزهای پایانی آزمایش، کاهش مشاهده شده در سرعت تشکیل هیدرو پراکسیدها را تصدیق می‌نماید. هیدرو پراکسیدها در دماهای بالا شروع به تجزیه شدن نموده، رادیکال‌های آزاد بیشتری تولید می‌کنند و به واکنش‌های زنجیری ادامه می‌دهند. در برخی موارد نیز محصولات غیر رادیکالی پایدار نظیر آلدهید، کتون، الکل و اسید از تجزیه‌ی این ترکیبات حاصل می‌گردد [۳۳]. آنتی اکسیدان‌ها در این مرحله از یک طرف با اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد باعث شکسته شدن واکنش‌های زنجیری اکسیداسیون می‌شوند و از طرف دیگر از طریق واکنش با رادیکال‌های آلکوکسیل (RO°) از تجزیه‌ی پراکسیدها به محصولات پایدار و مضر جلوگیری می‌نمایند [۳۴]. افزایش قدرت آنتی اکسیدانی ترکیبات فنولی در نتیجه‌ی افزایش غلظت را می‌توان به

۳-۲- فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره خارمریم در

روغن سویا

۳-۲-۱- عدد پراکسید

عدد پراکسید به عنوان شاخص تعیین محصولات اولیه اکسیداسیون یعنی هیدروپراکسیدها شناخته می‌شود و شاخص مناسبی از تغییرات اکسیداتیو در مراحل اولیه نگهداری روغن محسوب می‌شود. نتایج بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی اکسیدان سنتزی BHT و نمونه شاهد در ممانعت از اکسیداسیون روغن سویا بر اساس عدد پراکسید در شکل ۴ آورده شده است. روغن سویا به دلیل دارا بودن مقادیر زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع نظیر لینولینیک اسید و لینولئیک اسید مستعد اکسیداسیون است و مانند سایر روغن‌ها زمانی که تحت تاثیر دماهای بالا، نور، اکسیژن و یون‌های فلزی قرار می‌گیرد با سرعت بیشتری اکسید می‌شود. در این بررسی عدد پراکسید تمامی نمونه‌ها با افزایش مدت زمان نگهداری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به تدریج افزایش یافت ($p < 0.05$). افزایش عدد پراکسید به دلیل تشکیل محصولات اولیه‌ی اکسیداسیون یعنی هیدرو پراکسیدها می‌باشد. در روزهای ابتدایی آزمایش سرعت

احیاء کنندگی و توانائی آنها جهت اهدای الکترون به رادیکال‌های آزاد افزایش یافت [۳ و ۳۵]. نتایج این بخش با یافته‌های احمدی و همکاران (۲۰۲۵) و عربشاهی و همکاران (۲۰۱۱) در تطابق بود [۳۶ و ۱۹].

افزایش تعداد جایگاه‌های فعال این ترکیبات برای واکنش با رادیکال‌های آزاد نسبت داد. نتایج به دست آمده در میزان مهار اکسیداسیون روغن با نتایج آزمون‌های مهار کنندگی رادیکال‌های آزاد، احیاء کنندگی و ظرفیت آنتی اکسیدانی کل نیز مطابقت داشت چرا که در سایر روش‌های بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی نیز با افزایش غلظت عصاره‌ها قدرت

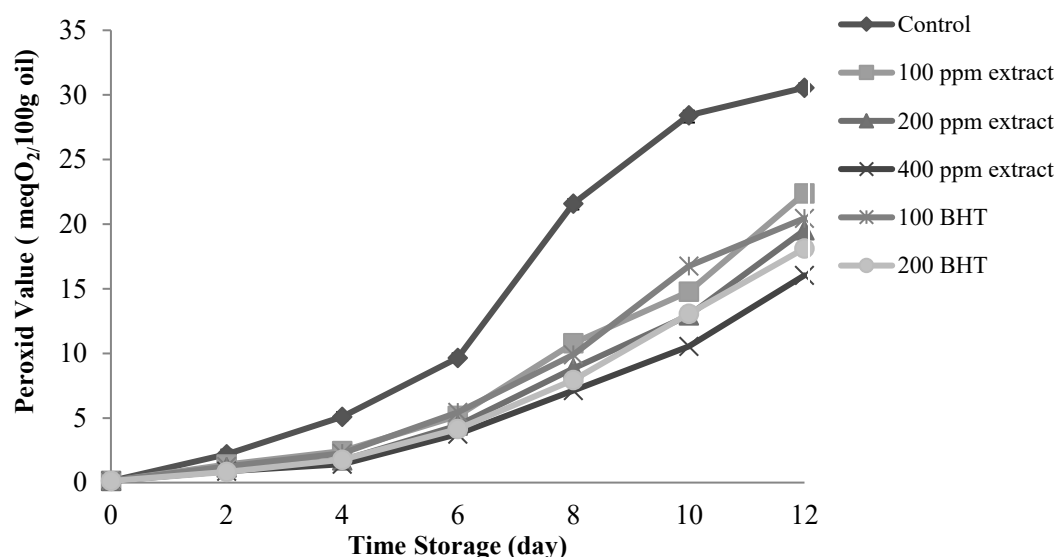


Figure 4- Effect of different concentrations of milk thistle seed extract on the peroxide value of soybean oil during accelerated storage (70°C, 12 days) compared to BHT

زمان القا گردید که نشان دهنده قابلیت این ترکیبات در به تاخیر انداختن شروع فساد روغن و حفاظت آن در برابر اکسایش می باشد. بر اساس فاکتور محافظتی، بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در روغن، مربوط به غلظت ۴۰۰ پی پی ام عصاره خارمریم و کمترین آن مربوط به غلظت ۱۰۰ پی پی ام عصاره و BHT می باشد.

جدول ۲، زمان القا (زمان مورد نیاز برای رسیدن عدد پراکسید نمونه به ۲۰ meqO₂/Kg oil) و هم چنین فاکتور محافظتی (PF) برای نمونه های مختلف روغن را نشان می دهد. همانطور که ملاحظه می گردد، افزودن عصاره دانه خارمریم و آنتی اکسیدان سنتزی سبب افزایش

Table 2- Effect of milk thistle extract and BHT on the stability of soybean oil expressed as induction period (IP) and protection factor (PF) determined by peroxide value

Additive	IP	PF (IP _{sample} /IP _{oil})
None	1.80	0.00
Milk Thistle extract (100 ppm)	2.60	1.45
Milk Thistle extract (200 ppm)	2.87	1.59
Milk Thistle extract (400 ppm)	3.15	1.75
BHT (100 ppm)	2.60	1.45
BHT (200 ppm)	2.97	1.65

نتایج بررسی قابلیت آنتی اکسیدانی عصاره خار مریم در غلظت‌های مختلف در مقایسه با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT و نمونه شاهد در ممانعت از اکسیداسیون روغن

۳-۲-۲- عدد تیوباریتوریک اسید

موج ۵۳۲-۵۳۵ نانومتر جذب خوبی دارد. این شاخص بیانگر مراحل ثانویه اکسیداسیون چربی و حضور ترکیبات ثانویه اکسیداسیون در نمونه است، بنابراین بالا بودن این شاخص در روغن نشان دهنده اکسیداسیون بیشتر روغن و در نتیجه پایداری کمتر آن است [۳ و ۳۵]. کاهش بیشتر شاخص تیوباربیتوریک اسید در نمونه روغن حاوی عصاره خارمریم نسبت به نمونه شاهد (بدون آنتی اکسیدان) را می‌توان به ترکیبات فنولی موجود در عصاره و در نتیجه قدرت آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات در جلوگیری از تجزیه هیدروپراکسیدها نسبت داد. همراستا با نتایج این بخش رازقندی و همکاران (۲۰۲۴) و احمدی و همکاران (۲۰۲۵) نیز بیان داشتند که با افزایش غلظت عصاره شدت افزایش این شاخص کاهش می‌یابد [۳۵ و ۳۶].

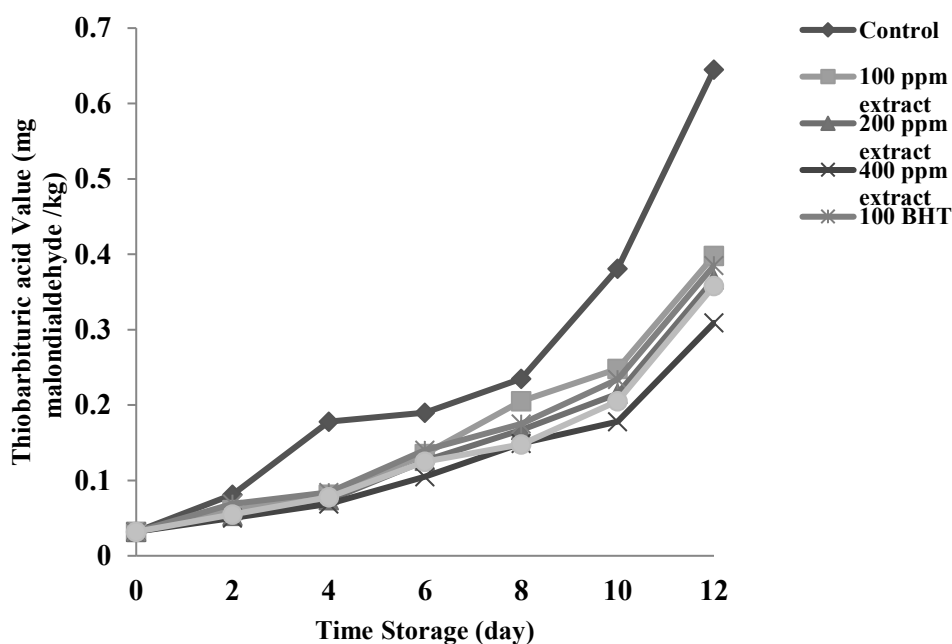


Figure 5- Effect of different concentrations of milk thistle seed extract on the thiobarbituric acid value of soybean oil during accelerated storage (70°C, 12 days) compared to BHT

فلاونوئیدی و ویژگی‌های آنتی اکسیدانی مطلوبی می‌باشد و افزودن این عصاره به روغن سویا منجر به تاخیر اکسیداسیون روغن می‌گردد، بطوری که غلظت ۴۰۰ پی‌پی‌ام این عصاره کارایی بیشتری نسبت به BHT در جلوگیری از اکسیداسیون روغن سویا دارد. فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجه عصاره دانه خارمریم در روغن سویا نشان دهنده پایداری ترکیبات آنتی

سویا بر اساس عدد تیوباربیتوریک اسید در شکل ۵ آورده شده است. نتایج نشان داد که با افزایش زمان نگهداری در تمامی نمونه‌ها شاخص تیوباربیتوریک اسید افزایش یافت ($p < 0.05$) که این روند با افزایش غلظت عصاره در روغن سویا از شدت کمتری برخوردار بود ($p < 0.05$). کمترین میزان عدد تیوباربیتوریک اسید در پایان زمان نگهداری متعلق به نمونه حاوی ۴۰۰ پی‌پی‌ام عصاره بود که از نمونه حاوی ۲۰۰ پی‌پی‌ام BHT نیز کمتر بود ($p < 0.05$). مالون دی آلدئید در اثر اتواکسیداسیون اسیدهای چرب دارای سه و یا تعداد بیشتری باند دوگانه به وجود می‌آید که این ترکیب در مقادیر بسیار کم به عنوان معرف جهت اکسیداسیون چربی‌ها به کار می‌رود. محصولات اکسیداسیون چربی‌های غیر اشباع با تیوباربیتوریک اسید ایجاد کمپلکس قرمز رنگ می‌کنند که این کمپلکس در طول

۴- نتیجه گیری کلی

حفظ مواد غذایی در برابر اکسیداسیون در شرایط مختلف حرارتی مانند پختن معمولی، سرخ کردن و غیره نیازمند آنتی اکسیدان‌های با پایداری حرارتی بالا می‌باشد. عصاره استخراج شده از دانه گیاه خار مریم دارای میزان ترکیبات فنولی و

۵- منابع

اکسیدانی آن در برابر حرارت نیز می باشد. بنابراین می توان گفت عصاره دانه خارمریم از پتانسیل بالایی برای استفاده بعنوان آنتی اکسیدان طبیعی در روغن ها و غذاهای حاوی روغن برخوردار می باشد.

- [1] 1-Chang, K., Gao, P., Wang, S., Wei, W., Yin, J., Zhong, W. and Reaney, M. J. 2024. Tailoring oil blends for specific purposes: A study on nutritional and antioxidant properties of soybean oil mixed with corn, sunflower, and flaxseed oils. LWT - Food Science and Technology. 206, 116628.
- [2] Tinello, F., Zannoni, S. and Lante, A. 2020. Antioxidant properties of soybean oil supplemented with ginger and turmeric powders. Applied Sciences. 10(23): 1-14.
- [3] Razghandi, E., Elhami Rad, A. H., Jafari, S. M., Saiedi Asl, M. R. and Bakhshabadi, H. 2024. Application of Pulsed Electric Field-Ultrasound Technique for Antioxidant Extraction from Yarrow: ANFIS Modeling and Evaluation of Antioxidant Activity. Journal of Food Processing and Preservation. 1, 2951718.
- [4] Senanayake, C.M., Algama, C.H., Wimalasekara, R.L., Weerakoon, W.N.M.T.D., Jayathilaka, N.N. and Seneviratne, K.N. 2019. Improvement of Oxidative Stability and Microbial Shelf Life of Vanilla Cake by Coconut Oil Meal and Sesame Oil Meal Phenolic Extracts. Journal of Food Quality. 1-8.
- [5] Razghandi, E., Elhami-Rad, A.H., Jafari, S.M., Saiedi-Asl, M.R. and Bakhshabadi, H. 2024. Combined pulsed electric field-ultrasound assisted extraction of yarrow phenolic-rich ingredients and their nanoliposomal encapsulation for improving the oxidative stability of sesame oil. Ultrasonics Sonochemistry. 110, 107042.
- [6] Moghimi, M., Farzaneh, V. and Bakhshabadi, H. 2018. The effect of ultrasound pretreatment on some selected physicochemical properties of black cumin (*Nigella Sativa*). Nutrire, 43(1), 18.
- [7] Hosseini, S. M., Bojmehrani, A., Zare, E., Zare, Z., Hosseini, S. M. and Bakhshabadi, H. 2021. Optimization of antioxidant extraction process from corn meal using pulsed electric field-subcritical water. Journal of food processing and preservation. 45(6), e15458.
- [8] Mohammadi-Moghaddam, T., Kariminejad, M., Bakhshabadi, H., Taghavi, E. and Morshedi, A. 2024. Comparison of Sigmoid Logarithm and Hyperbolic Tangent Functions in Modeling the Oxidation Parameters of Soybean Oil Containing Extract of Black Plum Peels Natural Antioxidant. Journal Food Chemistry and Nanotechnoly. 10(3): 134-139.
- [9] Abdo, E.M., Shaltout, O.E. and Mansour, H.M. 2023. Natural antioxidants from agro-wastes enhanced the oxidative stability of soybean oil during deep-frying. LWT - Food Science and Technology. 173, 114321.
- [10] Mohammadi, A. and Arabshahi- Delouee, S. 2016. Antioxidant properties of extract 's Boswellia Serrata oleo-gum resin in soyabean oil. ranian Food Science and Technology Research Journal. 12(4): 477-488. (In Persian).
- [11] Rivas-Caceres, R. R., Khazaei, R., Ponce-Covarrubias, J. L., Di Rosa, A. R., Ogbuagu, N. E., Estrada, G.T. and Elghandour, M.M. 2024. Effects of dietary *Silybum marianum* powder on growth performance, egg and carcass characteristics, immune response, intestinal microbial population, haemato-biochemical parameters and sensory meat quality of laying quails. Poultry Science. 103(10), 104036.
- [12] Zhang, Z. S., Wang, S., Liu, H., Li, B. Z. and Che, L. 2020. Constituents and thermal properties of milk thistle seed oils extracted with three methods. LWT - Food Science and Technology. 126, 109282.
- [13] Slinkard, K. and Singleton, V.L. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods, American, Journal of Enology and Viticulture. 28: 49-55.
- [14] Chang, C. Yang, M. Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. Journal of Food and Drug Analysis. 10: 178-182.
- [15] Wu, H. C., Chen, H. M. and Shiau, C. Y. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). Food Research International. 36 (9): 949-957.
- [16] Prieto, P., Pineda, M. and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific

- application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*. 269: 337-341.
- [17] Huange, B., Jingsheng, H., Xiaoquan, B., Hong, Z., Xincheng, Y., and Youwei, W. 2011. Antioxidant activity of bovine and porcine meat treated with extracts from edible lotus (*Nelumbo nucifera*) rhizome knot and leaf. *Meat science*. 87: 46-53.
- [18] AOCS, Official methods and recommended practices of AOCS. 1994. Methods AOCS cd8-53 and AOCS cd19-90. Champaign, IL.
- [19] Arabshahi- Delouee, S., Aalami, M. and Urooj, A. 2011. Drumstick (*Moringa oleifera* L.) leaves: A potential source of natural lipid antioxidants. *Journal of Food Process Engineering*. 34(3): 947-959.
- [20] Javeed, A., Ahmed, M., Sajid, A.R., Sikandar, A., Aslam, M., Hassan, T.U., Nazir, Z., Ji, M. and Li, C. 2022. Comparative Assessment of Phytoconstituents, Antioxidant Activity and Chemical Analysis of Different Parts of Milk Thistle *Silybum marianum* L. *Molecules*. 27, 2641.
- [21] Mhamdi, B., Abbassi, F., Smaoui, A., Abdelly, C. and Marzouk, B. 2016. Fatty acids, essential oil and phenolics composition of *Silybum marianum* seeds and their antioxidant activities. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 29:953-959.
- [22] Ferreres, F., Sousa, C., Valento, P., Seabra, R.M., Pereira, J.A. and Andrade, P.B. 2007. Tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) seeds: phytochemical characterization and antioxidant potential. *Food Chemistry*. 101: 549-558.
- [23] Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*. 32:407-412.
- [24] Ahmadi, F., Kadivar, M. and Shahedi, M. 2007. Antioxidant activity of *Kelussia odoratissima* Mozaff in model and food systems. *Food Chemistry*. 105: 57-64.
- [25] Serce, A., Toptanci, B. C., Tanrikut, S. E., Altas, S., Kizil, G., Kizil, S. and Kizil, M. 2016. Assessment of the antioxidant activity of *silybum marianum* seed extract and protective effect against DNA oxidation, protein damage and lipid peroxidation. *Food Technology and Biotechnology (FTB)*. 54(4): 455-461.
- [26] Kumaran, A. and Karunakaran, R.J. 2007. In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT - Food Science and Technology*. 40: 344-352.
- [27] Arabshahi- Delouee, S. and Urooj, A. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*. 102: 1233-1240.
- [28] Soares, A.A., Souza, C.G.M., Daniel, F.M., Ferrari, G.P., Costa, S.M.G. and Peralta, R.M. 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of *Agaricus brasiliensis* (*Agaricus blazei* Murril) in two stages of maturity. *Food Chemistry*. 112: 775-781.
- [29] Negi, P.S., Chauhan, A.S., Sadia, G.A., Rohinishree, Y.S. and Ramteke, R.S. 2005. antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) seed extracts. *Food Chemistry*. 92: 119-124.
- [30] Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I.C.F.R., Bento, A., Estevinho, L and Pereira, J.A. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 2326-2331.
- [31] Choi, Y. M., Yoon, H., Shin, M. J., Lee, Y., Hur, O. S., Lee, B. C., Ha, B. K., Wang, X. and Desta, K. T. 2021. Metabolite contents and antioxidant activities of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) seeds of different seed coat colors. *Antioxidants*. 10(8), 1210.
- [32] Aziz, M.; Saeed, F.; Ahmad, N.; Ahmad, A.; Afzaal, M.; Hussain, S.; Anjum, F.M. 2021. Biochemical profile of milk thistle (*Silybum marianum* L.) with special reference to silymarin content. *Food Sci. Nutr.*, 9, 244-250.
- [33] Kontogianni, V.G. and Gerothanassis, I.P. 2022. Analytical and structural tools of lipid hydroperoxides: Present state and future perspectives. *Molecules*. 27(7): 2139.
- [34] Frankel, E.N. 2005. *Lipid Oxidation*, 2nd Edn. Dundee, Scotland: The Oily Press Ltd.
- [35] Razghandi, E., Elhamirad, A.H., Jafari, S.M., Saeadi Asl, M.R. and Bakhshabadi, H. 2024. Investigating the effect of nanoliposomes containing yarrow (*Achillea millefolium*) antioxidant extract on oxidative properties and fatty acid profile of sesame oil. *Journal of food science and technology*. 21(153): 75-87. (In Persian).
- [36] Ahmadi, E., Elhamirad, A.H., Molla Nia, N., Saeidi Asl, M.R. and Pedram Nia, A. 2025. Evaluation of the Effect of Adding Antioxidant Extract of White Tea and its Nanoliposomes on Some Oxidative Properties of Soybean Oil and Comparison of Their Kinetic Parameters. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*. 17(1): 1-13. (In Persian).



