

درون‌پوشانی عصاره چغندر قرمز توسط حامل‌های مالتودکسترین و ایزوله پروتئین آب‌پنیر با استفاده از خشک‌کن‌های پاششی و انجمادی

مهسا فریدنیا¹ - علی محمدی‌ثانی² - مسعود نجف‌نجفی^{3*}

تاریخ دریافت: 1398/04/22

تاریخ پذیرش: 1398/06/10

چکیده

هدف از این پژوهش تولید پودر عصاره چغندر قرمز به‌عنوان منبع ترکیبات زیست‌فعال و رنگی با استفاده از فرآیندهای خشک‌کردن انجمادی و پاششی بود. برای این منظور، ایزوله پروتئین آب‌پنیر (WPI) و مالتودکسترین با DE برابر 20-18 در نسبت‌های مختلف (100:0، 75:25، 50:50، 25:75، 0:100) به‌عنوان مواد دیواره برای درون‌پوشانی عصاره مورد استفاده قرار گرفتند. در همه تیمارها بریکس محلول خوراک 10 درصد ثابت نگه داشته شد. پودرهای تولیدی از لحاظ کارایی درون‌پوشانی، محتوی رطوبت، حلالیت در آب و محتوی فنول کل مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که با افزایش WPI تا سطح 50 درصد (نسبت 50:50)، کارایی درون‌پوشانی به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) افزایش یافت. همچنین کارایی درون‌پوشانی روش خشک‌کردن پاششی بالاتر بود ($p < 0/05$). در نمونه‌های خشک‌شده به‌روش انجمادی و پاششی، کمترین مقدار رطوبت در نمونه‌های تیمار شده با 100 درصد مالتودکسترین مشاهده شد. افزایش نسبت مالتودکسترین به‌طور معنی‌داری حلالیت پودرها در آب را افزایش داد ($p < 0/05$). ارزیابی محتوی ترکیبات فنولی نشان داد که پودرهای عصاره چغندر قرمز تهیه شده با خشک‌کن انجمادی بالاترین میزان فنول کل را داشتند. همچنین پودرهای به‌دست آمده از نسبت 50:50 مالتودکسترین به WPI از بیشترین محتوی فنول کل برخوردار بودند.

واژه‌های کلیدی: خشک کردن انجمادی، خشک کردن پاششی، چغندر قرمز، ایزوله پروتئین آب‌پنیر، مالتودکسترین

مقدمه

بسیاری داشته که یک نوع از این گیاه چغندر قرمز (لبویی) است که به‌دلیل رنگ قرمز تا بنفش تیره بسیار جذاب و قابل توجه بوده که اخیراً مطالعات زیادی را به‌خود معطوف ساخته است (Gliszczyńska, Świągło *et al.*, 2006). چغندر قرمز منبع خوبی برای پیگمان‌های قرمز بوده و به‌طور فزاینده‌ای برای تولید رنگ قرمز غذایی استفاده می‌شود. پیگمان‌های قرمز و زرد چغندر در مجموع تحت عنوان بتالائین شناخته شده و شامل بتاسیانین‌های قرمز و بتاگراتین‌های زرد می‌باشند. پیگمان‌های چغندر قرمز تحت عنوان بتالائین به‌خوبی در آب حل می‌شوند و در الکل نامحلول هستند. پیگمان اصلی در چغندر قرمز بتالائین و به‌صورت گلوکیدبتانیدین است که وزن مولکولی آن 550/48 گرم بر مول می‌باشد (Neelwarne & Halagur, 2013). بتاسیانین عمده و اصلی چغندر قرمز، بتانین بوده که 75 تا 95 درصد از کل پیگمان‌های چغندر را تشکیل می‌دهد. پیگمان‌های باقی‌مانده شامل ایزوبتالین، پریبتانین و ایزوپریبتانین می‌باشد (Azeredo, 2009). براین اساس، به‌دلیل غنی بودن چغندر قرمز از رنگدانه‌های طبیعی و به‌ویژه بتالائین‌ها، فراوانی آن در کشورمان و در دسترس بودن این گیاه، فواید ویژه برای سلامت انسان، و نیز مقرون به صرفه بودن آن، این گیاه از پتانسیل بسیار

در سال‌های اخیر توجه بیشتری به عملکرد سوم غذاها شده است. عملکرد سوم در غذاها، نقش ترکیبات غذایی در پیشگیری از بیماری‌ها توسط تعدیل سیستم‌های فیزیولوژیکی می‌باشد. فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدسرطانی، ضدجهدش و ضد میکروبی، مثال‌هایی از نقش این ترکیبات غذایی می‌باشند. غذاها دارای عملکرد سوم که تحت عنوان غذاهای فراسودمند نامیده می‌شوند به‌عنوان عامل مهمی در سالم ماندن افراد معرفی شده‌اند (Potter & Hotchkiss, 2012). مواد گیاهی سرشار از ترکیبات طبیعی و زیست‌فعال هستند که قابلیت‌های فراوانی برای به‌کارگیری در مواد غذایی به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، ضد میکروبی، رنگ طبیعی، طعم‌دهنده و غیره دارند. چغندر گیاهی است که از زمان‌های بسیار دور در بین مردم رواج

1 و 2- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران
3- دانشیار، گروه صنایع غذایی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران.
* نویسنده مسئول: (Email: mnajafi.mhd@gmail.com)

(Mani et al., 2002). از این رو، افزودن مواد حامل به پودرها سبب رقابت با پودر برای جذب رطوبت، عمل کردن به عنوان حامل فیزیکی بین ذرات و محافظ و افزایش دمای انتقال شیشه‌ای و در نتیجه افزایش پایداری محصول در طی خشک کردن و نگهداری آن می‌گردد (Sablani et al., 2008).

بر این اساس هدف از این پژوهش درون‌پوشانی عصاره چغندر قرمز به‌عنوان یک رنگ خوراکی طبیعی با استفاده از دو روش خشک کردن انجمادی و پاششی توسط دو ماده حامل مالتودکسترین و ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI) و مقایسه خصوصیات پودرهای تولید شده بود.

