

بررسی ویژگی‌های ساختاری، ریخت‌شناسی، ساختمانی و حرارتی نشاسته سورگوم سفید

احمد احتیاطی^۱ - فخری شهیدی^{۲*} - آرش کوچکی^۳ - سید محمد علی رضوی^۲ - مهسا مجذوبی^۴

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۱/۳۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۰۶/۲۰

چکیده

در این پژوهش، نشاسته چهار لاین سورگوم سفید به روش خیساندن قلیایی استخراج گردید و ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی آن‌ها تعیین شد. درصد پایین پروتئین (>۰/۳۶٪)، چربی (>۰/۱۱٪) و خاکستر (>۰/۵۳٪) نشان‌دهنده کیفیت مناسب استخراج نشاسته‌ها بود و درصد آمیلوز لاین‌های مختلف بین ۲۷ تا ۳۰ درصد بود. در تصاویر میکروسکوپ نوری و الکترونی گرانول‌های نشاسته سورگوم، عمدتاً کروی با قطر میانگین ۱۲µm مشاهده شد. به لحاظ ظاهری، رنگ نشاسته سورگوم کاملاً سفید با زاویه فام ۱۰۳° و اشباعیت ۳ درصد بود. الگوی پراش پرتو X نشاسته سورگوم نشان‌دهنده حضور کریستال نوع A بود و در برخی لاین‌ها کریستال نوع V نیز مشاهده گردید. همچنین درصد کریستال نشاسته سورگوم لاین‌های مختلف بین ۲۵ تا ۳۱ درصد متغیر بود. مشاهدات DSC نشان داد دمای شروع ذوب کریستال نشاسته بین ۶۹ تا ۷۰ درجه سانتی‌گراد و دمای حداکثر ذوب بین ۷۳ تا ۷۴ درجه سانتی‌گراد است و انتالپی ذوب بین ۸-۱۰ J/g تعیین شد. آنالیز FTIR نشان داد اگرچه مقدار جذب گروه‌های عملگر برای نشاسته لاین‌های مورد مطالعه تفاوت محدودی دارد، اما الگوی جذبی آن‌ها مشابه بود. به‌طور کلی بین ویژگی‌های نشاسته‌های سورگوم لاین‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد و ویژگی‌هایی مشابه با نشاسته ذرت معمولی به‌عنوان منبع نشاسته تجاری مشاهده گردید.

واژه‌های کلیدی: سورگوم، پراش پرتو X، طیف فوریه مادون‌قرمز، کالری متری روشی افتراقی، نشاسته.

مقدمه^۱

محدودکننده برای مصرف انسان است؛ به همین جهت تولید فراورده‌هایی مانند نشاسته و مشتقات آن می‌تواند راهکاری جهت افزایش ارزش افزوده سورگوم باشد. دانه سورگوم مشابه دانه ذرت، بیش از ۷۰ درصد نشاسته دارد (Sun *et al.*, 2014a). نشاسته به شکل گرانول در دانه غلات ذخیره می‌شود و ویژگی‌های گرانول به جهت فیزیکی و شیمیایی، تعیین‌کننده خواص عملکردی نشاسته و همچنین سرعت و کیفیت هضم آن در فراورده‌های غذایی است. وارپته یا ژنتیک دانه، شرایط داشت و آب‌وهوا بر ویژگی‌های گرانول‌ها مؤثر است (Chao *et al.*, 2014). نسبت آمیلوز به آمیلوپکتین، اندازه گرانول، ساختار کریستالی و زلاتینه شدن نشاسته جزو ویژگی‌های اختصاصی گرانول‌های نشاسته است (Cai *et al.*, 2014). در سال‌های اخیر، تحقیقاتی در زمینه استخراج نشاسته سورگوم و تعیین ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و عملکردی آن در سایر کشورها انجام شده است (Sang, *et al.*, 2008; Boudries *et al.*, 2009; Ali *et al.*, 2011; Olayinka *et al.*, 2011). اما تاکنون، تحقیقی در زمینه نشاسته ارقام سورگوم کشت شده در ایران انجام نشده است؛ لذا هدف از این پژوهش، استخراج نشاسته از برخی منابع سورگوم سفید در حوزه شهر مشهد و سپس بررسی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن به منظور مقایسه با ویژگی‌های منابع نشاسته تجاری بر اساس اطلاعات علمی معتبر منتشر شده است. با توجه به اینکه منابعی مانند

