

مقاله پژوهشی

بررسی تأثیر پوشش نانومولسیون اسانس زرین گیاه در محلول کیتوزان بر ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM)

نسیم نجفی^۱ - هاجر عباسی^{۲*}

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۸/۲۱

چکیده

بذرهای جوانه‌زده به دلیل فعالیت آبی بالا و حساسیت فراوان به عوامل قارچی عمر انباری بسیار کوتاهی دارد. لذا، استفاده از روش‌های ایمن برای کنترل فساد و حفظ کیفیت جوانه‌های خوراکی در زمان نگهداری، امری ضروری است. کاربرد موفقیت‌آمیز کیتوزان و اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در فرمولاسیون پوشش‌های خوراکی از یک طرف و اثبات افزایش خاصیت ضدقارچی در اثر کاهش اندازه ذرات کیتوزان از طرف دیگر، موجب شد تا در پژوهش حاضر، کارایی نوعی پوشش خوراکی نانومولسیونی حاوی کیتوزان و اسانس زرین گیاه با هدف حفظ کیفیت، تاخیر در فساد و افزایش زمان نگهداری گندم جوانه‌زده بررسی شود. زرین گیاه یا بادرنجوبه دناهی (*Dracocephalum kotschyi L.*) گیاهی چندساله از خانواده *Lamiaceae* است که اسانس آن حاوی ترکیبات بیولوژیک فعال ارزشمند مانند فلاونوئیدها، رزمارینیک اسید و گلیکوزیدهای مونوترپن می‌باشد. در این تحقیق، برای بهینه‌یابی شرایط پوشش‌دهی از روش سطح پاسخ و طرح مرکب مرکزی در ۵ سطح اسانس (صفر، ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ ppm)، کیتوزان (صفر، ۰/۱۳، ۰/۳۸، ۰/۶۳ و ۰/۷۵٪) و زمان غوطه‌وری (۱۰، ۲۵، ۵۵، ۸۵ و ۱۲۰ ثانیه) استفاده شد. در شرایط بهینه، نتایج حاصل از ویژگی‌های کیفی محصول منتخب (pH، افت وزن، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اسید آسکوربیک، سفتی بافت) و خصوصیات حسی آن (طعم، عطر و بو، رنگ، بافت، پذیرش کلی) ارزیابی و با نمونه شاهد مقایسه گردید. نتایج نشان داد، افزایش همزمان کیتوزان و زمان غوطه‌وری موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولیک محصول گردید. افزایش اسانس تا حدود ۱۵۰ ppm و کیتوزان تا محدوده ۰/۳۸٪ موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول گردید. اثرات متقابل این متغیرهای نیز در همین محدوده حفظ سطوح بالاتری از محتوی اسید آسکوربیک گندم جوانه‌زده را به همراه داشت. اثر متقابل اسانس و کیتوزان و همچنین اثر متقابل کیتوزان و زمان غوطه‌وری در مقادیر بالا موجب حفظ بهتر بافت تیمارها شد. پوشش حاوی ۰/۲۵٪ کیتوزان و ۸۴/۱۸ ppm اسانس زرین گیاه به همراه ۲۵۵ غوطه‌وری، به‌عنوان بهترین تیمار جهت حفظ ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده معرفی گردید. بررسی و مقایسه ویژگی‌های نمونه بهینه پوشش‌دهی شده و شاهد طی زمان نگهداری گندم جوانه‌زده نشان داد که علاوه بر تأثیر مثبت نانومولسیون حاوی کیتوزان و اسانس زرین گیاه در کاهش افت وزن و حفظ بهتر محتوی اسید آسکوربیک، پلی‌فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و سفتی بافت، این پوشش هیچ‌گونه تأثیر نامطلوبی بر ویژگی‌های حسی ندارد.

واژه‌های کلیدی: گندم جوانه‌زده، پوشش نانومولسیونی، کیتوزان، زرین گیاه، ترکیبات فنولیک، سفتی بافت.

مقدمه

نمونه‌های می‌گردد و سنتز ترکیبات جدید سلولی موجب بروز تغییرات معنی‌داری در ویژگی‌های بیوشیمیایی دانه می‌شود. همچنین، هیدرولیز پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها و سنتز و تجمع متابولیت‌های حاصله موجب بهبود خصوصیات سلامتی بخش دانه جوانه‌زده برای انسان می‌شود (Duenas et al., 2009).

گندم مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا است که نقش مهمی در تأمین نیاز غذایی انسان‌ها دارد. این محصول تأمین‌کننده ۲۰ درصد انرژی و ۹۳-۷۸ درصد پروتئین موجود در رژیم غذایی بشر می‌باشد (محسن نسب و همکاران، ۱۳۸۹). گندم جوانه‌زده منبع غنی از پروتئین، فیبر رژیمی، مواد معدنی، ویتامین‌ها، فیتواسترول‌ها است (Hruskova et al., 2000). وجود مقدار بالایی چربی‌های غیراشباع و فعالیت آنزیم‌های اکسیدکننده و هیدرولیزکننده مانند لیپاز و لیپواکسیژناز در

جوانه‌زنی بذر فرایندی است که با جذب آب آغاز می‌شود و پس از یک وقفه کوتاه و فعال شدن پروتئین‌های آنزیمی ادامه می‌یابد. از این‌رو جوانه زدن بذر عبارت است از مجموعه فعالیت‌هایی که در نتیجه آن جنین رشد خود را شروع کرده و پوشش بذر را شکافته و گیاه جدیدی ایجاد می‌شود که می‌تواند مستقلاً به زندگی خود ادامه دهد. در طی تنفس و جوانه‌زنی، ترکیبات موجود در گیاه صرف رشد و

۱ و ۲- به ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران
(*) نویسنده مسئول: (Email: h.abbasi@khuif.ac.ir)

دال بر آن است که پوشش کیتوزان در میوه لونگان موجب کاهش میزان تنفس و فعالیت آنزیم پلی‌فنولاز و همچنین کاهش سرعت فساد و بهبود حفظ سفتی بافت و محتوی اسید آسکوربیک شده است (Jiang & Li, 2001). در پژوهشی دیگر Xing و همکاران (۲۰۱۱) اثر پوشش کیتوزان غنی شده با روغن دارچین را بر ویژگی‌های کیفی فلفل شیرین نگهداری شده در دمای ۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ روز بررسی کردند. نتایج آنها نشان داد تغییرات رنگ و میزان کلروفیل برای تمامی فلفل‌های سبز پوشش داده شده در مقایسه با نمونه بدون پوشش ناچیز و پس از پایان دوره نگهداری هنوز سبز بودند.

گیاه بادرنجبویه دناپی یا زرین گیاه با نام علمی *Dracocephalum kotschyi*، یکی از گیاهان دارویی بومی ایران و از خانواده نعنائیان است که تنوع زیادی در منطقه مدیترانه دارد و لیمونین، رزانیول، الکل پرلیل و کاریوفیلین از ترکیبات موثره اصلی آن می‌باشند (کمالی و همکاران، ۱۳۹۳). زرین گیاه، گیاهی است نیمه چوبی به طول ۲۰ سانتی‌متر با ساقه‌های متعدد چوبی، برگ‌های دمبرگدار تخم مرغی شکل و گل‌های سفید متمایل به زرد که از اوایل اردیبهشت ماه ظاهر شده و تا تیرماه باقی می‌ماند (Jahaniani *et al.*, 2005). از این گیاه در طب سنتی جهت کاهش تب، درد مفاصل، روماتیسم و التیام دهنده زخم استفاده می‌شود. اسانس حاصل از این گیاه متشکل از فلاونوئید، رزماریک اسید و گلیکوزیدهای مونوترپن است و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالایی دارد. باید اشاره داشت که اسانس زرین گیاه به واسطه وجود رزماریک اسید، فعالیت‌های زیستی قابل توجهی از جمله خواص ضدویروسی، ضدباکتریایی و نگهدارندگی دارد (Xiao *et al.*, 2009). این ویژگی اسانس زرین گیاه می‌تواند در حفظ ویژگی‌های کیفی محصولات غذایی از آلودگی‌های میکروبی بسیار مؤثر باشد.

با توجه به ارزشمندی جوانه دانه غلات از جمله گندم از نظر تغذیه‌ای و عمر نگهداری کوتاه آنها به واسطه فعالیت‌های آنزیمی و رطوبت بالا، اعمال راه‌کارهایی به‌منظور افزایش عمر نگهداری و کیفیت این محصولات ضرورت دارد. نظر به فقدان اطلاعات کافی در این زمینه، هدف از این پژوهش، بررسی امکان پوشش‌دهی گندم جوانه‌زده با استفاده از نانوامولسیون کیتوزان و اسانس زرین گیاه و بررسی تأثیر غلظت اسانس زرین گیاه، غلظت کیتوزان و مدت زمان غوطه‌وری بر ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده می‌باشد. در این پژوهش، از روش سطح پاسخ برای دستیابی به فرمولاسیون بهینه پوشش گندم جوانه‌زده با نانوامولسیون حاوی کیتوزان و اسانس زرین گیاه با هدف حفظ ویژگی‌های کیفی و بهبود عمر ماندگاری این محصول استفاده گردید. در ادامه، نمونه بهینه معرفی شده توسط روش سطح پاسخ و نمونه تجاری (بدون پوشش)، از نقطه نظر ویژگی‌های کیفی و ارگانولپتیکی مورد مقایسه قرار گرفت.

گندم جوانه‌زده موجب تخریب اسیدهای چرب ضروری و ویتامین‌ها و کاهش عمر ماندگاری محصول می‌گردد (Moreau & Kamal-Eldin, 2009). در سال‌های اخیر، تلاش‌های فراوانی در راستای افزایش ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات تازه و حفظ ارزش تغذیه‌ای آنها در زمان انبارمانی با روش‌هایی غیر از استفاده از نگهدارنده‌های سنتزی صورت گرفته است. استفاده از پلیمرهای طبیعی حاوی اسانس‌ها و عصاره‌های طبیعی با منشاء گیاهی به‌عنوان پوشش‌های خوراکی یکی از راهکارهای نوین برای حفظ کیفیت و افزایش زمان ماندگاری میوه‌ها و سبزیجات تازه است. پوشش‌های خوراکی مناسب باید ممانعت‌کنندگی مناسبی در برابر گازها به‌ویژه اکسیژن و بخار آب داشته باشد و از خصوصیات سطحی خوبی برخوردار باشد (Corbo *et al.*, 2010). در مطالعه انجام گرفته توسط Dambrosio و همکاران (۲۰۱۷) تأثیر بسته بندی با اتمسفر اصلاح شده بر کیفیت جوانه کینوا در طول انبارداری سرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده (۵٪ اکسیژن و ۳۰٪ دی‌اکسید کربن) موجب حفظ سفتی بافت جوانه‌ها و کاهش تولید مواد بد طعم‌کننده اتانول و استالئید و در نهایت، بهبود عمر ماندگاری جوانه کینوا گردید. در تحقیقی دیگر در رابطه با تأثیر بسته‌بندی تحت خلاء در فشارهای مختلف صفر، ۰/۰۲، ۰/۰۴ و ۰/۰۶ - مگاپاسکال و دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد بر ویژگی‌های کیفی جوانه ماش، نتایج بیانگر آن بود که بسته‌بندی تحت خلاء توأم با اعمال دمای پایین حین نگهداری سبب مهار فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنول‌اکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز شده و سرعت فرایندهای قهوه‌ای شدن را کم کرده است. همچنین، بسته‌بندی فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده سلولاز و زایلاناز^۱ را کاهش داده و در نهایت باعث کاهش افت وزن و شمارش کلی میکروب‌ها و حفظ استحکام بافت جوانه‌ها شده است (Zhang *et al.*, 2018).