مواد و روش‌ها

چغندر قرمز از بازار محلی مشهد تهیه گردید. ایزوله پروتئین آب پنیر (WPI)، مالتودکسترین (DE⁴ 18-20)، معرف فولین سیوکالتیو⁵، سدیم کربنات و اتانول همراه با دیگر مواد شیمیایی مورد نیاز از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

استخراج عصاره چغندر قرمز

طی این پژوهش ماده رنگی موجود در چغندر قرمز که حاوی بتالائین بود با استفاده از روش استخراج آبی-الکلی به دست آمد. برای این منظور، ابتدا چغندر قرمز آسیاب و درون یک فلاسک حاوی آب مقطر و اتانول اسیدی شده با نسبت 1:3 ریخته شد. فلاسک و کندانسور درون یک حمام آب به مدت 2 ساعت تحت دمای 50 درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس، فلاسک از سیستم مذکور جدا و به مدت 2 ساعت در تاریکی نگهداری گردید. در نهایت، محتویات فلاسک در خلأ به وسیله فیلتر واتمن شماره یک صاف و عصاره استخراج شده تا بریکس 10 درصد به وسیله یک تبخیرکننده تحت خلأ (Heidolph, Heizbad HB Contr, Germany) در دمای 40 درجه سانتی‌گراد تغلیظ گردید (Tiwar, & Cullen, 2013).

تهیه محلول‌های خوراکی

پس از آماده‌سازی عصاره چغندر قرمز، محلول خوراکی با بریکس 10 درصد و حاوی درصد‌های مختلف از حامل‌های مالتودکسترین و پروتئین آب پنیر تهیه شد. برای این منظور عصاره چغندر قرمز با نسبت‌های مختلف مالتودکسترین به WPI (50:50, 25:75, 0:100) نسبت‌های مختلف مالتودکسترین و پروتئین آب پنیر (WPI) و مقایسه خصوصیات پودرهای تولید شده بود.

بالایی برای استفاده به‌عنوان منبع بتالائین‌ها و افزودنی رنگی طبیعی در فرمولاسیون‌های غذایی، دارویی و بهداشتی برخوردار است. اما مهم‌ترین چالش در استفاده از رنگ‌های طبیعی خوراکی، عدم پایداری آنها در مراحل مختلف تولید و نگهداری محصولات می‌باشد. فرآیند درون‌پوشانی یکی از راهبردهای کارآمد در صنایع غذایی برای رفع این مشکل و حفظ ترکیبات زیست‌فعال در طی تولید و نگهداری محسوب می‌شود (یوسفی، 1397).

درون‌پوشانی، روشی است که ذرات و قطرات مایع، جامد و گاز درغشایی از جنس مواد غذایی با ماهیت‌های مختلف به‌دام می‌افتند. این فرآیند یکی از روش‌های ره‌ایش کنترل شده نیز می‌باشد که ریزکپسول حاصل محتویات خود را تحت سرعت کنترل شده و با یک تحریک خاص و در یک زمان مشخص رها می‌کند (Lakkis, 2016). روش‌های متعددی جهت درون‌پوشانی ترکیبات زیست‌فعال وجود دارند که از جمله آنها می‌توان به روش‌های امولسیون، کواکسولسیون، به‌دام انداختن در لیپوزوم، اکستروژن و روش‌هایی بر پایه خشک کردن با استفاده از خشک‌کن‌های پاششی و انجمادی اشاره نمود (Rezaeinia et al., 2019).

خشک کردن انجمادی (لیوفیلیزه کردن¹) مناسب‌ترین روش برای خشک کردن مواد حساس به حرارت است. این سیستم حدود دو برابر، گران‌تر از سایر روش‌های خشک کردن می‌باشد. شرایط انبارداری و نگهداری پودرهای تولیدی نیز بسیار پرهزینه است و کاربرد تجاری آن به دلیل زمان بسیار طولانی محدود شده است. خشک کردن انجمادی از طریق انجماد مواد و سپس کاهش فشار اطراف و افزایش مناسب دما انجام می‌گیرد. در این صورت، آب منجمد در ماده به‌طور مستقیم از حالت جامد به گاز تصعید می‌شود. به‌طور کلی مواد هسته در ماتریس دیواره همگن شده و سپس به‌وسیله انجماد خشک می‌شود (Kaushik & Roos, 2007). خشک کردن پاششی یکی دیگر از روش‌های متداول درون‌پوشانی و تولید پودر از مواد غذایی مایع می‌باشد. این روش معمولاً برای تهیه پودر مواد غذایی، دارویی و میکروارگانیزم‌های حساس به حرارت در مقایسه با سایر روش‌های خشک کردن، به دلیل تأثیر نامطلوب کم و کارایی بالای فرآیند، ترجیح داده می‌شود. این روش دارای مزایای متعددی شامل خشک کردن سریع، توان عملیاتی بالا و عملیات مداوم دارد (Caparino et al., 2012). با این وجود، رخ دادن پدیده‌هایی نظیر چسبندگی² و فروریختن ساختار³ در طی فرآیندهای خشک کردن و همچنین در طی دوره نگهداری سبب شده که استفاده از مواد کمک خشک‌کن (حامل) به‌منظور افزایش پایداری عصاره میوه‌ها و سبزی‌ها گسترش یابد

1 Lyophilization

2 Stickiness

3 Collapse

4 Dextrose Equivalent

5 Folin-Ciocalteu

صاف شدند. استخراج بتالاین سطحی از کپسول‌ها با شستشوی سریع (10 ثانیه) توسط 10 میلی‌لیتر اتانول در حالت گردابی و سانتریفوژ کردن (Hettich, Universal 320. U.K) به مدت 3 دقیقه با سرعت 3000 دور در دقیقه انجام شد. محلول شفاف رویی جمع‌آوری گردید و با غشائی با اندازه ذرات 0/45 میکرومتر صاف شد و در نهایت کارایی درون‌پوشانی از رابطه زیر به دست آمد (Otálora et al., 2015):

$$\%EE = (TBC - SBC) / (TBC) \times 100 \quad (1)$$

محتوی رطوبت

محتوی رطوبت پودرهای تولیدی بر مبنای روش AOAC (AOAC, 2002) انجام گرفت. سه تکرار از هر نمونه وزن و در آن تحت خلأ در دمای 65 درجه سانتی‌گراد خشک شد. فرآیند خشک کردن و توزین نمونه‌ها تا زمان رسیدن به وزن ثابت ادامه یافت و در نهایت محتوی رطوبت از روی اختلاف وزن قبل و بعد از خشک کردن محاسبه و به صورت درصد بیان شد.