Scientific Research

The Effect of Ultrasound-Assisted Ethanolic Extract of Milk Thistle (*Silybum marianum*) Seeds on the Oxidative Stability of Soybean Oil

Motahareh Mazidi¹, Saeedeh Arabshahi-Delouee^{2*}, Seyyed Hossein Hosseini Ghaboos²

1- MSc graduate, Department of Food Science and Technology, Azadshahr Branch, Islamic Azad University, Azadshahr, Iran

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

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article History:

Received: 2024/12/2

Accepted: 2024/12/22

Keywords:

Milk Thistle Seeds,
Oxidative Stability,
Soybean Oil,
Ultrasound

DOI: 10.22034/FSCT.22.162.250.

*Corresponding Author E-

Saeedeh_arabshahi@yahoo.com

Due to health concerns related to synthetic antioxidants, extensive research has been conducted on using natural antioxidants as preservatives in food. The present study aimed to evaluate the impact of milk thistle seed extract on the oxidative stability of soybean oil. The extract of milk thistle seeds was prepared using ethanol and ultrasound, its antioxidant properties were assessed and then different concentrations (100, 200, and 400 ppm) of the extract were added to refined soybean oil without any antioxidants. The peroxide value and Thiobarbituric acid index of the oil samples were then monitored during storage under accelerated oxidation conditions (70°C, 12 days). The results indicated that the milk thistle extract contained 34.4 mg of total phenols (as gallic acid equivalents) and 26.2 mg of total flavonoids (as quercetin equivalents) per gram of dry matter. The antioxidant properties of the extract evaluated using three methods (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity, total antioxidant capacity and ferric reducing power) showed increase in the antioxidant activity with increasing the extract concentrations (30 to 150 micrograms). Comparing the antioxidant capacity of different concentrations of milk thistle extract with synthetic antioxidant, butylated hydroxytoluene and the control sample (soybean oil without any antioxidant) revealed that the peroxide and thiobarbituric acid values rose in all samples during storage period. However, increasing the concentration of milk thistle extract in soybean oil mitigated this increase, with the most significant reduction observed at 400 ppm. Ultimately, this study demonstrated that incorporating 400 ppm of milk thistle seed extract was more effective in reducing the oxidation rate of soybean oil compared to the synthetic antioxidant.



مجله علوم و صنایع غذایی ایران

سایت مجله: www.fsct.modares.ac.ir

مقاله علمی-پژوهشی

مقایسه وضعیت‌های بازتابشی و تقابلی طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در امکان‌سنجی تشخیص غیرمخرب تازگی پودر گیاه دارویی سیر (Garlic)

رضا محمدی گل^{۱*}، محمود کریمی^۲ و رضا شاه‌حسینی^۳

۱- نویسنده مسئول، گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۲- گروه مهندسی مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

۳- عضو هیئت علمی، گروه گیاهان دارویی، دانشگاه اراک، اراک، ایران.

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ‌های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۷

کلمات کلیدی:

گیاه دارویی،

پودر سیر،

تازگی،

طیف‌سنجی،

بازتابی،

تقابلی

پودر گیاه دارویی سیر از حیث تجاری اهمیت زیادی دارد و به عنوان افزودنی در صنایع غذایی و دارویی کاربرد فراوانی دارد. روش‌های طیف‌سنجی به‌عنوان یک روش غیرمخرب در حوزه سنجش کیفیت محصولات غذایی، تولیدات و فرآورده‌های گیاهان دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر کارایی و پتانسیل دو وضعیت پرکاربرد بازتابشی و تقابلی در طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در محدوده ۹۳۶ تا ۱۶۶۰ نانومتر برای امکان‌سنجی تشخیص تازگی پودر سیر مقایسه شدند. در هریک از وضعیت‌های طیف‌برداری، تعداد ۱۲۰ طیف در ۲ تکرار از نمونه‌های پودر سیر اخذ شد. ۲۵ درصد از طیف‌ها قبل از مدل‌سازی به‌طور تصادفی برای اعتبارسنجی در نظر گرفته شدند و تدوین مدل‌ها با طیف‌های باقیمانده به انجام رسید. برای حذف نوفه‌های احتمالی تأثیر پیش‌پردازش‌های رایج روی عملکرد طبقه‌بندی شبکه‌های مصنوعی عصبی (ANN^۱)، ماشین بردار پشتیبان (SVM^۲) و الگوریتم k-نزدیک‌ترین همسایه (KNN^۳) بررسی شد. از روش آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA^۴) برای کاهش متغیرهای طیفی استفاده شد و چهار مؤلفه اصلی اول به عنوان ورودی طبقه‌بندی در نظر گرفته شدند. در وضعیت طیف‌برداری تقابلی، طبقه‌بندی‌های SVM و KNN با دقت تفکیک ۱۰۰ درصد، طیف‌های اخذشده از پودرها در سه بازه زمانی ۳ روز، ۳ ماه و ۱۲ ماه را جداسازی نمودند. طبقه‌بندی ANN در وضعیت بازتابی به‌جز طیف‌های خام (بدون پیش‌پردازش) در همه پیش‌پردازش‌های مورد بررسی، دقت ۱۰۰ درصد در تفکیک طیف‌های ذکرشده حاصل شد. طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در باند ۹۳۶-۱۶۶۰ نانومتر به کمک شیمی‌سنجی برای تشخیص سریع تازگی پودر سیر پتانسیل لازم را دارد. وضعیت طیف‌برداری تقابلی با در نظر گرفتن سهولت کاربرد در صنعت و آزمایشگاه نسبت به وضعیت بازتابی برتری دارد.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.265.

* مسئول مکاتبات:

r-mohammadigol@araku.ac.ir

1 . Artificial Neural Network

2 . Support Vector Machine

3 . k-Nearest Neighbors

4. Principle Components Analysis

۱-مقدمه

شوند [۱۴]. در وضعیت بازتابشی مقدار نور منعکس‌شده از سطح ماده کمی شده و طیف آن ترسیم می‌شود، اما در وضعیت تقابلی ساختار داخلی و ویژگی‌های جذب ماده بر نور برگشتی دخیل هستند. انتخاب بهترین روش طیف‌برداری بستگی به به ویژگی مواد مورد مطالعه دارد. در این رابطه، حالت عبوری یا عبوری-بازتابی بهترین انتخاب برای نمونه‌های مایع است و حالت بازتابش اصولاً برای پودرها استفاده می‌شود [۱۵، ۱۶]. ريو و همکاران (۲۰۲۲)، در نمونه‌های پودری خود طول موج ۱۹۲۴ نانومتر را مربوط به پیوندهای ملکول آب^۸ گزارش کردند [۱۷]. برای تصحیح اثر سایز ذرات در پراکندگی طیف‌های اخذشده اعمال برخی از روش‌های پیش‌پردازش مثل MSC^۹ پیشنهاد شده است [۱۸].

وضعیت‌های بازتابشی و تقابلی طیف‌برداری فروسرخ نزدیک/مرئی در تحقیق هم‌تراکن و همکاران (۲۰۲۱)، در پیش‌بینی شاخص‌های کیفی خرمالو مقایسه شدند. مدل PLS^{۱۰} تدوین‌شده از داده‌های وضعیت تقابلی در تخمین شاخص‌های ASC^{۱۱} و سفتی بافت موفق و در پیش‌بینی شاخص SSC^{۱۲} ناکارآمد بوده است. مدل‌سازی داده‌های وضعیت بازتابشی در تخمین تمام صفات عملکردی رضایت‌بخش نبوده است [۱۹].

سوکناناراک و همکاران (۲۰۱۴)، استفاده از طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در سنجش تازگی تخم‌مرغ را بررسی

گیاه دارویی سیر با نام علمی *Allium sativum* L. و از خانواده Liliaceae از گونه‌های دارویی سودمند است که در صنایع دارویی، غذایی، آرایشی و بهداشتی کاربرد وسیعی دارد [۱، ۲]. سوخ^۱ اصلی‌ترین اندام دارویی این گونه است که به صورت تازه، خشک، عصاره، روغن، اسلایس، گرانول و پودر استفاده می‌شود [۳]. پودر سیر از اصلی‌ترین فرآورده‌های این گیاه به شمار می‌آید که از حیث تجاری اهمیت زیادی دارد و در صنایع غذایی و دارویی استفاده فراوانی دارد [۴]. این گیاه سودمند در مناطق زیادی از جهان پراکنش و رویش دارد و در رده مهم‌ترین و پرمصرف‌ترین گیاهان دارویی محسوب می‌شود [۵]. سیر دارای ترکیبات متعددی نظیر انواع کربوهیدرات، نشاسته، پروتئین، ویتامین‌ها، مواد معدنی و موسیلاژ [۱، ۶] و همچنین حاوی ترکیبات گوناگون ارگانوسولفور و آمینواسیدی است [۷]. ترکیبات ذکر شده علت خواص ضد باکتریایی، ضد اکسایشی، ضد سرطانی، تقویت‌کننده ایمنی^۲ و بسیاری اثرات درمانی دیگر هستند که متأثر از فاکتورهای مختلف در فرآیند تولید و فرآوری از جمله زمان تهیه و نگهداری عصاره و پودر هستند [۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳].

در طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک (NIR^۳) انواع وضعیت‌های طیف‌برداری شامل بازتابش^۴، عبوری^۵، عبوری-بازتابی^۶ و تقابلی^۷ که در آنها منبع نور و گیرنده نسبت به یکدیگر تغییر موقعیت می‌یابند، مشاهده می

7. Stretch O-H + O-H deformation

9. Multiplicative Scatter Correction

10. Partial Least Squares

11. Ascorbic Acid

12. Soluble Solids Content

1. Bulb

2. Immunomodulatory

3. Near Infra-Red (NIR)

4. Reflectance

5. Transmittance

6. Transeflectance

7. Intractance

کاربردی قابل حمل معمولاً این حالت به کار می‌رود. با توجه به اینکه مطالعاتی مبنی بر مقایسه روش اخذ طیف از نمونه‌های پودری به صورت بازتابشی (وابسته به ویژگی سطح ماده) با دو فیبر کاملاً مجزا یا تقابلی (وابسته به ساختار داخلی ماده) با فیبرهای یکی شده انجام نشده، لذا پژوهش حاضر به منظور مقایسه دو وضعیت طیف‌برداری بازتابشی و تقابلی در امکان‌سنجی تشخیص غیرمخرب تازگی پودر گیاه دارویی سیر در باند فروسرخ موج کوتاه (۹۳۶-۱۶۶۰ نانومتر) صورت پذیرفت.

۲- مواد و روش‌ها

۱.۲. آماده‌سازی نمونه‌ها

برای انجام این پژوهش، تهیه نمونه‌های مورد نیاز از سیر تولیدشده در شرایط اقلیمی استان مرکزی (سیر سفید توده بومی اراک) در نظر گرفته شد. سوخ‌های یکسان، سالم و عاری از آثار بیماری و آفات تهیه شدند. در هر مرحله پس از پوست‌گیری و جداکردن سیرچه‌ها از یکدیگر، اسلایس‌هایی با ضخامت ۲-۳ میلی‌متر تهیه شدند. پس از خشک‌کردن در شرایط سایه و به دور از نور مستقیم، توسط آسیاب آزمایشگاهی، پودرها در سه بازه زمانی و بعد از ۳ روز، ۳ ماه و ۱۲ ماه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲.۲. طیف‌برداری

طیف‌های بازتابی با تابش نور در زاویه ۴۵ درجه اخذ شدند [۲۴]. از اسپکترومتر مدل Flame-NIR محصول شرکت Ocean optics با دامنه ۹۳۶-۱۶۶۰ نانومتر استفاده شد (جدول ۱). قبل از شروع طیف‌برداری ابتدا

نمودند و داده‌های حاصل از حالت‌های بازتابشی و تقابلی را مدل‌سازی کردند. نتایج ارزیابی آنها برتری حالت تقابلی بر بازتابشی را نشان داد. همچنین عنوان نمودند در صنعت، برای دسته‌بندی تخم مرغ، حالت تقابلی نسبت به بازتابشی مناسب‌تر است [۲۰].

دیزیکوسکی و همکاران (۲۰۲۳)، تشخیص و سنجش غیرمخرب و سریع تقلب‌های پودر سیر، نشاسته ذرت و آرد ذرت را به وسیله مدل‌سازی طیف‌های بازتابی NIR بررسی نمودند. در این مطالعه درصد اختلاط‌های متنوعی ایجاد و طیف‌برداری در بازه 4000cm^{-1} تا 10000cm^{-1} انجام شد. نتایج تبیین کرد طیف‌سنجی NIR برای پیش‌بینی مقدار تقلب در پودر سیر قابل استفاده بوده و طبق شاخص‌های ارزیابی مدل، روش PLSR^1 نسبت به مدل PCR^2 برتری دارد [۲۱]. لوهومی و همکاران (۲۰۱۵)، امکان تشخیص وجود نشاسته ذرت در پودر سیر را با طیف‌سنجی FTIR^3 و مدل رگرسیونی PLSR بررسی کردند. طیف‌های بازتابی در دامنه 4000cm^{-1} تا 650cm^{-1} استفاده شد. آنها اظهار داشتند تشخیص غیرمخرب نشاسته ذرت در پودر سیر امکان‌پذیر است [۲۲]. ونگ و همکاران (۲۰۱۹)، پتانسیل روش طیف‌سنجی NIR ، MIR^4 و شیمی‌سنجی را در تشخیص پودر توت‌فرنگی از میوه تازه یا از میوه انباری (۲، ۴، ۱۵، ۲۰ و ۲۷ روز) تهیه‌شده را بررسی و از مدل‌های PLSR و LS-SVM^5 استفاده کردند. در نتایج این مطالعه تفکیک ۱۰۰ درصدی حاصل شد و برآیند آن، حاکی از موفقیت کامل این روش در تشخیص سریع موضوع مذکور بوده است [۲۳]. استفاده از فیبرهای نوری و علی‌الخصوص نوع تقابلی (Y-شکل) در طیف‌برداری، توسعه یافته و در طیف‌سنج‌های نوری

4. Mid Infra-Red

5. Least-Squares Support Vector Machines

1. Partial Least Squares Regression

2. Principle Components Regression

3. Fourier-Transform Infrared Spectroscopy

($A = \log 1/R$) طیف‌های جذبی از روی طیف‌های بازتابی توسط نرم‌افزار ترسیم شدند.

منبع نور به مدت بیشتر از ۳۰ دقیقه روشن نگه داشته شد تا عدم یکنواختی ناشی از گرم‌نبودن منبع نور حذف شود. پس از این مرحله با توجه به روابط موجود جدول ۱. ویژگی‌های طیف‌سنج مورد استفاده

Table 1. Specifications of the spectrometer used

	Ocean optics	شرکت سازنده Manufacturer
	NIR- Flame	مدل Model
	88.9×63.5×31.9	ابعاد (mm) Dimension
	265	وزن (gr) Weight
	Hamamatsu G8160-03	آشکارساز Detector
	128	تعداد پیکسل Pixel number
	936-1660	محدوده کاری (nm) Range
	6000 to 1	نسبت سیگنال به نوفه S/N
	10	تفکیک طول موج (nm) Resolution

بودری هنگام برداشت طیف، یک پراب استوانه‌ای آلومینیومی ساخته و به‌کار گرفته شد.

۳.۲. شیمی‌سنجی^۱

طیف‌های خام NIR به علت تنوع اندازه ذرات، موارد مربوط به منبع نور، گیرنده و سایر عوامل ناخواسته نوفه قابل توجهی دربر دارند. بنابراین برای استخراج اطلاعات شیمیایی از داده‌های طیفی، روش‌های پیش‌پردازش گوناگون روی آنها اعمال می‌شوند [۲۵]. اما هیچگونه راهنمای مشخصی در انتخاب روش‌های

از دو عدد فیبر نوری QP400-2-VIS-NIR در حالت بازتابی و از فیبر ترکیبی R400-7-VIS-NIR در حالت تقابلی برای انتقال و دریافت نور (تولیدات شرکت Ocean optics) استفاده شد. در وضعیت بازتابی فیبرها توسط نگهدارنده در موقعیت ثابت نسبت به هم با زاویه ۴۵ درجه و فیبر رفت و برگشتی وضعیت تقابلی نیز در زاویه ۴۵ قرار داده شدند. هر طیف از میانگین ۴ اسکن تنظیم شد. در مجموع ۲۴۰ طیف برداشت شد. پیش از طیف‌سنجی و پس از اخذ هر ۱۰ طیف، نور پس‌زمینه و سفید مرجع (سولفات باریم) برداشت و بازذخیره شدند. برای تثبیت زاویه و فاصله فیبرها تا سطح نمونه‌های

۵.۲. طبقه‌بندها^۳

مدل‌های طبقه‌بندی در تحقیقات متنوع به کار گرفته شده‌اند [۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳]. در این آزمایش پتانسیل طبقه‌بندهای ANN، SVM و KNN در تفکیک پودرها ارزیابی شده است. اعتبارسنجی مدل‌های ایجادشده ضرورت دارد؛ لذا حدود ۲۵ درصد از طیف‌ها قبل از مدل‌سازی توسط نرم‌افزار به‌طور تصادفی برای اعتبارسنجی در نظر گرفته شدند و کالیبراسیون مدل‌ها با طیف‌های باقیمانده به انجام رسید. شاخص درصد دقت تفکیک درست^۴ نمونه‌های اعتبارسنجی (رابطه ۱) برای ارزیابی طبقه‌بندها به کار گرفته شد.

$$\text{Accuracy}\% = (\text{TC}/\text{N}) \times 100 \quad (1)$$

در این رابطه TC تعداد نمونه‌های درست طبقه‌بندی‌شده و N تعداد کل نمونه‌های ماتریس اغتشاش دسته نمونه اعتبارسنجی است. نرم‌افزار Ocean view 1.6.3 در طیف‌برداری و نرم‌افزار Unscrambler X10.4 در اعمال پیش‌پردازش‌ها استفاده شدند. آنالیز مؤلفه‌های اصلی و مدل‌سازی در نرم‌افزار IBM modeler 18 انجام شدند.

طیف‌برداری و بین خود وضعیت‌ها زیاد بوده، اما مقدار جذب در برخی طول موج‌ها متفاوت هستند. نکته قابل توجه این است که یکنواختی طیف‌های برداشت‌شده در وضعیت تقابلی بیشتر بوده و نوفه‌های ظاهری به مقدار قابل توجهی به‌خصوص در پیک‌ها کمتر شده است. از جمله علل یکنواختی بیشتر را احتمالاً می‌توان به تأثیر

پیش‌پردازش وجود ندارد [۲۱]. در پژوهش حاضر برخی از روش‌های رایج پیش‌پردازش مورد استفاده قرار گرفت [۱۸]. پیش‌پردازش‌های SNV^۱ و MSC برای حذف اثرات ناشی از تفاوت اندازه ذرات و تغییر فاصله منبع نور تا سطح نمونه به کار می‌روند [۲۶، ۲۷] و با مشتق‌گیری (D) از طیف‌ها نقاط پیک تقویت شده و البته نوفه‌ها هم ارتقاء می‌یابند؛ لذا معمولاً بعد از گرفتن مشتق، هموارسازی انجام می‌شود [۲۸]. روش هموارسازی ساویتزکی-گولای (SG^۲) از روش‌های رایج است که بعد از مشتق‌گیری به کار می‌رود. در این مطالعه اثر مشتق اول و دوم بر داده‌های طیفی بررسی شد. همچنین هموارسازی با روش SG (با تعداد نقاط همسایگی ۴ و چندجمله‌ای درجه ۲) صورت پذیرفت.

۴.۲. آنالیز مؤلفه‌های اصلی (PCA)

با این روش متغیرهای جدیدی ایجاد می‌شود که هر یک ترکیبی خطی از متغیرهای مستقل اصلی متعدد هستند. متغیرهای جدید کاهش یافته، مؤلفه‌های اصلی هستند و مؤلفه اصلی اول بیشترین تغییرات را پوشش می‌دهد و مؤلفه اصلی دوم اطلاعاتی را که در مؤلفه اول وجود ندارد پوشش داده و این روند در مؤلفه‌های بعدی نیز تکرار می‌شود [۲۹]. مؤلفه‌های اصلی اول تا چهارم، ورودی طبقه‌بندها را تشکیل دادند.