کیتوزان، پلیمر B (۴ و ۱) - ان - استیل دی گلوکز آمین، از استیل‌زدایی کیتین استخراج شده از سخت پوستان، حشرات و قارچ‌ها تولید می‌شود که خواص ضد میکروبی و درمانی بسیار زیادی دارد. امروزه پوشش کیتوزان به دلیل غیرسمی بودن، زیست تخریب‌پذیر بودن کاربرد گسترده‌ای پیدا کرده است (Dutta *et al.*, 2009). کیتوزان به دلیل دارا بودن خواص نیمه‌تراوایی در بسته‌بندی مواد غذایی که در آنها به اصلاح اتمسفر درونی نیاز است، به کار می‌رود. فیلم‌ها و پوشش‌های برپایه کیتوزان، نفوذپذیری نسبی به بخار آب دارند و مانع خوبی برای گاز اکسیژن به‌شمار می‌آیند. کیتوزان در واقع، نوعی ماده ضد میکروبی است که می‌تواند میزان مصرف نگهدارنده‌های سنتزی را کاهش دهد و باعث افزایش زمان انبارمانی و ایمنی محصولات غذایی شود (Liu *et al.*, 2008). نتایج تحقیقات

مواد و روش‌ها

مواد اولیه مورد استفاده در این پژوهش همچون گندم (پاکان بذر اصفهان)، کیتوزان (شایان شیمی) و زربین گیاه (*Dracocephalum kotschyi*) از (بازار گیاهان دارویی اصفهان) تهیه گردیدند. کلیه مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در این پژوهش، با خلوص بالا از شرکت مرک آلمان خریداری شدند.

آماده‌سازی نانوامولسیون حاوی اسانس زربین گیاه کیتوزان

محلول کیتوزان با حل کردن ۰/۷۵ درصد وزنی / حجمی کیتوزان در اسید استیک ۰/۵ درصد حجمی / حجمی با pH برابر ۵/۸ به دست آمد. به منظور حل شدن بهتر کیتوزان، محلول به مدت ۳ ساعت در دمای اتاق با همزن مغناطیسی هم‌زده شد (Ojagh et al., 2010).

اسانس زربین گیاه با استفاده از روش تقطیر با آب به مدت ۴ ساعت با دستگاه کلونجر (10-85000) تهیه شد و به‌عنوان فاز روغنی با نسبت مساوی با توئین ۸۰ به‌عنوان سورفاکتانت به‌وسیله همزن مغناطیسی مخلوط گردید. مخلوط به‌دست آمده بر روی همزن مغناطیسی با سرعت ۷۰۰ دور بر دقیقه به آرامی به فاز آبی (محلول کیتوزان)، اضافه شد. سپس امولسیون تهیه شده به مدت ۱ دقیقه در سونیکاتور قرار گرفت (Anuchapreeda et al., 2012). تعیین اندازه ذرات و شاخص بس پاشیدگی نانوامولسیون‌های حاصل مطابق با روش Tang و همکاران (۲۰۱۲) انجام گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری متوسط قطر و توزیع اندازه قطرات از دستگاه انکسار نور لیزر (Malvern, zetasizer nano، انگلستان) استفاده شد. برای محاسبه قطر متوسط ذرات که با نماد d_{43} (قطر حجم- طول) نمایش داده می‌شود، از رابطه (۱) استفاده گردید.

$$D_{43} = \sum z_i d_i^4 / z_i d_i^3 \quad (1)$$

در معادله فوق، تعداد ذرات z_i با قطر d_i می‌باشد.

همچنین شاخص بس پاشیدگی با توجه به منحنی توزیع اندازه ذرات توسط نرم‌افزار دستگاه، در دمای محیط و با سه تکرار محاسبه شد.

تهیه گندم جوانه‌زده

برای تهیه جوانه گندم، ابتدا دانه‌های گندم در محلول هیپوکلریت سدیم با غلظت ۰/۰۷ درصد به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس، نمونه‌های ضد عفونی شده، شسته و به مدت ۱۲ ساعت در آب و در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد خیس‌اندازه شدند. پس از اتمام مرحله خیس‌اندن، نمونه‌ها در اتاقک رشد با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۹۸ درصد به مدت ۴۸ ساعت به‌منظور جوانه‌زنی قرار گرفتند (استاندارد ملی ایران، ۵۸۳۳).

اندازه‌گیری ترکیبات شیمیایی گندم جوانه‌زده

اندازه‌گیری محتوی رطوبت، خاکستر، چربی، پروتئین و فیبر گندم جوانه‌زده مطابق روش‌های استاندارد صورت پذیرفت (AOAC (۲۰۰۰). محتوی اسید آسکوربیک نمونه با استفاده از روش تیتراسیون با معرف ۲،۶- دی کلروفنل اندوفنل اندازه‌گیری شد (۹۶۷/۲۱- AOAC (۲۰۰۰). املاح معدنی گندم جوانه‌زده شامل سدیم، پتاسیم، منیزیم، منگنز، آهن، کلسیم و روی پس از هضم نمونه با ۶ میلی‌لیتر مخلوط اسید کلریدریک و اسید نیتریک به نسبت (۳:۱)، توسط دستگاه پلاسما جفت شده القایی (Varian، آمریکا) اندازه‌گیری شدند (Bressy et al., 2013).

پوشش دهی گندم جوانه‌زده

نمونه‌های گندم جوانه‌زده در نانوامولسیون حاصل شده با نسبت ۲۰۰ گرم جوانه گندم در ۳۰۰ میلی‌لیتر محلول در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد غوطه‌ور شدند و باقیمانده امولسیون پس از عبور از صافی خارج گردید. سطح نمونه‌های پوشش داده شده در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد خشک شد، در پوشش‌های پلی‌پروپیلنی قرار گرفت و تحت اتمسفر اصلاح یافته با ۳۰٪ اکسیژن و ۷۰٪ نیتروژن با فیلم‌های دو لایه پلی‌پروپیلن پلی‌اتیلن به صورت Fill- با دستگاه vacum NPR1000 (نادی پک) بسته‌بندی شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۲ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۵-۸۰ درصد نگهداری شدند (خوش‌گردش و همکاران، ۱۳۹۳).

ارزیابی ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده

pH

اندازه‌گیری pH نمونه‌ها، مطابق با روش استاندارد ۹۸۱،۱۲- AOAC (۲۰۰۰) انجام گرفت.

افت وزن

درصد افت وزن نمونه‌ها از طریق اندازه‌گیری اختلاف بین وزن اولیه و وزن ثانویه و با استفاده از رابطه (۲) محاسبه گردید (Athmaselvi et al., 2013).

$$\text{افت وزن} = (W_1 - W_2 / W_1) \times 100 \quad (2)$$

در رابطه فوق، W_1 وزن اولیه (گرم)، W_2 وزن ثانویه (گرم) می‌باشد.

اندازه‌گیری فنول کل

محتوی فنولیک کل بر اساس روش رنگ‌سنجی و با استفاده از معرف فولین سیوکالتو مطابق با روش ارائه شده توسط Sayyari و همکاران (۲۰۱۱) با اندکی تغییرات تعیین گردید. در این راستا، ۰/۲۵

سفتی بافت

برای ارزیابی ویژگی‌های بافتی نمونه‌ها، از دستگاه بافت‌سنج (Hounsfield H512S، آلمان) و آزمون فشردن استفاده گردید. در این راستا، حداکثر نیروی لازم برای حرکت یک پروب استوانه‌ای به قطر ۳۹ میلی‌متر، با سرعت ۶۰ میلی‌متر بر ثانیه به عمق ۴۰ میلی‌متر در استوانه‌ای که تا ارتفاع ۵۵ میلی‌متر از آن با نمونه پر شده بود (حدود ۳۰ گرم)، به‌عنوان شاخص سفتی محصول ارزیابی گردید (Lee *et al.*, 2003).

مقایسه پارامترهای کیفی نمونه بهینه و شاهد

پس از مدل‌سازی و بررسی تاثیر متغیرهای مستقل بر تغییرات متغیرهای وابسته، نمونه‌های بهینه و شاهد از نظر ویژگی‌های کیفی از جمله pH، افت وزن، محتوی فنول کل، درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH و سفتی بافت در بازه‌های زمانی صفر، ۴، ۸، ۱۲، ۱۶ و ۲۰ روز مورد بررسی قرار گرفتند.

ارزیابی ویژگی‌های حسی نمونه‌های بهینه و شاهد با قضاوت ۲۰ داور آموزش داده شده انجام پذیرفت. ارزیاب‌ها نمونه‌ها را از نظر طعم و مزه، عطر و بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی ارزیابی و امتیازبندی نمودند. به این منظور از روش درجه بندی هدونیک ۶ نقطه‌ای (عدد ۱ بسیار بد- عدد ۶ بسیار خوب) استفاده شد.

میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو (۱۰ برابر رقیق شده با آب) مخلوط شد. پس از ۳-۶ دقیقه، مقدار ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۷/۵ درصد به محلول اضافه و مخلوط گردید. جذب نوری محلول‌ها پس از گذشت ۳۰ دقیقه در تاریکی توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Unico2100 در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. مقدار فنول کل موجود در نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گالیک اسید بر حسب میلی‌گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم وزن خشک نمونه محاسبه شد.

تعیین درصد بازدارندگی رادیکال آزاد DPPH

برای اندازه‌گیری میزان مهار رادیکال آزاد DPPH عصاره، به ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره متانولی، ۴ میلی‌لیتر محلول متانولی ۲،۲-دی فنیل -۱-پیکریل هیدرازیل (۰/۰۴ درصد) اضافه شد. پس از گذشت ۳۰ دقیقه در تاریکی، میزان جذب نوری محلول‌ها در طول موج ۵۱۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (CECIL، انگلستان) اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال آزاد DPPH توسط آنتی‌اکسیدان‌ها با استفاده از رابطه (۳) محاسبه گردید (Martuccia *et al.*, 2015).

(۳) $\text{جذب شاهد} / \text{جذب نمونه} - \text{جذب شاهد} = 100 \times \text{درصد بازدارندگی فعالیت رادیکال آزاد DPPH}$

جدول ۱- ترکیب متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف مطابق طرح آماری سطح پاسخ RSM

تیمار	اسانس زربین گیاه (ppm)	کیتوزان (%)	زمان غوطه‌وری (s)	تیمار	اسانس زربین گیاه (ppm)	کیتوزان (%)	زمان غوطه‌وری (s)
۱	۱۵۰	۰/۷۵	۵۵	۱۱	۰	۰/۳۸	۵۵
۲	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵	۱۲	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵
۳	۲۵۰	۰/۱۳	۲۵	۱۳	۵۰	۰/۶۳	۸۵
۴	۵۰	۰/۱۳	۸۵	۱۴	۱۵۰	۰/۳۸	۱۰
۵	۵۰	۰/۱۳	۲۵	۱۵	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵
۶	۱۵۰	۰/۳۸	۱۰۰	۱۶	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵
۷	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵	۱۷	۲۵۰	۰/۱۳	۸۵
۸	۱۵۰	۰	۵۵	۱۸	۳۰۰	۰/۳۸	۵۵
۹	۲۵۰	۰/۶۳	۲۵	۱۹	۲۵۰	۰/۶۳	۸۵
۱۰	۱۵۰	۰/۳۸	۵۵	۲۰	۵۰	۰/۶۳	۲۵

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در این تحقیق، به‌منظور بررسی تأثیر متغیرهای مستقل شامل غلظت اسانس زربین گیاه (۳۰۰-صفر ppm) (A) و غلظت کیتوزان (۰/۷۵-صفر درصد) (B) در نانومولسیون و مدت زمان غوطه‌وری (۱۲۰-۱۰ ثانیه) (C) بر تغییرات ویژگی‌های کیفی نمونه‌ها (فنول کل، درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH، اسید آسکوربیک، سفتی

بافت) از نرم‌افزار دیزاین اکسپرت ورژن ۹ و روش سطح پاسخ در قالب طرح مرکب مرکزی با α برابر ۱/۵ و ۶ نقطه مرکزی استفاده شد. کلیه بررسی‌های آماری در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. ۲۰ تیمار توسط نرم‌افزار دیزاین اکسپرت پیشنهاد گردید (جدول ۱)، که در این جدول سطوح متغیرهای مستقل در تیمارهای مختلف نمایش داده می‌شود. در روش RSM برای هر متغیر وابسته مدلی تعریف می‌شود

