

مقاله علمی- پژوهشی

بهینه‌یابی تاثیر پارامترهای عملیاتی بر کاهش کلسترول خامه به وسیله بتاسیکلودکسترین به روش سطح پاسخ

میترا منصوری بنی¹ - وحید سماواتی² - مرضیه بلندی^{3*}

تاریخ دریافت: 1398/03/18

تاریخ پذیرش: 1398/06/31

چکیده

در این مطالعه بهینه‌یابی تاثیر پارامترهای عملیاتی بر کاهش کلسترول خامه توسط بتاسیکلودکسترین مورد بررسی قرار گرفت و با آنالیز پارامترهای مؤثر عملیاتی شامل غلظت بتاسیکلودکسترین (1.0/5، 1/5%) و دمای اختلاط (10، 30، 50 درجه سانتی‌گراد) و زمان اختلاط (5، 15، 25 دقیقه) شرایط عملیاتی بهینه برای دستیابی به فرآیندی با راندمان بالا بررسی گردید و از طراحی آزمایشات به کمک روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن استفاده شد. حداکثر کاهش کلسترول (89/92%) در غلظت 1/42% بتاسیکلودکسترین، دمای اختلاط 45/76 درجه سانتی‌گراد و زمان 23/87 دقیقه مشاهده گردید. نتایج به دست آمده از بررسی اثر مستقل متغیرها نشان داد که عامل غلظت شدت تاثیر کمتری بر کاهش کلسترول خامه دارد اما دما و زمان تاثیر مثبت مؤثرتری بر کاهش کلسترول دارند. در بین اثرات متقابل فاکتورهای مورد بررسی بیشترین اثر مربوط به تاثیر همزمان دما و زمان (88/9%) و کمترین اثر مربوط به تاثیر همزمان غلظت و دما (85/5%) مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: بتاسیکلودکسترین، بهینه‌یابی، خامه، سطح پاسخ، کلسترول.

مقدمه

به شمار می‌روند، به طوری که مصرف روزانه آنها برای تامین سوخت و ساز بدن ضروری است. فرآورده‌های شیری به واسطه ترکیبات مغذی مانند پروتئین، چربی، ویتامین B₂، ویتامین A و کلسیم از اجزاء اصلی رژیم غذایی هستند (انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، 81-79).

چربی موجود در شیر و فرآورده‌های لبنی ویژگی‌های مثبت زیادی روی طعم و بافت محصولات لبنی دارد. به علاوه چربی شیر قابلیت هضم بالایی دارد. قابلیت هضم چربی بر اساس سرعت و همچنین میزان جذب آن توسط بدن تعریف می‌گردد. این قابلیت هضم بالا به حالت انتشار گلبول‌های چربی و ترکیب اسیدچرب آن مربوط می‌گردد. چربی شیر حاوی میزان نسبتاً بالایی (15-10%) از اسیدهای چرب با زنجیره کوتاه و متوسط میباشد. بر همین اساس، قابلیت هضم چربی شیر از دیگر چربی‌های غذایی بیشتر است. دلیل دیگر بالا بودن قابلیت هضم این است که اکسیداسیون اسیدهای چرب کوتاه‌زنجیره با سرعت بیشتری صورت می‌گیرد. چربی شیر به علت جذب آسان، جزء با ارزشی در رژیم غذایی افراد مبتلا به بیماری‌های معده، کلیه، کبد، کیسه صفرا و اختلالات گوارش چربی است (Boudreau and Arul., 1993, Donnel, 1993). در این میان با توجه به شیوع بیماری‌های قلبی در کشور (از هر 800 مرگ 300 مورد آن به علت

افزایش شیوع بیماری‌های قلبی - عروقی در سال‌های اخیر و تاثیر افزایش کلسترول خون در ابتلا به این بیماری‌ها منجر به تحقیقات گسترده‌ای در زمینه تولید فرآورده‌های رژیمی و کم کلسترول شده است، به همین دلیل امروزه تولید محصولات کم‌چرب رو به افزایش بوده و روش‌های متعددی برای تولید محصولات کم‌چرب وجود دارند اما به دلیل اینکه چربی بر روی خصوصیات منحصر به فرد بافتی و طعمی و ظاهری محصول بسیار موثر بوده و در نتیجه در بازار پسندی محصول اهمیت به‌سزایی دارد محققان و صاحبان صنایع را بر این داشته تا شرایطی را فراهم کنند که فقط جزء مضر چربی حذف گردد. محصولات لبنی از مهمترین مواد غذایی موجود در سبد غذایی افراد

1- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، مؤسسه آموزش عالی خرد، بوشهر، ایران.

2- استادیار، گروه علوم و صنایع غذایی، کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ایران.

3- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، دامغان، ایران.

* نویسنده مسئول: (Email: bolandi75@gmail.com)

DOI: 10.22067/iftstr.v16i4.81186

بحرانی اشاره کرد. در روش تقطیر ناگهانی در خلاء علاوه بر حذف کلسترول از چربی، ترکیبات مهم دیگر موجود در چربی شیر نیز از آن خارج می‌شوند، از جمله ترکیبات آروماتیک و ویتامین D، به طوری که پس از انجام این عملیات جمع‌آوری و بازگرداندن ترکیبات مذکور به محصول ضروری است، که مستلزم هزینه عملیاتی و کارگری فوق‌العاده‌ای است. روش شیمیایی متداول نیز استفاده از جاذب‌های سطحی کلسترول می‌باشد که معروف‌ترین آن‌ها بتاسیکلودکسترین می‌باشد (سراج‌زاده، 1384).

بتاسیکلودکسترین الیگوساکاریدی حلقوی شامل 7 واحد گلوکز است که از نشاسته با استفاده از آنزیم سیکلودکسترین گلیکوترانسفراز تشکیل شده است. این آنزیم زنجیره پلی‌ساکاریدی را شکسته و مولکول‌های پلی‌ساکاریدی حلقوی تشکیل می‌دهد. این مولکول گرد و حلقه‌ای شکل است و بخش مرکزی آن فضایی آبریز و مدور است که مشابه قطر مولکول کلسترول است و این امکان را ایجاد می‌کند که مولکول نسبت به مولکول‌های غیرقطبی مثل کلسترول قابلیت جذب داشته باشد (Reineccius *et al.*, 2004, Szente and Szejtli., 2004). در بخش مرکزی ساختار حلقوی بتاسیکلودکسترین در فضای هیدروفوبیک حفره یا گودالی دارد که شعاع حفره دقیقاً یک مولکول کلسترول را در خود جای می‌دهد و به مولکول‌های غیرقطبی مانند کلسترول میل ترکیبی می‌دهد و یک کمپلکس پایدار نامحلول با کلسترول تشکیل می‌دهد، به همین علت به راحتی توسط سانتریفوژ کردن از ترکیب جدا می‌شود (Doosh *et al.*, 2013). به علاوه بتاسیکلودکسترین ترکیب غیرسمی، خوردنی، غیرنم‌گیر و از لحاظ شیمیایی ثابت و پایدار است بنابراین (بتاسیکلودکسترین) مزیت‌هایی را در هنگام استفاده برای حذف کلسترول از غذاهای مختلف فراهم می‌کند. این ترکیب به آسانی کلسترول را در دمای کمتر یا مساوی 4 درجه سانتی‌گراد جذب می‌کند که این مورد در حفظ کیفیت شیر طی فرآیند حذف کلسترول تاثیرگذار است (Alonso *et al.*, 2009). بتاسیکلودکسترین در ایالات متحده آمریکا در لیست غذایی GRAS است و در ژاپن هم یک "محصول طبیعی" قلمداد می‌شود ساپونین‌های پلیمری مثل دیجیتونین (شامل آگلیکون دیجیتوژنین متصل شده به یک پنتاساکارید) یا توماتین (متشکل از آمین‌های ثانویه استروئیدی پلی‌سایکلک، توماتیدین و یک تتراساکارید) کمپلکس‌های کلسترول نامحلول را تشکیل می‌دهند که با فیلتراسیون یا سانتریفوژ می‌تواند حذف شود. مطالعات نشان دادند که بتاسیکلودکسترین حلالیت کلسترول در آب را در بدن افزایش می‌دهد و بنابراین از بیماری‌های قلبی - عروقی و سکنه مغزی جلوگیری می‌کند. جستجو برای روش‌های نوین برای حذف ملکول‌های کلسترول یک موضوع حیاتی در طب ملکولی است. سیکلودکسترین‌ها در صنعت دارویی به‌عنوان عوامل کمپلکس‌کننده برای افزایش حلالیت داروهایی که در آب حلالیت کمی دارند و برای افزایش