۳- نتایج و بحث

در شکل ۱ تمام طیف‌های جذبی نمونه‌های پودری سه نوع پودر با تازگی متفاوت در محدوده ۹۳۶ تا ۱۶۶۰ نانومتر در وضعیت‌های تقابلی و بازتابشی مشاهده می‌شود. شباهت بین طیف‌های اخذشده در هر وضعیت

3. Classifiers

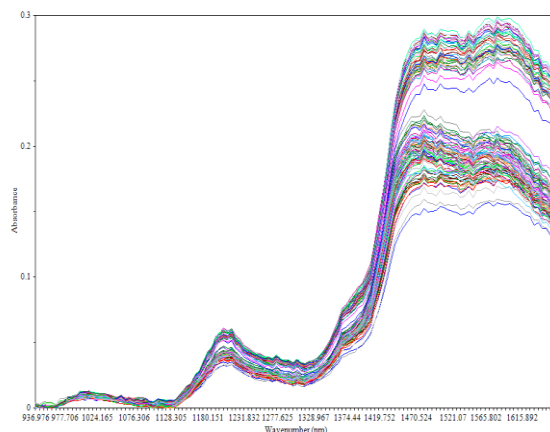
4. Accuracy

1. Standard Normal Variate

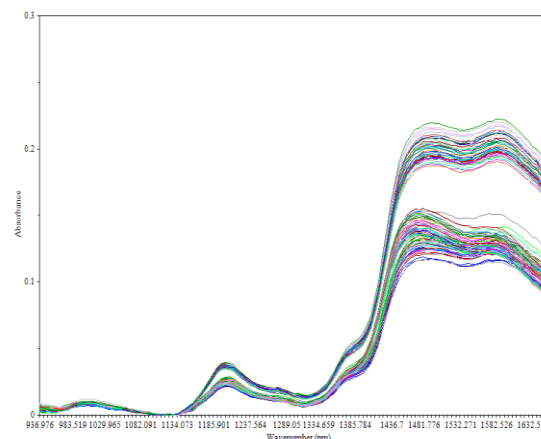
2. Savitzky-Golay

طیف‌های ارائه‌شده در مطالعه دیزیکوسکی و همکاران (۲۰۲۳) تطابق بسیار خوبی دارند [۲۱].

کمتر عواملی همچون تغییر در فاصله نمونه با فیبر و همچنین اثر کمتر ناهمواری‌های سطحی نمونه‌ها در وضعیت تقابلی دانست. شکل طیف‌های اخذشده با



ب (B)



الف (A)

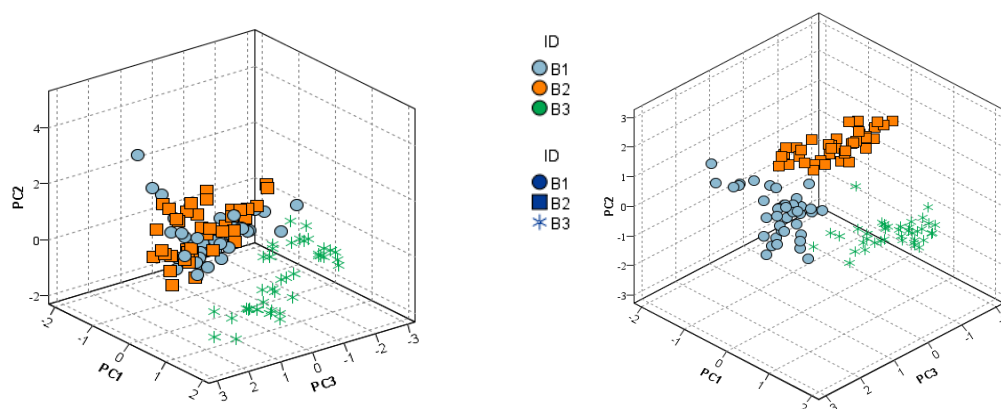
شکل ۱. کل طیف‌های اخذشده (و تبدیل‌یافته به جذب) در وضعیت‌های الف: تقابلی و ب: بازتابی

Fig 1. All acquired spectra (converted to absorption) on A: Intractance and B: Reflectance

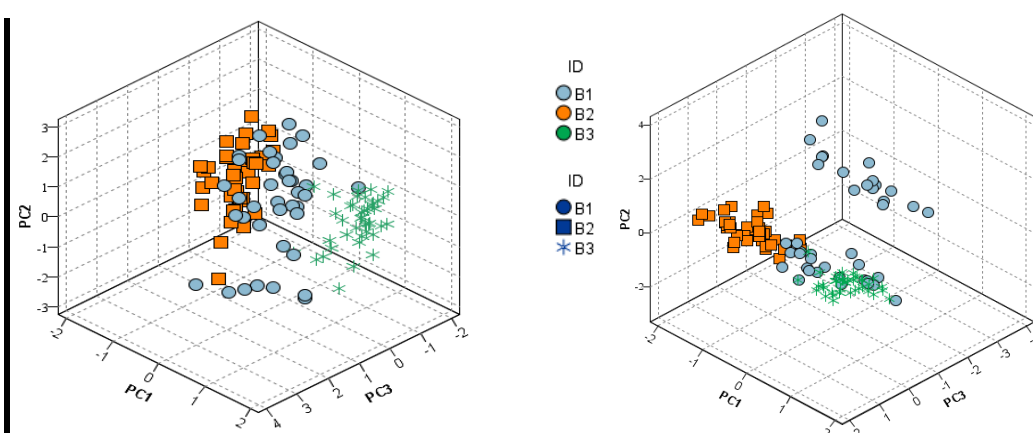
O-H هستند [۳۴]. پیک ایجادشده در طول موج ۱۴۲۰ نانومتر ناشی از اورتون اول پیوند O-H آب گزارش شده است [۳۵].

به‌منظور مقایسه تأثیر روش‌های پیش‌پردازش در جدایش‌پذیری طیف نمونه‌ها از یکدیگر، پراکندگی نمونه‌ها در مختصات مؤلفه‌های اصلی اول، دوم و سوم ارائه شده‌اند (شکل ۲). استفاده از روش PCA و بررسی پراکندگی در مختصات مؤلفه‌های اصلی در مطالعات متعدد ملاحظه می‌شود [۲۹، ۳۰، ۳۶].

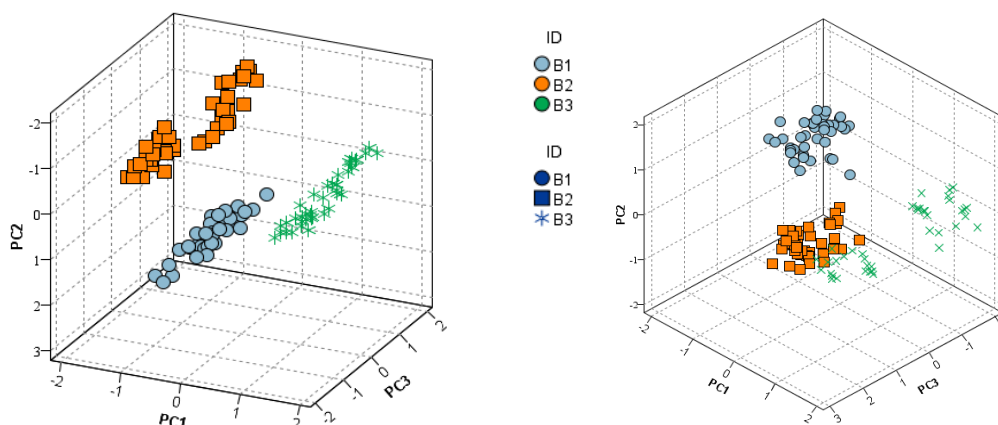
در برخی مطالعات، در نمونه‌های پودری طول موج ۱۹۲۴ نانومتر در ارتباط با پیوندهای ملکول آب مطرح شده است [۱۷]. این موضوع در پژوهش حاضر با توجه به باند طیفی بررسی‌شده (۹۳۶-۱۶۶۰ نانومتر) از حیث تأثیر رطوبت در نمونه‌های مورد استفاده وضعیتی مثبت قلمداد می‌شود. در سیر مولکول‌های حاوی سولفور، فلاونوئیدها، آمینواسیدها، پلی‌فنل‌ها، ترکیبات محلول در آب و چربی‌ها در مقادیر کم وجود دارند. لذا تفسیر طیف‌ها به علت همپوشانی احتمالی ترکیبات مذکور دشوار و پیچیده است. باندهای جذبی مؤثر که در طیف‌های برداشت‌شده مشاهده می‌شود (شکل ۱) عبارتند از: باندهای ۱۲۹۰-۱۱۲۰ نانومتر که علت آن اورتون دوم پیوند C-H است. باند ۱۵۲۰-۱۳۲۰ نانومتر که ناشی از اورتون اول پیوند N-H و اورتون اول پیوند



الف: بدون پیش پردازش - طیف های خام - (راست: تقابلی، چپ: بازتابشی)
No preprocessing - Raw spectra- (Right: Intractance, Left: Reflectance)



ب: پیش پردازش SNV (راست: تقابلی، چپ: بازتابشی)
SNV preprocessing (Right: Intractance, Left: Reflectance)



ج: پیش‌پردازش D1+SG (راست: تقابلی، چپ: بازتابی)
D1+SG preprocessing (Right: Intracance, Left: Reflectance)

شکل ۲. اثر پیش‌پردازش‌های مختلف بر پراکندگی طیف‌ها در مختصات PC1، PC2 و PC3

Fig 2. The effect of the different preprocessing on the spectra scattering at PC1, PC2 and PC3 coordinate

۱.۳. مدل‌سازی

SVM و KNN با دقت تفکیک ۱۰۰ درصد در تمامی پیش‌پردازش‌های بررسی‌شده طیف‌ها را جداسازی نمودند. همچنین طبقه‌بند ANN در وضعیت بازتابی به غیر از طیف‌های خام در همه پیش‌پردازش‌های مورد بررسی، دقت تفکیک ۱۰۰ درصد را نشان داد.

نتایج مربوط به کالبراسیون مدل‌ها و اعتبارسنجی در جدول‌های ۲ و ۳ ارائه شده است. دسته داده‌های آموزش و تست در تمامی طبقه‌بندها با یکدیگر برابر می‌باشد. در وضعیت طیف‌برداری تقابلی، طبقه‌بندهای

جدول ۲. درصد دقت تفکیک طبقه‌بندها در دسته نمونه‌های آموزش و تست مدل بر پایه روش‌های مختلف پیش‌پردازش (وضعیت تقابلی)

Table 2. The overall accuracy (%) by classifiers in the training and testing data sets based on different pre-processing methods (Intracance)

KNN (%)		SVM (%)		ANN (%)		پیش‌پردازش طیفی
Train	Test	Train	Test	Train	Test	Spectral Preprocessing
100	100	100	100	100	96.30	No Preprocessing

100	100	100	100	100	100	MSC
100	100	100	100	98.92	100	SNV
100	100	100	100	100	100	D1+SG
100	100	100	100	100	100	D2+SG

جدول ۳. درصد دقت تفکیک طبقه‌بندها در دسته نمونه‌های آموزش و تست مدل بر پایه روش‌های مختلف پیش‌پردازش (وضعیت بازتابشی)

Table 3. The overall accuracy (%) by classifiers in the training and testing data sets based on different pre-processing methods (Reflectance)

KNN (%)		SVM (%)		ANN (%)		پیش‌پردازش طیفی
Train	Test	Train	Test	Train	Test	Spectral Preprocessing
98.92	96.30	98.92	92.59	98.92	96.30	No Preprocessing
95.70	96.30	95.70	96.30	98.92	100	MSC
95.70	96.30	95.70	96.30	98.92	100	SNV
100	100	100	100	100	100	D1+SG
100	100	100	100	100	100	D2+SG

۴- نتیجه‌گیری

بندی دیده نشد. دقت تفکیک حاصله، نشان‌دهنده پتانسیل طیف‌سنجی فروسرخ نزدیک در محدوده ذکرشده برای تشخیص تازگی پودر سیر است. با توجه به نتایج کسب‌شده و همچنین سهولت کاربرد پراب ترکیبی رفت و برگشتی نور، حالت طیف‌برداری تقابلی برتری دارد. انجام پژوهش مشابه در باندهای دیگر طیف نور، لحاظ‌نمودن ارقام سیر، سایز ذرات پودر و همچنین مقایسه دو حالت تقابلی و بازتابی در سنجش کیفیت سایر مواد غذایی و فرآورده‌های گیاهان دارویی، به عنوان مطالعات آتی پیشنهاد می‌گردد.

طیف‌های فروسرخ نزدیک موج کوتاه محدوده ۹۳۶-۱۶۶۰ نانومتر اخذشده از نمونه‌های پودر سیر تعداد پیک‌های کمی نشان دادند که علت آن را می‌توان احتمالاً در همپوشانی در جذب نور اورتون‌ها و پیوندهای مواد متنوع موجود در پودر سیر دانست. طیف‌های اخذشده در حالت تقابلی نوفه کمتری در مقایسه با حالت بازتابی داشته و لذا بین پیش‌پردازش‌های D1+SG، MSC، SNV و D2+SG تفاوت کارایی چندانی در دقت مدل‌های طبقه

۵- منابع

- [1] Morales-Gonzalez JA, Madrigal-Bujaidar E, Sanchez-Gutierrez M, Izquierdo-Vega JA, Valadez-Vega MC, Alvarez-Gonzalez I, et al. (2019). Garlic (*Allium sativum* L.): A brief review of its antigenotoxic effects. *Foods*. 8(8): 343. doi.org/10.3390/foods8080343
- [2] Tudu CK, Dutta T, Ghorai M, Biswas P, Samanta D, Oleksak P, et al. (2022). Traditional uses, phytochemistry, pharmacology and toxicology of garlic (*Allium sativum*), a storehouse of diverse phytochemicals: A review of research from the last decade focusing on health and nutritional implications. *Frontiers in Nutrition*. 9: 929554. doi.org/10.3389/fnut.2022.929554
- [3] Suleria HR, Butt MS, Khalid N, Sultan S, Raza A. (2015). Aleem M, et al. Garlic (*Allium sativum*): diet based therapy of 21st century—a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 5(4): 271-278. doi.org/10.1016/S2222-1808(14)60782-9
- [4] Sunanta P, Kontogiorgos V, Pankasemsuk T, Jantanasakulwong K, Rachtanapun P, Seesuriyachan P, Sommano SR. (2023). The nutritional value, bioactive availability and functional properties of garlic and its related products during processing. *Frontiers in Nutrition*, 10: 1-13. doi.org/10.3389/fnut.2023.1142784
- [5] Kamenetsky R. (2007). Garlic: Botany and horticulture. In: *Horticulture reviews*, Ed. Janick J. John Wiley and Sons Publishing, New Jersey, U.S.A. 33: 123-138. doi.org/10.1002/9780470168011.ch2
- [6] El-Saber Batiha G, Magdy Beshbishy AG, Wasef L, Elewa YH, Al-Sagan A, Abd El-Hack ME, et al. (2020). Chemical constituents and pharmacological activities of garlic (*Allium sativum* L.): A review. *Nutrients*. 12(3): 872. doi.org/10.3390/nu12030872
- [7] Martins N, Petropoulos S., Ferreira IC. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*. 211: 41-50. doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.029
- [8] Gonzalez RE, Burba, JL, Camargo AB. (2013). A physiological indicator to estimate allicin content in garlic during storage. *Journal of Food Biochemistry*. 37(4): 449-455. doi.org/10.1111/j.1745-4514.2011.00647.x
- [9] Naheed Z, Cheng Z, Wu C, Wen Y, Ding H. (2017). Total polyphenols, total flavonoids, allicin and antioxidant capacities in garlic scape cultivars during controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology*. 131: 39-45. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2017.05.002
- [10] Hughes J, Collin HA, Tregova A, Tomsett AB, Cosstick R, Jones MG. (2006). Effect of low storage temperature on some of the flavor precursors in Garlic (*Allium Sativum*). *Plant Foods for Human Nutrition*. 61: 78-82. doi.org/10.1007/s11130-006-0018-4
- [11] Salehi B, Zucca P, Orhan IE, Azzini E, Adetunji CO, Mohammed SA, et al. (2019). Allicin and health: A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*. 86: 502-516. doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.003
- [12] Zhu D, Sadat A, Joye IJ, Vega C, Rogers MA. (2024). Scientific gastronomy: On the mechanism by which garlic juice and allicin (thio-2-propene-1-sulfinic acid S-allyl ester) stabilize meringues. *Food Chemistry*. 431: 137121. doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137121
- [13] Ravindra J, Yathisha UG, Nanjappa DP, Kalladka K, Dhakal R, Chakraborty A. (2023). Allicin extracted from *Allium sativum* shows potent anti-

- cancer and antioxidant properties in zebrafish. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 169: 115854. doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115854
- [14] Cortes V, Blasco J, Aleixos N, Cubero S, Talens P. (2019). Monitoring strategies for quality control of agricultural products using visible and near-infrared spectroscopy: A review. *Trends in Food Science and Technology*. 85:138-148. doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.015
- [15] Sanchez-Paternina A, Roman-Ospino AD, Martinez M, Mercado J, Alonso C, Romañach, RJ. (2016). Near infrared spectroscopic transmittance measurements for pharmaceutical powder mixtures. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 123: 120-127. doi.org/10.1016/j.jpba.2016.02.006
- [16] OMahony N, Murphy T, Panduru K, Riordan D, Walsh J. (2018). Machine learning algorithms for estimating powder blend composition using near infrared spectroscopy. Paper presented at the 2018 2nd International Symposium on Small-scale Intelligent Manufacturing Systems (SIMS). doi.org/10.1109/SIMS.2018.8355297
- [17] Riu J, Vega A, Boque R, Giussani B. (2022). Exploring the analytical complexities in insect powder analysis using miniaturized NIR spectroscopy. *Foods*. 11(21): 3524. doi.org/10.3390/foods11213524
- [18] Nicolai BM, Beullen, K, Bobelyn E, Peirs A, Saey W, Theron KI, et al. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology*. 46(2): 99-118. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2007.06.024
- [19] Hemrattrakun P, Nakano K, Boonyakiat D, Ohashi S, Maniwaru P, Theanjumol P, et al. (2021). Comparison of reflectance and interactance modes of visible and near-infrared spectroscopy for predicting persimmon fruit quality. *Food Analytical Methods*. 14: 117-126. doi.org/10.1007/s12161-020-01853-w
- [20] Suktanarak S, Teerachaichayut S, Jannok P, Supprung P. (2014). Interactance and reflectance near infrared spectroscopy for freshness evaluation of hen eggs. Paper presented at the III Asia Pacific Symposium on Postharvest Research, Education and Extension: APS2014 1213. doi.org/10.17660/ActaHortic.2018.1213.97
- [21] Daszykowski M, Kula M, Stanimirova I. (2023). Quantification and detection of ground garlic adulteration using fourier-transform near-infrared reflectance spectra. *Foods*. 12(18): 3377. doi.org/10.3390/foods12183377
- [22] Lohumi S, Lee S, Cho BK. (2015). Optimal variable selection for Fourier transform infrared spectroscopic analysis of starch-adulterated garlic powder. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 216: 622-628. doi.org/10.1016/j.snb.2015.04.060
- [23] Wang D, Wei W, Lai Y, Yang X, Li S, Jia L, et al. (2019). Comparing the potential of near-and mid-infrared spectroscopy in determining the freshness of strawberry powder from freshly available and stored strawberry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2360631. doi.org/10.1155/2019/2360631
- [24] Rodriguez SD, Rolandelli G, Buera, MP. (2019). Detection of quinoa flour adulteration by means of FT-MIR spectroscopy combined with chemometric methods. *Food Chemistry*. 274: 392-401. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.08.140
- [25] Kar S, Tudu B, Jana A, Bandyopadhyay R. (2019). FT-NIR spectroscopy coupled with multivariate analysis for detection of starch adulteration in turmeric powder. *Food Additives and Contaminants Part A*. 36(6): 863-875. doi.org/10.1080/19440049.2019.1600746
- [26] Jamshidi B, Minaei S, Mohajerani E, Ghassemian H. (2012). Reflectance Vis/NIR spectroscopy for nondestructive taste characterization of Valencia oranges. *Computers and Electronics in Agriculture*. 85: 64-69. doi.org/10.1016/j.compag.2012.03.008
- [27] Teye E, Amuah CL, McGrath T, Elliott C. (2019). Innovative and rapid analysis for rice authenticity using hand-held NIR spectrometry and chemometrics. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 217: 147-154. doi.org/10.1016/j.saa.2019.03.085
- [28] Ishikawa ST, Gulick VC. (2013). An automated mineral classifier using Raman spectra. *Computers and Geosciences*. 54: 259-268. doi.org/10.1016/j.cageo.2013.01.011
- [29] Callao MP, Ruisanchez I. (2018). An overview of multivariate qualitative methods for food fraud detection. *Food Control*. 86: 283-293. doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.034
- [30] Amuah CL, Teye E, Lamptey FP, Nyandey K, Opoku-Ansah J, Adueming PW. (2019). Feasibility study of the use of handheld NIR spectrometer for simultaneous authentication and quantification of quality parameters in intact pineapple fruits. *Journal of Spectroscopy*. 2: 1-9. doi.org/10.1155/2019/5975461
- [31] Kafle GK, Khot LR, Jarolmasjed S, Yongsheng S, Lewis K. (2016). Robustness of near infrared spectroscopy based spectral features for non-destructive bitter pit detection in honeycrisp apples. *Postharvest Biology and Technology*. 120: 188-192. doi.org/10.1016/j.postharvbio.2016.06.013
- [32] Shafiee S, Minaei S. Combined data mining/NIR spectroscopy for purity assessment of lime juice. (2018). *Infrared Physics and Technology*. 91: 193-199. doi.org/10.1016/j.infrared.2018.04.012
- [33] Kaiyan L, Chang L, Huiping S, Junhui W, Jiek C. (2021). Review on the Application of Machine Vision Algorithms in Fruit Grading Systems. Paper presented at the Emerging Trends in Intelligent and Interactive Systems and Applications: Proceedings of the 5th International Conference on Intelligent,

- Interactive Systems and Applications. 271-280. doi.org/10.1007/978-3-030-63784-2_34
- [34] Acri G, Testagrossa B, Vermiglio G. (2016). FT-NIR analysis of different garlic cultivars. *Journal of Food Measurement and Characterization*. 10: 127-136. doi.org/10.1007/s11694-015-9286-8
- [35] Wadood SA, Guo B, Zhang X, Wei Y. (2019). Geographical origin discrimination of wheat kernel and white flour using near-infrared reflectance spectroscopy fingerprinting coupled with chemometrics. *International Journal of Food Science and Technology*. 54(6): 2045-2054. doi.org/10.1111/ijfs.14105
- [36] Horn B, Esslinger S, Pfister M, Fauth-Hassek C, Riedl J. (2018). Non-targeted detection of paprika adulteration using mid-infrared spectroscopy and one-class classification—Is it data preprocessing that makes the performance. *Food Chemistry*. 257: 112-119. doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.007



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Comparison of reflectance and interactance modes of near-infrared spectroscopy for non-destructive detection of garlic powder freshness

Reza Mohammadigol^{*1}, Mahmood Karimi¹, Reza Shahhoseini²

1-Department of Biosystem Mechanics Engineering, Faculty of Agriculture, Arak University, Arak, Iran.