شد. با توجه به نتایج ارائه شده در جدول ۲ مشاهده می‌شود که گندم جوانه‌زده از ارزش تغذیه‌ای بسیار خوبی برخوردار می‌باشد و می‌توان از آن در رژیم غذایی انسان جهت تأمین برخی از نیازهای بدن بهره جست. همچنین، این محصول رطوبت نسبتاً بالایی داشته، و از این رو عمر ماندگاری کوتاهی دارد و به سرعت دچار فساد می‌شود. شیروانی و همکاران (۱۳۹۶)، میزان رطوبت، خاکستر، پروتئین، چربی و فیبر خام در بذر ماش جوانه‌زده را به ترتیب، ۸۴/۷-۴۸/۳٪، ۳/۹-۵/۶٪، ۲۵/۳-۲۴٪، ۰/۸۱-۰/۹۴٪ و ۵/۷-۶/۲٪ گزارش کردند. میزان عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، منگنز، آهن و روی در بذر ماش جوانه‌زده به ترتیب، ۲۲۹-۱۶۰، ۱۵۳۱-۱۲۶۲، ۱۳۹-۱۷۰، ۳۱۷-۲۸۷، ۲/۷-۳/۴، ۸/۷-۱۱/۶ و ۱۴-۱۹/۴ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم ماده خشک گزارش شد. در مطالعه انجام شده توسط هاشمی گهروبی و همکاران (۱۳۹۵) نیز، ترکیبات شیمیایی اصلی جوانه گندم را ۹/۰۳٪ چربی، ۲۹/۵٪ پروتئین، ۷/۳۶٪ فیبر خام و ۴/۳۱٪ خاکستر و محتوی عناصر معدنی شامل آهن، پتاسیم، کلسیم، فسفر، منیزیم و روی به ترتیب، ۱۶۶/۸۲، ۱۱۰۸۳/۳۲، ۲۴۵۰، ۸۳۱۶/۶۷، ۱۹۷۷ و ۲۰۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش نمودند.

که آثار اصلی و متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات فاکتور موردنظر را بیان می‌کند. در رابطه (۴)، Y پاسخ پیش بینی شده، β_0 ضریب ثابت، β_a ، β_b ، β_c اثرات خطی، β_{aa} ، β_{bb} ، β_{cc} اثرات مربعی و β_{ab} ، β_{bc} ، β_{ac} اثرات متقابل می‌باشند.

$$Y = \beta_0 + \beta_a A + \beta_b B + \beta_c C + \beta_{aa} A^2 + \beta_{bb} B^2 + \beta_{cc} C^2 + \beta_{ab} AB + \beta_{ac} AC + \beta_{bc} BC \quad (4)$$

آنالیز نتایج به‌دست آمده از مقایسه نمونه بهینه و نمونه شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SAS ver: 9.1 صورت گرفت. به‌منظور مقایسه میانگین‌ها و بررسی معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها، از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح معنی‌داری ($P < 0.05$) استفاده گردید.

نتایج و بحث

ترکیبات شیمیایی و تغذیه‌ای گندم جوانه‌زده

در این پژوهش چندین پارامتر شیمیایی از جمله میزان رطوبت، پروتئین، چربی، خاکستر، فیبر، ویتامین ث و عناصر سدیم، پتاسیم، کلسیم، منیزیم، منگنز، آهن و روی نمونه گندم جوانه‌زده اندازه‌گیری

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی گندم جوانه‌زده

ترکیبات	میزان
رطوبت	۱/۲ ± ۴۷/۳۱ (گرم در ۱۰۰ گرم براساس وزن مرطوب)
پروتئین	۰/۹۳ ± ۱۱/۶۹ (گرم در ۱۰۰ گرم براساس وزن خشک)
چربی	۰/۱۷ ± ۲/۵ (گرم در ۱۰۰ گرم براساس وزن خشک)
خاکستر	۰/۰۵ ± ۰/۵ (گرم در ۱۰۰ گرم براساس وزن خشک)
فیبر	۰/۸۰ ± ۳/۴۹ (گرم در ۱۰۰ گرم براساس وزن خشک)
ویتامین ث	۰/۰۹ ± ۱/۷۲ (mg/100g)
سدیم	۰/۰۴ ± ۱۹/۹۹ (mg/kg)
پتاسیم	۰/۰۴ ± ۶۱۹/۳ (mg/kg)
کلسیم	۰/۹۰ ± ۷۹/۱۳ (mg/kg)
منیزیم	۰/۰۳ ± ۱۲۹/۴ (mg/kg)
منگنز	۱/۱۰ ± ۱۰/۹۸ (mg/kg)
آهن	۰/۲۲ ± ۱۰/۳ (mg/kg)
روی	۰/۰۶ ± ۸/۹۲ (mg/kg)

نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار ± انحراف معیار گزارش شده است.

بررسی اندازه ذرات نانومولسیون

مطابق با نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، مدل به‌دست آمده از اندازه ذرات نانومولسیون (Dn90%) با متغیرهای مورد بررسی معنی‌دار است ($P < 0.001$). اثر متقابل متغیرهای اسانس و کیتوزان نیز

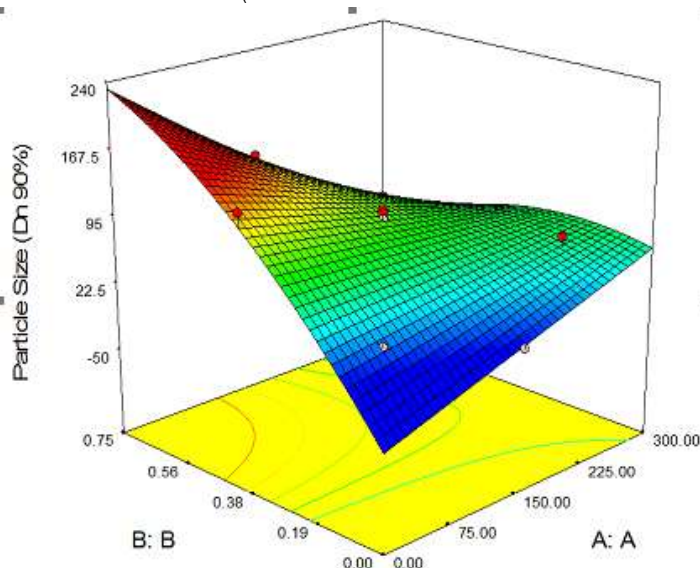
معنی‌دار ارزیابی شد که نشان دهنده تأثیر توأم متغیرها بر اندازه ذرات نانومولسیون می‌باشد ($P < 0.001$). بر طبق معادله ۲ متغیرهای غلظت اسانس و کیتوزان اثر خطی معنی‌داری بر اندازه ذرات نانومولسیون داشت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت اسانس زربین گیاه و کیتوزان اندازه

اثر متقابل اسانس و کیتوزان بر افزایش ابعاد ذرات نانوامولسیون از اثرات اصلی متغیرها کمتر و در سطوح بالای مصرف آنها در محدوده مورد بررسی تاثیر معکوس مشاهده شد (شکل ۱). کاهش اندازه ذرات نانوامولسیون در مقادیر بالای کیتوزان با وزن مولکولی بالا، به فعالیت سطحی و بار الکتریکی مولکول‌های کیتوزان و همچنین فعل و انفعالات میان آن با اسانس زرین گیاه، نحوه توزیع بارها و افزایش نیروی دافعه الکترواستاتیک ناشی از ناسازگاری ترمودینامیکی بین این دو ترکیب مربوط است (Chaudhery *et al.*, 2010 & Zhou *et al.*, 2019).

ذرات نانوامولسیون افزایش یافت. با افزایش غلظت اسانس، سورفاکتانت کافی جهت پوشاندن ذرات اسانس تازه شکل گرفته، وجود نداشت و در نتیجه ذرات جدید تشکیل شده، به یکدیگر پیوسته و ذرات بزرگ‌تری را ایجاد کردند. به‌علاوه، افزایش غلظت اسانس سبب افزایش گرانیوی فاز پراکنده و کاهش نرخ برش در طی فرایند همگن‌سازی و در نهایت ایجاد ذرات بزرگ‌تر می‌شود (Mirhosseini *et al.*, 2008).

$$Y = -41.36 + 0.34A + 556.98B - 1.52AB - 254.99B^2 \quad (2)$$

(اندازه ذرات نانوامولسیون)



شکل ۱- اثر متقابل اسانس و کیتوزان بر تغییرات اندازه ذرات نانوامولسیون (Dn90%)

غلظت اسانس، غلظت کیتوزان و زمان غوطه‌وری بر تغییرات pH و افت وزن نمونه‌ها معنی‌دار نبود. نتایج تجزیه واریانس متغیرهای پاسخ در جدول ۳ آورده شده است.

پلی فنول کل

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که تغییرات متغیرهای مستقل بر تغییرات فنول کل محصول معنی‌دار است ($P < 0.001$). اثرات متقابل برخی متغیرهای مورد بررسی در سطح احتمال ۹۵ و ۹۹ درصد معنی‌دار بود و نشان‌دهنده تاثیر توأم متغیرها بر میزان فنول کل می‌باشد. اثر مستقل غلظت اسانس زرین گیاه و زمان غوطه‌وری بر محتوی فنول کل محصول منفی و معنی‌دار است (جدول ۴)، که می‌تواند به خاصیت پرواکسیدانی غلظت‌های بالای ترکیبات موجود در اسانس مربوط شود. در این راستا، اکسیداسیون برخی از ترکیبات فنولی حساس، در زمان‌های طولانی‌تر غوطه‌وری در اسانس گزارش شده است (Mimica-Dukić *et al.*, 2016). اثر متقابل کیتوزان و زمان غوطه‌وری بر محتوی فنول کل گندم جوانه‌زده مثبت ارزیابی شد

ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده پوشش داده شده با نانوامولسیون اسانس زرین گیاه- کیتوزان

به‌منظور به‌دست آوردن مدل تجربی برای پیش‌بینی متغیرهای پاسخ (pH، افت وزن، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اسید آسکوربیک، سفتی بافت) ابتدا رابطه‌های چند جمله‌ای شامل خطی، دو فاکتوری (تعاملی) و درجه دو بر داده‌های به‌دست آمده از این پاسخ‌برازش داده شدند و سپس این مدل‌ها مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. از نظر آماری مدلی مناسب است که آزمون عدم برازش آن معنی‌دار نبوده و دارای بالاترین ضریب تبیین و ضریب تبیین اصلاح شده باشد. نتایج نشان داد مدل مناسب برای پیش‌گویی تغییرات فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اسید آسکوربیک و سفتی بافت در اثر تغییر کمیت متغیرهای مورد بررسی (غلظت اسانس زرین گیاه، غلظت کیتوزان، زمان غوطه‌وری)، مدلی درجه دو با ضریب تبیین ($R^2 > 0.90$) می‌باشد. هیچ یک از مدل‌های خطی، متقابل و درجه دو نتوانستند تغییرات pH و افت وزن را به‌خوبی مدلسازی و پیش‌گویی کنند. در واقع اثر خطی، درجه دوم، اثر متقابل متغیرهای مستقل

تأثیر متقابل غلظت اسانس و زمان غوطه‌وری بر حفظ بهتر محتوی فنول کل گندم جوانه‌زده شده نیز مثبت و معنی‌دار است (شکل ۲ ب).

این مشاهده به تأثیر کیتوزان بر غیرفعال‌سازی آنزیم‌های پلی‌فنول اکسیداز و پراکسیداز و تأثیر متقابل سینرژیستی آن با زمان غوطه‌وری مربوط می‌شود (Mirdehghan et al., 2007).