حلالیت

مقداری از نمونه‌های پودر (2 گرم) به آرامی به 100 میلی‌لیتر آب مقطر در یک مخلوط‌کن (Ultra Trux, IKA-T25, Germany) با سرعت 15000 دور در دقیقه افزوده و به مدت 5 دقیقه عملیات مخلوط کردن ادامه داده شد. مخلوط حاصل به مدت 5 دقیقه در سانتریفوژ با 3000 g سانتریفوژ شد و سپس بخشی از محلول رویی (25 میلی‌لیتر) در یک پلیت در آن با دمای 105 درجه سانتی‌گراد به مدت 4 ساعت خشک گردید. در نهایت میزان حلالیت پودر از طریق اختلاف وزن حاصل شده گزارش گردید (Fazaeli et al., 2012).

محتوی فنول تام

محتوای فنول تام با استفاده از روش فولین سیوکالتیو با کمی تغییر اندازه‌گیری شد (Bansal et al., 2014). برای این منظور، 0/5 گرم از نمونه پودر در داخل 25 میلی‌لیتر متانول حل شد و پس از گذشت زمان لازم به منظور استخراج ترکیبات فنولی از پودر، محلول به مدت 10 دقیقه سانتریفوژ شد. سپس 0/5 میلی‌لیتر از محلول رویی با 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیوکالتیو 0/2 نرمال مخلوط و به مدت 5 دقیقه اجازه واکنش داده شد. در نهایت 2 میلی‌لیتر محلول سدیم کربنات (75 g/L) به مخلوط واکنش افزوده و با استفاده از آب مقطر به حجم 25 میلی‌لیتر رسانده شد. محلول حاصل به مدت 2 ساعت در دمای محیط قرار داده و پس از آن جذب به وسیله اسپکتروفتومتر UV-vis در طول موج 760 نانومتر خوانده شد. از غلظت‌های مختلف اسید گالیک (0-100 mg/L) برای رسم نمودار

فرآیند خشک کردن پاششی به منظور درون‌پوشانی عصاره چغندر قرمز

هر کدام از محلول‌های خوراک تهیه شده با نسبت‌های مختلف توسط پمپ پریستالتیک با توان 75 درصد به داخل دستگاه خشک‌کن پاششی (Büchi Mini Spray Dryer B-191, Switzerland) تزریق گردید. براساس پیش‌تیمارهای انجام شده مشخص شد که تحت شرایط دبی خوراک بالاتر از 5 میلی‌لیتر بر دقیقه، دمای هوای خشک‌کردن بالاتر از 140 درجه سانتی‌گراد و دبی هوای بیشتر از 3/5 متر مکعب بر ساعت منجر به چسبیدن بیش از اندازه ذرات به دیواره خشک‌کن و در نتیجه سوختگی مواد ورودی شد. به همین خاطر دامنه پارامترهای متغیر در دستگاه خشک‌کن پاششی به صورت دمای هوای ورودی 140 درجه سانتی‌گراد، دمای هوای خروجی 65-70 درجه سانتی‌گراد، دبی خوراک 5 میلی‌لیتر بر دقیقه و دبی هوای فشرده 3/5 متر مکعب بر ساعت تعیین گردید. پودر تولیدی در محفظه زیر سیکلون در انتهای مسیر جمع‌آوری شد و بلافاصله برای سرد شدن به دسیکاتور جهت انجام آزمایشات بعدی منتقل گردید.

فرآیند خشک کردن انجمادی به منظور درون‌پوشانی عصاره چغندر قرمز

نمونه‌های مختلف خوراک به مدت 3 ساعت در 18- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. این نمونه‌ها سپس تحت فرآیند خشک‌کردن انجمادی (Freeze drier Alfa-Christ, Germany) در دمای 84- درجه سانتی‌گراد در فشار محفظه 0/04 میلی بار به مدت 48 ساعت به منظور اطمینان از خشک شدن کامل، قرار گرفتند. محصول نهایی به صورت پودر خشک جمع‌آوری شدند و در ظروف درزبندی شده تیره تا زمان آزمون‌های بعدی نگهداری گردیدند.

محاسبه کارایی درون‌پوشانی

کارایی درون‌پوشانی (EE¹) عامل مهمی برای ذرات تولید شده می‌باشد و نشان‌دهنده پتانسیل ماده پوسته برای نگهداری هسته درون ریزکپسول است. به منظور ارزیابی کارایی درون‌پوشانی، باید محتوی کل بتالاین (TBC²) و محتوی سطحی بتالاین (SBC³) محاسبه شوند. برای اندازه‌گیری TBC، 100 میلی‌گرم از نمونه‌ها وزن شد و یک میلی‌لیتر آب مقطر به آن افزوده شد. سپس این نمونه‌ها هم‌زده شدند تا غشاء ریزکپسول تخریب گردد. در ادامه 10 میلی‌لیتر اتانول به نمونه‌ها افزوده و به مدت 5 دقیقه استخراج صورت گرفت و در نهایت

1 Encapsulation efficiency

2 Total Betalain Content

3 Surface Betalain Content

عصاره چغندر قرمز، از تحلیل واریانس یک طرفه (one-way analysis of variance) با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 22 استفاده شد. به منظور بررسی اختلاف بین نمونه‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح 95% استفاده شد. همه اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفت. تیمارهای مورد مطالعه در این پژوهش در جدول 1 نشان داده شده است.

استاندارد استفاده شد. محتوی فنول تام به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک در گرم پودر (GAE/g powder) بیان شد. همه اندازه‌گیری‌ها در سه تکرار انجام گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این پژوهش به منظور بررسی تأثیر متغیرهای فرآیند درون‌پوشانی یعنی نوع خشک‌کن (پاششی و انجمادی) و نوع و نسبت حامل (مالتودکسترین و WPI) روی خواص فیزیکوشیمیایی پودر

جدول 1- تیمارهای مورد مطالعه در این پژوهش

تیمار	مالتودکسترین (%)	ایزوله پروتئین آب پنیر (%)
1	100	0
2	75	25
3	50	50
4	25	75
5	0	100