بیماری‌های قلبی عروقی اتفاق می‌افتد، که ارتباط آن با افزایش میزان چربی دریافتی، چربی اشباع شده و کلسترول غذا ثابت شده است (بررسی سلامت و بیماری در ایران، انتشارات وزارت بهداشت و درمان، 1380). ارتباط مستقیم بین افزایش میزان کلسترول در خون و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی ثابت شده است (Gurt, 1992). مواد غذایی حاوی کلسترول بالا می‌توانند سبب افزایش میزان کلسترول پلاسما خون گردند (Grundy *et al.*, 1982). بنابراین تولید خامه رژیمی با کاهش کلسترول و چربی اشباع شده جهت سلامت عموم افراد جامعه به‌ویژه افراد میانسال و افراد با سطوح کلسترول بالا در خون و با یک تاریخچه خانوادگی بیماری‌های قلبی عروقی ضروری و با اهمیت به‌نظر می‌رسد. بنابراین یکی از راه‌های مؤثر در کاهش میزان کلسترول دریافتی و در نتیجه، کاهش احتمال بروز بیماری‌های قلبی - عروقی محدودیت مصرف غذاهای حاوی مقادیر زیاد کلسترول یا حذف کلسترول از چنین غذاهایی است (ظهیر اقدم و زندی، 1385). تقاضای مصرف‌کنندگان برای محصولات سالم از نظر تغذیه منجر به عرضه محصولات لبنی کم‌چرب و بدون چربی در بازار گردیده، اما به علت حذف چربی و استفاده از مواد جایگزین چربی طعم و مزه و بافت این محصولات چندان مطلوب و مورد پسند مصرف‌کنندگان نیست لذا کاهش میزان کلسترول خامه بدون کاهش میزان چربی و با حفظ خصوصیات فیزیکی و بافتی مطلوب در محصول می‌تواند خواسته مصرف‌کننده را تامین و نیز به تولید محصولی سالم و سودمند از لحاظ تغذیه‌ای و سلامت افراد جامعه کمک قابل توجهی نماید (امیری و رادی، 1378). در بسیاری از جوامع نقش غذا در سلامت و تغذیه انسان از اهمیت بسیاری برخوردار است به‌گونه‌ای که نقش اولیه غذا به‌عنوان منبع انرژی و رشد به نقش بیولوژیکی اجزای آن روی سلامتی انسان تغییر یافته و بازار تولید و مصرف مواد غذایی به سوی غذاهای فراسودمند رهنمون شده است (Abujajah *et al.*, 2015). روش‌های بسیاری برای جداسازی کلسترول از چربی شیر که شامل روش‌های فیزیکی، شیمیایی و بیولوژیکی می‌باشد، توسط محققان مورد اجرا قرار گرفته است. این روش‌ها شامل مخلوط کردن با روغن‌های گیاهی به‌منظور کاهش کلسترول (Hariharan *et al.*, 1995)، استخراج کلسترول توسط حلال آلی (Larsen *et al.*, 1981)، جذب سطحی کلسترول توسط ساپونین و دیجیتونین (Micich, 1990) و (Oh *et al.*, 1998)، تجزیه کلسترول توسط کلسترول اکسیداز (Watanabe *et al.*, 1989) و استخراج کلسترول توسط دی‌اکسید کربن در شرایط فوق‌بحرانی است (Gonzalez *et al.*, 1995). اغلب این روش‌ها نسبتاً غیرانتخابی هستند و ممکن است همراه با کلسترول، دیگر ترکیبات محلول در چربی مانند عطر و طعم و ترکیبات مغذی نیز استخراج شوند و پروتئین‌ها نیز ممکن است دناتوره شوند. از روش‌های متداول فیزیکی می‌توان به تقطیر ناگهانی در خلاء و استخراج با استفاده از سیال فوق

همچنین گزارش کردند که 10 و 20 دقیقه مخلوط کردن، به ترتیب منجر به کاهش 90/2 و 92/9% از کلاسترول می‌شود. Makoto و همکاران (1992) گزارش کردند که 91/1 و 94/6% از کلاسترول پنیر با مخلوط کردن با 10% بتاسیکلودکسترین در 45 (درجه سانتی‌گراد) برای به ترتیب 20 و 30 دقیقه حذف شد. Yen و همکاران (1995) با استفاده از 5% بتاسیکلودکسترین، حدود 90% کلاسترول لارد را جدا کردند. Lee و همکاران (1999) نشان دادند که افزایش مقادیر غلظت بتاسیکلودکسترین به بیش از 1/5% بر روی شیر خام که هموژن نشده می‌تواند به جای افزایش جذب کلاسترول کاهش جذب داشته باشد و این مسئله به واسطه برهمکنش‌های داخل مولکولی خود بتاسیکلودکسترین است و علت دیگر آن به هم چسبیدن مولکول‌های چربی شیر غیرهموژن است. Ahn و همکاران (1999) در مطالعه کاهش کلاسترول خامه توسط بتاسیکلودکسترین نشان دادند که با افزایش غلظت بتاسیکلودکسترین، میزان کاهش کلاسترول خامه بیشتر می‌شود. Kim و همکاران (2004) به منظور افزایش بازیافت بتاسیکلودکسترین از بتاسیکلودکسترین دارای اتصالات عرضی که توسط اپی‌کلروهیدرین ایجاد شده بود، استفاده و اقدام به کلاسترول زدایی از شیر کردند. بررسی ساختمان شیمیایی کمپلکس بتاسیکلودکسترین و کلاسترول نشان داد که نسبت مولی بتاسیکلودکسترین به کلاسترول 3 به 1 است و یک ملکول کلاسترول توسط 3 مولکول بتاسیکلودکسترین احاطه می‌شود (Hettinga, 2005).

با توجه به مطالب فوق و تحقیقات بررسی شده شرایط فرآیند بر روی کاهش کلاسترول خامه توسط بتاسیکلودکسترین تاثیرگذار می‌باشد که تاکنون بررسی نشده است و لذا در این پژوهش فرآیند کاهش کلاسترول خامه توسط بتاسیکلودکسترین بهینه‌یابی شد و بهترین شرایط فرآیند معرفی گردید و ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی خامه تولیدی بررسی شد و همچنین مدل‌های ریاضی جهت پیش‌بینی میزان کلاسترول کاهش یافته ارائه و اعتبارسنجی گردید.