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر غلظت اسانس زین گیاه، غلظت کیتوزان و زمان غوطه‌وری بر اندازه ذرات نانومولسیون (Dn90%) و ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده (pH افت وزن، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیداتی، اسید آسکوربیک، سفتی بافت)

پاسخ																						
سفتی بافت			اسید آسکوربیک			درصد بازاریابی DPPH آزاد			فنول کل			افت وزن			pH			اندازه ذرات نانومولسیون				
مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	مجموع	درجه	
مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	مربعات	آزادی	
۲۹۹/۰۸	۷	۱/۱***	۹	۷۳۵/۰۳***	۵	۱۶۵/۷۶***	۶	۰/۰۶۳ ^{ns}	۹	۰/۰۴۳ ^{ns}	۹	۲۲۲۰/۹۵***	۴	۲۲۲۰/۹۵***	۹	۲۲۲۰/۹۵***	۴	۲۲۲۰/۹۵***	۹	۲۲۲۰/۹۵***	۴	۲۲۲۰/۹۵***
۶																						
۲۰۶/۱۳***	۱	۰/۰۱۵ ^{ns}	۱	۷۹/۸۸***	۱	۳۷۹/۵۳**	۱	۱/۶۸×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۵/۰۰×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۴۱۸۸/۰۳***	۱	۴۱۸۸/۰۳***	۱	۴۱۸۸/۰۳***	۱	۴۱۸۸/۰۳***	۱	۴۱۸۸/۰۳***	۱	۴۱۸۸/۰۳***
۶۰/۵*	۱	۶/۵۶×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۳۶۹/۶۸***	۱	۱۶/۱۳ ^{ns}	۱	۱/۶۲×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰/۰۱ ^{ns}	۱	۱۰۰۵/۶۸***	۱	۱۰۰۵/۶۸***	۱	۱۰۰۵/۶۸***	۱	۱۰۰۵/۶۸***	۱	۱۰۰۵/۶۸***	۱	۱۰۰۵/۶۸***
۱۱۵/۳۳**	۱	۲/۲×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۳۳/۳۱**	۱	۱۱۶/۸۸**	۱	۰/۰۱۷ ^{ns}	۱	۴/۵۰×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۱۰/۰۳**	۱	۰/۰۳۸**	۱	۱۹۲/۵۷***	۱	۰	۰	۰/۰۳۳ ^{ns}	۱	۳/۶۱×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۵۷۸۵/۱۳***	۱	۵۷۸۵/۱۳***	۱	۵۷۸۵/۱۳***	۱	۵۷۸۵/۱۳***	۱	۵۷۸۵/۱۳***	۱	۵۷۸۵/۱۳***
۰	۰	۰/۰۳۱*	۱	۰	۰	۹۷۳/۵۳***	۱	۴/۵۱×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۱/۱۳×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۱۲/۹۵***	۱	۰/۰۵۷***	۱	۰	۰	۱۳۸/۵۳**	۱	۳/۱۳×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۳/۶۱×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۳۸۰/۷۷***	۱	۰/۰۳۱***	۱	۰	۰	۱۳۹/۱۹**	۱	۳/۱۰×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰/۰۱۶ ^{ns}	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۰	۰	۰/۰۴***	۱	۱۶۲/۸۳***	۱	۰	۰	۸/۹۵×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۳/۷۳×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۲۱۷۶/۱۳**	۱	۲۱۷۶/۱۳**	۱	۲۱۷۶/۱۳**	۱	۲۱۷۶/۱۳**	۱	۲۱۷۶/۱۳**	۱	۲۱۷۶/۱۳**
۷۹۲/۷۴***	۱	۰/۱۴***	۱	۰	۰	۰	۰	۳/۴۲×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۱/۵۱×۱۰ ^{-۷ns}	۱	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۱۳۹/۵۴	۱۱	۰/۰۳۷	۹	۳۸/۴۱	۱۳	۲۱۰/۱۶	۱۳	۰/۱۹ ^{ns}	۱۰	۰/۱۱	۱۰	۷۶۹/۰۳	۸	۷۶۹/۰۳	۱۰	۷۶۹/۰۳	۸	۷۶۹/۰۳	۱۰	۷۶۹/۰۳	۸	۷۶۹/۰۳
۹۶/۱۹ ^{ns}	۶	۰/۰۱۹ ^{ns}	۴	۳۲/۶۶ ^{ns}	۸	۱۵۴/۸۱ ^{ns}	۸	۰/۱۹ ^{ns}	۵	۰/۰۳۷ ^{ns}	۵	۶۶۴/۸۳ ^{ns}	۴	۶۶۴/۸۳ ^{ns}	۵	۶۶۴/۸۳ ^{ns}	۴	۶۶۴/۸۳ ^{ns}	۵	۶۶۴/۸۳ ^{ns}	۴	۶۶۴/۸۳ ^{ns}
۵۳/۳۵	۵	۰/۰۱۸	۵	۵/۷۴	۵	۵۵/۳۵	۵	۷/۴۸×۱۰ ^{-۳}	۵	۰/۰۷۱	۵	۱۰۴/۱۵	۴	۱۰۴/۱۵	۵	۱۰۴/۱۵	۴	۱۰۴/۱۵	۵	۱۰۴/۱۵	۴	۱۰۴/۱۵
۳۱۴۵/۶۲	۱۸	۱/۱۴	۱۸	۷۷۳/۴۳	۱۸	۱۸۶۲/۹۲	۱۹	۰/۲۶	۱۹	۰/۱۵	۱۹	۲۳۹۶۹/۹۸	۱۲	۲۳۹۶۹/۹۸	۱۹	۲۳۹۶۹/۹۸	۱۲	۲۳۹۶۹/۹۸	۱۹	۲۳۹۶۹/۹۸	۱۲	۲۳۹۶۹/۹۸

خطوط تیره در جدول نشان‌دهنده تأثیر بودن متغیر مربوطه در پاسخ‌های اندازه‌گیری شده است. *** اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۰۱ درصد، ** اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ درصد، * اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ درصد، ns عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۴- ضرایب مدل‌های برازش یافته بر صفات مورد مطالعه

ضریب	پاسخ	درصد	بازدارندگی	اسید آسکوربیک	سفتی بافت
	فنول کل	رادیکال آزاد	DPPH	(mg/100g)	(نیوتن)
β_0	+۱۶۸/۴۱	+۴۰/۳۸	+۴۰/۳۸	-۰/۵۸	+۲۱۲/۳۱
β_1	-۰/۱۳۹**	-۰/۰۵**	-۰/۰۵**	+۷/۵۲×۱۰ ^{-۲} ns	-۰/۲۹**
β_2	-۲۴/۸۴ ^{ns}	-۷/۴۷**	-۷/۴۷**	+۳/۶۷ ^{ns}	-۱۳۳/۴۱ ^{ns}
β_3	-۰/۶۴*	-۰/۰۴۸*	-۰/۰۴۸*	+۰/۰۲۳ ^{ns}	-۱/۸۷*
β_{12}	-	+۰/۲۱۷**	+۰/۲۱۷**	-۳/۲۹×۱۰ ^{-۳} *	+۰/۱۶*
β_{13}	+۳/۶۸×۱۰ ^{-۳} **	-	-	-۲/۴۷×۱۰ ^{-۵} *	-
β_{23}	+۰/۵۳*	-	-	-۰/۰۱۳**	+۱/۷۹**
β_{11}	+۳/۶۷×۱۰ ^{-۴} *	-	-	-۱/۷۷×۱۰ ^{-۵} **	+۶/۱۷×۱۰ ^{-۴} **
β_{22}	-	-۶۴/۳۳**	-۶۴/۳۳**	-۳/۲۱**	-
β_{33}	-	-	-	-۱/۳۲×۱۰ ^{-۴} **	+۹/۸۹×۱۰ ^{-۳} **
R^2	۰/۸۸	۰/۹۵	۰/۹۵	۰/۹۶	۰/۹۵
Lack of Fit	۰/۲۷۹	۰/۰۸۹	۰/۰۸۹	۰/۳۸۱	۰/۲۳۵

β_1 : اسانس زرین گیاه، β_2 : کیتوزان، β_3 : زمان غوطه‌وری

ns، **، *** به ترتیب، نشان دهنده معنی‌داری در سطح احتمال ۹۵٪، ۹۹٪ و ns عدم معنی‌دار بودن است.

(بدون پوشش) در طی ۳۵ روز نگهداری در سطوح بالاتری حفظ گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی

با توجه به نتایج حاصل از جدول ۳، مدل به‌دست آمده از تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار است ($P < 0.001$). مطابق نتایج، تأثیر متغیرهای مستقل بر حفظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی جوانه گندم منفی و معنی‌دار است (جدول ۴). در واقع افزایش غلظت اسانس زرین گیاه، غلظت کیتوزان و زمان غوطه‌وری تا محدوده ماکسیمم مورد بررسی در این پژوهش سبب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول گردید. در حالیکه، تأثیر متقابل اسانس و کیتوزان تا سطوح متوسط مصرف متغیرها (۱۵۰ ppm اسانس و ۰/۳۸٪ کیتوزان)، بر تغییرات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول مثبت و افزایش‌دهنده ارزیابی شد ($P < 0.001$).

پوشش کیتوزان با کاهش میزان نفوذپذیری به گازهای تنفسی و کاهش تنفس و تعرق جوانه گندم، می‌تواند موجب حفظ محتوی پلی‌فنول‌ها، اسید آسکوربیک و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی محصول گردد (Xing et al., 2011). مشخص شده است پوشش کیتوزان بر سطح گوجه فرنگی موجب القای فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شده است که این آنزیم‌ها نقش مهمی در پتانسیل آنتی‌اکسیدانی محصول بر عهده دارند (Liu et al., 2014). همبستگی مثبت میان فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد و ترکیبات فنولی در بسیاری از مطالعات قبلی گزارش

نتایج این پژوهش بیانگر اثر معنی‌دار پوشش نانوامولسیون حاوی کیتوزان و اسانس زرین گیاه بر محتوی فنول کل گندم جوانه‌زده می‌باشد. پوشش کیتوزان با کنترل تبدلات گازی از سطح محصول، باعث کاهش سرعت تنفس جوانه گندم، کاهش فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنول اکسیداز و پراکسیداز و کاهش واکنش‌های اکسیداسیونی فنول‌ها می‌شود (Mirdehghan et al., 2007). در تحقیقی در رابطه با بررسی اثر پوشش خوراکی کیتوزان بر توت فرنگی، نتایج نشان داده شد که محتوی فنول و درصد بازدارندگی رادیکال آزاد در نمونه‌های پوشش داده شده نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد (Wang & Gao, 2013). همچنین، با افزایش همزمان غلظت اسانس و زمان غوطه‌وری محتوی فنول کل بیشتر می‌شود (شکل ۲ ب). استفاده از اسانس زرین گیاه در پوشش نانوامولسیون، به دلیل افزایش خاصیت هیدروفوبی پوشش، کاهش نفوذپذیری اکسیژن و بخار آب و کاهش تبدلات گازی، کاهش فعالیت آنزیم‌های اکسید کننده فنول‌ها نقش مهمی در حفظ محتوی فنول کل در سطوح بالاتری ایفا کرده است (Sanchez-Gonza et al., 2010). با اتکاء به این مطلب که اسانس زرین گیاه دارای مقادیر بالای ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا است (Kamali et al., 2016)، حضور آن در پوشش باعث شده تا محتوی فنول کل تیمارها در سطوح بالاتری حفظ گردد. در پژوهشی که توسط Khalifa و همکاران (۲۰۱۷) انجام گرفت، نتایج نشان داد که محتوی فنول کل در سیب پوشش داده شده با کیتوزان و عصاره برگ زیتون و یا عصاره تفاله زیتون نسبت به گروه کنترل

آلبالو طی ۲۰ روز انبارداری نشان‌دهنده تأثیر فیلم خوراکی به کار رفته بر روند کاهش اسید آسکوربیک در طی دوره انبارداری بود (Zam, 2019). با توجه به اینکه کیتوزان تأثیر شگرفی بر کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز دارد (Ayranci & Tunc., 2004)، احتمالاً مدت زمان‌های طولانی‌تر غوطه‌وری می‌تواند در حفظ محتوی اسید آسکوربیک گندم جوانه‌زده مؤثرتر باشد.