بارگذاری شده تا چه حدی توسط مواد حامل و کمک خشک‌کن در مقابل شرایط نامساعد محیطی محافظت می‌گردند (Liu et al., 2015). اصولاً پروتئین‌ها به دلیل ماهیت آمفی‌فیلیک و قابلیت فعالیت سطحی که دارند توانایی مهاجرت به سطح مشترک قطره و هوا را دارند و در نتیجه اطراف قطرات محصول قبل از خشک‌کردن قرار می‌گیرند و این امر سبب به دام اندازی ترکیبات بارگذاری شده به شکل مؤثری می‌گردد که از آنها در مقابل شرایط نامطلوب خشک‌کردن محافظت می‌نماید. از طرفی مالتودکسترین فاقد قابلیت فعالیت سطحی و خاصیت امولسیفایری می‌باشد (Liu et al., 2016) که این امر احتمالاً سبب می‌شود که افزایش مقدار مالتودکسترین کارایی درون‌پوشانی را کاهش دهد. با این وجود در طی فرآیند خشک‌کردن انجمادی احتمالاً آب‌زدایی بیش از پروتئین که خاصیت امولسیفایری دارد سبب شکست قطرات ریز و بهم پیوستن آنها شده است که این امر منجر به تشکیل قطرات درشت خواهد شد که پایداری آنها را کاهش خواهد داد و کارایی درون‌پوشانی را کمتر می‌نماید (Choi et al., 2007). نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. Chen و همکاران (2013) به مطالعه درون‌پوشانی روغن ماهی با استفاده از دو روش خشک‌کردن پاششی و انجمادی پرداختند. این محققین مشاهده کردند که نمونه‌های تهیه شده با روش خشک‌کردن پاششی از کارایی درون‌پوشانی بیشتری برخوردار بودند. Karaca و همکاران (2013) با درون‌پوشانی روغن بزرک توسط ایزوله پروتئین نخود، ایزوله پروتئین عدس و همچنین مالتودکسترین مشاهده کردند که نمونه‌های درون‌پوشانی شده با

نتایج و بحث

کارایی درون‌پوشانی

جدول 2 نتایج مربوط به مقایسه میانگین داده‌ها از لحاظ کارایی فرآیند خشک‌کردن پاششی و انجمادی عصاره چغندر قرمز براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن با استفاده از نسبت‌های مختلف WPI و مالتودکسترین را نشان می‌دهد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کارایی درون‌پوشانی عصاره چغندر قرمز به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) وابسته به نوع فرآیند خشک‌کردن، نوع و مقدار ماده کمک خشک‌کن در ماده خوراک پیش از خشک‌کردن محلول می‌باشد. نتایج به دست آمده نشان داد که در سطح ماده حامل ثابت، نمونه‌هایی که توسط فرآیند خشک‌کردن پاششی خشک شده بودند به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) دارای کارایی درون‌پوشانی بیشتری نسبت به نمونه‌های متناظر خشک‌کن انجمادی بودند (جدول 2). همان‌طور که جدول 2 نشان داده شده است با افزایش نسبت WPI در دیواره از صفر تا 50 درصد به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کارایی درون‌پوشانی افزایش یافت. براساس این نتایج مشخص شد که بالاترین (89/73) درصد برای خشک‌کن پاششی و 81/51 درصد برای خشک‌کن انجمادی) کارایی درون‌پوشانی مربوط به تیمار تهیه شده با 50 درصد WPI و 50 درصد مالتودکسترین به عنوان ماده کمک خشک‌کن و کمترین کارایی درون‌پوشانی (68/09) درصد برای خشک‌کن پاششی و 55/99 درصد برای خشک‌کن انجمادی) مربوط به تیمار تهیه شده با 100 درصد مالتودکسترین به عنوان ماده حامل بود. کارایی درون‌پوشانی از این جهت اهمیت دارد که ترکیبات

پروتئین دارای کارایی درون پوشانی بیشتری نسبت به مالتودکسترین بودند.

جدول 2- تغییرات کارایی درون پوشانی عصاره چغندر قرمز

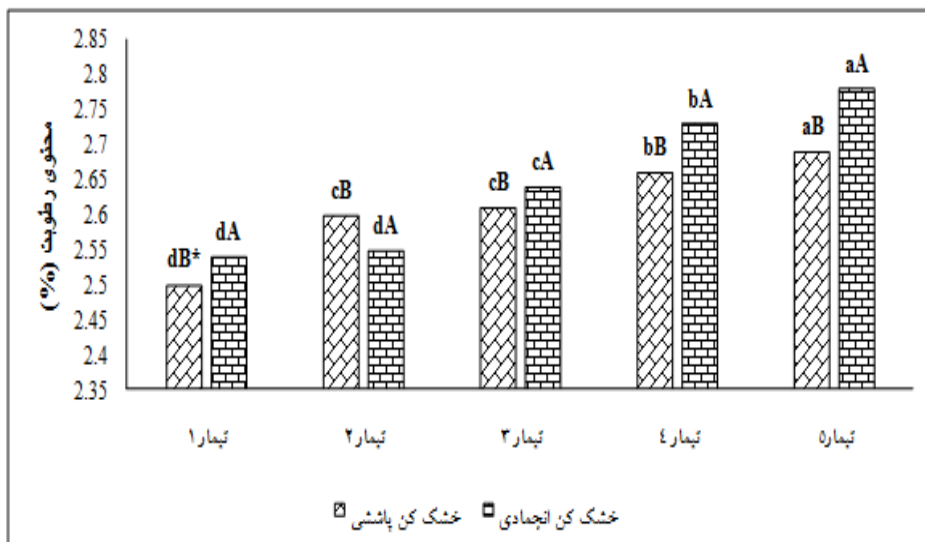
تیمار	مالتودکسترین (%)	WPI (%)	خشک کن پاششی	خشک کن انجمادی
1	100	0	68/09 ± 0/19 ^{eA*}	55/99 ± 0/15 ^{eB}
2	75	25	78/67 ± 0/12 ^{cA}	74/96 ± 0/18 ^{cB}
3	50	50	89/73 ± 0/16 ^{aA}	81/51 ± 0/14 ^{aB}
4	25	75	84/58 ± 0/14 ^{bA}	77/09 ± 0/15 ^{bB}
5	0	100	76/52 ± 0/10 ^{dA}	66/30 ± 0/17 ^{dB}

* حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ردیف و حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار در هر ستون می باشد (p<0/05).