مواد و روش‌ها

نمونه شیر خام مصرفی برای این مطالعه دارای 3/5% چربی و از شرکت بستنی مرال اصفهان تهیه گردید و بتاسیکلودکسترین با خلوص 99/2% از شرکت سیگما خریداری شد. کلیه معرف‌های شیمیایی از شرکت مرک آلمان خریداری شد. برای اندازه‌گیری کلاسترول در مرحله آماده‌سازی از هگزان و محلول اتانولیک پتاسیم هیدروکسید و محلول استاندارد کلاسترول (مرک، آلمان) استفاده گردید و برای تعیین میزان کلاسترول موجود در نمونه‌ها از دستگاه کروماتوگرافی هولت-پاکارد (Hewlett-Packard، آمریکا) مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای استفاده گردید. دما در اینجکتور و دتکتور

دسترس‌ی زیستی و پایداری آنها استفاده شده است و مشخص شده که قطر حفره ملکول بتاسیکلودکسترین مناسبترین اندازه برای هورمون‌ها، ویتامین‌ها و سایر ترکیباتی است که معمولاً در کاربردهای کشت سلول و بافت استفاده می‌شوند (Makiela *et al.*, 2018). ظهیرا قدم و زندی، (1383) مطالعه‌ای بر روی اثرات فرآیند تصفیه و تیمار با بتاسیکلودکسترین بر میزان کاهش کلاسترول پیه گاو انجام دادند، نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار با بتاسیکلودکسترین به تنهایی قادر است میزان کلاسترول را 81% و فرآیند تصفیه به تنهایی حدود 22% کاهش و فرآیندهای تصفیه و تیمار با بتاسیکلودکسترین توأم با به‌طور رضایت‌بخش و معنی‌داری میزان کلاسترول را حدود 90% بدون ایجاد تغییرات معنی‌دار در میزان اسیدهای چرب کاهش دهد. آریافر و زندی (1386) بر روی تولید کره کم کلاسترول توسط بتاسیکلودکسترین مطالعه کردند، آنها سه سطح 1 و 3 و 5% از غلظت بتاسیکلودکسترین انتخاب کردند، نتایج اندازه‌گیری میزان کلاسترول این تیمارها با گاز کروماتوگرافی نشان داد که استفاده از 5% بتاسیکلودکسترین بیشترین میزان کاهش کلاسترول را سبب شده است. سیف هاشمی و تفنگ‌سازان (1390) در مطالعه‌ای تکنیک تولید صنعتی روغن کره فاقد کلاسترول را توسط 5% بتاسیکلودکسترین مورد بررسی قرار دادند. مطابق نتایج توسط این تکنیک میزان کلاسترول روغن کره از 388 میلی‌گرم در مرحله اول به 69/181 میلی‌گرم و در مرحله دوم سانتریفوژ به صفر رسید. آنالیز شیمیایی و فیزیکی بین روغن کره فاقد کلاسترول با روغن کره معمولی تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداده است. مسکوکوی و همکاران (1392) مطالعه‌ای بر روی کاهش کلاسترول در شیرهای خام و هموژنیزه با استفاده از بتاسیکلودکسترین انجام دادند و مقادیر مختلف 0/5، 1 و 1/5% بتاسیکلودکسترین را با دو نوع شیر به صورت خام (قبل از پاستوریزاسیون و هموژنیزاسیون) و فرآیند شده (پاستوریزه و هموژنیزه) با مقدار ثابت چربی 3% در دو درجه حرارت 8 و 20 درجه سانتی‌گراد مخلوط نموده و مقدار کلاسترول باقیمانده در شیر بررسی گردید و نتایج کار آنها موفقیت آمیز بود. Galante و همکاران (2017) تاثیر کاهش کلاسترول توسط بتاسیکلودکسترین را بر روی خصوصیات فیزیکی شیمیایی، کارکردی، بافتی، ریزساختار و حسی پنیر نرم را مورد ارزیابی قرار دادند و برای این منظور کلاسترول خامه پایه را توسط بتاسیکلودکسترین تا حد زیادی کاهش دادند.

نتایج مطالعات نشان داد، کلاسترول به‌طور موثری از چربی‌های حیوانی توسط بتاسیکلودکسترین حذف می‌شود (Kwak *et al.*, 1998, Lee *et al.*, 1993, Vollbrecht, 1991). Oakenfull و همکاران (1991) گزارش کردند که افزودن 1% بتاسیکلودکسترین به شیر منجر به کاهش کلاسترول در حدود 77/1% می‌شود در حالی که افزودن 2% بتاسیکلودکسترین با 10 دقیقه مخلوط کردن در 4 درجه سانتی‌گراد میزان کلاسترول را حدود 90/8% کاهش می‌دهد. آنها

برای تعیین درصد کاهش کلسترول در نمونه‌ها، میزان کلسترول در خامه اولیه که بدون تیمار بود اندازه‌گیری شد و سپس درصد کاهش کلسترول با رابطه 1 محاسبه گردید.

$$A(\%) = \frac{A_1 - A_2}{A_1} \times 100 \quad (1)$$

A(%): میزان کاهش کلسترول (درصد)

(A₁): مقدار کلسترول در خامه اولیه

(A₂): مقدار کلسترول در خامه تیمار شده با بتاسیکلودکستین
آزمایشات در 3 تکرار انجام گرفت. نمونه خامه بدون تیمار با بتاسیکلودکستین به‌عنوان نمونه شاهد یا اولیه در نظر گرفته شد.

تعیین میزان آب‌اندازی

برای اندازه‌گیری میزان آب‌اندازی، مقدار معینی خامه را بر روی توری‌هایی قرار داده و سپس توری بر روی استوانه مدرج ثابت می‌شود و آن را داخل آون با دمای 18-15 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 75% قرار می‌دهیم بعد از دو ساعت مقدار سرم خارج شده را اندازه‌گیری می‌کنیم (استاندارد خامه زنی آلمان، 1996)

اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری

برای اندازه‌گیری ویسکوزیته ظاهری خامه از ویسکومتر بروکفیلد در دمای 9 درجه سانتی‌گراد و سرعت برش 75 بر ثانیه استفاده گردید. قبل از اندازه‌گیری ویسکوزیته، مطابق با روش Shim و همکاران (2003)، نمونه‌های خامه توسط میله شیشه‌ای همگن شد. در پایان ویسکوزیته نمونه‌ها بر اساس پاسکال ثانیه ثبت گردید. (Vanderghem, 2007).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق اثر سه فاکتور دما، زمان، غلظت بتاسیکلودکستین بر کاهش میزان کلسترول بررسی و ارزیابی شد. بعد از مشخص شدن محدوده متغیرهای مورد بررسی و وارد کردن آنها به نرم‌افزار دیزاین اکسپرت نسخه 8، نقشه آزمایش‌ها به‌دست آمد. طرح کلی آزمایش‌ها باکس بنکن و شامل 17 آزمون بود که با 5 تکرار در نقاط مرکزی انجام گرفت. سپس تک تک آزمایش‌های پیشنهادی در نقشه آزمایش انجام گرفت و میانگین نتایج حاصله از آزمون‌ها به‌عنوان پاسخ در نظر گرفته شد و سپس تحلیل گردید.

نتایج و بحث

اثر مستقل فاکتورهای عملیاتی بر میزان کاهش کلسترول

خامه

اثر مستقل غلظت بتاسیکلودکستین

شکل 1 تاثیر غلظت بتاسیکلودکستین در سطح (0/5- 1/5) را بر درصد کاهش کلسترول در نمونه‌های تحت تیمار با

به‌ترتیب 270 و 300 درجه سانتی‌گراد بود. برنامه‌ریزی شده بود که دمای آون در هر دقیقه 10 درجه سانتی‌گراد افزایش یابد و از 200 به 300 درجه سانتی‌گراد برسد و برای 20 دقیقه در 300 (درجه سانتی‌گراد) نگه داشته شود.