سفتی بافت

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که مدل درجه دوم به دست آمده از تغییرات سفتی بافت معنی‌دار است ($P < 0.001$). معنی‌دار بودن اثرات متقابل برخی از متغیرهای مورد بررسی نشان‌دهنده تأثیر توأم متغیرها بر میزان سفتی بافت می‌باشد ($P < 0.001$). منابع تغییرات مدل نشان می‌دهد، استفاده از اسانس در سطوح بالا و افزایش زمان غوطه‌وری موجب افزایش سفتی بافت جوانه گندم می‌شود (جدول ۴). اثرات متقابل غلظت کیتوزان با غلظت اسانس و زمان غوطه‌وری در مقادیر بالا نیز در حفظ بهتر سفتی بافت گندم جوانه‌زده مثبت و معنی‌دار ارزیابی شد (شکل ۲ (ه ی)).

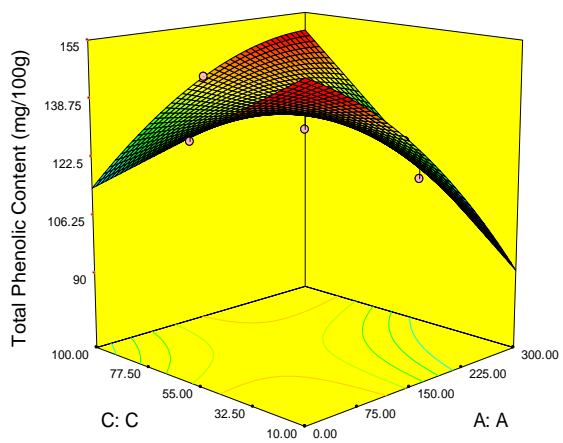
یکی از شاخص‌های مهم در ارزیابی کیفیت میوه‌ها و سبزیجات، بافت آنها می‌باشد. سفتی بافت می‌تواند در ارتباط با ساختار دیواره سلولی و ترکیبات بین دیواره سلول‌ها و همچنین تبدیل قندهای نامحلول (نشاسته) به قندهای محلول (گلوکز و فروکتوز) باشد. تغییر در ساختار دیواره سلولی از جمله کاهش همی‌سلولز و گالاکتوز، کاهش درجه استری پکتین و فعالیت آنزیم‌های هیدرولیز کننده سبب نرم شدن بافت می‌شود (Hong *et al.*, 2012). پوشش کیتوزان با حفظ میزان اکسیژن در سطح پایین و دی‌اکسید کربن در سطوح بالاتر، کاهش شدت تنفس، کاهش تعرق و کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های تجزیه‌کننده مواد پکتینی دیواره سلولی از جمله پکتین استراز و پلی گالاکتوروناز و به تأخیر انداختن فرایند پیری تأثیر به سزایی در حفظ سفتی بافت دارد (Ali *et al.*, 2011). جلوگیری از کاهش سفتی میوه انگور با استفاده از پوشش کیتوزان گزارش شده است (Al-Qurashi & Awad, 2015). تأثیر اسانس زین گیاه بر حفظ سفتی بافت نیز می‌تواند به دلیل نقش مؤثر اسانس در کاهش تنفس و تعرق، جلوگیری از افزایش pH در اثر فعالیت‌های آنزیمی و واکنش‌های اکسیداسیون و به تأخیر انداختن فرایند پیری سلول و چروکیدگی می‌باشد (Chiumarelli *et al.*, 2011). افزایش زمان غوطه‌وری در محلول پوششی در محدوده مورد ارزیابی در این پژوهش، تأثیر ترکیبات تشکیل‌دهنده نانوامولسیون بر حفظ سفتی بافت محصول را بهبود می‌دهد.

شده است. بنابراین، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با افزایش درصد اسانس زین گیاه می‌تواند بدلیل حفظ بهتر ترکیبات فنولی محصول باشد (Bagheri *et al.*, 2015).

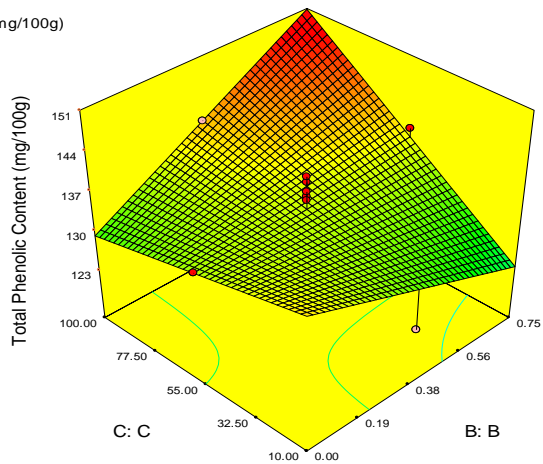
اسید آسکوربیک

نتایج حاصل از جدول ۳ نشان می‌دهد که مدل خطی به دست آمده از تغییرات اسید آسکوربیک در تیمارهای مختلف معنی‌دار ارزیابی شد ($P < 0.001$). اثرات متقابل متغیرهای مورد بررسی در سطح احتمال ۹۹/۹ درصد معنی‌دار بود که نشان‌دهنده تأثیر توأم متغیرهای مستقل بر تغییرات اسید آسکوربیک می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از جدول ۴ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت اسانس زین گیاه، غلظت کیتوزان و زمان غوطه‌وری، میزان اسید آسکوربیک جوانه به حداکثر مقدار خود می‌رسد. مثبت بودن ضریب رگرسیون خطی اسانس، کیتوزان و زمان غوطه‌وری مؤید این موضوع می‌باشد. اثر متقابل متغیرها در محدوده نسبتاً وسیعی از تغییرات هر دو متغیر نیز منجر به حفظ سطوح بالاتری از اسید آسکوربیک گندم جوانه‌زده شده است.

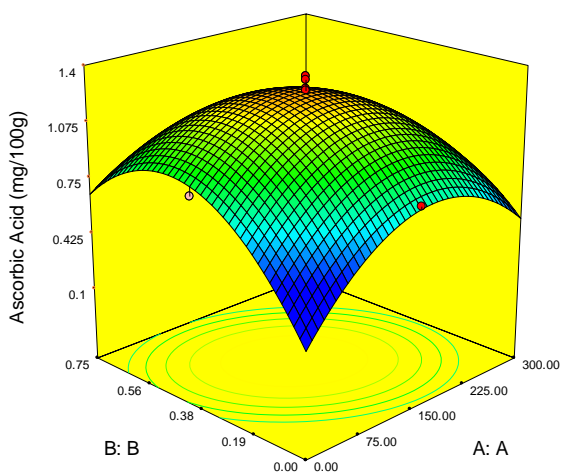
یکی از معیارهای سنجش کیفیت میوه‌ها و سبزیجات میزان اسید آسکوربیک آنها می‌باشد، که بسیار حساس به تجزیه شدن به علت اکسید شدن در طی فرآوری و نگهداری می‌باشد. فرایند اکسیداتیو اسید آسکوربیک در حضور عواملی مانند نور، اکسیژن، حرارت و آنزیم‌های اکسیدکننده فنول اکسیداز و آسکوربیک اکسیداز شدت می‌یابد. استفاده از پوشش‌های خوراکی به دلیل کاهش میزان نفوذ پذیری به گازهای تنفسی مؤثرترین راهکار در جهت حفظ اسید آسکوربیک می‌باشد (Veltman *et al.*, 2000). به نظر می‌رسد که پوشش کیتوزان با کاهش اکسیژن درونی جوانه گندم منجر به افزایش فعالیت سیتوکروم اکسیداز می‌شود و این آنزیم می‌تواند سرعت تجزیه اسید آسکوربیک را تا حد زیادی کاهش دهد (Pek & Helyes, 2010). به علاوه، پوشش نانوامولسیونی کیتوزان با کاهش تبادلات گازی، کاهش سرعت تنفس و کاهش فعالیت آنزیم‌های پلی فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز باعث حفظ اسید آسکوربیک می‌گردد (Ayranci & Tunc., 2004). با افزایش غلظت اسانس زین گیاه، محتوی ترکیبات فنولی و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی ناشی از آن بیشتر می‌گردد و موجبات محافظت محتوی اسید آسکوربیک محصول را فراهم می‌کند (Shao *et al.*, 2015). در محدوده مورد ارزیابی در این پژوهش، افزایش زمان غوطه‌وری در محلول پوششی، تأثیر ترکیبات تشکیل‌دهنده نانوامولسیون بر حفظ اسید آسکوربیک موجود در محصول را افزایش می‌دهد. نتایج بررسی اثر فیلم خوراکی ترکیبی حاوی کیتوزان - آلزینات و عصاره برگ زیتون بر کیفیت ماندگاری



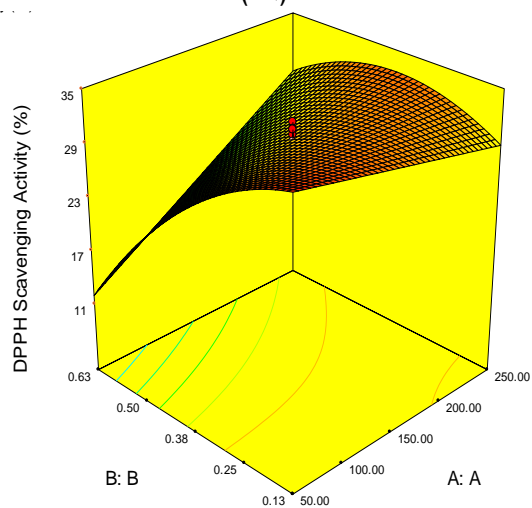
(ب)



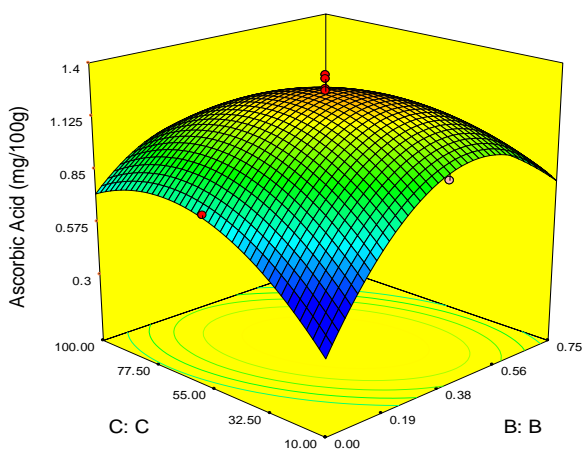
(الف)



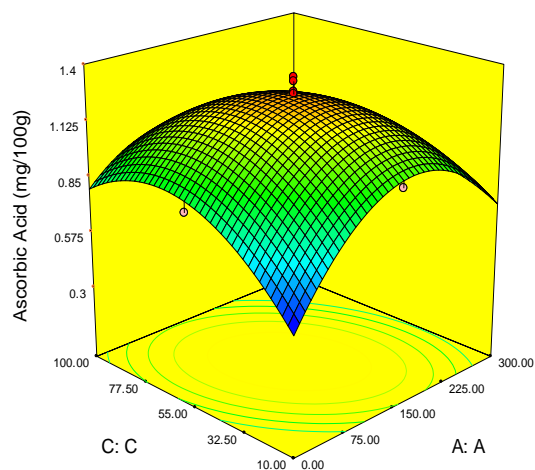
(د)