سورگوم (*Sorghum bicolor*) گیاهی از خانواده غلات است که پس از گندم، برنج، ذرت و جو، جایگاه پنجم تولید جهانی را دارد (FAOSTAT, 2014). سورگوم گیاهی مقاوم به کم‌آبی و خشکی است و در مناطق خشک آفریقا و آسیا، بخشی از غذای مردم است (Sang *et al.*, 2008). ایران نیز کشوری نیمه خشک است و با توجه به خشک‌سالی‌های پیاپی، برنامه‌ریزی برای منابع آب در آینده امری ضروری است (Saravi *et al.*, 2015). تولید غله سورگوم در مناطق با بارندگی کم و فراوری آن، می‌تواند سبب افزایش بهره‌وری کشاورزی در این مناطق گردد.

از نظر تغذیه‌ای، ترکیبات تانن موجود در پوسته داخلی سورگوم و اثرات ضد تغذیه‌ای آن در کاهش جذب مواد غذایی، عامل

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی دکتری، استاد و دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۴- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران.

* - نویسنده مسئول: (Email: fshahidi@um.ac.ir)

بر اساس روش Adkins و همکاران (۱۹۶۶)، جهت جداسازی بیشتر پروتئین‌های متصل به گرانول و افزایش درجه خلوص نشاسته انجام شد و سپس در آن با دمای $35 \pm 1^\circ\text{C}$ به مدت ۲۴ ساعت خشک گردید. نشاسته حاصل به آرامی خرد و از الک با مش ۱۰۰ عبور داده شد.

ویژگی‌های شیمیایی

اندازه‌گیری رطوبت به روش آن‌گذاری، پروتئین به روش کجلدال، چربی به روش سوکسله و خاکستر به روش سوزاندن در کوره 550°C ، بر طبق روش‌های استاندارد (AACC (2000) و در سه تکرار انجام شد. جهت تعیین درصد آمیلوز ظاهری، ابتدا نمونه نشاسته با استفاده از پروپانول ۷۵ درصد به مدت ۹ ساعت با دستگاه سوکسله، چربی‌گیری و پس از تبخیر حلال و خشک شدن، برای تعیین نسبت آمیلوز مورد استفاده قرار گرفت. محتوای آمیلوز ظاهری بر اساس تشکیل کمپلکس رنگی ید و آمیلوز و با روش McGrance و همکاران (۱۹۹۸) در سه تکرار تعیین شد. $0/1$ گرم نشاسته در ۸ میلی‌لیتر محلول DMSO ۹۰ درصد در دمای 85°C به مدت ۱۵ دقیقه حل شد و پس از به حجم رساندن در ۲۵ میلی‌لیتر، ۱ میلی‌لیتر از این محلول به بالن ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید و ۴۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه و ۵ میلی‌لیتر محلول ید ($0/0025\text{mol/L}$) ید در mol/L $0/0065$ یدید پتاسیم) اضافه گردید و به حجم رسانده شد. جذب محلول پس از ۱۵ دقیقه در طول موج ۶۰۰ نانومتر تعیین شد. از محلول حاوی تمام واکنش‌گرها بدون نمونه نشاسته به‌عنوان شاهد جذب استفاده شد. نمودار استاندارد با استفاده از آمیلوز و آمیلوپکتین خالص رسم شد.