محتوی رطوبت

نتایج حاصل از تغییرات میزان رطوبت نمونه های خشک شده عصاره چغندر قرمز با استفاده از دو خشک کن پاششی و انجمادی و مقایسه میانگین داده ها براساس آزمون چنددامنه ای دانکن در شکل 1 نشان داده شده است. نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص نمود که تغییرات میزان رطوبت نمونه ها به طور معنی داری (p<0/05) وابسته به نوع خشک کن و نوع و درصد ماده کمک خشک کن می باشد. همان طور که در شکل 1 نشان داده شده است با افزایش مقدار مالتودکسترین در فرمولاسیون محلول اولیه محتوی رطوبت هر

کدام از نمونه ها به طور معنی داری (p<0/05) کاهش یافت به طوری که نمونه های خشک شده با 100 درصد مالتودکسترین در هر دو خشک کن دارای کمترین محتوی رطوبت نسبت به سایر تیمارها بودند. از طرفی هم مقایسه تأثیر دو نوع خشک کن در مقدار ماده حامل ثابت روی محتوی رطوبت پودرها مشخص نمود که نمونه های تهیه شده با خشک کن پاششی به طور معنی داری (p<0/05) دارای محتوی رطوبت پایین تری نسبت به نمونه های خشک شده با خشک کن انجمادی بودند (شکل 1).



شکل 1- تغییرات محتوی رطوبت پودر عصاره چغندر قرمز

(حروف بزرگ متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین روش های خشک کردن و حروف کوچک متفاوت نشان دهنده اختلاف معنی دار بین تیمارهای مورد آزمایش می باشند) (p<0/05).

این رفتار احتمالاً به دلیل ماهیت آب دوستی پروتئین ها می باشد. پروتئین ها به دلیل گروه های عاملی فعالی که در ساختار خود دارند از قابلیت جذب و نگهداری آب خوبی برخوردار هستند (Du et al., 2014; Jayasundera et al., 2011) که این امر احتمالاً سبب شده تا با افزایش نسبت WPI به مالتودکسترین در فرمولاسیون عصاره های خشک شده محتوی رطوبت پودر عصاره چغندر قرمز نیز

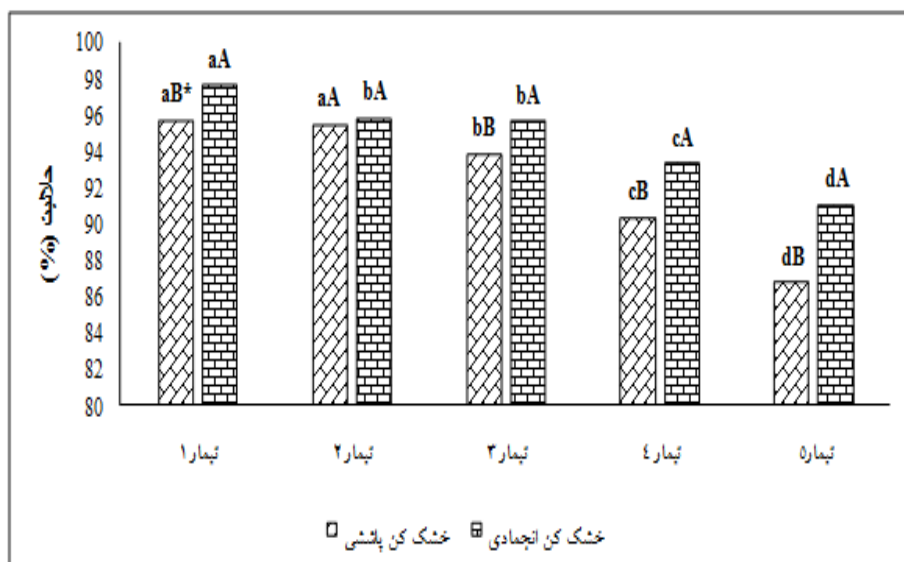
این رفتار احتمالاً به دلیل ماهیت آب دوستی پروتئین ها می باشد. پروتئین ها به دلیل گروه های عاملی فعالی که در ساختار خود دارند از قابلیت جذب و نگهداری آب خوبی برخوردار هستند (Du et al., 2011) که این امر احتمالاً سبب شده تا با افزایش نسبت WPI به مالتودکسترین در فرمولاسیون عصاره های خشک شده محتوی رطوبت پودر عصاره چغندر قرمز نیز

دادند. براساس نتایج به‌دست آمده توسط این محققین مشخص شد که نمونه‌های تهیه شده با ترکیبات پروتئینی به‌دلیل ماهیت آب‌دوستی بیشتر پروتئین‌ها از محتوی رطوبت بالاتری نسبت به نمونه‌های تهیه شده با ترکیبات کربوهیدراتی برخوردار بودند.

حلالیت

قابلیت فوری بودن پودرها معمولاً توسط حلالیت آنها در آب ارزیابی می‌شود و به‌طور معمول این شاخص با کاهش حلالیت کاهش می‌یابد (Nadeem *et al.*, 2011). شکل 2 نتایج مربوط به تغییرات میزان حلالیت پودرهای عصاره چغندر قرمز تهیه شده با دو سیستم خشک‌کن پاششی و انجمادی و مقایسه تأثیر نوع و مقدار حامل‌های WPI و مالتودکسترین روی این شاخص براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن را نشان می‌دهد.

افزایش یابد. نتایج این پژوهش با یافته‌های دیگر محققین نیز مطابقت داشت. نجف نجفی و همکاران (2011) تأثیر استفاده از فرآیند خشک‌کردن انجمادی و پاششی و همچنین دو نوع ماده کمک خشک‌کن (پودر شیر بدون چربی و نشاسته اصلاح شده) را روی محتوی رطوبت پودر اسانس هل مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج حاصل از مطالعه این محققین نشان داد که استفاده از خشک‌کن پاششی در مقایسه با خشک‌کن انجمادی منجر به افت بیشتر رطوبت شد و همچنین استفاده از نشاسته اصلاح شده به‌دلیل قابلیت نگهداری آب کمتر در ساختار پودر محتوی رطوبت کمتری نسبت به پودر چربی شیر بدون چربی را به دنبال داشت. Du و همکاران (2014) تأثیر استفاده از 5 حامل مختلف مالتودکسترین، صمغ عربی، نشاسته اصلاح شده، کنسانتره پروتئین آب پنیر و آلومین تخم مرغ روی محتوی رطوبت پودر خرما در طی فرآیند خشک کردن را مورد ارزیابی قرار



شکل 2- تغییرات حلالیت پودر عصاره چغندر قرمز

(*حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین روش‌های خشک کردن و حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای مورد آزمایش می‌باشند ($p < 0/05$)).