ابتدا شیر 3/5% چربی در دمای 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 16 ثانیه فرآیند پاستوریزاسیون را طی نمود. پس این مرحله تا دمای 55 درجه سانتی‌گراد خنک شد و توسط سپراتور، خامه شیر جدا گردید و روی 36% چربی تنظیم شد و پس از این مرحله بتاسیکلودکستین در غلظت‌های (0/5 و 1/5) و (1/5 و 2/5) به خامه در حمام آب در سه سطح دمایی 10 و 30 و 50 درجه سانتی‌گراد اضافه شد و در سه بازه زمانی 5 و 15 و 25 دقیقه همزده شد سپس خامه حاوی بتاسیکلودکستین برای حذف کمپلکس تشکیل شده در دوره‌های مختلف سانتریفوژ شد و کمپلکس بتاسیکلودکستین و کلسترول جداسازی شد.

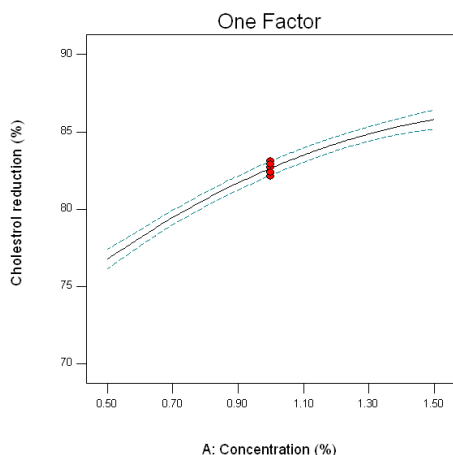
اندازه‌گیری کلسترول

جهت اندازه‌گیری میزان کلسترول در نمونه‌ها از روش اندازه‌گیری Lee و همکاران (1999) با کمی تغییرات استفاده شد. ابتدا نیاز بود که کلسترول از نمونه‌ها استخراج گردد. برای استخراج کلسترول 1 گرم از نمونه خامه در لوله شیشه‌ای با درپوش پیچی (15 mm × 180 mm) قرار داده شد. نمونه در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به مدت 30 دقیقه با 5 میلی‌لیتر از محلول الکلی هیدروکسیدپتاسیم 2 مولار صابونی شد. بعد از سرد کردن تا دمای اتاق، کلسترول با 5 (میلی‌لیتر) از هگزان استخراج شد. فرآیند 3 بار تکرار شد. لایه‌های هگزان به یک بالن ته گرد منتقل شدند و تحت خلا خشک شدند. عصاره در 1 میلی‌لیتر از هگزان حل شد و در 20- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شد.

کلسترول بر روی ستون موئینه سیلیکای ترکیبی به طول 30 m، قطر داخلی 0/32 mm، ضخامت فیلم 0/25 μm، با فاز ساکن 5% فنیل سیلوکسان و 95% متیل‌سیلوکسان با استفاده از کروماتوگرافی گازی تعیین شد. دما در اینجکتور و دکتور به‌ترتیب 270 و 300 درجه سانتی‌گراد بود. برنامه‌ریزی شده بود که دمای آون در هر دقیقه 10 درجه سانتی‌گراد افزایش یابد و از 200 به 300 درجه سانتی‌گراد برسد و برای 20 دقیقه در 300 درجه سانتی‌گراد نگه داشته شود. گاز نیتروژن با سرعت جریان 2 میلی‌متر بر دقیقه با نسبت تقسیم 1/50 به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. محلول استاندارد کلسترول در استات اتیل تهیه شد و محلول استاندارد کلسترول و محلول نمونه به دستگاه تزریق شد. سنجش کمی کلسترول با مقایسه مناطق پیک با یک پاسخ از استاندارد داخلی انجام شد.

افزایش غلظت بتاسیکلودکسترین تا 1/5% همچنان ادامه داشت و به 86% رسید که مطابق با نتایج حاصل از مطالعه افرادی بود که با افزایش غلظت بتاسیکلودکسترین مقدار بیشتری از کلسترول را حذف نمودند (آریافر و زندی، 1386 و مسکوکى و همکاران، 1392) و (Yen *et al.*, 1995).

بتاسیکلودکسترین به صورت مستقل نشان می‌دهد این در حالی است که دو متغیر دیگر یعنی دما و زمان در نقطه مرکزی ثابت می‌باشند. با افزایش غلظت بتاسیکلودکسترین میزان کاهش کلسترول بیشتر می‌شود به طوری که در غلظت 0/7% حدود 79% کلسترول کاهش یافت و در غلظت 1% حدود 82% کاهش کلسترول و در غلظت 1/30% مقدار کاهش کلسترول حدودا به 85% رسید و این روند با

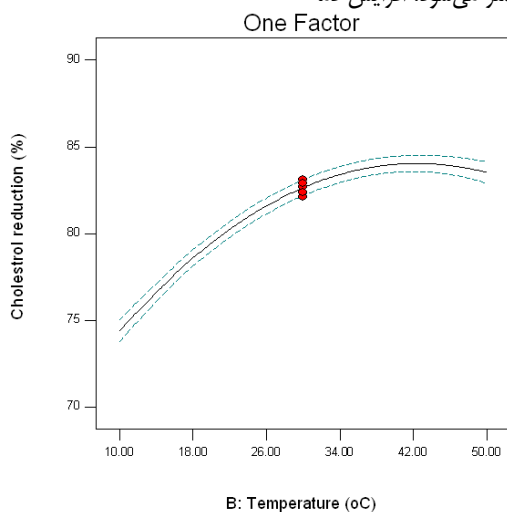


شکل 1- اثر مستقل غلظت بتاسیکلودکسترین بر میزان کاهش کلسترول

تا حدودی موجب افزایش سرعت واکنش بین کلسترول و بتاسیکلودکسترین و تشکیل کمپلکس بین این دو می‌شود. شدت تاثیر متغیر مستقل دما بر درصد کاهش کلسترول روند افزایشی ملایم‌تری را نسبت به متغیرهای زمان و غلظت بتاسیکلودکسترین نشان می‌دهد. و با نتایج حاصل از کار محققانی که با افزایش دمای فرآیند مقدار بیشتری از کلسترول را کاهش دادند مطابقت دارد (Lee *et al.*, 1999, Yen *et al.*, 1995).

اثر مستقل دما بر میزان کاهش کلسترول

همانطور که در شکل 2 مشخص است با افزایش دمای فرآیند میزان کاهش کلسترول افزایش یافت به گونه‌ای که در دمای 10 درجه سانتی‌گراد 74/5% کلسترول کاهش یافت با افزایش بیشتر دما به 18، 26 و 34 درجه سانتی‌گراد، شیب نمودار بیشتر شده و میزان کلسترول بیشتری حذف می‌گردد، در 42 درجه سانتی‌گراد میزان کاهش کلسترول به اوج خود یعنی 84% می‌رسد و بعد با افزایش بیشتر دما این شیب کاهش و میزان کاهش کلسترول کمتر می‌شود. افزایش دما

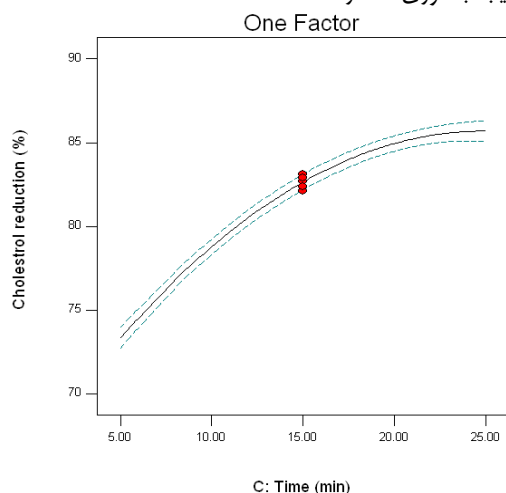


شکل 2- اثر مستقل دمای فرآوری بر میزان کاهش کلسترول

دقیقه کاهش کلاسترول به حداکثر مقدار خود یعنی 85/1% می‌رسد. با افزایش زمان اختلاط فرصت بیشتری برای تشکیل کمپلکس بین کلاسترول و بتاسیکلودکسترین داریم در نتیجه مقدار بیشتری از کلاسترول حذف می‌شود.