تصویربرداری میکروسکوپ نوری و تعیین توزیع اندازه گرانول‌ها

سوسپانسیون حاوی ۳ درصد نشاسته در محلول آب و گلیسرول (۵۰:۵۰) تهیه و پس از یکنواخت کردن، یک قطره از آن به لام میکروسکوپی منتقل گردید و با لام پوشانده شد، سپس با استفاده از میکروسکوپ Olympus BX41 در بزرگنمایی ۴۰۰ برابر مشاهده و با دوربین دیجیتال (DP12, Japan) تصویربرداری گردید. بررسی توزیع اندازه گرانول نشاسته به روش پردازش تصویر انجام شد. بیشتر از ۴۰۰۰ گرانول نشاسته لاین‌های سورگوم در تصاویر میکروسکوپ نوری با استفاده از نرم‌افزار ImageJ مورد بررسی قرار گرفت و توزیع اندازه گرانول‌ها تعیین گردید. گروه بندی گرانول‌ها شامل گرانول نوع A (بزرگتر از ۱۰ میکرومتر)، گرانول نوع B (بین ۵ تا ۱۵ میکرومتر)، گرانول نوع C (کوچکتر از ۵ میکرومتر) انجام شد (Singh, et al., 2010a).

ذرت از جمله کالاهای وارداتی کشور می‌باشد، توسعه کشت سورگوم و استخراج صنعتی نشاسته آن می‌تواند نیاز کشور به واردات ذرت را جهت استخراج نشاسته کاهش دهد.

مواد و روش‌ها

مواد

چهار لاین^۱ سورگوم سفید از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی تهیه گردید. این لاین‌ها با نام‌های KDFGS1، KDFGS6، KDFGS9 و KDFGS20 نام‌گذاری شده و قابلیت تکثیر مجدد دارند. سورگوم‌های مورد بررسی از نوع دومنظوره است و هم به‌عنوان علوفه و هم به‌عنوان غله کاربرد دارند و از ارقام کرج متناسب با شرایط آب و هوایی شهر مشهد سازگاری یافته است. به دلیل اینکه سورگوم سفید نسبت به سورگوم رنگی ترکیبات تانن خیلی کمتری دارد (Awika et al., 2003)، به عنوان منبع استخراج، از سورگوم سفید استفاده شد. هیدروکسید سدیم صنعتی از شرکت‌های داخلی و سایر حلال‌ها و مواد مورد استفاده از شرکت‌های مرک^۲، اپلیکم^۳ و سیگما^۴ کشور آلمان تهیه شد.

استخراج نشاسته

استخراج نشاسته بر اساس روش Olayinka و همکاران (۲۰۱۱)، با کمی تغییرات انجام شد. ۲۰۰ گرم دانه سورگوم که دانه‌های شکسته، ناقص و علف‌های هرز آن جدا شده است در محلول NaOH با غلظت ۰/۲۵ درصد با نسبت ۵ به ۱، به مدت ۲۴ ساعت در دمای 5°C خیسانده شد. پس از حذف محلول اضافی، دانه‌ها را با آب شستشو داده و معادل وزن آن، آب مقطر اضافه و با خردکن آزمایشگاهی، خرد شد و با الک مش ۱۰۰ صاف گردید. ذرات باقی‌مانده روی الک دوباره خرد شده و از الک عبور داده شد. سوسپانسیون حاصل سپس از الک با قطر حفره $46\mu\text{m}$ عبور داده شد. با استفاده از محلول سود ۰/۵ مولار، pH روی ۸ تنظیم، ۳۰ دقیقه هم زده شد و به مدت ۲ ساعت در دمای یخچال نگهداری شد تا نشاسته ته نشین گردد. لایه شناور حذف شد و لایه ته نشین شده با آب مقطر مخلوط شد. این مخلوط در شتاب 800g به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ و سپس لایه شناور حذف گردید. لایه خاکستری رنگ که شامل فیبر، پروتئین و چربی است حذف و لایه نشاسته معلق و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و مجدداً لایه خاکستری حذف شد. مرحله اخیر سه بار تا عدم مشاهده لایه خاکستری تکرار گردید. تیمار تولوئن و استون