2-Department of Medicinal Plants, Arak University, Arak, Iran

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/12/5 Accepted:2025/2/15 Keywords: Medicinal plant, Garlic powder, Freshness, Spectroscopy, Reflectance, Intractance. DOI: 10.22034/FSCT.22.162.265. *Corresponding Author E- r-mohammadigol@araku.ac.ir	Garlic medicinal plant powder is significant from a commercial perspective and is widely used as an additive in the food and pharmaceutical industries. Spectroscopic techniques serve as non-destructive methods for assessing the quality of food products, medicinal plants, and related products. In the present study, the efficiency and potential of two widely used modes, reflectance and intractance, in near-infrared spectroscopy in the range of 936 to 1660 nm were compared to assess the feasibility of distinguishing fresh garlic powder. In each spectroscopy mode, 120 spectra in 2 replicates were obtained from garlic powder samples, resulting in a total of 240 spectra. Prior to modeling, 25% of the spectra were randomly selected for validation, while the remaining spectra were used to compile the models. To mitigate potential noise, the impact of common pre-processing methods on the performance of the artificial neural network (ANN), support vector machine (SVM), and k-nearest neighbors (KNN) classifiers was investigated. The principal components analysis (PCA) technique was employed to reduce the dimensionality of the spectral variables, and the first four principal components were used as classifiers inputs. In the intractance spectroscopy condition, the SVM and KNN classifiers separated spectra obtained from powders at 3 days, 3 months, and 12 months with 100% accuracy. The ANN classifier achieved 100% accuracy in distinguishing the mentioned spectra in all preprocessing conditions under investigation, except for the raw spectra (without preprocessing). Near-infrared spectroscopy in the 936-1660 nm range, combined with chemometrics, is effective for quickly detecting the freshness of garlic powder. Considering its ease of application in both industrial and laboratory settings, intractance spectroscopy mode is superior to reflectance mode.



بهینه‌سازی ترکیب ماست همزده پروبیوتیک حاوی سویه لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 به روش سطح پاسخ

مریم پیرایش اسلامیان^۱، جواد حصاری^{۲*}، مهناز منافی دیزج یکان^۳

۱-دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۲-استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

۳- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد خوی، دانشگاه آزاد اسلامی، خوی، ایران

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	با استفاده از روش سطح پاسخ اثر سه متغیر مستقل شامل چربی (۸، ۶/۶۸، ۴/۷۵، ۲/۸۲، ۱/۵ درصد)، نمک (۱، ۰/۸۲، ۰/۵۵، ۰/۲۸، ۰/۱۰ درصد) و ماده خشک بدون چربی (SNF) (۱۵، ۱۳/۶۸، ۱۱/۷۵، ۹/۸۲، ۸/۵۰ درصد)، روی ویژگی‌های نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج ارزیابی حسی نمونه‌ها نشان داد که نمونه‌های با ترکیب (چربی ۴/۷۵، نمک ۱، SNF ۱۱/۷۵ درصد) و (چربی ۶/۶۸، نمک ۰/۸۲، SNF ۱۳/۶۸ درصد) بیشترین امتیاز را در روز اول و نمونه‌های با ترکیب (چربی ۸، نمک ۰/۵۵، SNF ۱۱/۷۵ درصد) و (چربی ۴/۷۵، نمک ۰/۵۵، SNF ۱۵ درصد) کمترین امتیاز را در روز ۲۱ کسب کردند. با توجه به نتایج حاصل از بهینه‌سازی ارزیابی حسی، ماست همزده پروبیوتیک (چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸، SNF ۱۳/۶۸ درصد) به عنوان نمونه بهینه با نمونه تهیه شده در صنعت به عنوان نمونه کنترل (چربی ۱/۴، نمک ۰، SNF ۱۰ درصد)، برای انجام آزمون میکروبی مقایسه شد. نتایج نشان داد که درصد چربی، SNF و نمک اثر معنی‌داری بر pH نمونه‌ها نداشتند اما درصد SNF و نمک و اثر متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری ($p < 0/05$) بر اسیدیته آن‌ها نشان دادند. بررسی‌های میکروبی حاکی از تأثیر معنی‌داری ترکیب، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها روی شمارش باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک بود ($p < 0/01$). کاهش در شمارش باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک در نمونه کنترل به افزایش اسیدیته نسبت داده شد. با جمع‌بندی نتایج حاصل از آزمون‌های مختلف، چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸ و SNF ۱۳/۶۸ درصد به عنوان بهترین فرمولاسیون ماست همزده پروبیوتیک معرفی می‌شود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۱۹	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲	
کلمات کلیدی:	
پروبیوتیک،	
سطح پاسخ،	
سلامت‌افزا،	
ماست همزده	
DOI: 10.22034/FSCT.22.162.278.	
* مسئول مکاتبات:	
jhesari@tabrizu.ac.ir	

۱-مقدمه

[۶]. پروبیوتیک‌ها میکروارگانیسم‌های زنده‌ای هستند که اگر در مقادیر کافی مصرف شوند اثرات سودمندی بر میزبان خواهند داشت. باور موجود در مورد اثرات مفید پروبیوتیک‌ها، بر پایه این واقعیت قرار دارد که فلور میکروبی روده نقش محافظت کننده‌ای در برابر بیماری‌های مختلف از خود نشان می‌دهد؛ اثر اصلی پروبیوتیک‌ها با تثبیت فلور میکروبی روده مشخص می‌شود [۷]. مشاهده شده است که مصرف دائم پروبیوتیک‌ها در کاهش میزان بروز بیماری‌های مختلف موثر است که این تأثیر در جمعیت‌های دارای خطر بالا (مانند کودکان بستری در بیمارستان، کودکانی که شیر مادر مصرف نمی‌کنند یا در شرایط محروم به سر می‌برند) بارزتر است. زنده‌مانی و فعالیت متابولیتی فرآورده‌های پروبیوتیک باید در تمامی مراحل فرآوری مواد غذایی از تولید تا هضم توسط مصرف‌کننده حفظ شود. تولید ماست پروبیوتیک مستلزم انتخاب درست سویه‌های میکروبی و نیز ترکیب مناسب ماده غذایی حامل به همراه به کارگیری فرایندهای سازگار با حیات سویه‌های منتخب می‌باشد [۸]. در منابع علمی جمعیت 10^6 - 10^7 تعداد کلنی در گرم، در محصول نهایی به عنوان مقادیر درمانی در مواد غذایی فرآوری شده بیان شده است. در تولید ماست پروبیوتیک عوامل مختلفی بر ویژگی‌های ارگانولپتیکی، رئولوژیکی، بافتی و ریزساختار آن از جمله، فرآیند تخمیر، نوع شیر، نوع کشت آغازگر، گونه پروبیوتیک، فرمولاسیون و غیره اثر دارند، [۹] که منجر به ایجاد محصولی مطلوب از لحاظ کیفی و متناسب با تقاضای مصرف‌کننده می‌شود. بنابراین زنده ماندن و پرگنه‌سازی در محیط روده شرط اساسی پروبیوتیک بودن است. از گونه‌های مهم پروبیوتیک‌ها می‌توان باکتری‌های جنس *لاکتوباسیلوس* مثل *لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس* و باکتری‌های جنس *بیفیدوباکتریوم* مثل *بیفیدوباکتریوم بیفیدوم* را نام برد. هرچند که محصولات لبنی بستر مناسبی برای انتقال باکتری‌های

مواد غذایی فراسودمند نوظهور باعث ایجاد تنوع در تولید محصولات غذایی شده است. این مواد علاوه بر تأمین منابع تغذیه‌ای مناسب، موجب سلامتی مصرف‌کنندگان گردیده است. امروزه بیشترین و مهمترین مواد غذایی فراسودمند پروبیوتیک‌ها، پری‌بیوتیک‌ها و سین‌بیوتیک می‌باشند. ماست محبوب‌ترین محصول تخمیری لبنی است که به عنوان مهمترین محصول تجاری پروبیوتیک در دنیا تولید و به بازار عرضه می‌شود. محصولات لبنی از جمله ماست می‌تواند نقش مهمی به عنوان حامل باکتری‌های پروبیوتیک داشته و عامل انتقال آن به مصرف‌کننده باشد [۱]. ماست از نظر محققان فرآورده لبنی تخمیری است که توسط دو میکروارگانیسم *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* از شیر تازه تهیه می‌شود [۲]. علت محبوبیت و مصرف بالای این فرآورده لبنی ارزش تغذیه‌ای (سرشار از کربوهیدرات، پروتئین، چربی، مواد معدنی و ویتامین‌ها) و اثرات سودمند باکتری‌های آغازگر آن (حفظ توازن فلور میکروبی دستگاه گوارش) و خواص درمانی از قبیل سلامتی پوست، ضد سرطان، کنترل وزن و غیره می‌باشد [۳ و ۴]. امروزه انواع مختلفی از ماست بر اساس ماهیت فیزیکی، شیمیایی و ویژگی‌های عطر و طعمی تولید می‌شوند. معمول‌ترین آن‌ها از لحاظ تجاری ماست قالبی، همزده، نوشیدنی و منجمد می‌باشند. ماست همزده به وسیله‌ی تخمیر شدن شیر و به هم زدن دلمه برای شکستن ساختار سفت ژل، جهت بدست آوردن مایع ویسکوز به دست می‌آید [۵]. ویژگی‌های فیزیکی و ساختار محصولات تخمیری همزده از قبیل ماست معیاری ضروری و مهم برای مقبولیت مصرف‌کننده است. اما با این حال با توجه به اینکه باکتری‌های آغازگر تجاری ماست توان زنده‌مانی در دستگاه گوارش و بروز خواص سودمند را نداشته، علاقه به مصرف ماست پروبیوتیک ایجاد شد

باکتری پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 (شرکت کریستین هانسن، دانمارک)، محیط کشت M17 آگار (شرکت کیولب، کانادا) و MRS آگار (شرکت لیوفلیکوم، ایتالیا)، استفاده شد.

۲-۲- روش تهیه ماست همزده پروبیوتیک

در این تحقیق برای تولید ماست همزده پروبیوتیک، شیر استانداردسازی شده با درصدهای مختلف چربی، ماده خشک بدون چربی^۲ (SNF) و نمک (جدول ۱) در دمای ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد در فشار ۲۰-۱۵ مگاپاسکال هوموژنیزه شد. سپس در دمای ۹۰-۸۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد، پس از سرد شدن تا دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد استارتر ماست YC-X11 (کشت مخلوط استرپتوکوکوس ترموفیلوس / لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس) و سوبه پروبیوتیک لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5 اضافه و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ تا ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری شد. هنگامی که pH به ۴/۶ رسید، نمونه‌ها جهت هم‌زدن از گرمخانه خارج و پس از هم‌زدن تا دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد خنک و در ظروف پلاستیکی ماست بسته‌بندی شدند و در نهایت به سردخانه با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انتقال پیدا کردند [۱۱].

پروبیوتیک به بدن انسان در نظر گرفته می‌شوند اما موانع تکنولوژیکی، مانند انتخاب سوبه‌های مناسب پروبیوتیک، مقدار نمک، نوع بسته‌بندی حضور یا عدم حضور اکسیژن، زمان رسیدن و شرایط نگهداری محصول می‌تواند کارایی تولید و استفاده از این محصولات را کاهش دهد. ویژگی‌های حسی فرآورده‌های پروبیوتیک ممکن است اثر نامطلوبی روی بازارپسندی آن بگذارد. لذا در انتخاب سوبه‌ها و فرمولاسیون ماست پروبیوتیک باید به بهبود ویژگی‌های حسی محصول توجه شود [۱۰]. هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر مقدار چربی، ماده خشک بدون چربی و درصد نمک بر ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، میکروبی و حسی ماست همزده پروبیوتیک، جهت تولید محصولی فراسودمند با کیفیت مطلوب از دید مصرف‌کننده می‌باشد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد اولیه

شیر، خامه و پودر شیرخشک بدون چربی تهیه شده از شرکت شیر پاستوریزه پگاه آذربایجان شرقی، استارتر تجاری ماست YC-X11 (کشت مخلوط استرپتوکوکوس ترموفیلوس / لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس، شرکت کریستین هانسن، دانمارک)،

Table1 Coded and actual values of the independent variables used in the central composite design

Sample	Independent variables					
	Coded values			Actual values		
	Fat	Salt	SNF	Fat	Salt	SNF
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	-1	2.82	0.28	9.82
2	0	0	0	4.75	0.55	11.75
3	0	0	0	4.75	0.55	11.75
4	0	0	+1.68	4.75	0.55	8.50
5	0	-1.68	0	4.75	1	11.75
6	-1	-1	+1	2.82	0.28	13.68
7	-1	+1	-1	2.82	0.82	9.82
8	-1.68	0	0	1.5	0.55	11.75

1. Solids-non-fat

9	+1	+1	+1	6.68	0.82	13.68
10	+1	-1	+1	6.68	0.28	13.68
11	0	-1.68	0	4.75	0.10	11.75
12	+1	-1	-1	6.68	0.28	9.82
13	+1	+1	-1	6.68	0.82	9.82
14	-1	+1	+1	2.82	0.82	13.68
15	0	0	0	4.75	0.55	11.75
16	+1.68	0	0	8	0.55	11.75
17	0	0	0	4.75	0.55	11.75
18	0	0	+1.68	4.75	0.55	15

The unit of actual values is percentage.

۲-۳- آنالیز آماری

pH نمونه‌های مختلف ماست همزده پروبیوتیک پس از ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از نگهداری با استفاده از دستگاه pH متر (نیک، آلمان) پس از کالیبره کردن، با وارد کردن مستقیم الکتروود دستگاه به داخل بافت ماست همگن شده، تعیین شد. همچنین اسیدیته با استفاده از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال در حضور فنل فتالئین اندازه‌گیری و در نهایت بر حسب درجه دورنیک بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۲۸۵۲ گزارش شد [۱۲].

۳-۱-۲- اندازه‌گیری چربی

اندازه‌گیری چربی به روش ژربر بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۶۹۵ [۱۳] صورت گرفت.

۳-۱-۳- اندازه‌گیری ماده خشک بدون چربی

برای اندازه‌گیری ماده خشک بدون چربی ابتدا میزان رطوبت شیر به روش خشک کردن آونی بر طبق استاندارد ملی ایران شماره ۶۳۷ [۱۴] اندازه‌گیری شد سپس میزان ماده خشک بدون چربی از کم کردن مقدار چربی از ماده خشک کل بدست آمده از میزان رطوبت محاسبه شد.

۳-۲- آزمایش‌های میکروبی

۳-۲-۱- شمارش باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک

شمارش باکتری‌های آغازگر تجاری ماست (استرپتوکوکوس ترموفیلوس، لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه‌ی بولگاریکوس)، و پروبیوتیک (لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس) در فواصل زمانی ۱، ۱۴ و

برای تعیین مقادیر بهینه اجزاء در فرمولاسیون ماست همزده پروبیوتیک از روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با ۱۸ تیمار و ۴ تکرار در نقطه مرکزی (تعیین خطای آزمایش) استفاده شد. اثر سه متغیر مستقل شامل درصد چربی (۸، ۶/۶۸، ۴/۷۵، ۲/۸۲، ۱/۵ درصد)، نمک (۱، ۰/۸۲، ۰/۵۵، ۰/۲۸، ۰/۱۰ درصد) و ماده خشک بدون چربی (۱۵، ۱۳/۶۸، ۱۱/۷۵، ۹/۸۲، ۸/۵۰ درصد)، روی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و حسی نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک مورد ارزیابی قرار گرفت (طبق جدول ۱). برای بررسی مدل و انتخاب فرمول بهینه از پاسخ ارزیابی حسی استفاده و تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار Design-Expert 7.0.0 انجام شد. در مرحله دوم نمونه ماست با ترکیب بهینه (چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸، SNF ۱۳/۶۸ درصد) از لحاظ ویژگی‌های میکروبی با نمونه ماست همزده صنعتی (چربی ۱/۴، نمک ۰، SNF ۱۰ درصد)، به عنوان نمونه کنترل با استفاده از طرح فاکتوریل مقایسه شد و تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 16 انجام گرفت.

۳- آزمایش‌ها

۳-۱- آزمایش‌های فیزیکی شیمیایی

۳-۱-۱- اندازه‌گیری pH و اسیدیته

۵- نتایج و بحث

۵-۱- pH و اسیدیته

بر اساس نتایج مدل رگرسیون و تجزیه واریانس اثر درصد چربی، نمک و SNF برای تغییرات pH و اسیدیته در طی مدت نگهداری ۲۱ روز تنها اثر متقابل SNF و نمک در روز ۱۴ معنی‌دار ($p < 0.05$) بود. مقدار بالای R^2 (۰.۸۶/۰.۴۹) (درصد) در این روز نشان می‌دهد که مدل رگرسیونی توانسته رابطه بین متغیرهای مستقل و وابسته را نشان داده و پیش‌بینی کند. همچنین تمامی اثرات بر تغییرات pH بی‌معنی بود. شکل ۱ تأثیر متقابل SNF و نمک را روی تغییرات اسیدیته نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود، با افزایش SNF مقدار اسیدیته افزایش پیدا کرد. عامل کاهش pH طی دوره نگهداری، تخمیر مداوم لاکتوز به وسیله باکتری‌های اسید لاکتیک می‌باشد. در مورد نمک نیز چنین اثری مشاهده می‌شود اما این اثر نسبت به SNF کمتر است. به نظر می‌رسد که افزایش محتوی SNF باعث افزایش حالت بافری که فاکتور اصلی مؤثر در تغییرات pH فرآورده‌های لبنی است [۱۸] و توسعه اسید اضافی توسط کشت آغازگر برای دست‌یابی به pH مورد نظر می‌شود. همچنین گزارش شده که نوع میکروارگانیسم‌های مورد استفاده، دما و زمان رسیدن تأثیر متقابلی بر توسعه اسیدیته دارد. به نظر می‌رسد با توجه به اینکه در تولید نمونه‌های ماست در این پژوهش سویه‌های پروبیوتیک به همراه کشت آغازگر تجاری بطور همزمان مورد استفاده قرار گرفته‌اند لذا اثر تخمیری آن‌ها روی لاکتوز و تولید اسید لاکتیک در نمونه‌های ماست پروبیوتیک بیشتر از نمونه کنترل بود. این نتیجه با نتایج حاصل از آزمایش‌های برخی محققان مطابقت داشت [۱۹].