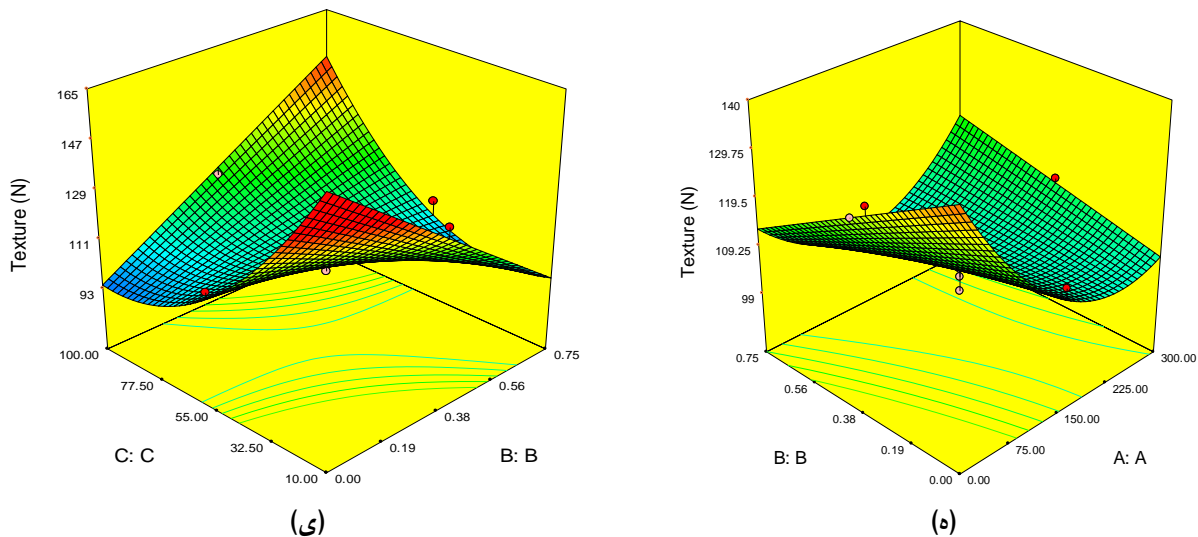
(ج)



(و)



(ز)



شکل ۲- اثر متقابل متغیرهای مستقل بر تغییرات ویژگی‌های کیفی گندم جوانه‌زده

غوطه‌وری تولید گردید. درصد خطای ارزیابی هر یک از متغیرها محاسبه گردید. نتایج ویژگی‌های کیفی نمونه تهیه شده و پیش‌بینی شده توسط مدل و درصد خطای برآورد هر ویژگی در جدول ۵ آورده شده است که بیانگر صحت عملکرد مدل‌های حاصل است.

بهینه‌سازی فرمول و اعتبارسنجی

بهینه‌سازی براساس مهم‌ترین پارامترهای کیفی جوانه گندم (pH، افت وزن، فنول کل، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، اسید آسکوربیک و سفتی بافت) صورت گرفت. به منظور اعتبارسنجی مدل‌های حاصل، نمونه بهینه حاوی ۸۴/۱۸ ppm اسانس زربین گیاه، ۰/۲۵٪ کیتوزان و ۲۵s

جدول ۵- بررسی صحت پیش‌بینی مدل‌های حاصل شده با استفاده از روش سطح پاسخ در پیش‌بینی فاکتورهای کیفی گندم جوانه‌زده

آزمون	مقدار پیش‌بینی شده	مقدار تجربی	درصد خطا
pH	۴/۹۶	۴/۷۶	۴/۳۸
افت وزن	۱/۱۴۳	۱/۰۷	۶/۸۶
فنول کل	۱۴۲/۶۸	۱۴۲/۱۱	۰/۴
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	۳۳/۲۳	۳۳/۴۵	۰/۶۷
اسید آسکوربیک	۰/۹۲۶	۱/۱۹	۲۲/۱۳
سفتی بافت	۱۳۲/۷۳	۱۱۵/۷۳	۱۴/۶۹

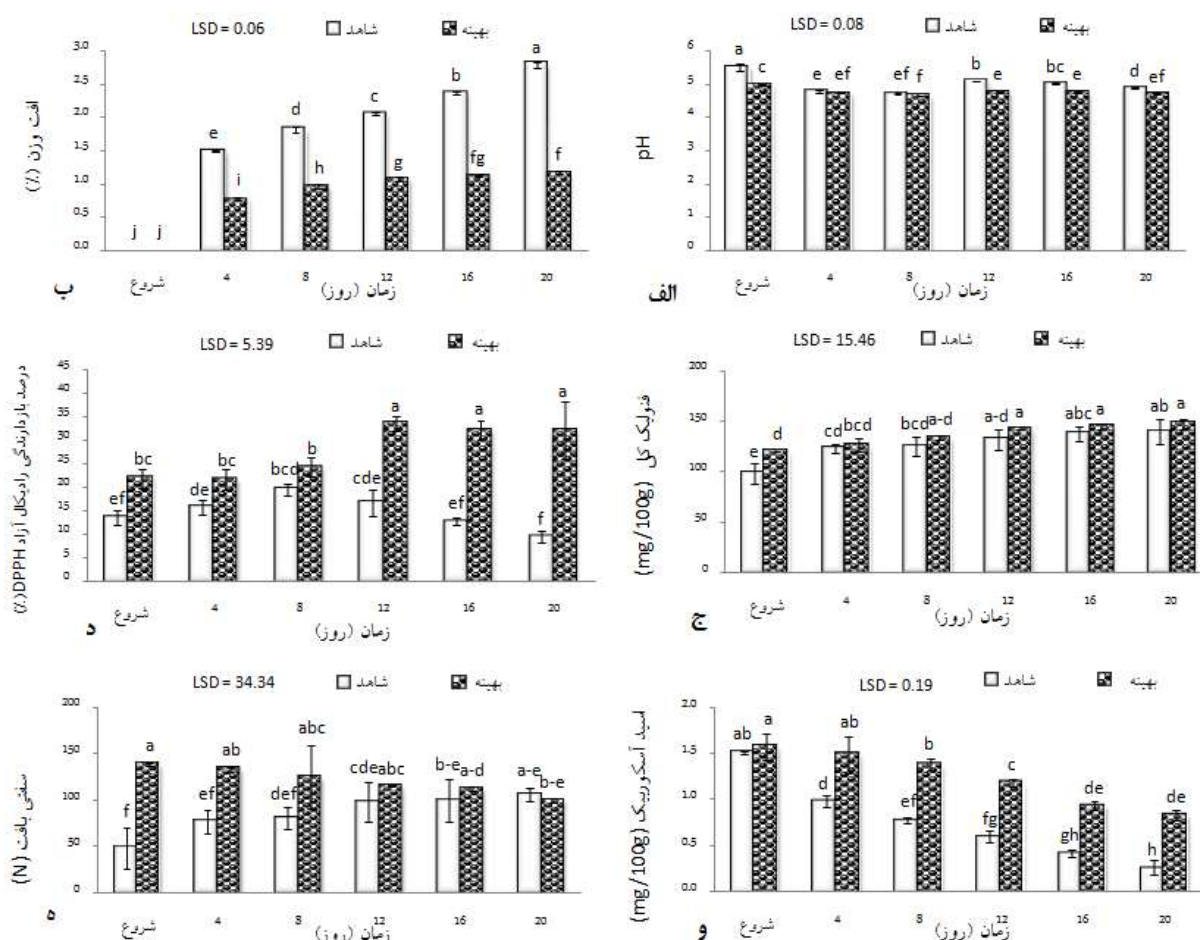
گندم جوانه‌زده نسبت داد (Mali & Grossman., 2003). به طور کلی pH نمونه بهینه کمتر از نمونه شاهد ارزیابی گردید. هرچند، در روزهای چهارم و هشتم نگهداری تفاوت میان نمونه بهینه و نمونه شاهد از این نظر معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0.05$). پوشش‌ها با تغییر میزان اکسیژن و دی‌اکسید کربن در اطراف میوه، تغییرات pH را کند و به طور مؤثری رسیدن و زوال آنها را به تعویق می‌اندازند. طبق شکل ۳ (ب)، افت وزن محصول در طی دوره نگهداری افزایش می‌یابد. تفاوت معنی‌داری میان نمونه‌های بهینه و نمونه شاهد از این نظر وجود دارد ($P<0.01$) و افت وزن در نمونه بهینه در مقایسه با نمونه شاهد کمتر است. پوشش کیتوزان به‌عنوان یک پوشش خوراکی مانع از دست رفتن رطوبت شده و بر تبادلات گازی نمونه اثرگذار است.

مقایسه ویژگی‌های کیفی نمونه بهینه و نمونه شاهد در طول دوره نگهداری

مطابق شکل ۳ (الف)، در طی دوره نگهداری نمونه‌های بهینه و شاهد تفاوت معنی‌داری را از نظر تغییرات pH نشان داده‌اند ($P<0.05$). در روز آغازین آزمایش، pH نمونه بهینه به دلیل اسیدی بودن محلول کیتوزان به کار رفته در پوشش نانومولسیونی نسبت به نمونه شاهد کمتر می‌باشد. تغییرات pH با گذشت زمان از روز صفر (آغازین آزمایش) تا روز هشتم نگهداری کاهشی، و پس از آن روندی افزایشی را سپری می‌کند. این تغییرات به تولید و مصرف اسیدهای آلی به واسطه فعالیت میکروارگانیسم‌ها و واکنش‌های آنزیمی تنفس، تغییر نسبت محتوی قند به اسیدها و همچنین تغییر مواد جامد کل

آغازین آزمایش تا روز دوازدهم نگهداری روندی افزایشی ($P < 0.05$)، و در طی روزهای دوازدهم، شانزدهم و بیستم نگهداری تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (شکل ۳ ج).

محتوی ترکیبات فنولیک کل در نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد طی دوره نگهداری (۲۰ روز) تغییر چندانی نمی‌کند ($P < 0.05$)، و تنها در روز آغازین آزمایش، نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد از محتوی فنول کل بالاتری برخوردار می‌باشد. محتوی فنول کل از روز



شکل ۳- مقایسه ویژگی‌های کیفی نمونه‌های بهینه و شاهد طی دوره نگهداری
ستون‌های دارای حروف متفاوت از لحاظ آماری دارای میانگین متفاوت هستند ($P < 0.05$)

طول دوره نگهداری بالاتر ارزیابی گردید ($P < 0.05$). تنها در روز هشتم نگهداری، نمونه بهینه و نمونه شاهد تفاوت معنی‌داری از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نشان نمی‌دهند ($P > 0.05$). سرعت کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه شاهد از روز شانزدهم به بعد بیشتر از نمونه بهینه است (شکل ۳ د). Gholammipour Fard و همکاران (۲۰۱۰) طی پژوهشی به این نتیجه رسیدند که کیتوزان اثر مفیدی بر حفظ محتوی ترکیبات فنولی، اسید آسکوربیک، کلروفیل، کاهش وزن و حفظ شکل ظاهری فلفل دلمه‌ای دارد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه بهینه از روز آغازین آزمایش تا روز دوازدهم نگهداری روند افزایشی را نشان می‌دهد ($P < 0.05$). تحریک اسانس‌های گیاهی از طریق جذب رادیکال‌های اکسیژن و هیدروکسیل طی زمان انبارداری، حفظ بهتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و فنولیک را موجب می‌گردد (Atress *et al.*, 2010). از جهتی تضعیف قدرت اتصالات ترکیبات فنولیک با دیواره‌های سلولی و ترکیبات باند کننده، افزایش فعالیت و امکان واکنش و به تبع آن افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی محصول را به همراه دارد (Aydın & Gocmen., 2014). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد در

آورد. علاوه بر این، پوشش به کار رفته هیچ گونه اثر نامطلوبی بر خواص حسی گندم جوانه زده ندارد و عطر و طعم اضافی در محصول به وجود نمی آورد. کیفیت ظاهری میوه‌ها و سبزیجات تازه (عطر، طعم و رنگ) طی نگهداری در انبار بدلیل افزایش تنفس و فعالیت آنزیمی محصول کاهش می یابد. در نمونه‌های پوشش داده شده، بدلیل کاهش تنفس و حفظ بیشتر ترکیبات عامل عطر و طعم، پذیرش کلی تیمارها طی نگهداری (۴ روز) نسبت به نمونه شاهد تغییر محسوس نکرده است. به طور کلی از آنجا که پوشش دهی در حفظ بافت، رنگ و ترکیبات شیمیایی میوه‌ها و سبزیجات مؤثر شناخته شده است، بدیهی است که استفاده از آن محصول را بعد از گذشت یک دوره انبارمانی، همچنان با خصوصیات نزدیک به خصوصیات محصول تازه، نسبت به گروه شاهد ارجح می‌دارد (عشقی و همکاران، ۱۳۹۲). در تحقیق انجام شده توسط Guerra و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده شده است که ترکیب کیتوزان و اسانس نعنا فلفلی در پوشش گوجه گیلاسی هیچ تفاوت معنی‌داری در ویژگی‌های مختلف حسی نمونه‌ها پس از ۲۴ روز انبارداری ایجاد نکرده است.