اثر مستقل زمان اختلاط بر میزان کاهش کلاسترول

با افزایش زمان فرآوری افزایش حذف کلاسترول را داشتیم به طوری که با افزایش زمان اختلاط از 5 به 10 و 15 دقیقه نمودار با شیب بیشتری موجب افزایش حذف کلاسترول می‌شود و این روند با شیب ملایم‌تری در 20 و 25 دقیقه ادامه می‌یابد به طوری که در 25

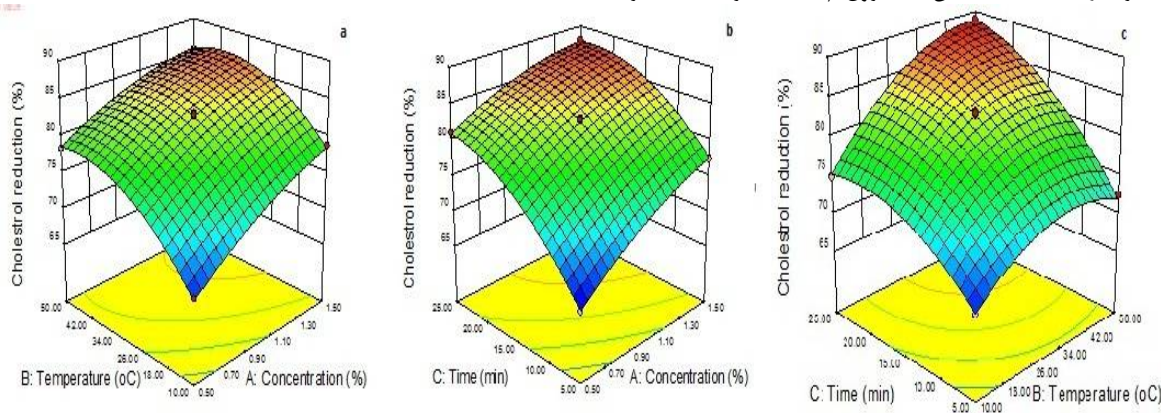


شکل 3- اثر مستقل زمان بر میزان کاهش کلاسترول

متقابل دما و زمان داشت که تاثیرگذاری اثر زمان در این فرآیند را نشان می‌دهد. Makoto و همکاران (1992) با افزایش زمان اختلاط از 20 دقیقه به 30 دقیقه در حضور 10% بتاسیکلودکسترین در دمای 45 درجه سانتی‌گراد ابتدا 91/1% و سپس 94/6% از کلاسترول پنیر را کاهش دادند که با توجه به نتایج حاصل از این مطالعات افزایش زمان اختلاط فرصت بیشتری برای تشکیل کمپلکس بین کلاسترول و بتاسیکلودکسترین ایجاد می‌شود و در نتیجه تشکیل کمپلکس بیشتر مقدار بیشتری از کلاسترول نیز حذف می‌شود و نتایج حاصل از کار این محققان با نتایج ما مطابقت داشت.

تأثیر متقابل پارامترهای مؤثر بر کاهش کلاسترول

جهت بررسی تأثیر متقابل فاکتورهای مورد بررسی در این پژوهش از نمودارهای سه‌بعدی سطح پاسخ استفاده شد و میزان تأثیر دو به دو متغیرها بر کاهش کلاسترول خامه بررسی شد. با توجه به نمودارهای شکل 4 می‌توان چنین نتیجه گرفت که اثرات متقابل دما، زمان، و غلظت بتاسیکلودکسترین در سطوح مورد بررسی بر کاهش کلاسترول خامه، همگی روند افزایشی دارند و در این میان بیشترین افزایش کاهش کلاسترول (88/9%) به تیمار تأثیر همزمان دما و زمان و کمترین اثر در افزایش کاهش کلاسترول (85/5%) به تیمار با تأثیر همزمان غلظت و دما بود، البته اثر متقابل غلظت بتاسیکلودکسترین و زمان نیز دارای بیشینه کاهش کلاسترول (87/9%) نزدیک به اثر

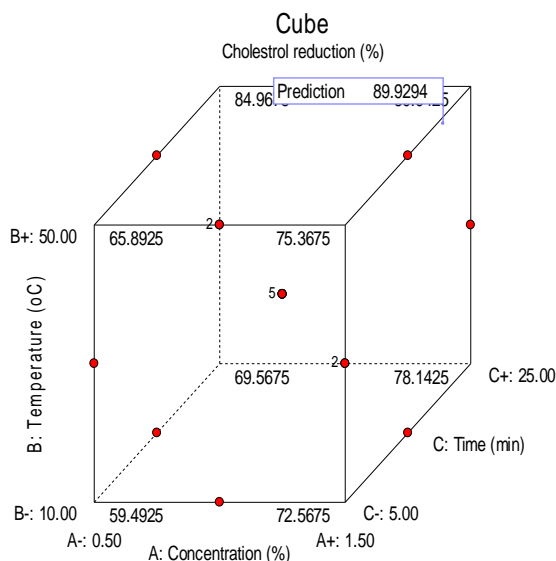


شکل 4- اثر متقابل a: دما و غلظت بتاسیکلودکسترین، b: زمان و غلظت بتاسیکلودکسترین، c: زمان و دما بر کاهش کلاسترول

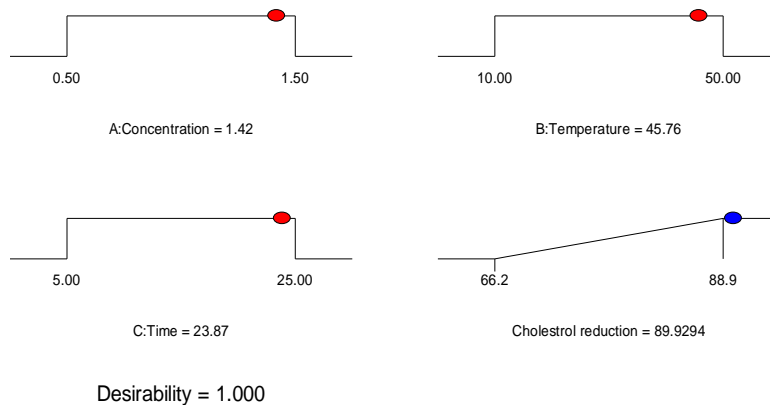
شکل 6 نتیجه بهینه‌یابی فرآیند کاهش کلسترول خامه توسط بتاسیکلودکستین به کمک نرم‌افزار دیزاین اکسپرت به صورت مکعبی نمایش داده شده است.