- 1 Line
- 2 Merck
- 3 Applichem
- 4 Sigma

مدت ۲۴ ساعت در دمای یخچال به تعادل رسید. پس از هم‌دما شدن ظرف با محیط، به وسیله دستگاه کالری‌متری روبشی افتراقی (DSC822e calorimeter, Mettler-Toledo, Switzerland) از دمای ۲۰ تا ۱۲۰°C با سرعت ۱۰°C/min حرارت‌دهی شد. گاز نیتروژن برای جلوگیری از میعان رطوبت درون محفظه با سرعت ثابت جریان یافت. در این آزمایش از ظرف آلومینیومی خالی به‌عنوان شاهد استفاده گردید. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار STAR^e جهت تعیین دمای شروع ژلاتینه شدن (To)، دمای اوج (Tp)، دمای انتهایی (Tc)، محدوده دمایی ژلاتینه شدن (Tc-To) و آنتالپی ذوب کریستال‌ها (ΔH) تحلیل شد (Pascoal et al., 2013).

تبدیل فوریه طیف‌سنجی مادون قرمز (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز نشاسته یا استفاده از دستگاه طیف‌سنج مادون قرمز (Shimadzu6650, Japan) در محدوده عدد موجی ۴۰۰۰ تا ۴۰۰ cm⁻¹ انجام شد (Pascoal et al., 2013). به‌منظور کمی‌سازی مقایسه ساختار نشاسته‌ها، درصد کریستالی به روش ارایه شده توسط Sun و همکاران (Sun et al., 2014b) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها در قالب فاکتوریل و آنالیز واریانس بر اساس فاکتور منبع نشاسته با استفاده از نرم‌افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد. میانگین بر پایه آزمون LSD در سطح ۹۵ درصد اطمینان، مقایسه گردید. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار MS-Excel رسم گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های شیمیایی

استخراج نشاسته و خالص‌سازی آن از برخی غلات مانند سورگوم به دلیل پیوستگی محکم‌تر گرانول‌های نشاسته با زمینه پروتئینی و ترکیبات دیواره سلولی (Boudries et al., 2009) نسبت به دانه‌هایی مانند گندم، دشوارتر است. تفاوت روش‌های مختلف برای استخراج نشاسته سورگوم عمدتاً در محلول‌خیزاندن، به‌لحاظ اسیدی بودن (Ali et al., 2011) یا قلیایی بودن (Sira et al., 2004) می‌باشد. ترکیب شیمیایی نشاسته‌های سورگوم استخراج‌شده در جدول ۱ ارایه شده است. نتایج نشان می‌دهد میزان پروتئین نشاسته‌های موردبررسی تفاوت معنی‌داری نداشتند و در تمام نمونه‌ها کمتر از ۰/۳۶ درصد در ماده خشک بود، همچنین مقدار اندازه‌گیری شده کمتر از حد ناخالصی پروتئین برای نشاسته ایزوله، یعنی ۰/۶ درصد بود (Tester et al., 2004). Sang و همکاران (۲۰۰۸) درصد پروتئین نشاسته سورگوم را ۰/۲۸ درصد گزارش کردند و پروتئین نشاسته ارزن تا ۰/۶۷ درصد نیز گزارش شده است (Wen et al., 2014). با توجه به درصد پایین

تصویرگیری میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM)

سوسپانسیون ۱٪ نشاسته در اتانول تهیه و پس از یکنواخت شدن با همزن گردابی، یک قطره به پایه آلومینیومی منتقل و پس از خشک شدن، به وسیله دستگاه پوشش‌دهی طلا-پالادیوم SC7620 با شدت جریان ۹mA و خلا ۱۰-۳Pa پوشش‌دهی شد، سپس با میکروسکوپ الکترونی روبشی (LEO 1450VP, Germany) با ولتاژ شتاب‌دهنده ۲۰kV تصویربرداری انجام شد (Singh, et al., 2010b).