پودرهایی بود که حاوی 100 درصد مالتودکسترین بودند. از طرف دیگر مقایسه تأثیر دو نوع خشک‌کن روی شاخص حلالیت پودر در آب نشان داد که پودرهای تهیه شده با خشک‌کن انجمادی به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) از حلالیت بیشتری نسبت به پودر عصاره چغندر قرمز تهیه شده با خشک‌کن پاششی برخوردار بودند (شکل 2). بنابراین همان‌طور که مشاهده می‌شود هر دو نمونه‌های پودر عصاره چغندر به‌دست آمده از خشک‌کن پاششی و انجمادی از حلالیت قابل قبولی برخوردار هستند. مالتودکسترین از جمله مواد حامل متداول

نتایج تحلیل واریانس داده‌ها نشان داد که تغییرات میزان حلالیت به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) وابسته به نوع و مقدار حامل و همچنین نوع فرآیند خشک‌کردن بود. براین اساس تغییر نوع حامل و نسبت آن در دیواره ذرات خشک‌شده عصاره چغندر قرمز به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) میزان حلالیت پودرهای تولیدی را تغییر داد به‌طوری که پودرهای تهیه شده با درصد بالاتر مالتودکسترین حلالیت بیشتری نسبت به پودرهای تهیه شده با WPI داشتند ($p < 0/05$). از این‌رو، بالاترین میزان حلالیت پودرهای عصاره چغندر قرمز مربوط به

برخوردار بودند. همچنین Chen و همکاران (2015)، دریافتند که پودر روغن ماهی تهیه شده با خشک‌کن انجمادی حلالیت بالاتری نسبت به پودرهای تهیه شده با خشک‌کن پاششی داشتند.

محتوی ترکیبات فنولی

جدول 3 نتایج مربوط به تغییرات محتوی ترکیبات فنولی و مقایسه میانگین داده‌های مربوط به تغییرات محتوی ترکیبات فنولی عصاره چغندر قرمز تهیه شده با دو خشک‌کن پاششی و انجمادی و نیز دو ماده حامل WPI و مالتودکسترین با نسبت‌های مختلف را نشان می‌دهد. براساس نتایج تحلیل واریانس به‌دست آمده در این پژوهش مشخص شد که تغییرات محتوی ترکیبات فنولی عصاره چغندر قرمز درون‌پوشانی شده به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) وابسته به نوع خشک‌کن و نوع و نسبت حامل به‌کار رفته جهت درون‌پوشانی بود. از این‌رو همان‌طور که در جدول 3 نشان داده شده است با افزایش مقدار WPI در ساختار دیواره ذرات تهیه شده تا سطح 50 درصد به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) محتوی ترکیبات فنولی در هر دو خشک‌کن بهتر حفظ شد و بالاتر از سایر تیمارها بود.

برای تهیه پودرهای فوری می‌باشد زیرا حلالیت بالایی نسبت به پروتئین‌ها دارد. این رفتار احتمالاً به‌دلیل این واقعیت است که مالتودکسترین با DE بالا دارای حلالیت زیادی در آب است (Santhalakshmy *et al.*, 2015; Du *et al.*, 2014). علاوه بر این در فرآیند خشک‌کردن انجمادی به‌دلیل ایجاد ساختار متخلخل و پر از خلل و فرج، نمونه‌های تولید شده مانند یک اسفنج آب جذب می‌نمایند. همچنین بخشی از آب غیرمنجمد از طریق پیوند هیدروژنی به پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها متصل می‌باشد که در طول فرآیند خشک‌کردن انجمادی این بخش از آب تبخیر می‌گردد که با قرارگیری این نمونه‌ها در معرض آب، سبب جذب سریع آب توسط آنها برای جبران پیوندهای هیدروژنی از دست رفته خواهد شد. لذا این فرآیند سبب ایجاد ساختار باز و سطح بالا برای جذب آب می‌گردد. از طرف دیگر در طی فرآیند خشک‌کردن پاششی حذف سریع آب باعث ایجاد چروکیدگی و همچنین لایه سفت روی سطح ذرات خواهد شد که نفوذ آب را به داخل ذره کندتر و سخت می‌نماید (Shefer & Shefer, 2003). نتایج این پژوهش با یافته‌های محققین دیگر نیز مطابقت داشت. Manickavasagan و همکاران (2015) مشاهده کردند که پودر شیر خرمای تهیه شده با استفاده از صمغ عربی و مالتودکسترین به‌دلیل ماهیت آب‌دوستی که دارند از حلالیت بالایی

جدول 3- تغییرات محتوی ترکیبات فنولی کل (GAE/g of powder) پودر عصاره چغندر قرمز

تیمار	مالتودکسترین (%)	WPI (%)	خشک‌کن پاششی	خشک‌کن انجمادی
1	100	0	52/52 ± 0/05 ^{eB}	65/41 ± 0/06 ^{eA*}
2	75	25	73/47 ± 0/03 ^{cB}	78/34 ± 0/04 ^{cA}
3	50	50	87/26 ± 0/01 ^{aB}	92/45 ± 0/08 ^{aA}
4	25	75	79/39 ± 0/04 ^{bB}	84/52 ± 0/03 ^{bA}
5	0	100	62/80 ± 0/04 ^{dB}	72/37 ± 0/05 ^{dA}

* حروف بزرگ متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ردیف و حروف کوچک متفاوت نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در هر ستون می‌باشد ($p < 0/05$).

نمونه‌های تهیه شده با درصد مالتودکسترین بالاتر، بیشتر بود. از طرفی فرآیند خشک‌کردن انجمادی به‌دلیل اعمال دماهای پایین یکی از راه‌های موثر و پرکاربرد جهت درون‌پوشانی ترکیبات زیست فعال و ترکیبات حساس به حرارت محسوب می‌شود. استفاده از دماهای پایین در این فرآیند نسبت به دماهای بالای 100 درجه سانتی‌گراد در طی خشک‌کردن پاششی مواد بارگذاری شده از تخریب حرارتی آنها جلوگیری خواهد نمود و در نتیجه محتوی ترکیبات فنولی بیشتر خواهد بود (Sogi *et al.*, 2013). در تأیید نتایج حاصل از این پژوهش، Jiménez-Aguilar و همکاران (2011) مشاهده کردند که استفاده از فرآیند خشک‌کردن انجمادی جهت درون‌پوشانی نسبت به خشک‌کردن پاششی سبب حفظ بهتر ترکیبات فنولی شد و محتوی