۲۱ روز نگهداری انجام پذیرفت. استرپتوکوکوس ترموفیلوس در محیط M17 آگار و لاکتوباسیلوس دلبروکی زیرگونه بولگاریکوس در محیط MRS آگار به روش پورپلیت کشت داده شدند و به ترتیب تحت شرایط هوازی و بی‌هوازی به مدت ۷۲ و ۴۸ ساعت در دمای ۴۲-۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند. برای شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس از محیط کشت MRS آگار حاوی کلیندامایسین و سیپروفلوکساسین استفاده شد و به روش پورپلیت کشت داده شد و در شرایط بی‌هوازی توسط گازپک به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴۲-۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شد. پلیت‌های حاوی ۳۰-۳۰۰ کلنی شمارش گردید [۱۵ و ۱۶].

۴- ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های ماست همزده

پروبیوتیک

ارزیابی ویژگی‌های حسی شامل رنگ ماست، ویژگی‌های بافتی (قوام و احساس دهانی بافت)، ویژگی‌های عطر و طعمی، طعم کهنگی و کپک‌زدگی و ارزیابی کلی ماست همزده پروبیوتیک با استفاده از ۱۵ ارزیاب حسی در ۱، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز پس از تولید و به روش هدونیک ۵ نقطه‌ای انجام گرفت [۱۷]. برای این منظور نمونه‌ها پس از کدگذاری، به همراه فرم نظرخواهی که در آن برای درجه‌بندی کیفیت از امتیاز ۵ برای کیفیت مطلوب و از امتیاز ۱ برای کیفیت نامطلوب استفاده شد، به افراد ارزیاب داده شد. به منظور دستیابی به نتایج صحیح، نمونه‌ها قبل از ارزیابی به دمای محیط رسانده شد و در فاصله ارزیابی هر یک از نمونه‌ها آب در اختیار ارزیاب‌ها قرار گرفت.

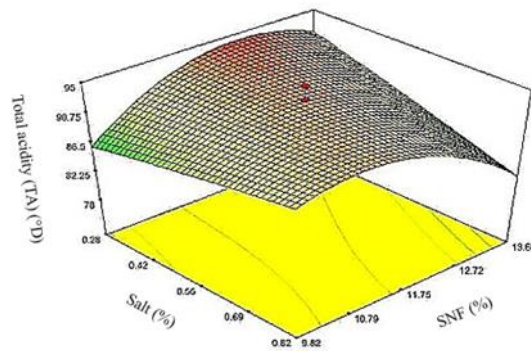


Figure 1 Three-dimensional response level of acidity versus SNF and salt percentage on day 14.

۲-۵- ارزیابی ویژگی‌های حسی

نتایج حاصل از ارزیابی رنگ نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک نشان داد که با افزایش درصد چربی و SNF کمترین امتیاز (۳/۲۷) به رنگ داده شده است، که نشان می‌دهد افزایش درصد چربی اثر منفی بر آن دارد. همچنین با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای رنگ اثر متقابل متغیرهای مستقل در طی ۲۱ روز معنی‌دار نمی‌باشد (جدول ۲).

تبادل ترکیبات طعمی در محصولات غذایی به صورت وسیعی مقبولیت کلی آن‌ها را تعیین می‌کند که عموماً توسط مصرف‌کننده قابل درک می‌باشد. لذا با توجه به اهمیت ویژگی‌های حسی، بررسی و شناخت فاکتورهای مؤثر بر آن‌ها برای دستیابی به ویژگی‌های حسی مطلوب ضروری است [۲۰].

۲-۵-۱- رنگ

Table 2 The results of variance analysis of the appearance properties of probiotic stirred yogurt samples during storage time

Source	Sum of Squares (SS)			
	Storage time (Day)			
	1	7	14	21
Model	2.97 ^{ns}	0.8 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.88 ^{ns}
X ₁	0.43 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.10 ^{ns}
X ₂	0.038 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.11 ^{ns}
X ₃	0.29 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.00 ^{ns}
X ₁ X ₂	0.16 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.05 ^{ns}
X ₁ X ₃	0.067 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.03 ^{ns}	0.03 ^{ns}
X ₂ X ₃	1.12 ^{ns}	0.06 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.53 ^{ns}
X ₁ ²	0.57 ^{ns}	0.28 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.07 ^{ns}
X ₂ ²	0.59 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.02 ^{ns}
X ₃ ²	0.15 ^{ns}	0.02 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}
Residual	2.57 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.092 ^{ns}	0.46 ^{ns}
Lack of fit	1.95 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.016 ^{ns}	0.1 ^{ns}
Pure error	0.62 ^{ns}	0.09 ^{ns}	0.08 ^{ns}	0.36 ^{ns}
Linear	4.15 ^{ns}	0.85 ^{ns}	0.26 ^{ns}	0.78 ^{ns}

Intraction	2.8 ^{ns}	0.58 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.18 ^{ns}
Quadratic	1.95 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.016 ^{ns}	0.1 ^{ns}
Total	5.54 ^{ns}	1 ^{ns}	0.43 ^{ns}	0.35 ^{ns}
R ²	0.5363	0.7964	0.8236	0.6564

Ns shows non-significance.

چربی و نمک، (ب) چربی و SNF را روی مطلوبیت قوام نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۲ (الف) ملاحظه می‌گردد با افزایش درصد چربی و نمک قوام نیز افزایش پیدا کرده است. شکل ۲ (ب) نیز بیانگر این است که در مقادیر متوسط چربی و SNF قوام افزایش یافته است. با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای ویژگی‌های بافتی (احساس دهانی بافت) تأثیر متقابل نمک و SNF در سطح ۰/۰۵ در روز ۷ معنی‌دار بود. شکل ۳ تأثیر متقابل نمک و SNF را روی مطلوبیت احساس دهانی بافت نشان می‌دهد. همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود با افزایش درصد نمک و SNF احساس دهانی بافت امتیاز بالایی را کسب کرده است.

۵-۲-۲- ویژگی‌های بافتی

نتایج ارزیابی ویژگی‌های بافتی (قوام و احساس دهانی بافت) نشان داد که با افزایش درصد چربی و SNF به ترتیب بیشترین امتیاز (۴/۵۳)، (۴) به این ویژگی‌ها داده شده است و بدیهی است که با افزایش این دو متغیر پایداری، ویسکوزیته، سفتی و احساس دهانی نمونه‌ها بیشتر می‌شود. با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای ویژگی‌های بافتی (قوام) تأثیر متقابل چربی و نمک در سطح ۰/۰۱ و چربی و SNF در روز ۲۱ معنی‌دار ($p < 0.05$) می‌باشد. شکل ۲ (الف) تأثیر متقابل

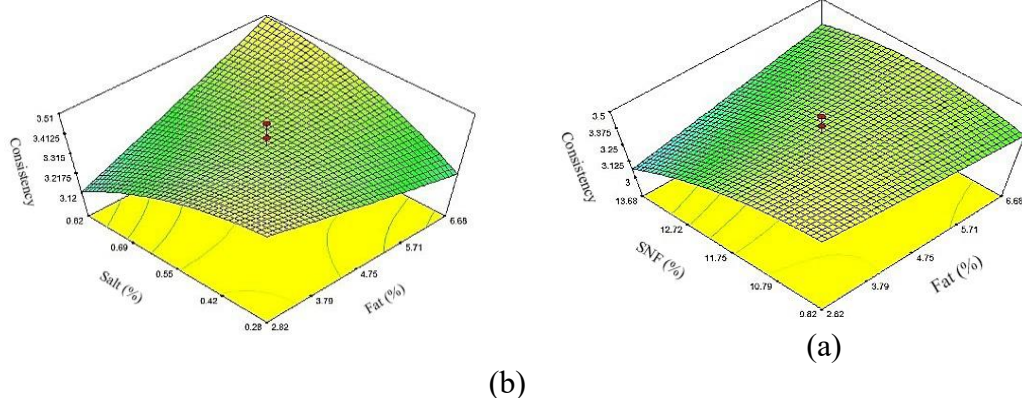


Figure 2 Three-dimensional response level of consistency versus fat and salt percentage (a), fat and SNF percentage (b) on day 21.

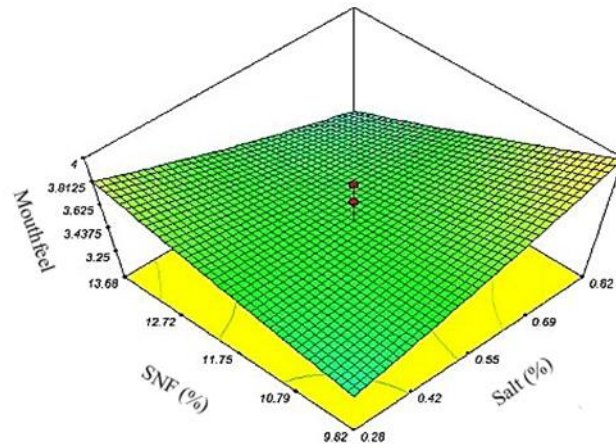


Figure 3 Three-dimensional response level of texture mouthfeel versus SNF and salt percentage on day 7.

را روی مطلوبیت عطر و طعم نشان می‌دهد. با توجه به شکل، زمانی که چربی در مقادیر کم و نمک در مقادیر بالا است، عطر و طعم امتیاز بالایی را کسب کرده است. نتایج ارزیابی طعم کهنگی و کپک‌زدگی نیز نشان داد که با افزایش درصد چربی و SNF و با گذشت زمان این ویژگی کمترین امتیاز (۲/۶۰) را کسب کرده است. با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای طعم کهنگی و کپک‌زدگی اثر متقابل متغیرهای مستقل در طی ۲۱ روز معنی‌دار نمی‌باشد.

۵-۲-۳- ویژگی‌های عطر و طعمی

نتایج ارزیابی ویژگی‌های عطر و طعمی نشان داد که با افزایش درصد SNF و در نتیجه افزایش اسیدیته ناشی از فعالیت باکتری‌های آغازگر عطر و طعم با گذشت زمان و به ویژه در روز ۲۱ کمترین امتیاز (۳) را کسب کرده است. با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای عطر و طعم، تأثیر متقابل چربی و نمک در سطح ۰/۰۰۱ در روز ۷ معنی‌دار می‌باشد. شکل ۴ تأثیر متقابل چربی و نمک

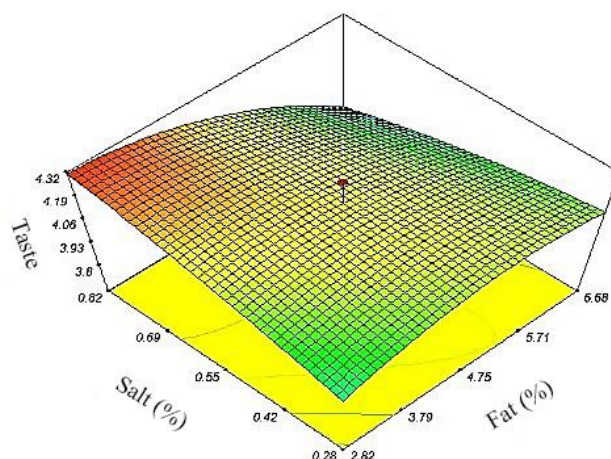


Figure 4 Three-dimensional response level of taste versus fat and salt percentage on day 7.

۵-۲-۴- ارزیابی کلی

۰/۰۵ در روز ۱ معنی‌دار بود. شکل ۵ (الف) تأثیر متقابل چربی و نمک، (ب) نمک و SNF را روی ارزیابی کلی نشان می‌دهد. همان‌طور که ملاحظه می‌گردد با افزایش درصد چربی و نمک ارزیابی کلی نیز افزایش پیدا می‌کند. در شکل ۵ (ب) نیز مشاهده می‌شود که در حالی که نمک در مقادیر پایین و SNF در مقادیر بالا باشد، امتیاز کلی بالا است.

نتایج حاصل از ارزیابی کلی حاکی از آن است که افزایش چربی تا ۸ درصد و SNF تا ۱۵ درصد و نمک تا ۱ درصد قابل قبول بود و بیش از این مقادیر، مقبولیت کلی محصول کاهش پیدا می‌کند. با توجه به نتایج مدل رگرسیون و آنالیز واریانس برای ارزیابی کلی، تأثیر متقابل چربی و نمک در سطح ۰/۰۱ و نمک و SNF در سطح

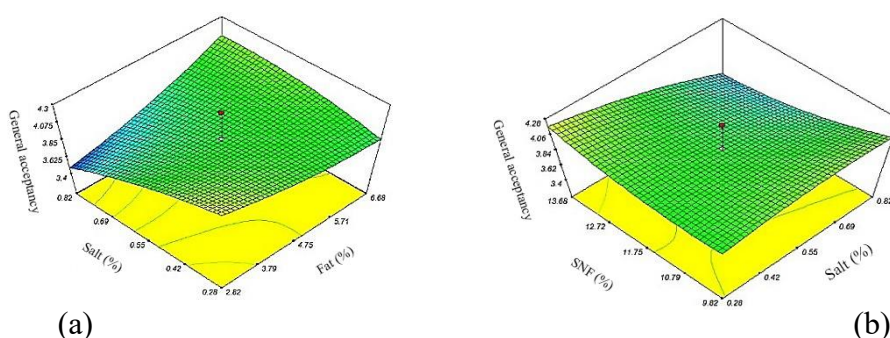


Figure 5 Three-dimensional response level of general acceptance versus fat and salt percentage (a), salt and SNF percentage (b) on day 1.

کپک‌زدگی و ارزیابی کلی با درجه اهمیت متفاوت که مقبولیت ماست همزده پروبیوتیک را تحت تأثیر قرار می‌دهند، تعیین شدند. معیارهای مورد استفاده و نقطه بهینه تعیین شده در جدول ۳ آورده شده‌اند.

۵-۳- بهینه‌سازی

جهت بهینه‌سازی سطوح متغیرهای مستقل، پاسخ‌ها از قبیل رنگ، قوام، احساس دهانی بافت، عطر و طعم، کهنگی و

Table 3 Criteria for optimizing process condition along with responses

Limitation	Target	Lower limit	Upper limit	Importance	Solution
Fat	In range	2.82	6.68	3	5.45
Salt	In range	0.28	0.82	3	0.28
SNF	Maximize	9.82	13.68	3	13.68
Color	In range	3.86	4.73	3	4.50
Consistency	Maximize	2.9	4.46	3	3.79
Mouthfeel	Maximize	2.9	4.46	3	4.01
Taste	In range	3.6	4.6	3	4.14
Old and musty taste	In range	4.06	4.8	3	4.24
General acceptance	In range	3.4	4.5	3	4.13

۵-۴- مقایسه نمونه ماست با ترکیب بهینه با ماست همزده کنترل از لحاظ ویژگی‌های میکروبی

۵-۴-۱- تأثیر ترکیب و زمان نگهداری بر شمارش *استرپتوکوکوس ترموفیلوس*

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که ترکیب، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل آن‌ها اثر معنی‌داری روی شمارش *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* دارد. ($p < 0.01$) جدول ۴ اثر ترکیب و زمان را روی شمارش *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* در نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک نشان می‌دهد. با

توجه به جدول روند کاهشی در طی زمان وجود دارد. همچنین بیشترین میزان شمارش باکتری *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* مربوط به نمونه بهینه (چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸، SNF ۱۳/۶۸ درصد) و کنترل (چربی ۱/۴، نمک ۰، SNF ۱۰ درصد) در روز اول و کمترین آن مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۱ام می‌باشد. جنس *استرپتوکوکوس* نسبت به جنس *لاکتوباسیلوس* به افزایش اسیدیته حساستر بوده و رشد و تکثیر آن در محیط اسیدی بیشتر کاهش می‌یابد [۲۱]. بنابراین احتمالاً با افزایش اسیدیته در نمونه کنترل در روز ۲۱ و حساسیت بالای *استرپتوکوکوس* تعداد آن کاهش پیدا کرده است.

Table 4 Effect of composition and time on *Streptococcus thermophiles* count

Sample	<i>Streptococcus thermophiles</i> count during storage (Log cfu/ml)		
	Storage time (day)		
	1	14	21
Control	7.62 ± 0.07 ^a	7 ± 0.10 ^{ab}	5 ± 0.06 ^c
Optimum	7.60 ± 0.11 ^a	7.07 ± 0.16 ^b	7.09 ± 0.43 ^b

Non-identical Latin letters indicate a significant difference ($p < 0.05$).

شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* مربوط به نمونه بهینه (چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸، SNF ۱۳/۶۸ درصد) در روز اول و کمترین آن مربوط به نمونه بهینه و کنترل (چربی ۱/۴، نمک ۰، SNF ۱۰ درصد) در روز ۲۱ام بود. کاهش تعداد باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در نمونه کنترل نسبت به نمونه بهینه احتمالاً به علت افزایش اسیدیته در این نمونه باشد که ممکن است موجب ممانعت از رشد و فعالیت باکتری *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* شود.

۵-۴-۲- تأثیر ترکیب و زمان نگهداری بر شمارش *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس*

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که نوع ترکیب و مدت زمان نگهداری ($p < 0.01$) و اثر متقابل آن‌ها ($p < 0.05$) اثر معنی‌داری روی شمارش *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* دارد. جدول ۵ اثر ترکیب و زمان را روی شمارش *لاکتوباسیلوس بولگاریکوس* در نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک نشان می‌دهد. با توجه به جدول بیشترین میزان

Table 5. Effect of composition and time on *Lactobacillus bulgaricus* count

Sample	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> count during storage (Log cfu/ml)		
	Storage time (day)		
	1	14	21
Control	7.39 ± 0.06 ^b	6.97 ± 0.09 ^c	6.45 ± 0.10 ^d
Optimum	7.77 ± 0.13 ^a	7.73 ± 0.14 ^a	6.56 ± 0.22 ^d

Non-identical Latin letters indicate a significant difference ($p < 0.05$).

۵-۴-۳- تأثیر ترکیب و زمان نگهداری بر شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس LA5

نتایج آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که نوع ترکیب و مدت زمان نگهداری ($p < 0.01$) و اثر متقابل آن‌ها دارای اثر معنی‌داری روی شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس می‌باشد ($p \leq 0.05$). جدول ۶ اثر ترکیب و زمان را روی شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس در نمونه‌های ماست همزده پروبیوتیک نشان می‌دهد. با توجه به جدول بیشترین میزان شمارش باکتری لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس مربوط به نمونه بهینه (چربی ۵/۴۵٪، نمک ۰/۲۸، SNF ۱۳/۶۸ درصد) در روز اول و کمترین آن مربوط به نمونه کنترل (چربی ۱/۴، نمک ۰، SNF ۱۰ درصد) در روز ۲۱ام می‌باشد. در ماست کم‌چرب افزایش اسیدیته در طول مدت نگهداری ممکن است برای پروبیوتیک‌ها مضر باشد و منجر به کاهش زنده‌مانی آن‌ها در مقایسه با ماست پرچرب شود که در تطابق با یافته‌های سایر محققان می‌باشد [۲۲-۲۳ و ۲۴]. تغییر در غلظت‌های نمک در محصولات لبنی غشای سلولی باکتری‌ها را تحت تأثیر قرار داده و منجر به کاهش رشد و فعالیت آن‌ها می‌شود. با این وجود مطالعات اندکی درباره‌ی آسیب توسط نمک به باکتری‌های

پروبیوتیک وجود دارند. برطبق مطالعات شاه و گاندهی^۳ (۲۰۱۵) که اثر نمک را بر زنده‌مانی و نفوذپذیری غشای سلولی لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدوباکتریوم لانگوم با تکنیک فلوسیتومتری بررسی کردند، در غلظت‌های بالای ۳/۵ درصد لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس مقاوم است. لذا در این تحقیق احتمالاً نمک اثر معنی‌داری در شمارش لاکتوباسیلوس/اسیدوفیلوس ندارد. همچنین تکنیک مرسوم شمارش در پلیت فقط کاهش رشد سلول را نشان می‌دهد و اطلاعات دقیقی از فعالیت متابولیکی، درجه آسیب و سلامت سلول ارائه نمی‌دهد. عمده‌تاً، تعداد باکتری‌های تلقیح شده در محصول باید طوری باشد که هنگام مصرف محصول تعداد آن‌ها در حداکثر خود باشد تا مزایای مورد نظر از مصرف محصولات پروبیوتیک تأمین گردد [۲۵]. برای تأمین حداکثر مزایای پروبیوتیکی، تعداد باکتری‌های پروبیوتیک در یک محصول لبنی هنگام مصرف باید حداقل 10^6 CFU/gr باشد و این محصول لبنی باید بطور منظم روزانه تا ۱۰۰ گرم مصرف شود [۲۶].