رنگ

مولفه‌های رنگی سیستم CIE LAB شامل مولفه‌های L*, a* و b* نشاسته با استفاده از دستگاه رنگ‌سنج هانترلب (Color Flex, USA) در دو تکرار اندازه‌گیری شد. دو شاخص اشباعیت رنگ (C*) و زاویه فام (h*) به ترتیب با استفاده از روابط ۱ و ۲ محاسبه گردید (Pérez-Pacheco et al., 2014).

$$C^* = \sqrt{(a^*)^2 + (b^*)^2} \quad (1)$$

$$h^* = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (2)$$

الگوی پراش پرتو X

جهت تعیین الگوی پراش پرتو X و درجه کریستالی، نمونه‌های نشاسته به مدت یک هفته درون دسیکاتور و در مجاورت محلول فوق اشباع کلرور سدیم در دمای ۲۵°C (رطوبت نسبی ۷۵ درصد) قرار گرفت تا رطوبت نمونه نشاسته با محیط به تعادل برسد. دستگاه پراش‌سنج پرتو X (Unisantis, XMP300, Germany) در طول موج ۱/۵۷۱۸۴Å، ولتاژ ۴۵kV و شدت جریان ۰/۸mA برای تعیین شدت پراش پرتو X در محدوده زاویه (2θ) ۴ تا ۴۰° با فاصله زاویه ۰/۰۳° استفاده گردید. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار X'Pert HighScore Plus به‌منظور اعمال فیلتر یکنواخت‌کننده تبدیل فوریه و تعیین درصد کریستالی تحلیل شد. پس از حذف پس زمینه پراش دستگاه با ترسیم خط بین نقاط ابتدا و انتها، سطح کل نمودار (A_t)، محاسبه شد، سپس، پس زمینه ناحیه آمورف حذف گردید و سطح ناحیه کریستالی (A_c) محاسبه گردید. درصد کریستالی از رابطه ۳ محاسبه شد (Pascoal et al., 2013).

$$\text{Crystallinity} = \left(\frac{A_c}{A_t} \right) \times 100 \quad (3)$$

کالری متری روبشی افتراقی (DSC)

به‌منظور بررسی ویژگی‌های حرارتی ژلاتینه شدن نشاسته، ۵mg نشاسته (بر مبنای وزن خشک)، با دقت درون ظرف آلومینیومی ۴۰μL توزین و پس از افزودن ۲۰μL آب دیونیزه درب ظرف بسته شد و به

ترکیبات معدنی دیواره سلولی پوسته و لایه آلورون بوده و مقدار آن در نشاسته عموماً پایین است (Schirmer, et al., 2013) و بالا بودن مقدار آن در نشاسته ناشی از ناخالصی‌های پوسته است که طی استخراج باقی مانده است. خاکستر نشاسته لاین‌های KDFGS1، KDFGS6 و KDFGS20 مشابه بودند در حالی که محتوای خاکستر نشاسته لاین KDFGS9 به‌طور معنی‌دار بیشتر از سایر نمونه‌ها بود که احتمالاً به دلیل نفوذ بیشتر سلول‌های پوسته طی استخراج بوده و بالاتر از مقدار گزارش شده (۰/۱۴٪) توسط Sang و همکاران (۲۰۰۸) و کمتر از مقدار گزارش شده (۰/۱۶٪) توسط Olayinka و همکاران (۲۰۱۱) برای نشاسته سورگوم بود. رطوبت نشاسته‌های استخراج شده تفاوت معنی‌داری نداشتند و در محدوده لازم برای نگهداری نشاسته (کمتر از ۲۰ درصد) بود. به‌طور کلی نتایج آنالیز شیمیایی نشان داد نشاسته‌های استخراج شده در این تحقیق از خلوص کافی برخوردار بودند.

نیترोजن، می‌توان نتیجه‌گیری کرد که روش استخراج بکار رفته، در جداسازی گرانول‌های نشاسته از پروتئین زمینه‌ای دانه سورگوم موثر بوده است. شاخص دیگر کیفیت استخراج نشاسته، محتوای چربی است که عمدتاً چربی سطح گرانول می‌باشد. با توجه به خطای ذاتی روش سوکسله در مورد نمونه‌های با چربی خیلی کم و همچنین کارایی پایین آن در استخراج چربی‌های قطبی و متصل (Schirmer et al., 2013) خطای اندازه‌گیری در تکرارهای مختلف نسبتاً بالا بود. استخراج قلیایی، تیمار تولوئن و شستشو با استون، چربی سطحی گرانول نشاسته را تا حد زیادی کاهش داد و مقدار اندازه‌گیری شده کمتر از مقدار گزارش شده (۰/۱۴٪) توسط Olayinka و همکاران (2011) برای نشاسته سورگوم سفید بود. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین محتوای چربی نمونه‌های نشاسته وجود نداشت و به‌طور کلی کمتر از ۰/۱۱ درصد در ماده خشک بود که به جهت مقایسه، مقدار چربی برای نشاسته ذرت تا ۰/۸ درصد نیز گزارش شده است (Waterschoot et al., 2015). خاکستر، تابعی از مقدار