همچنین مقایسه بین دو خشک‌کن و تأثیر آنها روی حفظ ترکیبات فنولی نشان داد که خشک‌کن انجمادی به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) سبب حفظ بهتر این ترکیبات نسبت به نمونه‌های مشابه در خشک‌کن پاششی شد. پروتئین‌ها و به‌خصوص WPI به‌دلیل قابلیت امولسیفایری مناسب قابلیت درون‌پوشانی بالایی برای ترکیبات فعال و به‌خصوص ترکیبات حساس به حرارت دارند. پروتئین‌ها از طریق تشکیل فیلم مناسب اطراف قطرات محلول آنها را از شرایط نامطلوب محیطی محافظت می‌نمایند و این امر سبب حفظ فعالیت بیولوژیکی ترکیبات بارگذاری شده خواهد شد (Tavares *et al.*, 2014). همان‌طور که قبلاً نیز نشان داده شد با افزایش نسبت WPI به مالتودکسترین در ساختار دیواره پودر عصاره چغندر قرمز، کارایی درون‌پوشانی افزایش یافت لذا محتوی ترکیبات فنولی نسبت به

این پژوهش استفاده از فرآیندهای خشک کردن پاششی و انجمادی با بکارگیری نسبت‌های مختلف مالتودکسترین و WPI به‌عنوان مواد دیواره جهت خشک کردن عصاره چغندر قرمز بود. براساس نتایج به دست آمده در این پژوهش مشخص شد که استفاده از نسبت 50:50 مالتودکسترین و WPI منجر به خصوصیات فیزیکی‌شیمیایی مطلوب در پودرهای به‌دست آمده توسط هر دو روش خشک کردن گردید. کارایی درون‌پوشانی روش خشک کردن پاششی بالاتر بود ولی پودرهای عصاره چغندر قرمز تهیه شده با خشک‌کن انجمادی میزان فنول کل بالاتری داشتند.

ترکیبات فنولی و آنتوسیانینی در نمونه‌های خشک شده توسط خشک‌کن انجمادی بیشتر از دیگر نمونه‌ها بود

نتیجه‌گیری

امروزه به‌منظور نگهداری و افزایش پایداری ترکیبات زیست‌فعال عصاره میوه‌ها و سبزی‌ها در طی فرآیندهای مختلف و در طی دوره نگهداری از روش‌های متعددی جهت درون‌پوشانی استفاده می‌شود. استفاده از روش‌های خشک کردن انجمادی و پاششی از متداول‌ترین روش‌های خشک کردن مواد غذایی مایع می‌باشد. بنابراین هدف از

منابع

- یوسفی، ش. (1397). بهینه‌سازی فرآیند خشک کردن پاششی جهت تولید پودرهای ریزدرون‌پوشانی شده عصاره فراسودمند استخراجی از چغندر لیبویی. *مجله علوم غذایی و تغذیه*. سال پانزدهم، شماره 2، 31-44.
- AOAC. (2002). Official Methods of Analysis AOAC International, 17th End. AOAC International Maryland.
- Azeredo, H. (2009). Betalains: properties, sources, applications, and stability—a review. *International journal of food science & technology*, 44(12), 2365-2376.
- Bansal, V., Sharma, H.K., & Nanda, V. (2014). Optimisation of spray drying process parameters for low-fat honey-based milk powder with antioxidant activity. *International Journal of Food Science & Technology*, 49(4), 1196-1202. doi:10.1111/ijfs.12416
- Caparino, O. A., Tang, J., Nindo, C. I., Sablani, S. S., Powers, J. R., & Fellman, J. K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (Philippine 'Carabao' var.) powder. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 135-148.
- Chen, Q., Zhong, F., Wen, J., McGillivray, D., & Quek, S. Y. (2013). Properties and stability of spray-dried and freeze-dried microcapsules co-encapsulated with fish oil, phytoesterols, and limonene. *Drying Technology*, 31(6), 707-716.
- Choi, M. J., Briançon, S., Bazile, D., Royere, A., Min, S. G., & Fessi, H. (2007). Effect of cryoprotectant and freeze-drying process on the stability of W/O/W emulsions. *Drying technology*, 25(5), 809-819.
- Du, J., Ge, Z.-Z., Xu, Z., Zou, B., Zhang, Y., & Li, C.-M. (2014). Comparison of the efficiency of five different drying carriers on the spray drying of persimmon pulp powders. *Drying Technology*, 32.10, 1157-1166.
- Fazaeli, M., Emam-Djomeh, Z., Kalbasi-Ashtari, A., & Omid, M. (2012). Effect of spray drying conditions and feed composition on the physical properties of black mulberry juice powder. *Food and bioproducts processing*, 90(4), 667-675. doi:10.1016/j.fbp.2012.04.006.
- Gliszczynska-Swiglo, A., Szymusiak, H., & Malinowska, P. (2006). Betanin, the main pigment of red beet: molecular origin of its exceptionally high free radical-scavenging activity. *Food additives and contaminants*, 23(11), 1079-1087.
- Jayasundera, M., Adhikari, B., Howes, T., & Aldred, P. (2011). Surface protein coverage and its implications on spray-drying of model sugar-rich foods: solubility, powder production and characterization. *Food Chemistry*, 128.4, 1003-1016.
- Jiménez-Aguilar, D. M., Ortega-Regules, A. E., Lozada-Ramírez, J. D., Pérez-Pérez, M. C. I., Vernon-Carter, E. J., & Welti-Chanes, J. (2011). Color and chemical stability of spray-dried blueberry extract using mesquite gum as wall material. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(6), 889-894.
- Karaca, A. C., Nickerson, M., & Low, N. H. (2013). Microcapsule production employing chickpea or lentil protein isolates and maltodextrin: Physicochemical properties and oxidative protection of encapsulated flaxseed oil. *Food Chemistry*, 139(1-4), 448-457.
- Kaushik, V., & Roos, Y. H. (2007). Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic-sucrose-gelatin systems. *LWT-Food Science and Technology*, 40(8), 1381-1391.
- Lakkis, J. M. (2016). *Encapsulation and controlled release technologies in food systems*. John Wiley & Sons.
- Liu, D., Cito, S., Zhang, Y., Wang, C. F., Sikanen, T. M., & Santos, H. A. (2015). A versatile and robust microfluidic platform toward high throughput synthesis of homogeneous nanoparticles with tunable properties. *Advanced Materials*, 27(14), 2298-2304.