Table 6. Effect of composition and time on *Lactobacillus acidophilus* count

Sample	<i>Lactobacillus acidophilus</i> count during storage (Log cfu/ml)		
	Storage time (day)		
	1	14	21
Control	6.94 ± 0.67^b	6.87 ± 0.13^{ab}	4.72 ± 0.17^c
Optimum	7.36 ± 0.05^a	7.26 ± 0.16^b	6.42 ± 0.05^b

Non-identical Latin letters indicate a significant difference ($p < 0.05$).

ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی ماست همزده پروبیوتیک شامل اسیدیته معنی‌دار بود. نتایج ارزیابی کلی از لحاظ رنگ، ویژگی‌های بافتی و عطر و طعمی نمونه‌های ماست همزده‌ی پروبیوتیک نشان داد که از نظر مصرف‌کنندگان

۶- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی، میکروبی و حسی ماست‌های همزده پروبیوتیک تولید شده نشان داد که درصد نمک و SNF و اثر متقابل آن‌ها روی برخی از

باشد. در این تحقیق نمک اثر معنی‌داری در شمارش *لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس* نداشت چرا که این باکتری تا غلظت‌های ۳/۵ درصد نمک مقاوم است. با توجه به محبوبیت محصولات پروبیوتیک به ویژه ماست، به دلیل دارا بودن اثرات سلامت‌بخش و خواص درمانی برای مصرف‌کننده از جمله کنترل عفونت‌های روده‌ای، بهبود عدم تحمل به لاکتوز، فعالیت ضدسرطانی، تأثیر بر دیابت و غیره و همچنین با جمع‌بندی نتایج حاصل از آزمون‌های مختلف، ماست حاوی (چربی ۵/۴۵، نمک ۰/۲۸ SNF ۱۳/۶۸ درصد) به عنوان بهترین فرمولاسیون ماست همزده پروبیوتیک معرفی می‌گردد.

۷- سپاسگزاری

نویسندگان مراتب سپاس و قدردانی خود را از مدیریت و کارکنان شرکت پگاه تبریز به دلیل همکاری‌های ارزنده در انجام و ارتقای کیفی این پژوهش اعلام می‌دارند.

نمونه‌های با ترکیب (چربی ۴/۷۵، نمک ۱، SNF ۱۱/۷۵ درصد) و (چربی ۶/۶۸، نمک ۰/۸۲، SNF ۱۳/۶۸ درصد) بیشترین امتیاز را در روز اول و نمونه‌های با ترکیب (چربی ۸، نمک ۰/۵۵، SNF ۱۱/۷۵ درصد) و (چربی ۴/۷۵، نمک ۰/۵۵، SNF ۱۵ درصد) کمترین امتیاز را در روز ۲۱ کسب کردند. در مجموع نمونه‌های با درصد چربی ۴/۷۵ تا ۶/۶۸ و درصد SNF ۱۱/۷۵ تا ۱۳/۶۸ و درصد بالای نمک بیشتر مورد پسند واقع شدند. نتایج حاصل از مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که نوع ترکیب، مدت زمان نگهداری و اثر متقابل این فاکتورها اثر معنی‌داری روی شمارش باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک دارد. به طور کلی در نمونه کنترل و نمونه بهینه در مدت زمان نگهداری ۲۱ روز، روند کاهشی در شمارش باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترموفیلوس* و *لاکتوباسیلوس دلبروکی*، همچنین شمارش باکتری *لاکتوباسیلوس/سیدوفیلوس* به علت افزایش اسیدیته مشاهده شد. کاهش در شمارش باکتری‌های آغازگر و پروبیوتیک در نمونه کنترل در مقایسه با نمونه بهینه می‌تواند به دلیل افزایش اسیدیته در این نمونه

۸- منابع

- [1] Siró, I., Kápolna, E., Kápolna, B., & Lugasi, A. (2008). Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance a review. *Appetite*, 51(3), 456-467.
- [2] Tamime, A.Y., & Robinson, R.K. (2007). *Yoghurt: Science and technology*, (1-772). Cambridge: England.
- [3] Davoodi, H., Esmaeili, S., & Mortazavian, A.M. (2013). Effects of milk and milk products consumption on cancer: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 12(3), 249-264.
- [4] Hassan, A., & Amjad, I. (2010). Nutritional Evaluation of yoghurt prepared by different starter cultures and their physiochemical analysis during storage. *African Journal of Biotechnology*, 9(20), 2913-2917.
- [5] Tamime, A.Y., & Deeth, H.C. (1980). Yoghurt: technology and biochemistry. *Journal of Food Protection*, 43(12), 939-977.
- [6] Gilliland, S. E. (1979). Beneficial inter-relationships between certain microorganisms and humans: Candidate microorganisms for use as dietary adjuncts. *Journal of Food Protection*, 42(2), 164-167.
- [7] Akalin, A.S., Fenderya, S., & Akbulut, N. (2004). Viability and activity of bifidobacteria in yoghurt containing fructooligosaccharide during refrigerated storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 39(6), 613-621.
- [8] Nyanzi, R., Jooste, P.J., & Buys, E.M., (2021). Invited review: Probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects. *Journal of Dairy Science*, 104(1), 1-19.
- [9] Shah, N. (2017). *Yogurt in Health and Disease Prevention*. United Kingdom: London.
- [10] Hekmat, S., & Reid, G., (2006). Sensory properties of probiotic yogurt is comparable to standard yogurt. *Nutrition research*, 26(4), 163-166.
- [11] Heller, K.J. (2001). Probiotic bacteria in fermented foods: Product characteristics and starter organisms. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(2), 374S-9S.

- [12] Iran National Standard Organisation. (2006). Milk and milk products-Determination of titrable acidity and value pH- Test method. 2852. First edition. In Persian.
- [13] Iran National Standard Organisation. (2008). Yogurt- Specifications and test methods. 695. 4th Revision. In Persian.
- [14] Iran National Standard Organisation. (1970). Determination of solid-non-fat of milk. 637. First edition. In Persian.
- [15] Iran National Standard Organisation. (2005). Yogurt- Enumeration of characteristic microorganisms- Colony count technique at 37 C. 7714. First edition. In Persian.
- [16] Iran National Standard Organisation. (2008). Milk products- Enumeration of presumptive *Lactobacillus acidophilus* on a selective medium- Colony-count technique at 37 C. 9616. First edition. In Persian.
- [17] International standard. (2009). Milk and milk products-sensory analysis-recommended methods for sensory evaluation. First edition. Iso 22935-2. In Persian.
- [18] Salaun F., Mietton B., & Gaucheron F. (2005). Buffering capacity of dairy products. International Dairy Journal, 15(2). 95-109.
- [19] Lee, W. J. A., & Lucey, J. A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. Asian-Aust. Journal of Animal Science, 23(9), 1127 – 1136.
- [20] Aziznia, S., Khosrowshahi, A., Madadlou, A., & Rahimi, J. (2008). Whey protein concentrates and gum tragacanth as fat replacers in non-fat yogurt: Chemical, physical and microstructural properties. Journal of Dairy Science, 91(7), 2545-2552.
- [21] Senaka ranadheera, C., Evans, C.A., Adams, M.C., & Baines, S.K. (2012). Probiotic viability and physicochemical and sensory properties of plain and stirred fruit yogurts made from goat's milk. Food Chemistry, 135(3), 1411-1418.
- [22] Dave, R.I., & Shah, N.P. (1997a). Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7(8-9), 537–545.
- [23] Dave, R. I., & Shah, N. P. (1997b). Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal, 7(1), 31–41.
- [24] Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhardt, S., & Reinheimer, J. A. (2002). Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. International Dairy Journal, 12(7), 579–58.
- [25] Song, M., Park, W. S., Yoo, J., Han, G., Kim, B., Seong, P., Oh, M., Kim, K., & Jam, J. (2017). Characteristics of Kwark cheese supplemented with *Bifidobacterium longum* KACC 91563. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 37 (5), 773-779.
- [26] Boylston, T.D., Vinderola, C.G., Ghoddusi, H.B. & Reinheimer, J.A. (2004). Incorporation of bifidobacteria into cheeses: Challenges and rewards. International Dairy Journal, 14(5), 375-387.



Scientific Research

Optimization of composition of probiotic stirred yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* LA5 by response surface methodology

Maryam Pirayesh Eslamian¹, Javad Hesari^{2*}, Mahnaz Manafi Dizaj yekan³

1-MSc Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2- Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran

3-Assitant Professor, Department of Food Science and Technology, Khoy Branch, Islamic Azad University, Khoy, Iran.

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Article History: Received:2024/12/9 Accepted:2025/1/21 Keywords: Stirred Yogurt, Functional, Probiotic, Response surface. DOI: 10.22034/FSCT.22.162.278. *Corresponding Author E- jhesari@tabrizu.ac.ir	Response surface methodology was applied to investigate the effect of three independent variables, including fat (8, 6.68, 4.75, 2.82, 1.5%), salt (1, 0.82, 0.55, 0.28, 0.10%) and solids-non-fat (SNF) (15, 13.68, 11.75, 9.82, 8.50%) on the probiotic stirred yogurt. The results of organoleptic evaluation showed that samples with composition of 4.75% fat, 1% salt, 11.75% SNF and 6.68% fat, 0.82% salt, 13.68% SNF obtained the highest score at the first day and samples with composition of 8 fat, 0.55 salt, 11.75% SNF and 4.75 fat, 0.55 salt, 15% SNF had the lowest score on the 21st day. According to the results of sensory evaluation, probiotic yogurt with composition of 5.45 fat, 0.28 salt, 13.68% SNF was selected as optimum sample and compared to commercial stirred yogurt (1.4 fat, 0 salt, 10% SNF) as control sample with respect to microbial characteristics. Statistical analysis showed that the percentage of fat, SNF and salt had no significant effect on pH of samples, but the SNF and salt and their interaction had a significant ($p<0.05$) effect on acidity. The results of microbial analysis showed that composition, storage time and interaction of them had a significant ($p<0.01$) effect on bacterial and probiotic count. Decreasing in the number of starter and probiotic bacteria in the control sample was due to an increase in the acidity. Finally, 5.45 fat, 0.28 salt and 13.68% SNF is introduced as the best probiotic stirred yogurt formulation.



ترکیبات شیمیایی و خاصیت ضدقارچی اسانس زردچوبه (*Curcuma longa* L.)

نوشین جعفری نژاد^۱، حسن برزگر^{۲*}، محمدمین مهرنیا^۲، حسین جوینده^۳، محمد حجتی^۳

۱، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۲، دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

۳، استاد، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران

اطلاعات مقاله

چکیده

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۲۹

کلمات کلیدی:

عامل ضدقارچی،

ترکیبات شیمیایی،

اسانس زردچوبه

با افزایش تقاضای مصرف کنندگان جهت استفاده از محصولات غذایی فاقد نگهدارنده های شیمیایی استفاده از گیاهان دارویی و معطر با پتانسیل ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی بالا با تاثیر بر خواص شیمیایی محصولات غذایی رونق فزاینده ای را دارا بوده اند؛ بنابراین، در این پژوهش ترکیبات شیمیایی، میزان فنل و فلاونوئید کل اسانس زردچوبه مورد بررسی قرار گرفت، همچنین، خاصیت آنتی اکسیدانی با استفاده از آزمون های ABTS و DPPH و خاصیت ضدقارچی اسانس با استفاده از آزمون های دیسک دیفیوژن، چاهک آگار و تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی شد. نتایج حاصل از آزمون کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی نشان داد که β -Tumerone با میزان ۴۳/۴۳٪ ترکیب شاخص این اسانس بود. میزان ترکیبات فنول کل این اسانس ۱۳۰/۰۵۳ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم و میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل آن برابر با ۶۲۴/۵ میلی گرم گالیک اسید در هر گرم کوثرستین مشاهده شد. میزان قابلیت ضدقارچی اسانس زردچوبه بر پنج گونه ی قارچی *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس فامیگاتوس*، *پنسیلیوم ایتالیکوم*، *پنسیلیوم دیجیتاتوم* و *کاندیدا آلبیکنز* مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان دهنده ی توانایی خوب اسانس در مهار گونه ی *کاندیدا آلبیکنز* بوده است. باتوجه به نتایج به دست آمده، اسانس زردچوبه را می توان به عنوان یک ماده ی نگهدارنده ی طبیعی جایگزین مناسب برای نگهدارنده های شیمیایی دانست.

DOI:10.22034/FSCT.22.162.292.

* مسئول مکاتبات:

hbarzegar@asnruk.ac.ir

۱-مقدمه

یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده اختلال در سلامت افراد جامعه و مشکلات اقتصادی را می توان آلودگی های سمی حاصل از قارچ ها دانست؛ حدود ۲۵ درصد از کل غلات مصرف شده در جهان دچار آلودگی های قارچی می شوند که می توانند زیان های مخربی را به وجود آورند. در میان انواع گونه های قارچی آلوده کننده مواد غذایی، برخی دارای شیوع و پراکندگی بیشتر، قدرت تخریب بالاتر و مقاومت بیشتر در برابر عوامل ضد قارچی می باشند؛ از جمله این گونه ها می توان به آسپرژیلوس ها و پنسیلیوم ها اشاره نمود [۱].

آسپرژیلوس ها از گروه قارچ های رشته ای بوده که به عنوان عفونت زهای فرصت طلب به شمار می روند، آنها رایج ترین عامل تولید کننده مایکوتوکسین در طیف وسیعی از مواد غذایی می باشند. آفاتوکسین ها، متابولیت های ثانویه ای هستند که توسط گونه های مختلف آسپرژیلوس ایجاد می شوند، این ترکیبات، جهش زا و سمی بوده و نقش عمده ای را در آلودگی کبدی ایفا میکنند و در رتبه ی یک عوامل ایجاد کننده ی انواع سرطان ها قرار دارند [۲].

امروزه از نگهدارنده های مصنوعی برای کنترل میزان فعالیت قارچ ها به وفور استفاده می گردد، به دلیل اثرات طولانی مدت این نگهدارنده ها بر سلامت افراد جامعه و افزایش مقاومت های دارویی، این اقدام با نارضایتی های فراوانی مواجه شده است؛ این عامل سبب شده تا گرایش ها به استفاده از ترکیبات طبیعی جهت کنترل اثرات مخرب قارچ ها افزایش یابد. یکی از راه های افزایش میزان ماندگاری مواد غذایی، استفاده از افزودنی ها و ترکیبات نگهدارنده ی طبیعی مانند اسانس ها و عصاره ها می باشد، این ترکیبات می توانند از کاهش کیفیت مواد غذایی

جلوگیری و سبب افزایش عمر مفید محصولات غذایی شوند [۳].

اسانس ها مخلوط های پیچیده ای از ترکیبات آلی فرار هستند، این ترکیبات دارای خواص بیولوژیکی و سلامت زایی فراوان می باشند؛ از جمله کاربردهای اسانس ها در صنایع مختلف می توان به ایجاد عطر و طعم در صنعت غذا، استفاده در صنایع آرایشی و بهداشتی و دارویی اشاره نمود [۴].

زردچوبه با نام علمی *Curcuma longa L* از خانواده ی زنجبیل سانان بوده که از ۵۳ جنس و ۱۳۰۰ گونه ی مختلف تشکیل شده است [۵]. این گونه، منبع غنی از ترکیبات شیمیایی مختلف از جمله آلکانوئیدها، پروتئین ها، کربوهیدرات ها، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، ساپونین ها، تری ترپنوئیدها، استرها و آدرین هپتانوئیدها می باشد [۶].

گیاهان این گونه اغلب برای تولید اسانس مورد استفاده قرار می گیرند، این ترکیبات غنی از مونو ترپن ها و سسکو ترپن ها هستند که دارای خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد قارچی بوده اند [۷]. دیاریل هپتانوئیدهای موجود درون زردچوبه ترکیباتی فنولی با میزان جذب خوراکی کم می باشند، علاوه بر ترکیبات بیان شده، ۶۰-۷۰ درصد ترکیب اصلی زرد چوبه را دیفرولویل متان^۱ یا رنگ دانه ی زرد کورکومین با فرمول $C_{12}H_{20}O_6$ تشکیل می دهد، کورکومین خود از سه زیر مجموعه ی کورکومین، د متوکسی کورکومین و بیس د متوکسی کورکومین تشکیل شده است که این ماده دارای ماهیت پلی فنولی می باشد [۸].

هدف از انجام این پژوهش سنجش میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی کل موجود در اسانس زردچوبه و بررسی میزان خاصیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد ABTS و DPPH بوده است. در این بررسی میزان خاصیت بازدارندگی اسانس زردچوبه بر پنج گونه ی قارچی

آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فامیگاتوس، کاندیدا/آلیکنز، پنسیلیوم ایتالیکوم و پنسیلیوم دیجیتاتوم مورد سنجش قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

ریزوم‌های تازه‌ی زردچوبه از شهر اهواز تهیه گردید و اسانس به شیوه‌ی تقطیر با آب توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. آزمون‌های مربوطه به اسانس در آزمایشگاه‌های دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام گرفت.

۲-۱ ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه

به وسیله‌ی دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (Agilent 7890A، آمریکا) ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه مورد بررسی قرار گرفت. دستگاه کروماتوگرافی مورد استفاده دارای ستون‌هایی موئینه با طول ۳۰m و قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر بود، پس از تزریق ۱ میکرولیتر به دستگاه، دمای ستون از ۴۵ °C به ۲۱۰ °C با سرعت ۳°C/min افزایش یافت و در نهایت پس از ایجاد نمودار کروماتوگرام و طیف سنجی جرمی، تعیین مقادیر و شناسایی ترکیبات امکان پذیر شد [۹].

۲-۲ بررسی فنول کل اسانس زردچوبه

روش فولین-سیو کالتیو روشی است که برای اندازه‌گیری مقدار فنول کل مورد استفاده قرار گرفت. برای انجام این آزمون در ابتدا میزان ۱ میلی‌لیتر از اسانس به همراه ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول فنول با یکدیگر ترکیب و به مدت ۶ دقیقه در تاریکی نگهداری شدند. در مرحله‌ی بعد از سدیم کربنات ۷ در صد به میزان ۲/۵ میلی‌لیتر به محلول اضافه و پس از ۶۰ دقیقه با استفاده از دستگاه اسپکتو فتومتر، در طول موج ۷۲۵ نانومتر میزان جذب اندازه گیری شد. از غلظت ۱۰۰۰ ppm اسانس در متانول برای انجام این آزمون استفاده شد [۱۰].

۲-۳ بررسی میزان فلاونوئید کل اسانس زردچوبه

برای اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل، در ابتدا ۱/۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر به همراه ۱ میلی‌لیتر اسانس زردچوبه و ۷۵ میکرولیتر سدیم نیتريت با یکدیگر ترکیب شدند. پس از گذشت ۶ دقیقه محلول آلومینوم کلرید به محلول حاصله اضافه مجدد ۶ دقیقه‌ی دیگر انکوبه شد؛ در نهایت با افزودن ۱ میلی‌لیتر سود به ترکیب، میزان جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۱، ۱۲].

۲-۴ اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد DPPH

برای اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد DPPH در ابتدا غلظت (۱۰۰۰ ppm) ایجاد و سپس رقت‌های متفاوت اسانس در متانول تولید شد. در ادامه ۳ میلی‌لیتر از محلول کنترل ایجاد شده (که برابر ۰/۰۰۴ گرم از پودر DPPH در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول و سپس تعیین میزان جذب به دست آمده در محدوده‌ی ۰/۷-۰/۸ است)، به ۱ میلی‌لیتر از اسانس زردچوبه اضافه شد. میزان جذب در طول موج ۵۱۵ نانومتر در برابر شاهد (متانول) قرائت شد [۱۱، ۱۳].

$$\text{جذب نمونه مورد آزمون} - \text{جذب نمونه کنترل} = \frac{\text{درصد مهار کنندگی}}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times 100$$

۲-۵ اندازه‌گیری میزان رادیکال آزاد ABTS

محلول آبی ۷ میلی‌مولار ABTS (۰/۳۸۴ gr) پودر ABTS در ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر) و پر سولفات پتا سیوم ۲/۴۵ میلی‌مولار (۰/۶۶۲ gr) پر سولفات پتا سیوم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر) به نسبت (۲:۱) با یکدیگر ترکیب و به مدت ۱۶-۲۴ ساعت در تاریکی انکوبه شدند. پس از آن محلول کنترل به دست آمده به میزانی با متانول رقیق شد که در طول موج ۷۳۴ نانومتر دارای جذبی معادل ۰/۰۲ ± ۰/۷ باشد. در نهایت میزان ۳۰ میکرولیتر از رقت‌های متفاوت اسانس به همراه ۳ میلی‌لیتر از محلول تهیه شده ترکیب و پس از ۶ دقیقه میزان جذب در طول موج ۷۳۴ نانومتر در برابر متانول به عنوان شاهد قرائت گشت [۱۴].

$$\text{جذب نمونه مورد آزمون} - \text{جذب نمونه کنترل} = \frac{\text{درصد مهار کنندگی}}{\text{جذب نمونه کنترل}} \times 100$$

۶-۲ فعالیت ضد قارچی اسانس زردچوبه

میزان قابلیت بازدارندگی اسانس زردچوبه بر پنج سویه قارچی *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس فامیگاتوس*، *کاندیدا آلبیکنز*، *پنیسیلیوم ایتالیکوم* و *پنیسیلیوم دیجیتانوم* به صورت آزمون‌های دیسک، چاهک، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی مورد بررسی قرار گرفت.