جدول ۱- ترکیب شیمیایی نشاسته‌های استخراج شده از لاین‌های سورگوم

شماره سورگوم	ترکیب شیمیایی (درصد)			
	آمیلولز	خاکستر*	چربی*	پروتئین*
KDFGS1	۲۸/۲±۰/۷ ^b	۰/۳۱±۰/۰۱ ^b	۰/۰۷±۰/۰۳ ^a	۰/۳۲±۰/۰۷ ^a
KDFGS6	۳۰/۷±۰/۹ ^a	۰/۳۷±۰/۰۲ ^b	۰/۰۶±۰/۰۱ ^a	۰/۲۸±۰/۰۵ ^a
KDFGS9	۲۸/۷±۰/۳ ^b	۰/۵۳±۰/۰۶ ^a	۰/۱۱±۰/۰۳ ^a	۰/۳۴±۰/۰۴ ^a
KDFGS20	۲۷/۲±۱/۰ ^b	۰/۳۴±۰/۰۵ ^b	۰/۰۹±۰/۰۳ ^a	۰/۳۶±۰/۰۵ ^a

*درصد پروتئین، چربی و خاکستر در ماده خشک محاسبه شده است. تفاوت اعداد با حرف مشترک در یک ستون، در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار نیست.

(گرانول نوع B) عمدتاً کروی بودند، همچنین تفاوت قابل توجهی بین گرانول‌های ایزوله شده از لاین‌های سورگوم به‌لحاظ شکل و توزیع گرانول‌ها در تصاویر میکروسکوپ نوری مشاهده نشد. برای مشاهده واضح‌تر گرانول‌ها از تکنیک SEM استفاده شد. تصاویر SEM نشاسته‌های سورگوم (شکل ۲) نشان دادند که به دلیل عدم وجود ذرات اضافی و چسبیده در سطح گرانول، کیفیت استخراج نشاسته قابل قبول بود و نتایج آنالیز شیمیایی نیز این ادعا را تأیید کرد (جدول ۱). مشابه با آنچه در تصاویر میکروسکوپ نوری مشاهده شد، گرانول‌های نشاسته سورگوم عمدتاً چندضلعی، کروی و برخی نیز با شکل نامنظم بودند. Cai و همکاران (۲۰۱۴) بیان کردند گرانول نشاسته ذرت معمولی نیز بیشتر به شکل چندضلعی مشاهده می‌شوند. به‌طور کلی سطح گرانول‌ها صاف بودند و شیار، ترک، تورفتگی یا گودی و همچنین خوردگی در گرانول‌ها مشاهده نشد. بررسی دقیق‌تر گرانول‌ها نشان داد حفرات خیلی ریزی به‌طور تصادفی در سطح برخی گرانول‌ها قابل مشاهده بودند که با پیکان مشکی در شکل ۲ مشخص شده است. این نقاط در سطح گرانول‌های نشاسته سورگوم و برخی