مقایسه مقادیر تجربی با مقادیر پیش‌بینی شده توسط روش سطح پاسخ در شکل 5 تاثیر تک تک متغیرها به صورت جداگانه مورد بررسی قرار گرفت و با استفاده از روش سطح پاسخ می‌توان چنین بیان نمود که شرایط عملیاتی بهینه برای حداکثر کاهش کلسترول خامه 89/9294 درصد، شامل غلظت بتاسیکلودکستین 1/42 درصد، زمان

Design-Expert® Software
Factor Coding: Actual
Cholesterol reduction
X1 = A: Concentration
X2 = B: Temperature
X3 = C: Time



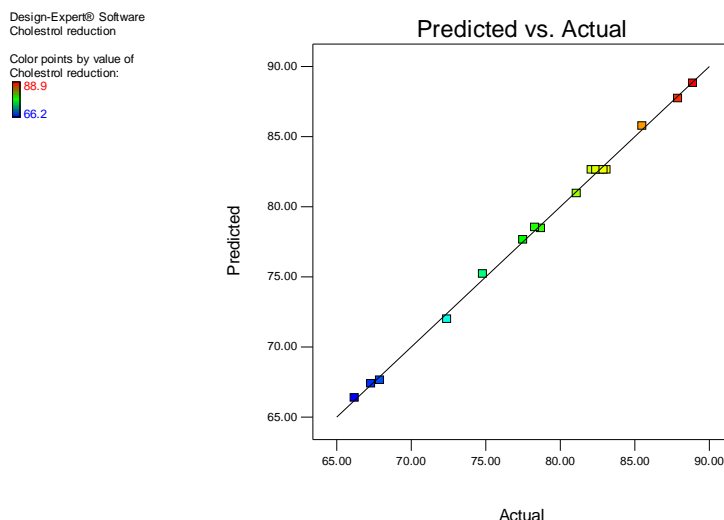
شکل 5- بهینه‌یابی سه بعدی جهت حصول حداکثر کاهش کلسترول



شکل 6- بهینه‌یابی اثر فاکتورهای مورد بررسی برای به دست آوردن حداکثر کاهش کلسترول انجام آزمایش تجربی جهت بررسی صحت مدل

بسیار نزدیک است و این مورد بیانگر آن است که مدل توانایی خوبی برای پیش‌بینی داده‌ها داشته است و صحت مدل تایید می‌گردد.

برای بررسی صحت مدل پیشنهادی توسط نرم‌افزار، یک آزمایش تجربی در شرایط پیشنهاد شده توسط نرم‌افزار، در سه تکرار انجام شد (شکل 7). مقدار تجربی به‌دست آمده در شرایط بهینه توسط مدل،



شکل 7- مقایسه مقادیر کلسترول کاهش یافته در آزمایشات تجربی و مقادیر پیش‌بینی شده توسط نرم‌افزار

ویژگی‌های فیزیکی خامه پس از کاهش میزان کلسترول جهت بررسی تاثیر افزودن بتاسیکلودکسترین بر سایر ویژگی‌های خامه تولید شده، آزمون‌های فیزیکوشیمیایی بر روی خامه انجام شد (جدول 1).

شکل بالا نشان‌دهنده مقایسه مقادیر تجربی با مقادیر پیش‌بینی شده به‌وسیله روش سطح پاسخ برای بررسی میزان کاهش کلسترول است. شباهت فراوان مدل حاضر با مقادیر تجربی نشان می‌دهد که همبستگی بسیار خوبی بین نتایج پیش‌بینی شده و مقادیر تجربی وجود دارد و نتایج پیش‌بینی شده موردانتظار با نتایج واقعی حاصل از آزمون‌ها بسیار به‌هم نزدیک‌اند و مطابقت دارند.

جدول 1- ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خامه با کلسترول کاهش یافته توسط سیکلودکسترین

غلظت (%)	دما (°C)	زمان (دقیقه)	میزان کلسترول کاهش یافته (%)	ویسکوزیته (Pa.s)	افزایش حجم (%)	ناپایداری کف (mL)
1/42	45/76	23/87	89/9294	8/7±0/5	129/8±3/7	3/1±0/3
1/06	35/66	10/92	75/5001	8/5±0/6	124/1±3/9	4/4±0/5
0/60	18/12	5/23	65/2081	8/2±0/4	130/5±4/2	5/2±0/4

ویژگی‌های ویسکوالاستیک فیلم سطحی قرار می‌گیرد. در خامه‌های لبنی همزده شده گلبول‌های چربی در فاز آبی جمع می‌شوند و به‌طور هموار دور سطح مشترک هوا/ آب پنیر پخش می‌شوند، بنابراین به کف ثبات و استحکام می‌دهند (Bruhn and Brahn., 1988, Noda and Shiinoki., 1986). زمانیکه گلبول‌های چربی در حضور نیروی برشی گسیخته می‌شوند حالت بی‌ثباتی دارند و بعد از آن به هم پیوستگی جزئی در پس آن پدید می‌آید و هرچه چربی شیر بالاتر باشد پایداری و ثبات کف را افزایش می‌دهد، اما افزایش حجم را کاهش می‌دهد (Stanley et al., 1996). ویسکوزیته ظاهری خامه تیمار

با توجه به جدول بالا در غلظت 1/42%، بتاسیکلودکسترین و دمای 45/76 درجه سانتی‌گراد برای مدت زمان 23/87 دقیقه بیشترین درصد کاهش کلسترول، بیشترین ویسکوزیته و افزایش حجم زیاد و کمترین پایداری کف را داریم. کاهش کلسترول موجب کاهش ناپایداری کف و افزایش ویسکوزیته می‌شود. در غلظت 0/6% بتاسیکلودکسترین و دمای 18/12 درجه سانتی‌گراد و زمان 5/23 دقیقه کمترین میزان کاهش کلسترول کمترین ویسکوزیته و بیشترین ناپایداری کف مشاهده گردید. ناپایداری کف خامه تا حدود زیادی تحت تاثیر ویژگی‌های رئولوژیکی فاز پیوسته حباب‌های هوا و

کلسترول تشکیل دهد و به جداسازی آن از محصول کمک کند. جذب کلسترول توسط بتاسیکلودکسترین به غلظت بتاسیکلودکسترین بستگی دارد و زمان اختلاط و دما نیز موجب افزایش اثر آن می‌شود با بررسی اثر هر کدام از متغیرهای مستقل، می‌توان چنین نتیجه گرفت که هر سه متغیر مورد بررسی در سطوح ارزیابی شده بر کاهش کلسترول اثری افزایشی دارند و افزایش زمان اختلاط بیشترین تاثیر و افزایش غلظت بتاسیکلودکسترین کمترین اثر افزایشی را بر کاهش میزان کلسترول داشته است. بررسی تاثیر متقابل متغیرها نیز نشان داد، اثر همزمان دما و زمان با غلظت مناسب از بتاسیکلودکسترین می‌تواند تاثیر قابل توجهی در کاهش کلسترول داشته باشد. یافتن غلظت، دما و زمان بهینه برای رسیدن به حداکثر کاهش کلسترول موجب کاهش هزینه‌ها و افزایش بازدهی می‌گردد. روش سطح پاسخ و طرح باکس بنکن به‌عنوان روش‌های آماری بهینه‌سازی و مدل‌سازی توانستند شرایط بهینه حداکثر حذف کلسترول توسط بتاسیکلودکسترین را در سطوح به‌کار رفته به‌خوبی پیش‌بینی نمایند، شرایط عملیاتی بهینه به‌دست آمده توسط مدل برای خامه 36 درصد چربی شامل غلظت بتاسیکلودکسترین %1/42 و دمای 45/76 درجه سانتی‌گراد و زمان 23/87 دقیقه می‌باشد. میزان کاهش کلسترول پیش‌بینی شده تحت این شرایط مقدار %89/92 بود که با مقدار تجربی به‌دست آمده در شرایط بهینه پیش‌بینی شده بسیار نزدیک بود که این امر نشان‌دهنده صحت و قدرت پیش‌بینی مدل در نظر گرفته شده می‌باشد. در آخر پیشنهاد می‌گردد که تاثیر افزودن بتاسیکلودکسترین به خامه بر روی طعم و مزه و ویژگی‌های حسی و بافتی و رنگ و نیز تاثیر افزودن بتاسیکلودکسترین بر روی مدت زمان ماندگاری خامه بررسی گردد. همچنین اثر افزودن بتاسیکلودکسترین برای کاهش میزان کلسترول در محصولات با کلسترول بالا مانند سس مایونز و انواع پنیرها مورد بررسی قرار گیرد.