۱-۶-۲ آزمون دیسک دیفیوژن

جهت انجام آزمون دیسک دیفیوژن، پس از تهیه رقت ۵۱۲ mg/ml از اسانس دیسک‌های بلانک به مدت ۱۰ دقیقه در محلول حاصله قرار داده شدند. پس از انجام کشت سطحی از قارچ مورد نظر روی محیط کشت ساپروز دکستروز آگار، دیسک‌های حاوی اسانس روی پلیت قرار گرفتند. در این آزمون برای شاهد مثبت از دیسک آنتی بیوتیک آمفوتریسین B و برای شاهد منفی از دیسک بلانک حاوی آب مقطر استفاده گردید. مدت زمان انکوباسیون ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی گراد می‌باشد [۱۵].

۲-۶-۲ آزمون چاهک آگار

برای آزمون چاهک آگار، در پلیت ساپروز دکستروز آگار چاهک‌هایی با قطر ۶ میلی‌متر ایجاد شد؛ پس از کشت سطحی میکروارگانیسم مورد نظر میزان ۱۰۰ میکرولیتر از رقت تهیه شده از اسانس در چاهک‌ها ریخته شد. انکوباسیون در دمای ۲۵-۲۲ درجه به مدت ۷۲-۴۸ ساعت انجام گرفت [۱۶].

۳-۶-۲ حداقل غلظت مهارکنندگی

برای تعیین حداقل غلظت مهار کنندگی برای آزمون‌های قارچی از محیط ساپروز دکستروز براث ۱ استفاده گردید. رقت‌های متوالی ۵۱۲، ۲۵۶، ۱۲۸ و mg/ml ۱ از اسانس آماده و به هر چاهک میزان ۱۰۰ میکرولیتر اضافه شد؛ دو چاهک آخر کنترل مثبت (سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت) و کنترل منفی (حاوی اسانس و محیط کشت) بود. پلیت تهیه شده به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون اولین رقتی که در آن رشد مشاهده نشد، به عنوان حداقل غلظت بازدارنده گزارش شد. [۱۷].

۴-۶-۲ حداقل غلظت کشندگی

به منظور تهیه حداقل غلظت کشندگی، از رقت‌هایی که در آنها کدورت مشاهده نشده است روی محیط ساپروز دکستروز آگار کشت سطحی داده و به مدت ۷۲-۴۸ ساعت در دمای ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از انکوباسیون، اولین پلیتی که روی آن هیچ گونه رشدی مشاهده نشده باشد به عنوان حداقل غلظت کشندگی در نظر گرفته می‌شود [۱۸].

۷-۲ آنالیز آماری

این آزمایش با طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار انجام پذیرفت. با استفاده از نرم افزار SPSS واریانس یک طرفه، تجزیه و تحلیل آماری انجام و از آزمون دانکن با سطح اطمینان ۹۵ درصد برای مقایسه‌ی میانگین‌ها استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۱-۳ تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس زردچوبه

خانواده‌ی زنجبیل سانان غنی از مونوترپن‌ها و سسکو ترپن‌ها می‌باشند، اثبات خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی این ترکیبات سبب شده است که اغلب به عنوان نگهدارنده‌های طبیعی، مورد استفاده قرار گیرند. کورکومینوئیدها ترکیبات اصلی اسانس حاصل از ریزوم زردچوبه می‌باشند که جزء دیاریل هپتانوئیدها هستند.

β -Sesquiphellandrene, α Phellandrene, 1,8-Cineole و β -Bisabolene نیز جزء ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس بوده‌اند [۱۹]. در میان ترکیبات بالا تنها دو ماده‌ی 1,8-Cineole و α Phellandrene، جزء مونوترپن می‌باشند و سایر ترکیبات جزء سسکوترپن‌ها به شمار می‌روند، این تناسب وجود نسبت ۹/۲۶ در صدی مونوترپن‌ها به ۷۸/۲۹ در صدی سسکوترپن‌ها را می‌تواند توجیه نماید. ساراک و همکاران، (۲۰۲۴) ترکیبات Curlone و 2-4-dimethylbenzene، eucalyptol را در هنگام آنالیز ترکیبات اسانس زردچوبه یافتند که با ترکیبات یافت شده در اسانس حاضر دارای تفاوت می‌باشد [۲۰]. این تفاوت به علت نوع و گونه‌ی گیاه، شرایط رویش، آب و هوا، نحوه‌ی نگهداری، شرایط خشک کردن، نوع خاک و ویژگی گیاه شناسی می‌باشد [۲۱ و ۲۲].

نمودار کروماتوگرام گازی اسانس زردچوبه در تصویر ۱ نشان داده شده است.

طبق نتایج به دست آمده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی، اصلی ترین ترکیب یافت شده در اسانس زردچوبه، β . Tumerone با میزانی معادل (۴۳٪/۴۳) می‌باشد. نتایج کروماتوگرافی گازی در جدول ۱ بیان شده است. در میان ترکیبات یافت شده (۲۳٪/۵۴) α .-Tumerone (۴٪/۵۴)، α .-Atlantone (۳٪/۰۸)، β . -Curcumene (۲٪/۹۳) و Sesquiphellandrene (۲٪/۱۰) بیشترین مقادیر را دارا بوده‌اند. در ترکیبات استخراج شده توسط ایوانوویچ و همکاران، (۲۰۲۱) میزان β . Tumerone به دست آمده (۲۵٪/۷۷) می‌باشد. علاوه بر آن سایر ترکیبات مانند β turmerone،

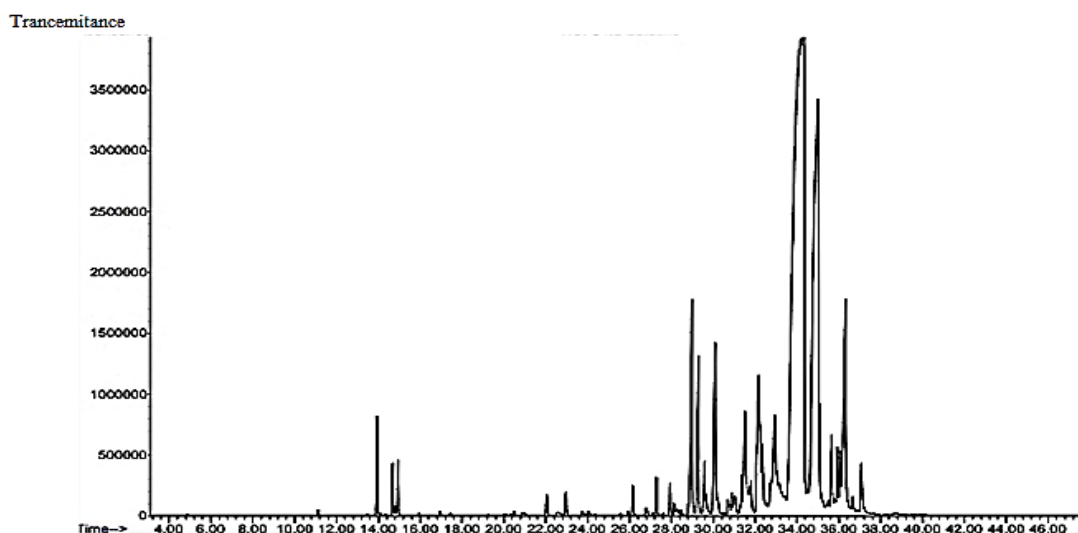


Fig. 1. Gas chromatography with mass spectrometry turmeric essential oil

شکل: ۱. نمودار کروماتوگرام ترکیبات اندازه‌گیری شده اسانس زردچوبه به وسیله‌ی GC-MS

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی اساسی زردچوبه

Table 1. Major chemical composition of turmeric essential oil

NUMBER	COMPONENT	(%) AREA	RETENTION TIME(MIN)
1.	α -Thujene	T	10.897
2.	α -Pinene	0.05	11.130
3.	Sabinene	T	12.730
4.	β . -Pinene	T	12.808
5.	Ocimene	T	13.052
6.	β .-Myrcene	0.03	13.463
7.	α Phellandrene	0.91	13.930
8.	α .-Terpinene	0.02	14.374
9.	o-Cymene (o-Cymol)	0.47	14.697
10.	β - Phellandrene	0.09	14.830
11.	γ , δ - Cineole	0.47	14.941
12.	cis-Ocimene	T	15.574
13.	γ .-Terpinene	0.03	15.930
14.	α .-Terpinolene	0.05	16.974
15.	Linalool	0.04	17.441
16.	cis-p-Menthan-3-one	0.02	19.251
17.	α .-Terpineol	0.07	20.507
18.	Geraniol	0.14	22.596
19.	Z- Citral	0.5	22.962
20.	Thymol	0.09	23.751
21.	Carvacrol	0.1	24.040
22.	p-Vinyl guaiacol	0.04	24.362
23.	p-Eugenol	0.04	25.584
24.	trans-Caryophyllene	0.38	27.295
25.	α . – Farnesene	0.04	27.628
26.	β .-Farnesene	0.12	28.128
27.	α .-Curcumene	3.08	28.384
28.	γ .-Curcumene	0.25	28.817
29.	α .-Zingiberene	1.94	29.295
30.	β .-Bisabolene	0.67	29.595
31.	α .-Cedrene	0.31	29.672
32.	β .-Sesquiphellandrene	2.93	30.072
33.	2-Phenyl-1-D1-Aziridine	2.10	31.517
34.	β .-Bisabolene	1.35	32.339
35.	β . Tumerone	43.43	34.216
36.	α . Tumerone	23.54	35.005
37.	ar-Turmerone	1.18	35.916
38.	α .-Atlantone	4.54	39.649

۲-۳ توانایی آنتی اکسیدانی اسانس زرد چوبه

پلی فنول‌ها ترکیبات ثانویه‌ای هستند که حداقل در ساختار خود دارای یک گروه فنولی می‌باشند، این گروه از ترکیبات جزء فیتوکمیکال‌ها به شمار می‌آیند، استفاده از آنها سبب جلوگیری از بیماری‌هایی نظیر دیابت، سرطان، پوکی استخوان، بیماری‌های عصبی، قلبی و عروقی می‌شود. گروه‌های فنولی پلی‌فنول‌ها از طریق پذیرش الکترون و اهدا هیدروژن به رادیکال‌های آزاد، سبب ایجاد اختلال در چرخه‌ی اکسیداتیو شده و به این صورت می‌توانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا و از ایجاد بیماری‌هایی مانند سرطان جلوگیری به عمل آورند. میزان ترکیبات فنولی کل به دست آمده از اسانس زردچوبه 0.33 ± 130.053 میلی‌گرم گالیک اسید در هر گرم و میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل به دست آمده 0.43 ± 624.5 میلی‌گرم کتورستین در هر گرم بوده است. نتایج داده‌های حاضر با داده‌های حاصل از اکتر و همکاران، (۲۰۱۹) مطابقت دارد [۲۳].

برای بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، میزان فعالیت رادیکال آزاد DPPH و ABTS مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاصله در جدول ۲ بیان شده است. بیشترین قدرت مهار DPPH در غلظت 1000 ppm به میزان 81.52 درصد بوده است. نتایج تمامی رقت‌های مورد سنجش، دارای اختلاف معنی‌داری با یکدیگر می‌باشد که نشان دهنده‌ی افزایش اثر مهار اسانس با افزایش میزان غلظت مورد مصرف است. رادیکال آزاد ABTS کمترین میزان درصد مهار آن در غلظت 200 ppm برابر با 27.4 درصد و بیشترین میزان تاثیرگذاری آن در غلظت 1000 ppm برابر با 63.7 درصد مشاهده شد. به ترتیب بر اساس فاکتور IC_{50} مهار 50 درصدی رادیکال‌های آزاد برای DPPH در غلظت 600 ppm و برای ABTS در

غلظت 800 ppm مشاهده شد. در بررسی‌های اکتر و همکاران، (۲۰۱۹) میزان رادیکال آزاد DPPH برای (۲/۰ ± 130.07) $C. aromatica$ ، (۳/۴ ± 228.4) 3 $curcuma longa$ و (۰/۷ ± 80.4) $C. zedoaria$ برحسب $\mu\text{g/mL}$ محاسبه شد. داده‌های حاصل از $curcuma longa xanthorrhiza$ با نتایج حاضر مشابهت زیادی دارد [۲۳]. خانتایی و همکاران، (۲۰۲۳) میزان رادیکال آزاد ABTS به دست آمده برای برگ زردچوبه (۰/۰۲ ± 10.52) و ریزوم زردچوبه (۰/۰۲ ± 10.55) را برحسب $\mu\text{g/mL}$ به دست آوردند [۲۴]. دی کاروالیو و همکاران، (۲۰۲۰) میزان رادیکال آزاد ABTS اندازه‌گیری شده از زردچوبه را 1490.53 میلی‌گرم اسید آسکوربیک در 100 گرم بیان کردند [۲۵]، داده‌های حاصل از دی کاروالیو با نتایج حاضر دارای همخوانی نبود. در مطالعات انجام شده توسط آکینولا و همکاران، (۲۰۱۴) زردچوبه‌ی $curcuma longa xanthorrhiza$ برای سنجش میزان DPPH مورد بررسی قرار گرفت که داده‌ها بیانگر میزان $270.1 \mu\text{g/mL}$ مهار رادیکال آزاد DPPH می‌باشد [۲۶]. کورکومین اصلی‌ترین ماده‌ی تشکیل دهنده‌ی اسانس زردچوبه می‌باشد، این ترکیب دارای ماهیتی پلی فنولی بوده که از عملکردهای آن می‌توان به مهار رادیکال‌های آزاد اشاره نمود. علاوه بر کورکومین در میان ترکیبات شناسایی شده گروهی از ترکیبات سسکویی ترپنی مانند آلفا تورمورون و بتا تورمورون با درصد بالا یافت شد. سسکوی ترپن‌ها یا سسکوی ترپنوئیدها، ترپن‌های ۱۵ کربنی مانند مونوترپنوئیدها هستند، این ترکیبات معطر به وفور در اسانس‌ها یافت می‌شوند. بسیاری از سسکوی ترپنوئیدها به عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، فیتوآلکسینی و ضد میکروبی عمل می‌کنند. آلفا و بتا تورمورون و آلفا آتلاتون به همراه کورکومین از

2- *Curcuma longa* (variety: aromatica)3- *Curcuma longa* (variety: zedoaria)

ترکیبات اصلی شناسایی شده در فرایند کروماتوگرافی گازی اسانس زردچوبه بوده‌اند که از دلایل اصلی خاصیت فلاونوئیدی و آنتی‌اکسیدانی بالای این اسانس می‌باشند.

جدول ۲. خاصیت آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه

Table 2. Antioxidant activity of turmeric essential oil (DPPH and ABTS assays) ^{a,b}

Concentration (ppm)	Radical scavenging effect (%)	
	DPPH	ABTS
200	29.02 ± 0.05 ^a	27.40 ± 0.57 ^a
400	36.52 ± 0.32 ^b	37.42 ± 0.20 ^b
600	57.08 ± 0.47 ^c	42.42 ± 0.32 ^c
800	72.22 ± 0.15 ^d	52.44 ± 0.40 ^d
1000	81.52 ± 0.23 ^e	67.30 ± 0.35 ^e

نتایج به صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. حروف غیر مشابه کوچک در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد است (P<۰/۰۵).

The data shown are "mean ± standard deviation" with 3 replace. Different capital letters indicate a significant difference (p<0.05) between the antimicrobial effect of essential oil on pathogens

۳-۳ بررسی خاصیت ضد قارچی اسانس زرد چوبه

۳-۳-۱ دیسک دیفیوژن آگار

نتایج میزان قابلیت ضد قارچی اسانس زردچوبه در جدول ۳ بیان شده است. مطابق نتایج به دست آمده بر پایه‌ی آزمون دیسک دیفیوژن آگار، بیشترین میزان قطر هاله‌ی بازدارنده برای گونه‌ی *آلبیکنز* با میزان هاله‌ی (۱۵/۴۰ میلی‌متر) بوده که بیشترین میزان تاثیر گذاری اسانس را در میان گونه‌های قارچی مورد سنجش نشان می‌دهد. کمترین میزان تاثیر گذاری اسانس برای گونه‌های *آسپرژیلوس* مشاهده شد، میان نتایج به دست آمده از *آسپرژیلوس نایجر* با قطر هاله‌ی (۱۱/۵۰ میلی‌متر) و

آسپرژیلوس فامیگاتوس با قطر هاله‌ی بازدارنده (۱۲/۱۰ میلی‌متر) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ از سوی دیگر نتایج گونه‌های *پنسیلیوم* نیز فاقد تفاوت معنی‌دار بوده‌اند، *پنسیلیوم ایتالیکوم* دارای هاله‌ی (۱۳/۲۰ میلی‌متر) و *پنسیلیوم دیجیتاتوم* دارای قطر هاله‌ی (۱۳/۵۰ میلی‌متر) بوده است، به ترتیب می‌توان بیان داشت که *کاندیدا آلبیکنز* حساس‌ترین گونه و *آسپرژیلوس* مقاوم‌ترین گونه نسبت به اسانس بوده است.

از آنتی بیوتیک آمفوتریسین B به عنوان شاهد مثبت استفاده گردید، میزان حداقل هاله‌ی ایجاد شده توسط این آنتی بیوتیک (۱۳/۸۰ میلی‌متر) از حداکثر میزان هاله‌ی بازدارنده‌ی ایجاد شده توسط اسانس برای تمامی

گونه‌های قارچی بیشتر بود؛ در هنگام استفاده‌ی همزمان از اسانس و آنتی بیوتیک میزان قطر هاله‌ی بازدارنده برای تمامی گونه‌های مورد بررسی افزایش یافت. در مطالعه‌ی تاثیر غلظت ۶ mg/ml از زردچوبه بر گونه‌های مختلف قارچی به شیوه‌ی دیسک دیفیوژن توسط پراکاش و همکاران، (۲۰۱۲) میزان هاله‌ی بازدارنده‌ی ایجاد شده برای *آسپرژیلوس نایجر* ۱۱/۶۹ میلی‌متر، *آسپرژیلوس فامیگاتوس* ۱۵/۸۶ میلی‌متر و برای *پنیسیلیوم ایتالیکوم*

۲۶/۷۶ میلی‌متر مشاهده شد [۲۸]. تاثیر غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ mg/ml اسانس ریزوم زردچوبه بر رشد قارچ *کاندیدا آلبیکنز* به روش دیسک دیفیوژن آگار در پژوهش کاستا و همکاران، (۲۰۲۰) به ترتیب میزان هاله‌ی بازدارنده ۱۰/۵۷، ۱۲/۵۷، ۱۲/۵۲ و ۱۵/۲۲ میلی‌متر بود، که نتایج نشان دهنده‌ی تاثیرگذاری اسانس بر قارچ *کاندیدا آلبیکنز* می‌باشد [۱۵].

جدول ۳. اثر ضدقارچی آنتی بیوتیک آمفوتریسین B و برهمکنش آن با اسانس زردچوبه

Table 3. Antifungal effect of Amphotericin B antibiotic and interaction with turmeric essential oil

Microorganisms	Inhibition zone (mm)			Interaction result
	Turmeric essential oil	Amphotericin B	Interaction	
<i>Aspergillus niger</i>	11.50 ± 0.48 ^c	13.80 ± 0.42 ^b	14.80 ± 0.57 ^b	Synergy
<i>Aspergillus fumigatus</i>	12.10 ± 0.65 ^c	14.00 ± 0.35 ^b	15.40 ± 0.47 ^b	Synergy
<i>Candida albicans</i>	15.40 ± 0.40 ^a	17.80 ± 0.30 ^a	19.90 ± 0.29 ^a	Synergy
<i>Penicillium italicum</i>	13.20 ± 0.34 ^b	14.50 ± 0.39 ^b	15.00 ± 0.48 ^b	Synergy
<i>Penicillium digitatum</i>	13.50 ± 0.41 ^b	15.00 ± 0.33 ^c	17.80 ± 0.72 ^c	Synergy

نتایج به صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. حروف غیر مشابه کوچک در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد است (P<۰/۰۵).