نتایج شکل ۳ (و) نشان می‌دهد که، محتوی اسید آسکوربیک نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد بالاتر است. تغییرات میزان اسید آسکوربیک نمونه بهینه در طی دوره نگهداری روند کاهشی را نشان می‌دهد ($P < 0.05$). Yonemoto و همکاران (۲۰۰۲) طی گزارشی بیان کردند که سطوح بالاتر اسید آسکوربیک در میوه‌های پوشش داده شده با کیتوزان به دلیل کاهش دسترسی به اکسیژن و مهار تنفس است. در طول دوره نگهداری، سفتی بافت نمونه بهینه و شاهد تفاوت معنی‌داری نشان می‌دهند، و سفتی بافت در نمونه بهینه نسبت به نمونه شاهد بالاتر است ($P < 0.05$). تغییرات سفتی بافت نمونه بهینه با گذشت زمان چندان محسوس نیست.

طبق نتایج جدول ۶ اثر تیمار (پوشش نانومولسیون) بر خصوصیات حسی گندم جوانه زده نظیر طعم و مزه، عطر و بو، رنگ، بافت و پذیرش کلی معنی‌دار نیست. این نتیجه به این معنی است که پوشش نانومولسیون حاوی اسانس زربین گیاه و کیتوزان به خوبی توانسته است ویژگی‌های حسی گندم جوانه زده را حفظ نماید و از به وجود آمدن اثرات نامطلوب حسی و بدطعمی در آن ممانعت به عمل

جدول ۶- اثر تیمار گندم جوانه زده با پوشش نانومولسیون اسانس زربین گیاه در محلول کیتوزان بر خصوصیات حسی محصول

تیمار	طعم و مزه	عطر و بو	رنگ	بافت	پذیرش کلی
شاهد	۴/۳۵±۱/۰۴ ^a	۴/۰۵±۱/۳۲ ^a	۴/۱۵±۱/۲۳ ^a	۴/۲۰±۱/۲۴ ^a	۴/۴۵±۱/۱۰ ^a
بهینه	۳/۹۵±۱/۲۳ ^a	۳/۹۰±۱/۰۷ ^a	۴/۴۵±۱/۰۰ ^a	۴/۴۵±۱/۲۳ ^a	۴/۳۰±۰/۸۰ ^a

در هرستون، میانگین‌ها با حروف یکسان بر اساس آزمون من ویت نی (Mann-Whitney U) تفاوت معنی‌داری ندارند.

نتیجه‌گیری

بذرهای جوانه زده به دلیل فساد سریع توسط میکروارگانیسم‌ها و تغییرات بیوشیمیایی از جمله تنفس، فعالیت‌های آنزیمی و نرم شدگی ماندگاری مناسبی ندارند. هدف این مطالعه افزایش ماندگاری و حفظ کیفیت گندم جوانه زده با استفاده از پوشش نانومولسیون کیتوزان-اسانس زربین گیاه بود. نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر نشان داد که افزایش همزمان سطح کیتوزان و زمان غوطه‌وری موجب حفظ بهتر ترکیبات فنولیک کل تیمارها گردید. اثر متقابل اسانس و کیتوزان بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تیمارها نشان داد که افزایش اسانس و کیتوزان تا سطوح متوسط (۱۵۰ ppm اسانس و ۰/۳۸٪ کیتوزان)، موجب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی شد. اثرات متقابل متغیرهای مورد بررسی تا سطوح متوسط (۱۵۰ ppm اسانس و ۰/۳۸٪ کیتوزان) هر دو متغیر منجر به حفظ سطوح بالاتری از اسید آسکوربیک گندم

جوانه زده گردید، اما در مقادیر بالاتر آنها روند کاهشی مشاهده شد. اثر متقابل اسانس و کیتوزان و همچنین اثر متقابل کیتوزان و زمان غوطه‌وری در مقادیر بالا موجب حفظ بهتر بافت گندم جوانه زده می‌شود. استفاده از پوشش حاوی ۰/۲۵٪ کیتوزان به همراه ۸۴/۱۸ ppm اسانس زربین گیاه و زمان غوطه‌وری ۲۵s با حفظ کیفیت گندم جوانه زده در تمامی صفات بررسی شده به عنوان بهترین سطوح متغیرهای مستقل در این پژوهش شناخته شد. پوشش دهی گندم جوانه زده باعث کاهش روند تغییرات pH، افت وزن، میزان فنول کل، اسید آسکوربیک، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و سفتی بافت در نمونه‌های پوشش داده شده در طی نگهداری در مقایسه با نمونه شاهد گردید. ضمن اینکه خصوصیات حسی آن پس از گذشت زمان نگهداری تغییر چشمگیری نداشت.

منابع

شیروانی، ع.، شاهدی، م. و گلی، س. الف.، ۱۳۹۶، اثر جوانه زنی بر میزان ترکیبات شیمیایی، خواص تغذیه‌ای و فعالیت ضداکسندگی بذر ماش، فصلنامه علوم و صنایع غذایی، ۱۶، ۱۴۵-۱۳۵.

- صحرائی خوش‌گردش، ع.، بدیعی، ف. و یاسینی اردکانی، س.، ف.، ۱۳۹۳، تأثیر پوشش نانوامولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری سیب گلاب رقم گلاب کهز در مدت انبارداری، مهندسی بیوسیستم ایران، ۴۵، ۱۳۳-۱۲۰.
- عشقی، س.، هاشمی، م.، محمدی، ع.الف.، بدیعی، ف.، محمد حسینی، ز.، احمدی صومعه، ک. و قناتی، ک.، د.، ۱۳۹۲، تأثیر پوشش نانوامولسیون حاوی کیتوزان بر افزایش ماندگاری و ویژگی‌های کیفی میوه توت‌فرنگی پس از برداشت، مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، ۲، ۱۹-۹.
- کمالی، م.، خسرویاری، س. و جلیلود، م.، ۱۳۹۳، بررسی ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی، آنتوسیانینی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های مختلف اندام هوایی گیاه دارویی *Dracocephalum kotschyi*، مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، ۶، ۶۳۴-۶۲۷.
- محسن نسب، ف.، شرفی زاده، م. و سیادت، ع.، ۱۳۸۹، بررسی اثر فرسودگی بذر (پیری تسریع شده) بر جوانه زنی و رشد گیاهچه ارقام گندم در شرایط آزمایشگاه، فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی، ۲، ۳.
- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، ۱۳۸۷، میکروبیولوژی پودر جوانه گندم ویژگی‌ها، استاندارد ملی ایران، شماره ۵۸۳۳.
- هاشمی گهروبی، ه.، غیائی، ف.، اسکندری، م. ه. و مجذوبی، م.، ۱۳۹۵، بررسی تاثیر فرآیند حرارتی خشک بر ویژگی‌های تغذیه‌ای و فیزیکی شیمیایی جوانه گندم به‌عنوان یک مکمل غذایی فراسودمند، نشریه پژوهش‌های صنایع غذایی، ۲۶، ۴۷-۳۷.
- Al-Qurashi, A.D. & Awad, M.A., 2015, Postharvest chitosan treatment affects quality, antioxidant capacity, antioxidant compounds and enzymes activities of 'El-Bayadi' table grapes after storage, *Scientia Horticulturae*, 197, 392-398.
- Ali, A., Mahmud, T.M.M., Kamaruzaman, S. & Yasmeen, S., 2011, Effect of chitosan coatings on the physicochemical characteristics of Eksotika II papaya (*Carica papaya* L.) fruit during cold storage, *Food Chemistry*, 124, 620-626.
- Anuchapreeda, S., Fukumori, Y., Okonogi, S. & Ichikawa, H., 2012, Preparation of lipid nanoemulsions incorporating curcumin for cancer therapy, *Journal of Nanotechnology*, 1-11.
- AOAC, 2002, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Edn., AOAC International, Maryland.
- Athmaselvi, K.A., Sumitha, P. & Revathy, B., 2013, Development of *Aloevera* based edible coating for tomato, *International Agrophysics*, 27, 369-375.
- Atrass, Amal S.H., El-Mogy, M.M., Aboul-Anean, H.E. & Alsanius, B.W., 2010, Improving strawberry Fruit Storability by Edible Coating as a Carrier of Thymol or Calcium Chloride, *Journal of Horticultural Science & Ornamental Plants*, 2, 88-97.
- Aydin, E., Gocmen, D., 2014, the influences of drying method and metabisulfite pre-treatment on the color, functional properties and phenolic acid content and bioaccessibility of pumpkin flour, *Lwt- Food science and technology* xxx, 1-8.
- Ayranci, E. & Tunc, S., 2004, The effect of edible coatings on water and vitamin C loss of apricots (*Armeniaca vulgaris* Lam.) and green peppers (*Capsicum annum* L.), *Food chemistry*, 87, 339-342.
- Bagheri, M., Esna-Ashari, M. & Ershadi, A., 2015, Effect of postharvest calcium chloride treatment on the storage life and quality of persimmon fruits (*Diospyros kaki* Thunb.) cv. 'Karaj', *International Journal of Horticultural Science and Technology*, 2, 15-26.
- Bressy, F.C., Brito, G.B., Barbosa, I.S., Teixeira, L.S.G. & Korn, M.G.A., 2013, Determination of trace element concentrations in tomato samples at different stages of maturation by ICP OES and ICP-MS following microwave-assisted digestion, *Microchemical Journal*, 109, 145-149.
- Chaudhery, Y.Q., Castle, L. & Watkins, R., 2010, Nanotechnologies in food, Royal Society of Chemistry (RSC) Publishing, UK, 36-51.
- Chiumarelli, M., Ferrari, C.C., Sarantópoulos, C.I. & Hubinger, M.D., 2011, Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pretreated with citric acid and coated with cassava (*Manihotesculenta* Crantz) starch or sodium alginate, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12, 381-387.
- Corbo, M.R., Speranza, B., Campaniello, D., D'Amato, D. & Sinigaglia, M., 2010, Fresh-cut fruits preservation: current status and emerging technologies, *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology*, 2, 1143-1154.
- D'ambrosio, T., Amodio, M.L., Pastor, D., De Santis, G., Golelli, G., 2017, Chemical, Physical and sensorial characterization of fresh quinoa sprouts (*Chenopodium quinoa* willd.) and effects of modified atmosphere packaging on quality during cold storage, *Food Packaging and Shelf life*, 14, 52-58.
- Duenas, M., Hernandez, T., Estrella, I. & Fernandez, D., 2009, Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds, *Food chemistry*, 117, 599-607.
- Dutta, P.K., Tripathi, S., Mehrotra, G.K. & Dutta, J., 2009, Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications, *Food Chemistry*, 114, 1173-1182.
- Gholammipour Fard, K., Kamari, S., Ghasemnezhad M. & Ghazvini, R.F., 2010, Effect of chitosan coating on weight loss and postharvest quality of green pepper, *Acta Horticulturae*, 877, 821-826.
- Guerra, I.C.D., de Oliveira, P.D.L., de Souza Pontes, A.L., Lúcio, A.S.S.C., Tavares, J.F., Barbosa-Filho, J.M., Madruga, M.S. & de Souza, E.L., 2015, Coatings comprising chitosan and *Mentha villosa* Huds essential oils to prevent common postharvest mold infections and maintain the quality of cherrytomato fruit, *International Journal of Food Microbiology*, 214, 168-178.