شده با بتاسیکلودکسترین بعد از همزدن با افزایش سرعت و حرکت همزن و افزایش زمان همزدن افزایش می‌یابد این نتایج حاکی از آن است که مقداری چربی در خامه قبل از هم زدن به وسیله ی بتاسیکلودکسترین بلوکه یا انبوه می‌شود. همچنین با افزایش سرعت مخلوط کردن و زمان مخلوط کردن، افزایش حجم کاهش می‌یابد (Ahn and Kwak., 1999). به علت متلاشی شدن غشای گویچه چربی در هنگام فرآیند همزدن، افزودن موادی مانند فسفولیپیدها یا امولسیفایرها منجر به بهبود در ویژگی‌های همزنی خامه قنادی می‌شود (Dickinson., 1997). در میان عوامل مختلف مؤثر بر ویژگی‌های کاربردی خامه همزده عامل فعالیت سطحی و عامل پایدارکننده‌ها ممکن است نقش مهمی در تولید کف پالاینده و میزان افزایش حجم ثابت و کف پایدار داشته باشد، همچنین ویژگی‌های ریزساختاری و تغییر شکل ماده مانند افزایش ویسکوزیته خامه همزده به‌وسیله اضافه کردن پایدارکننده‌ها مؤثر است (Smith et al., 2000).

نتیجه‌گیری

تولید خامه با کلسترول پایین برای سلامتی عموم افراد جامعه ضروری به‌نظر می‌رسد به همین علت افزایش چشمگیر تقاضا در بازار برای محصولات فاقد کلسترول و کلسترول کاهش‌یافته به‌وجود آمده است (Schroder et al., 1993).

به همین منظور در این پژوهش به بررسی کاهش کلسترول در خامه توسط بتاسیکلودکسترین و بهینه‌یابی تاثیر پارامترهای مؤثر بر کاهش میزان کلسترول پرداخته شد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از بتاسیکلودکسترین منجر به کاهش موفقیت‌آمیز کلسترول از محصول و افزایش ویسکوزیته و افزایش حجم و کاهش ناپایداری کف گردید. بتاسیکلودکسترین به‌دلیل داشتن حفره‌ای در قسمت مرکزی آرایش مولکولی خود می‌تواند یک کمپلکس پایدار نامحلول با

منابع

- Abujah, C. I., Ogbnna, A. C., & Osuji, C.M. (2015). Functional Components and Medicinal Properties of Food: Areview. *Journal of food Science and Technology*, 52 (5), 2522-2529.
- Ahn, j., Kwak, H.(1999) Optimizing cholesterol removal in cream using β -cyclodextrin and response surface methodology. *journal of foodscience*, 64 (4), 629-632.
- Alonso, L., Cuesta, P., Fontecha, J., Juarez, M., and Gilliland, S. E. (2009). Use of betacyclodextrin to decrease the level of cholesterol in milk fat, *Journal of Dairy Science*, 92(3): 863-869.
- Amiri, S., Radi, M. (1999). Investigating the physico-chemical and texture properties of low-fat cream, prepared from starch modified wheat, 18th National Congress of Science and Technology, Iran.
- Aryafar, M., Zandi, p. (2007). Low Cholesterol Butter Production By Using β -cyclodextrin. *Journal of Nutrition Sciences and Iranian Food Industry*, 3: Pages From 23-32.
- Boudreau, A., and Arul, J. (1993). Cholesterol Reduction and Fat Fractionation Technologies for Milk Fat: An Overview, *Journal of Dairy Science*, 76: 1772-1787.

- Bruhn, C., Bruhn, J. (1988). Observations on the whipping characteristics of cream, *Journal of Dairy Science*, 71: 857–862.
- Dickinson, E., (1997) Propertise of emulsions stabilized with milk proteins. *J. Dairy Science*, 80(10): 2607-2619.
- Donnell, J. A. O. 1993. Future of Milk Modification by Production or Processing: Integration of Nutrition, Food Science and Animal Science, *Journal of Dairy Science*, 76: 1797-1801.
- Doosh, K. S., Majeda, F., & SO, M. A. (2013). Manufacturing Cholesterol – Reduced Butter by Betacyclo dextrin and study some of its Chemical and Physical Properties. *Pakistan Journal of Nutrition*, 12(9), 837-841
- Food Consumption Report (2000-2001). Institute of Nutrition Research and Food Industry of the Country.
- Galante., M., Pavon, Y., Lazzaroni, S., Soazo, M., Costa, S., Boeris, V., & Rozycki, S. (2017). Effect of Cholesterol-reduced and Zinc fortification treatments on Physicochemical, functional, TextureMicro structural and Sensory Properties Of Soft Chees. *International Journal of Dairy Technology*.
- German Experimental Whipping Cream Standard (1996).
- Gonzalez-Hierro, M., Ruiz-Sala, P., Alonso, L., and Santamaria, G. (1995). Extraction of ewe's milk cream with supercritical carbon dioxide, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 200: 297–300.
- Grundy, S., Brheimer, D., Blackburn, H., Brown, W., Kwiterovich, P., Mattson, F., Schonfeld, G., and Weidman, W. (1982). Rationals of the diet-heart statement of the American Heart Association. Report of the Nutrition Committee, *Circulation* 65: 839A–854A.
- Gurr, M. (1992). Dietary lipids and coronary heart disease: old evidence, new perspective. *Progress, Lipid Research*. 31: 195–243.
- Hariharan, K., soma kurien, k. and venkat Roa,s.(1995). Effect of supplementaiton of milk fat with peanut oil on blood lipids and lipoproteins in infants. *International Journal of Food Science. Nutrrriant*, 46: 309-317.
- Health and Diseas Survey in Iran (2001). Publication of Secretariat of Applied Research of Health Deputy.
- Hettinga D.in Baileys industrial oil and fat products. Edited by F.Shahidi, 6 th., Vol.2, john Wiley, New York; (2005), pp 15-21.
- Kim SH, Ahn J, Kwak HS. Optimizing Cholesterol removal from Milk. *Arch pharm Res*.2004, 27(11):1183-1187.
- Kim, S.H., Ahn.j. and Kwak H.S., 2004. Crosslinking of β -cyclodextrin on cholesterol removal from milk *Archives of pharmacal research*, 27(11):1183-1187.
- Larsen, J. Froning, G. (1981). Extraction and processing of various components from egg youlk. *Poultry science*, 60: 160-167.
- Lee, J., Ustunol, Z., and Smith, D. (1993). Cholesterol removal from cream using β -cyclodextrin and derivatives, *Journal of Dairy Science*, 76: 143.
- Lee, D., Ahn, J., and Kwak, H. (1999). Cholesterol removal from homogenized milk with β -cyclodextrin, *Journal of Dairy Science*, 82: 2327–2330.
- Makoto, K., Akio, O., and Reijiro, S. (1992). Cholesterol removal from animal with cyclodextrin by inclusion. Honnen LTD., assignee. Japan Pat. No. 4,168,198
- Makiela, D., Janus, L., Gorny, K., Gburski, Z. (2018). Investigation Of The influence Of Beta cyclodextrin On Cholesterol Lodgement A molecular Dynamics Simulation Study, *Journal of Molecular Liquids*, 262 (2018) Pages 451-459.
- Maskouki, A., Beheshti, H.R., Kheradmand, A., Valibeigi, S., Feizi, J. (2013). Investigating the Possibility of Cholesterol Reduction in Raw and Homogenized Milk By Using Beta-Cyclo dextrin, *Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology*, 2 (3): Pages From 263-264.
- Micich, T. (1990). Behaviors of polymer supported digitonin with cholesterol in the absence and presence of butter oil, *Journal of Agriculture of Food Chemistery*, 38: 1839–1843.
- Noda, M., and Y. Shiinoki. (1986). Microstructure and rheological behavior of whipping cream. *Journal of Texture Stud.* 17:189–196.
- Oakenfull, D., Sidhu, G., and Rooney, M. (1991). Cholesterol removal, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, assignee. International. Pat. No. WO 91/16824.
- Oakenfull, D., and Sihdu, G. (1991). Cholesterol reduction, Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation, assignee. *International. Pat. No. WO 91/11114.*
- O, Donnell, JA. (1989). Like fat technologies and marketing board (1989) Milk fat round tables. *Journal of Dairy Science*. 12:3109- 3115.
- Oh, H., Chang, E., and Kwak, H. (1998). Conditions of the removal of cholesterol from milk by treatment with saponin, *Korean Journal of Dairy Science*. 20:253–260.
- Pyorala, K. (1987). Dietary cholesterol in relation to plasma cholesterol and coronary heart disease, *Am. J. Clin. Nutr.* 45: 1176–1184.
- Reineccius, T., Reineccius, G., and Peppard, T. (2004). Potential for β -cyclodextrin as partial fat replacer in low-fat foods, *Journal of Food Science*, 69: FCT334–FCT341.
- Schroder, B., and Baer, R. (1990). Utilization of cholesterol reduced milk fat in fluid milks, *Food Technology*. (Nov.):145–148.