- Liu, W., Chen, X. D., Cheng, Z., & Selomulya, C. (2016). On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 169, 189-195.
- Mani, S., Jaya, S., & Das, H. (2002). Sticky issues on spray drying of fruit juices. Paper presented at the ASAE/CSAEC North Central Intersectional Meeting, Parktown Hotel, Saskatoon, Saskatchewan, Canada, September pp. 27-28
- Manickavasagan, A., Thangavel, K., Dev, S. R. S., Delfiya, D. A., Nambi, E., Orsat, V., & Raghavan, G. S. V. (2015). Physicochemical characteristics of date powder produced in a pilot-scale spray dryer. *Drying Technology*, 33(9), 1114-1123.
- Nadeem, H. Ş., Torun, M., & Özdemir, F. (2011). Spray drying of the mountain tea (*Sideritis stricta*) water extract by using different hydrocolloid carriers. *LWT-Food Science and Technology*, 44(7), 1626-1635.
- Najaf Najafi, M., Kadkhodaei, R., & Mortazavi, S. A. (2011). Effect of drying process and wall material on the properties of encapsulated cardamom oil. *Food biophysics*, 6(1), 68-76.
- Neelwarne, B., & Rudrappa, T. (2013). Peroxidases and Other Enzymes from Red Beet Hairy Roots. In *Red Beet Biotechnology* (pp. 283-333). Springer US.
- Otalora, M. C., Carriazo, J. G., turriaga, L. I., Nazareno, M. A. & osorio, C. (2015). Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 187, 174-181.
- Potter, N. N., & Hotchkiss, J. H. (2012). *Food science*. Springer Science & Business Media.
- Rezaeinia, H., Ghorani, B., Emadzadeh, B., & Tucker, N. (2019). Electrohydrodynamic atomization of Balangu (*Lallemantiaroyleana*) seed gum for the fast-release of *Mentha longifolia* L. essential oil: Characterization of nanocapsules and modeling the kinetics of release. *Food Hydrocolloids*, 93, 374-385.
- Sablani, S. S., Shrestha, A. K., & Bhandari, B. R. (2008). A new method of producing date powder granules: Physicochemical characteristics of powder. *Journal of Food Engineering*, 87(3), 416-421.
- Santhakshmy, S., Bosco, S. J. D., Francis, S., & Sabeena, M. (2015). Effect of inlet temperature on physicochemical properties of spray-dried jamun fruit juice powder. *Powder Technology*, 274, 37-43.
- Shefer, A., & Shefer, S. (2003). Novel encapsulation system provides controlled release of ingredients. *Food Technology*.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Greiby, I., & Dolan, K. D. (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food chemistry*, 141(3), 2649-2655.
- Tavares, G. M., Croguennec, T., Carvalho, A. F., & Bouhallab, S. (2014). Milk proteins as encapsulation devices and delivery vehicles: applications and trends. *Trends in Food Science & Technology*, 37.1, 5-20.

Encapsulation of red beetroot extract using spray drying and freeze drying by malto-dextrin and whey protein isolate carriers

M. Faridnia¹, A. Mohammadi-Sani², M. Najaf Najafi^{3*}

Received: 2019.07.13

Accepted: 2019.09.01

Introduction: Natural substances with plant sources are rich in bioactive and useful compounds that promote health and improve the physicochemical properties of food products. Compounds such as antioxidants, polyphenols, pigments, flavors and etc. are among the most important bioactive plant-based compounds. Red beetroot is one of the unique plants that are rich in antioxidants, anthocyanins, and red pigmentation. The red pigment of the red beetroot is known as betacyanin, and betanin is the major betacyanin compound in red beetroot. Therefore, due to the red beetroot rich in natural pigments, especially betalains, this plant product has a high potential for use as a natural colorant in food, pharmaceutical, and cosmetic products. However, the restrictions on the use of natural and edible pigments are unstable during processing and preservation. The encapsulation process is one of the effective strategies in the food industry to resolve this problem and to protect bioactive compounds during production and storage. Different methods have been used for encapsulation of bioactive compounds, among which the most prominent ones are freeze drying, emulsion, spray drying, liposomal, niosome, coacervation, and so on. Freeze drying and spray drying are two of the most widely used and industrial methods for the encapsulation of bioactive compounds, pigments, extracts, pharmaceuticals, and microorganisms. So, the aim of this study was to produce red beetroot pulp powder as a source of bioactive and colorant compounds using spray and freeze-drying processes.

Materials and methods: Whey protein isolate (WPI) and maltodextrin with a DE 18-20 in different ratios (100: 0, 75:25, 50:50, 25:70 and 0: 100) as wall materials were used to the beetroot extract encapsulation. The spray drying process of the extracts was carried out at an inlet air temperature of 140 °C and outlet air temperature of 65-70 °C with a pump power of 75%, a compressed air flow of 3.5 m³/h, and a feed flow rate of 5 mL/min. To dry the freeze-dried extracts, each sample was first kept at a temperature of -18°C for 3 h, and then the drying operation was performed in a freeze dryer for 24 h. In all treatments, the brix feed solution was kept constant at 10%. The produced powders were evaluated in terms of encapsulation efficiency, moisture content, water solubility, and total phenol content.

Results & discussion: The results showed that by increasing the amount of WPI to 50% (50:50 ratio), encapsulation efficiency significantly increased ($p < 0.05$). In the spray and freeze-dried samples, the lowest moisture content was observed in the sample treated with 100% maltodextrin. Increasing the maltodextrin ratio significantly ($p < 0.05$) increased the solubility of the powders in water. The evaluation of total phenol content showed that the red beetroot extract powders prepared with freeze dryer had the total phenol content. Also, the powder samples obtained from the ratio of 50:50 maltodextrin to WPI had the highest total phenolic content. Based on the results obtained in this study, it was found that the use of the 50:50 ratio for maltodextrin and WPI resulted in desirable physicochemical properties in the powders obtained by both drying methods. Therefore, due to the high costs of freeze drying and the results of the present study, it can be concluded that the spray drying method with the conditions applied during this study can be used as an effective and promising method for the production of natural pigments based on red beetroot extract for use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries. Hence, using a 50:50 ratio for maltodextrin and WPI as wall materials and drying aid is recommended for the production of red beetroot pulp powder.

Keywords: Freeze drying, Spray drying, Red beetroot, WPI, Maltodextrin.

1. MSc student, Department in Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

2. Associate Professor, Department of Food Science & Technology, Quchan Branch, Islamic Azad University, Quchan, Iran.

3. Associate professor, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.

(*Corresponding author's email: mnajafi.mhd@gmail.com)