The data shown are "mean ± standard deviation" with 3 replace. Different capital letters indicate a significant difference (p<0.05) between the antimicrobial effect of essential.

۳-۳-۲ آزمون چاهک آگار

نتایج آزمون چاهک آگار در جدول ۴ نشان داده شده است. میزان قطر هاله‌ی بازدارنده ایجاد شده در آزمون چاهک آگار نسبت به آزمون دیسک بیشتر بوده است. در آزمون چاهک نیز همانند آزمون دیسک دیفیوژن بیشترین میزان تاثیرگذاری و بازدارندگی اسانس برای گونه‌ی *کاندیدا آلبیکنز* با میزان میانگین هاله‌ی (۱۷/۵۰ میلی‌متر) مشاهده شد و کمترین میزان تاثیرگذاری اسانس برای دو

گونه از قارچ *آسپرژیلوس* با میزان هاله‌ی بازدارنده‌ی (۱۲/۸۰ میلی‌متر) برای *آسپرژیلوس نایجر* و (۱۲/۹۰ میلی‌متر) برای *آسپرژیلوس فامیگاتوس* بوده است، داده‌های حاصل از این دو قارچ همانند آزمون دیسک فاقد اختلاف معنی‌دار بوده‌اند. همانند داده‌های به دست آمده از آزمون دیسک نتایج گونه‌ی *پنیسیلیوم ایتالیکوم* و *پنیسیلیوم دیجیتاتوم* به یکدیگر نزدیک و فاقد اختلاف معنی‌دار بوده است. در مطالعه‌ی سنوچی و همکاران، (۲۰۲۰) تاثیر

اسانس زردچوبه در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ mg/ml بر گونه‌ی پنسیلیوم/اکسیپانسونم دارای میزان هاله‌ی بازدارنده به قطر ۲۴/۱، ۳۵/۲ و ۵۹/۲ میلی‌متر بود، میزان بازدارندگی ۱۰۰ درصدی این قارچ در غلظت mg/ml ۵۱۲ مشاهده شد [۱۶]. نتیجه‌ی تاثیر زردچوبه استخراج شده با متانول در پژوهش چاهان و همکاران، (۲۰۱۷) به شیوه‌ی چاهک اگر ایجاد هاله‌ی بازدارنده‌ی ۲۴ میلی‌متری برای *آسپرژیلوس نایچر* و هاله‌ی ۲۵ میلی‌متری برای *پنسیلیوم کرایونوم* بوده است [۲۷]. قطر میزان هاله‌ی بازدارنده‌ی ایجاد شده برای گونه‌های *آسپرژیلوس* و *پنسیلیوم* در این پژوهش با نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر دارای مغایرت بود، میزان هاله‌ی بازدارنده‌ی گونه‌ی *پنسیلیوم* بیشتر از گونه‌ی *آسپرژیلوس* مشاهده شد.

اسانس‌ها دارای خواص چربی دوستی می‌باشند، این ویژگی به آنها اجازه می‌دهد با نفوذ به غشاء سیتوپلاسمی سبب تجمع پلی ساکاریدها در شرایط تنش خشکی شوند که به دنبال آن شکستن پلاسما در سلول‌های قارچی رخ می‌دهد.

غشاء پلاسمایی در سلول‌های قارچی یکی از اندام‌هایی است که نقش حیاتی را در حفظ محیط همواستاتیک برای تبادل انرژی و اطلاعات ژنتیکی درون سلول ایفا می‌کند، در غشاء این سلول‌ها ارگوسترول‌ها حضور دارند، این ترکیبات مسئول اصلی حفظ یکپارچگی و عملکرد سلول

می‌باشند. ترکیبات ضد قارچی طبیعی و یا مصنوعی می‌توانند سبب اختلال در این مسیرهای بیولوژیکی شده که در نهایت منجر به سرکوب سلول می‌شود. اسانس زردچوبه سبب سرکوب تولید ارگوسترول‌های موجود درون سلول‌های قارچی شده، که منجر به اختلال در عملکرد سلول و در نهایت سبب تخریب آن می‌شود. یکی دیگر از مسیرهایی که ترکیبات ضد قارچی برای مهار عملکرد فعالیت سلول هدف استفاده می‌کنند تاثیر بر فعالیت ATPase و آنزیم دهیدروژناز می‌باشد. در پی کاهش میزان ATPase در سلول میتوکندری، کاهش میزان انرژی در سلول رخ می‌دهد که کاهش بیشتر pH و اسیدی شدن محیط سلول را به دنبال دارد و می‌تواند سبب آسیب به دیواره‌ی سلول و تخریب آن شود. اسانس زرد چوبه تاثیرگذاری خود را با مهار سوکسینات دهیدروژناز، سنتز ملات دهیدروژناز و ATPase میتوکندری و تاثیر بر بیان نسبی ژن‌های مایکوتوکسین که مکانیسمی برای تخریب آفلاتوکسین می‌باشد، نشان می‌دهد [۱]. یکی دیگر از ترکیبات موجود در اسانس زردچوبه ساپونین می‌باشد، ساپونین‌های موجود در اسانس دارای فعالیت ضد باکتری و ضد قارچی بوده، این ترکیبات با حل کردن پروتئین‌های دیواره‌ی سلولی سبب نشت سیتوپلاسم به بیرون شده و سبب ایجاد فرایند لیز شدن سلولی می‌شوند [۱۵].

جدول ۴. اثر ضدقارچی اسانس زردچوبه به روش چاهک آگار

Table 4. Antifungal effect of turmeric essential oil (well diffusion method) ^{a,b}

Microorganisms	well diffusion method (mm)
<i>Aspergillus niger</i>	12.80 ± 0.36 ^c
<i>Aspergillus fumigatus</i>	12.90 ± 0.31 ^c
<i>Candida albicans</i>	17.50 ± 0.50 ^a
<i>Penicillium italicum</i>	14.00 ± 0.26 ^b
<i>Penicillium digitatum</i>	14.20 ± 0.39 ^b

نتایج به صورت "انحراف معیار ± میانگین" سه تکرار (n=3) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. حروف غیر مشابه کوچک در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد است ($P < 0.05$).

The data shown are "mean ± standard deviation" with 3 replace. Different capital letters indicate a significant difference ($p < 0.05$) between the antimicrobial effect of essential oil on pathogens.

۳-۳-۳ حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی
نتایج حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی در جدول ۵ بیان شده است. گونه‌ی قارچی *کاندیدا آلبیکنز* با بیشترین میزان تاثیرگذاری اسانس در میان سایر گونه‌های قارچی مورد سنجش، در پایین‌ترین غلظت ۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر مهار شد، بالاترین میزان مقاومت نسبت به اسانس برای گونه‌ی *آسپرژیلوس نایجر* با ۶۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بوده است. نتایج حداقل غلظت کشندگی نیز مطابق با نتایج حداقل غلظت بازدارندگی است، کم‌ترین غلظت اسانس برای ایجاد حداقل غلظت

کشندگی برای گونه‌ی *کاندیدا آلبیکنز* و بیشترین میزان مقاومت گونه‌ی قارچی مربوط به گونه‌ی *آسپرژیلوس نایجر* بود. در مطالعات مشابه چاهان و همکاران، (۲۰۱۷) حداقل غلظت بازدارندگی را برای دو گونه‌ی قارچی *آسپرژیلوس نایجر* و *پنیسیلیوم کرایوزنیوم* ۴۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر برآورد نمودند [۲۷]. نتیجه‌ی بررسی مورگش و همکاران، (۲۰۱۹) ایجاد حداقل غلظت بازدارندگی ۸۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی ۱۶۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر برای گونه‌ی *کاندیدا آلبیکنز* در تماس با عصاره‌ی زردچوبه بود [۱۷].

جدول ۵. حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی اسانس زردچوبه

Table 5. MIC and MFB of turmeric essential oil

Microorganisms	MIC (mg/ml)	MFB (mg/ml)
<i>Aspergillus niger</i>	64	512
<i>Aspergillus fumigatus</i>	32	256
<i>Candida albicans</i>	8	128
<i>Penicillium italicum</i>	32	256
<i>Penicillium digitatum</i>	16	256

نتایج به صورت "انحراف معیار $\pm$ میانگین" سه تکرار ($n=3$) گزارش شده‌اند و از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون Duncan برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شده است. حروف غیر مشابه کوچک در یک ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح معنی‌داری ۵ درصد است ($P<0.05$).

The data shown are "mean $\pm$ standard deviation" with 3 replace. Different capital letters indicate a significant difference ($p<0.05$) between the antimicrobial effect of essential oil on pathogens

مهار میکروارگانیزم‌های مورد سنجش بود. نتایج نشان داد که از این اسانس می‌توان به عنوان عامل بازدارنده در برابر رشد پاتوژن‌ها در محصولات غذایی استفاده نموده و سبب افزایش مدت زمان ماندگاری مواد غذایی با استفاده از این نگهدارنده‌ی طبیعی شد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان جهت تامین هزینه‌های انجام این پایان نامه که مقاله حاضر بخشی از نتایج آن بود تشکر و قدردانی نمایند.

۴ - نتیجه گیری

همان‌گونه که بیان شد دو جزء اصلی تشکیل دهنده‌ی اسانس زردچوبه مونوترپن‌ها به میزان تقریبی (۹-۱۰٪) و سسکوترپن‌ها به میزان تقریبی (۷۹-۷۸٪) می‌باشند. ماده‌ی موثره‌ی اصلی در اسانس زردچوبه، کورکومین است که اکثر خاصیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی اسانس زردچوبه به آن نسبت داده می‌شود. میزان بازدارندگی رادیکال‌های آزاد ABTS (۶۳/۷٪) و DPPH (۸۱/۵۲٪) ارزیابی شد. اثر ضد میکروبی اسانس زردچوبه بر پنج گونه‌ی قارچی نشان دهنده‌ی توانایی این اسانس برای

۸- منابع

- [1] Hu, Y., Zhang, J., Kong, W., Zhao, G., & Yang, M. (2017). Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food chemistry*, 220, 1-8.
- [2] Ferreira, F. D., Mossini, S. A. G., Ferreira, F. M. D., Arrotéia, C. C., da Costa, C. L., Nakamura, C. V., & Machinski Junior, M. (2013). The inhibitory effects of *Curcuma longa* L. essential oil and curcumin on *Aspergillus flavus* link growth and morphology. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 343804.
- [3] Novais, C., Molina, A. K., Abreu, R. M. V., Santo-Buelga, C., Ferreira, I. C. F. R., Pereira, C., & Barros, L. (2022). Natural Food Colorants and Preservatives: A Review, a Demand, and a Challenge. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(9), 2789-2805.
- [4] Jokar, A., Barzegar, H., Maftoon Azad, N. & Shahamirian, M. (2021). Effects of cinnamon essential oil and Persian gum on preservation of pomegranate arils. *Food Science and Nutrition*. 9 (15): 2585-2596.
- [5] Ahmad, R. S., Hussain, M. B., Sultan, M. T., Arshad, M. S., Waheed, M., Shariati, M. A., ... & Hashempur, M. H. (2020). Biochemistry, safety, pharmacological activities, and clinical applications of turmeric: a mechanistic review. Evidence-based complementary and alternative medicine, 2020.

- [6] Nelson K, Dahlin J, Bisson J, et al. (2017). The essential medicinal chemistry of curcumin. *J Med Chem.*; 60:1620–1637.
- [7] Abd El-Hack, M. E., El-Saadony, M. T., Swelum, A. A., Arif, M., Abo Ghanima, M. M., Shukry, M., ... & El-Tarabily, K. A. (2021). Curcumin, the active substance of turmeric: its effects on health and ways to improve its bioavailability. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(14), 5747.
- [8] Singletary, K. (2020). Turmeric: potential health benefits. *Nutrition Today*, 55(1), 45-46.
- [9] Majdi, B., Mehrnia, M. A., Barzegar, H., & Alizadeh Behbahani, B. (2021). Determination of the structure, chemical composition, antioxidant activity and the cytotoxic effect of Turmeric essential oil. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 17(2), 261-271
- [10] Mehrnia, M. A., Alizadeh Behbahani, B., Barzegar, H. & Tanavar, H. (2021). *Sclerorhachis platyrachis* essential oil: Antioxidant power, total phenolic and flavonoid content and its antimicrobial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria "in vitro". *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 112 (18): 189-198.
- [11] Majdi, B., Mehrnia, M. A., & Barzegar, H. (2022). Effect of turmeric (*Curcuma longa* L) essential oil on the oxidative stability of soybean oil. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 19(122), 335-348.
- [12] Namazi, P., Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. & Mehrnia, M. A. (2021). Evaluation of functional groups of bioactive compounds, antioxidant potential, total phenolic and total flavonoid content of red bell pepper extracts. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, 18(113):301-311.
- [13] Dehghan, N., Barzegar, H., Mehrnia, M. A., & Jooyandeh, H. (2018). Investigation on the effect of Methanolic Bene (*pistachia atlantica*) hull extract on oxidative stability of soybean oil. *Innovative Food Technologies*, 5(3), 499-507
- [14] Barzegar, H., Alizadeh Behbahani, B. & Noshad, M. (2021). Evaluation of total phenol and flavonoid contents, antioxidant and antimicrobial activity of *Lawsonia inermis* aqueous extract against some gram- positive and gram- negative bacteria. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 18(116): 327-335.
- [15] Kasta, G. (2020). Antimicrobial activity of ethanol extract of rhizome turmeric (*Curcuma longa* L.) for growth of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 8(3), 5-8.
- [16] Senouci, H., Benyelles, N. G., Dib, M. E., Costa, J., & Muselli, A. (2020). Chemical composition and combinatory antifungal activities of *Ammoides verticillata*, *Allium sativum* and *Curcuma longa* essential oils against four fungi responsible for tomato diseases. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, 23(3), 196-204.
- [17] Muruges, J., Annigeri, R. G., Mangala, G. K., Mythily, P. H., & Chandrakala, J. (2019). Evaluation of the antifungal efficacy of different concentrations of *Curcuma longa* on *Candida albicans*: An: in vitro: study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(2), 305.
- [18] Samiei, A., Tabatabaei- Yazdi, F. & Mazaheri, Tehrani, M. 2018. An investigation into the antioxidant activity, phenolic compounds, antimicrobial effect and interaction of the essential oils of *Curcuma longa* and *Ocimum basilicum* on some pathogenic bacteria. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 15(74): 99-107.
- [19] Ivanović, M., Makoter, K., & Islamčević Razboršek, M. (2021). Comparative study of chemical composition and antioxidant activity of essential oils and crude extracts of four characteristic *Zingiberaceae* herbs. *Plants*, 10(3), 501.
- [20] SARAÇ, H., & TÜZÜN, B. Antioxidant Activity Properties of Extract of Turmeric (*Curcuma longa* L.) Plant. *Turkish Computational and Theoretical Chemistry*, 8(2), 19-27.
- [21] Paw, M., Gogoi, R., Sarma, N., Pandey, S. K., Borah, A., Begum, T., & Lal, M. (2020). Study of anti-oxidant, anti-inflammatory, genotoxicity, and antimicrobial activities and analysis of different constituents found in rhizome essential oil of *Curcuma caesia* Roxb., collected from north east India. *Current pharmaceutical biotechnology*, 21(5), 403-413.
- [22] Samiei, A., Tabatabaei- Yazdi, F. & Mazaheri, Tehrani, M. 2018. Identification of *Curcuma longa* essential oil compounds and evaluation of its antibacterial effect on some food-poisoning bacteria "in vitro". *Journal of Food Science and Technology (Iran)*. 15(74): 321-329.
- [23] Akter, J., Hossain, M. A., Takara, K., Islam, M. Z., & Hou, D. X. (2019). Antioxidant activity of different species and varieties of turmeric (*Curcuma* spp): Isolation of active compounds. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 215, 9-17.
- [24] Khuntia, S., Lenka, J., Dash, M., Sahoo, B. C., Kar, B., & Sahoo, S. (2023). Bioactivity Screening of Thirty Black Turmeric (*Curcuma caesia* Roxb.) Essential Oils Against Free Radicals and MDR Isolates. *Pharmacognosy Magazine*, 19(3), 615-625.
- [25] De Carvalho, F. A. L., Munekata, P. E., de Oliveira, A. L., Pateiro, M., Dominguez, R., Terindade, M. A. and Lorenzo, J. M. (2020). Turmeric (*curcuma longa* L.) extract on oxidative stability, physicochemical and sensory properties of fresh lamb

sausage with fat replacement by tiger nut (*Cyperus esculentus* L.) oil. *Food Research International*. 136: 109487.

[26] Akinola, A. A., Ahmad, S., & Maziah, M. (2014). Total anti-oxidant capacity, flavonoid, phenolic acid and polyphenol content in ten selected species of *Zingiberaceae* rhizomes. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 11(3), 7-13.

[27] Chauhan, P., Keni, K., & Patel, R. (2017). Investigation of phytochemical screening and antimicrobial activity of *Curcuma longa*. *Int J Adv Res Biol Sci*, 4, 153-163.

[28] Prakash, B., Singh, P., Kedia, A., Singh, A., & Dubey, N. K. (2012). Efficacy of essential oil combination of *Curcuma longa* L. and *Zingiber officinale* Rosc. as a postharvest fungitoxicant, aflatoxin inhibitor and antioxidant agent. *Journal of Food Safety*, 32(3), 279-288.



Journal of Food Science and Technology (Iran)

Homepage: www.fsct.modares.ir

Scientific Research

Investigation of chemical composition and antifungal properties of turmeric essential oil (*Curcuma longa* L.)

Noshin Jafari nejad¹, Hassan Barzegar^{*2}, Mohammad Amin Mehrnia², Hossein Jooyandeh³,
Mohammad Hojjati³

1- M.Sc. Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

2- 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.

3-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:2024/12/10 Accepted:2025/1/18 Keywords: Antifungal agent, Chemical composition, <i>Curcuma longa</i> essential oil. DOI: 10.22034/FSCT.22.162.292. *Corresponding Author E- hbarzegar@asnrukh.ac.ir	With the increasing consumer demand for chemical-free food products, the use of medicinal and aromatic plants with high antimicrobial and antioxidant potential has gained considerable attention, influencing the chemical properties of food products. In this study, the chemical compounds, total phenol, and flavonoid content of <i>Curcuma longa</i> essential oil were examined. Additionally, the antioxidant properties were assessed using ABTS and DPPH tests, and the antifungal properties of the essential oil were evaluated through disk diffusion, agar well diffusion, MIC and MBC methods. The results from the GC-MS analysis indicated that β-Turmerone was the major compound in the essential oil, accounting for 43.43%. The total phenolic content of the oil was 130.053 mg GAE/g, and the total flavonoid content was 624.5 5 mg QUE/g. The antifungal ability of <i>Curcuma longa</i> essential oil was tested against five fungal species: <i>Aspergillus niger</i>, <i>Aspergillus fumigatus</i>, <i>Penicillium italicum</i>, <i>Penicillium digitatum</i>, and <i>Candida albicans</i>. The results showed a strong inhibitory effect on <i>Candida albicans</i>. Based on the obtained results, <i>Curcuma longa</i> essential oil can be considered a promising natural preservative as an alternative to chemical preservatives.

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- Investigating the extraction conditions of olive kerne.....	1
2- Whey permeate-based isotonic beverage formulation.....	16
3- Investigating the antioxidant properties	29
4- Determination of aflatoxin M1 and ochraoxin.....	42
5- Effect of microwave roasting pretreatment.....	58
6- Optimization of physicochemical, textural.....	73
7- Investigating the effect of adding soy, barley.....	90
8- Investigating the effect of edible coating of chitosan.....	104
9- Investigating the effect of selenium nanoparticles.....	121
10- Perception and attitude towards meat products.....	137
11- Effect of ultraturrax speed on properties.....	156
12- Production of cup cake containing whole wheat flour.....	171
13- The effect of inulin and calcium chloride.....	185
14- Preparation of Structured Low-Saturated Water.....	199
15- Investigation of biochemical properties and.....	223
16- The effect of ultrasonic pretreatment and osmotic.....	235
17- The Effect of Ultrasound-Assisted Ethanolic Extract.....	250
18- Comparison of reflectance and interactance modes.....	265
19- Optimization of composition of probiotic stirred.....	278
20- Investigation of chemical composition and antifungal.....	292