- Seif hashemi, S., Tofangsazan, F. (2011). Technique of industrial production of cholesterol free butter. 20th National congress of Food Science and Technology, Sharif University of Technology, Iran.
- Serajzadeh, S. (2005) . Cholesterol Reduction and Dairy Products by Enzymatic Method, Master's Thesis, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Tehran, Sharif University.
- Shim,S.Y., Ahn,J., and Kwak, S. Functional Properties of Cholesterol-Removed Whipping Cream Treated by β -cyclodextrin. *J. Dairy Sci.* 86: 2767-2772 *American Dairy Science Association.*(2003)
- Smith, A., Goff, H., and Kakuda, Y. (2000). Microstructure and rheological properties of whipped cream as affected by heat treatment and addition of stabilizer, *International Dairy Journal*, 10: 295–301.
- Szente, L., and Szejtli, J. (2004). Cyclodextrin as food ingredients. *Trends Food Science Technol.* 15: 137–142.
- Vandergheem, C., Danthine, S., Blecker, C. and Deromanne, C. (2007), Effect of protease addition on some physico-chemical characteristics of recombined dairy creams. *International Dairy Journal.* 17(8), 889- 895.
- Vollbrecht, H. (1991). Process for the removal of cholesterol and cholesterol esters from egg yolk, SKW Trostberg Aktiengesellschaft, assignee, US Patent. No. 5063077.
- Watanabe, K., Aihara, H. and Nakamura, R. (1989). Properties of the purified extracellular cholesterol oxidase from *Rhodococcus* Equi. No. 23. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 37: 1178-1182.
- Yen, G., and Tsui, L. (1995). Cholesterol removal from a lardwater mixture with β -cyclodextrin, *Journal of Food Science*, 60:561–564.
- Zahiraqdam, H., Zandi, P . (2004). Investigating of Oil Cholesterol Reduction Rate during Treatment With Beta-Cyclodextrin, Summary Of 8th Iranian Nutrition Congress Articles, Iran University of Medical Sciences. Pages 386-387.
- Zahiraqdam, H., Zandi, P.(2006). The Effects of Treatment Process With Betacyclodextrin on cholesterol in Cow Suet, *Journal of Nutrition Science and Food Industry of Iran*, Issue 1 , Pages From 1-6.

Investigating the effect of operational factors on reducing cream cholesterol by beta-cyclodextrin using response surface method

M. Mansouri Bani¹, V. Samavati², M. Bolandi^{3*}

Received: 2019.06.08

Accepted: 2019.09.22

Introduction: The Cholesterol in our diet is a risk factor for the prevalence of cardiovascular diseases. One of the effective ways to reduce the incidence of such diseases is to remove cholesterol, including animal fats, from our food sources. In this research, attempts were made to investigate the effect of operational factors on reducing cholesterol in cream by beta-cyclodextrin using RSM and to examine its physicochemical properties. The variables in this study were beta-cyclodextrin concentration, mixing temperature and mixing time.

Materials and Methods: The 3.5% fat raw milk was pasteurized at 72°C for 16 s, and then it was cooled to 55°C. The milk cream was separated by a separator and adjusted to 36% fat. Beta-cyclodextrin was added in 0.5, 1, 1.5% concentration in water bath at three levels of 10, 30, 50 ° C. It was mixed at three time intervals of 5, 15, 25, min. Cream containing beta-cyclodextrin was centrifuged to eliminate the complex formed in different periods and the beta-cyclodextrin and cholesterol complex was isolated. Beta-cyclodextrin of 99.2% purity was purchased from Sigma-Aldrich and all chemical agents from Merk, Germany. To measure cholesterol content in the preparation phase, hexane and ethanolic solution of potassium hydroxide (Merk) and the standard solution of cholesterol (Merk) were used. To determine the level of cholesterol in the samples, Lee et al. (1999) method was used after a few modifications. Firstly, cholesterol was extracted from the specimens and the cholesterol levels in the samples were determined with a chromatography apparatus equipped with flame ionization. The quantitative measurement of cholesterol was conducted by comparing the peak areas with a response from the internal standard. The experiments were designed, using the response surface method and the Box-Behnken Design (BBD), to achieve a high-efficiency process in reducing the highest cholesterol level and determining optimum conditions. The viscosity was determined using a Brookfield viscometer, and the over run and foam stability of the cholesterol cream samples were determined using a Graduated cylinder.

Results and discussion: Due to the cavity in the central part of beta-cyclodextrin molecular arrangement, it can form a stable cholesterol-insoluble complex and help to isolate it from the product. The results showed that time, mixing temperature, and beta-cyclodextrin concentration all had a positive effect on reducing the level of cholesterol, and the effect of independent factors was almost the same, as the time factor had the highest effect, supported in Makoto et al. (1999). Concentration factor had the least effect on cholesterol reduction, contrary to studies by Aryafar et al. (2007) and Yen et al. (1995). Among the interactions of the investigated factors, the highest effect was due to the simultaneous effects of temperature and time (88.9%) and the least effect was due to the simultaneous effect of concentration and temperature (85.5%). Findings of this study showed that the use of beta-cyclodextrin resulted in a successful reduction of cholesterol from the product without affecting tissue properties, increasing viscosity and volume, or reducing stability of the foam. The absorption of cholesterol by beta-cyclosporine depends on its concentration. The mixing time and temperature also boosts the effect. After examining the effects of each independent variable, it can be concluded that all three investigated variables have an incremental effect on the level of cholesterol in the evaluated levels. Increasing mixing time has the highest effect on increasing cholesterol and increasing the concentration of beta-cyclodextrin has the lowest effect on cholesterol reduction. Investigating the interaction effects of variables also showed that the simultaneous effect of temperature and time with the proper concentration of beta-cyclodextrin could have a significant effect on cholesterol reduction. The response surface method and Box-Behnken

1. Graduate Student, Department of Food Science and Technology, Kherad Institute of Higher Education, Bushehr, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Irani.

(* - Corresponding Author Email: bolandi75@gmail.com)

Design as statistical optimization and modeling techniques enabled the researchers to predict the optimal conditions for maximal removal of cholesterol by beta-cyclodextrin at the decided levels. The optimal operating condition obtained by the model for 36% fat cream contains 42.1% beta-cyclodextrin concentration, 76.75 ° C temperature and 87.83 min of mixing time. The predicted cholesterol reduction in these conditions was 89.92%, which was very close to the experimental value obtained in predicted optimal conditions. It indicates the accuracy and predictive power of the intended model.

Key Words: Beta-cyclodextrin; Cholesterol; Cream; Optimization; Response Surface Method