- Hong, K., Xie, J., Zhang, L., Sun, D. & Gong, D., 2012, Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidiumguajava*L.) fruit during cold storage, *Scientia Horticulturae*, 144, 172-178.
- Hruskova, M., Hanzlikova K. & Varacek, R., 2000, Wheat and flour quality relations in a commercial mill, *Czech Journal of Food Sciences*, 19, 189-195.
- Jahaniyani, F., Ebrahimi, S.A., Rahbar-Roshandel, N. & Mahmoudian, M., 2005, Xanthomicrol is the main cytotoxic component of *Dracocephalumkotschyii* and a potential anti-cancer agent, *Phytochemistry*, 66, 1581-1592.
- Jiang, Y., & Li, Y., 2001, Effects of chitosan on postharvest life and quality of longan fruit, *Food Chemistry*, 73, 139-143.
- Kamali, M., Khosroyar, S., Kamali, H., Ahmadzadeh Sani, T. & Mohammadi A., 2016, Phytochemical screening and evaluation of antioxidant activities of *Dracocephalumkotschyi* and determination of its luteolin content, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6,425-433.
- Khalifa, I., Barakat, H., El-Mansy, H.A. & Soliman, S.A., 2017, Preserving apple (*Malusdomestica* var. Anna) fruit bioactive substances using olive wastes extract-chitosan film coating, *Information Processing In Agriculture*, 4, 90-99.
- Lee, J.Y., Parka, H.J., Lee, C.Y. & Choia, W.Y., 2003, Extending shelf-life of minimallyprocessed apples with edible coatings and antibrowning agents, *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 36, 323-329.
- Liu, K., Yuan, C., Chen, Y., Li, H. & Liu, J., 2014, Combined effects of ascorbic acid and chitosan on the quality maintenance and shelf life of plums, *Scientia Horticulture*, 176, 45- 53.
- Liu, J., Zhang, J. & Xia, W., 2008, Hypocholesterolaemic effects of different chitosan samples in vitro and in vivo, *Food Chemistry*, 107, 419-25.
- Mali, S. & Grossmann, MVE., 2003, Effects of yam starch onstorability and quality of fresh strawberries (*Fragaria ananassa*), *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 21,7005-7011.
- Martuccia, J.F., Gende, L.B., Neira, L.M. & Ruseckaite, R.A., 2015, Oregano and lavender essential oils as antioxidant and antimicrobial additives of biogenic gelatin films, *Industrial Crops and Products*, 71, 205-213.
- Mirdehghan, S.H., Rahemi, M., Serrano, M., Guillen, F., Martínez-Romero, D & Valero, D., 2007, The application of polyamines by pressure or immersion as a tool to maintain functional properties in stored pomegranate arils, *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 55, 755-760.
- Mirhosseini, H., Tan, C.P., Hamid, N.S.A. & Yusof, S., 2008, Optimization the contents of Arabic gum, xanthan gum and orange oil affecting turbidity, average particle size, polydispersity index and density in orange beverage emulsion, *Food Hydrocolloids*, 22, 1212-1223.
- Mimica-Dukic, N., Orcic, D., Lesjak, M. and Sibul, F., 2016, Essential Oils as Powerful Antioxidants: Misconception or Scientific Fact? Jeliazkov (Zheljazkov) and Cantrell; Medicinal and Aromatic Crops: Production, Phytochemistry, and Utilization ACS Symposium Series, *American Chemical Society*, Washington, DC.
- Moreau, R. & Kamal-Eldin, A., 2009, *Gourmet and health-promoting specialty oils*, Academic Press and AOCS Press, United States, 596 p.
- Ojagh, S.M., Rezaei, M., Razavi, S.H. & Hosseini, S.M.H., 2010, Effect of chitosan coatings enriched with cinnamon oil on the quality of refrigerated rainbow trout, *Food Chemistry*, 120, 193-198.
- Pek, Z. & Helyes, L., 2010, Color changes and antioxidant content of vine and postharvest ripened tomato fruits, *Hortscience*, 45, 466-468.
- Sanchez-Gonza, L., Gonzalez-Martinez, C., Chiralt, A. & Chafer, M., 2010, Physical and antimicrobial properties of chitosan-tea tree essential oil composite films, *Journal of Food Engineering*, 98,443-452.
- Sayyari, M., Babalar, M., Kalantari, S., Martínez-Romero, D., Guillén, F., Serrano, M. & Valero, D., 2011, Vapour treatments with methyl salicylate or methyl jasmonate alleviated chilling injury and enhanced antioxidant potential during postharvest storage of pomegranates, *Food Chemistry*, 124, 964-970.
- Shao, X., Cao, B., Xu, F., Xie, S., Yu, D. & Wang, H., 2015, Effect of postharvest application of chitosan combined with clove oil against citrus green mold, *Postharvest Biology and Technology*, 99, 37-43.
- Tang, S.Y., Manickam, S., Wei, T.K. & Nashiru, B., 2012, Formulation development and optimization of a novel Cremophore EL-based nanoemulsion using ultrasound cavitation, *Ultrasonics Sonochemistry*, 19, 330-345.
- Veltman, R.H., Kho, R.M., Van Schaik, A.C.R., Sanders, M.G. & Oosterhaven, J., 2000, Ascorbic acid tissue browning in pears (*Pyruscommunis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions, *Postharvest Biology and Technology*, 19, 129-137.
- Wang, S.Y. & Gao, H., 2013, Effect of chitosan-based edible coating on antioxidants, antioxidant enzyme system, and postharvest fruit quality of strawberries (*Fragaria x aranassa*Duch.), *LWT - Food Science and Technology*, 52, 71-79
- Xiao, Y., Di, P., Chen, J., Liu, Y., Chen, W. & Zhang, L., 2009, Characterization and expression profiling of 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase gene (Smhppd) from *Salvia miltiorrhiza* hairy root cultures, *Molecular Biology Reports*, 36, 2019-2029.
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Yun, J., Lu, Y. & Tang, Y., 2011, Effects of chitosan coating enriched with cinnamon oil on qualitative properties of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.), *Food Chemistry*, 124, 1443-1450.
- Yonemoto, Y., Higuchi, H. & Kitano, Y., 2002, Effects of storage tempera ture and wax coating on ethyleneproduction, respiration and shelf-life in cherimoya fruit, *The Japanese Society for Horticultural Science*, 71,643-650.

- Zam, W., 2019., Effect of alginate and chitosan edible coating enriched with olive leaves extract on the shelf life of sweet cherries (*Prunus avium* L.), *Journal of Food Quality*, 2019,1-7.
- Zhang, SJ., Hu, TT., Liu, HK., Chen, YY., Pang, X., Zheng, L., Chang, S., KANG, Y., 2018, Moderate vacuum packing and low temperature effects on qualities of harvested mung bean (*Vigna radiata* L.) sprouts, *Postharvest Biology and Technology*, 145,83-92.
- Zhou, F., Li, G. and Huang, J., 2019, Effect of Chitosan/BSA Addition on the Physical Stability of Sunflower Oil Emulsions, *Journal of Food Quality*, 1-8.

Effect of nano-emulsion coating of *Dracocephalum Kotschy* essential oil in chitosan on quality of sprouted wheat using response surface methodology (rsm)

N. Najafi¹, H. Abbasi^{2*}

Received: 2020.01.09

Accepted: 2020.11.11

Introduction highly sensitive to fungal and biochemical changes such as respiration and enzymatic activity, as a result, it has a short shelf life: wheat is an important cereal crop used as staple food in many parts of the world and provides 20% of the energy and 78-93% of the protein in the human diet. Seed germination is a process which begins with activating proteinase due to uptake of water. Metabolic activity occurs during the germination process, leading to the hydrolysis of proteins and carbohydrates, and the synthesis of metabolites that have health-promoting properties for human. Sprouted wheat is a rich source of protein, dietary fiber, minerals, vitamins and phytosterols. Using chemical preservatives to extend the shelf life of food has a great health concern for many years. Therefore, developing safe methods to control perishability and maintain quality of perishable foods during storage is crucial. Chitosan is a linear polysaccharide composed of randomly distributed β -(1-4)-D-glucosamine and N-acetyl-D-glucosamine. Chitosan coating is beneficial to maintaining the storage quality and prolonging the shelf life of postharvest fruits and vegetables. *Dracocephalum kotschy* is one of the medicinal herbs with special constituents including caryophyllene, limonene, α -pinene, geranial, and flavonoids. The essential oil of this plant has significant biological activities, including antiviral, antibacterial and anti-corruption. Considering the successful application of chitosan and essential oils in edible coating formulae and its proven antifungal properties due to its nano-particles prompted us to initiate this study aiming at assessing the efficiency of an edible coating for maintaining quality and increasing the shelf life of wheat sprout. Therefore, in the present study, nano-emulsion of *Dracocephalum Kotschy* essential oil in chitosan was considered for coating sprouted wheat in order to delay its perishability.

Materials and Methods: Materials used in this study consisted of wheat (Pakanbazar Co.), chitosan (Shayan Chemical Co.) and *Dracocephalum kotschy* were supplied from Isfahan's medicinal plants market. All chemicals were from Merck Co. In order to prepare wheat germ, wheat grains were immersed in water containing 0.07 % sodium hypochlorite for 10 min. Then, the disinfected samples were soaked in water at 25 °C for 12 h. After soaking, the samples were placed in a germination chamber at 30 °C and 98% relative humidity for 48 h. Quality properties of sprouted wheat such as moisture, ash, fat, protein, mineral, fiber and ascorbic acid concentration were measured. Sprouted wheat was coated by immersion in nano-emulsion and then was packed at modified atmosphere (30% oxygen, 70% nitrogen), for 12 days at 4° C. The pH, weight loss, total phenol content, antioxidant activity and hardness of the samples were determined. Optimal and control samples were examined in terms of qualitative characteristics such as pH, weight loss, total phenol content, antioxidant activity and hardness during 0, 4, 8, 12, 16 and 20 days after production. In the present study, effects of independent variables such as essential oil concentration (A), chitosan concentration (B) and immersion time (C) on total phenolic content, antioxidant activity, ascorbic acid content, and hardness were investigated by Response Surface Method in the form of a central composite design with 6 central point ($\alpha=1.5$). Comparison of the optimal and control samples was done in a completely randomized design using SAS ver: 9.1 software.

Results and Discussion: An increase in chitosan and immersion time resulted in better preservation of total phenolic. The interaction effect of essential oil concentration and immersion time also resulted in better retention of total phenolic compounds. An increase in essential oil and chitosan concentration up to intermediate level increased the antioxidant activity. Chitosan and *Dracocephalum Kotschy* essential oil play a key role in maintaining the total phenolic content and antioxidant capacity of sprouted wheat by reducing gas exchange, respiration rate and the activity of polyphenol oxidase and peroxidase enzymes. Interaction effects of variables up to intermediate level resulted in higher level of preservation of ascorbic acid. The interaction effect of essential oil and chitosan at high levels led to better preserved of hardness. Coating treatment contains 25% chitosan with 84.18 ppm *Dracocephalum Kotschy* essential oil and 25s immersion time can be introduced as a safe and effective method to maintain the quality characteristics and increase wheat sprout shelf life. Coating of wheat sprout reduced the changes in pH, weight loss, total phenol content, ascorbic acid, antioxidant activity and hardness in coated samples during storage compared to the control sample. Furthermore, sensory properties did not change significantly after storage time. The results revealed that

the use of chitosan- *Dracocephalum Kotschy* oil coating delay bacterial and fungal decay and improved the quality characteristics and shelf life of sprouted wheat during storage. The results of this study indicated the positive effect of chitosan-*Dracocephalum Kotschy* oil nano-emulsion coating on preserving the quality of sprouted wheat.

Keywords: Sprouted wheat, Nano-emulsion coating, Chitosan, *Dracocephalum Kotschy*, Phenolic compounds, Hardness.