درصد آمیلولز از شاخص‌های مهم شیمیایی نشاسته است، به‌طوری‌که تأثیر زیادی بر ویژگی‌های ساختمانی و عملکردی نشاسته مانند درجه کریستالی، قدرت تورم، حلالیت، دمای ژلاتینه شدن، ویسکوزیته خمیر، تشکیل ژل، و ترئوگراداسیون نشاسته دارد (Li et al., 2014). نسبت آمیلولز به آمیلوپکتین نشاسته علاوه بر اینکه بین گونه‌ها و ارقام مختلف گیاهی متغیر است، به شرایط آب‌وهوا و خاک طی داشت نیز وابسته است (Chao et al., 2014). درصد آمیلولز نشاسته‌های استخراج شده از سورگوم در محدوده ۲۷ تا ۳۰/۷ درصد قرار داشت و نشاسته استخراج شده از لاین KDFGS6 به‌طور معنی‌داری درصد آمیلولز بالاتری نسبت به نشاسته سایر لاین‌ها داشت که احتمالاً به دلیل تفاوت ژنتیکی لاین‌ها بود.

ریخت‌شناسی و اندازه گرانول

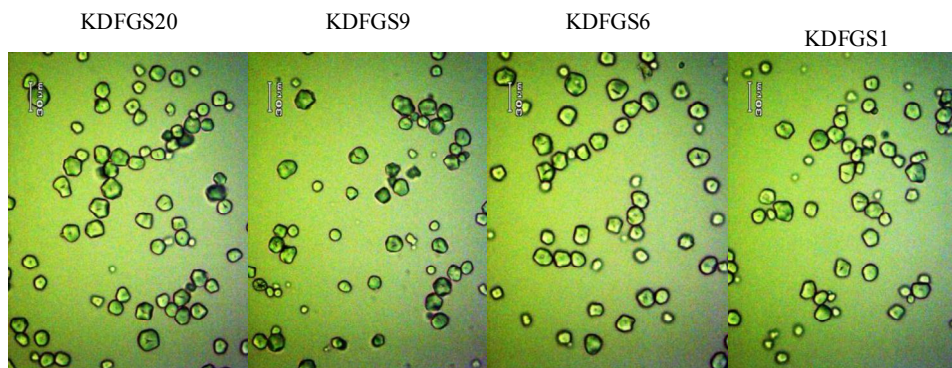
تصاویر میکروسکوپی (شکل ۱) نشان دادند که گرانول‌ها از توزیع شکلی یکنواختی برخوردار بودند و دارای گرانول‌های بزرگ (گرانول نوع A) چندضلعی یا شکل نامنظم و بیشتر دارای گرانول‌های کوچک

(Waterschoot *et al.*, 2015). توزیع اندازه گرانول‌های نشاسته به لحاظ سرعت جذب آب، تورم گرانول، ویسکوزیته حداکثر و همچنین در فرآورده نهایی، بر سرعت فعالیت و نفوذ آنزیم‌های تجزیه‌کننده آمیلوز به لحاظ نسبت سطح در دسترس در حجم‌های مساوی تاثیر گذار است (Chao *et al.*, 2014).

رنگ

مقادیر مولفه های فضای رنگی CIE Lab و همچنین مقادیر درصد اشباعیت و زاویه فام نشاسته‌های استخراج شده از لاین های سورگوم در جدول ۳ ارایه شده است. نتایج نشان داد تفاوت معنی‌داری بین مقادیر شاخص‌های رنگی نشاسته‌ها وجود نداشت. مقدار مولفه L^* در همه نشاسته‌های مورد مطالعه بالاتر از حداقل مقدار روشنی برای کیفیت قابل قبول نشاسته (Boudries *et al.*, 2009) و همچنین بالاتر از مقدار گزارش شده (۹۱/۳) توسط Sira و همکاران (۲۰۰۴) برای نشاسته سورگوم سفید بود. شاخص‌های اشباعیت و زاویه رنگ شاخص‌هایی هستند که درجه و عمق رنگ را مشخص می‌سازند. رنگ نشاسته‌های سورگوم مورد مطالعه بر اساس چارت رنگی استاندارد، کاملاً سفید و بر اساس منابع مشابه با نشاسته ذرت با درصد اشباعیت ۵/۶ و زاویه فام $95/6^\circ$ بود (Pérez-Pacheco *et al.*, 2014).

منابع مانند ذرت، گندم و جو نیز مشاهده شده؛ جزو ویژگی‌های ذاتی گرانول محسوب می‌شوند و در اثر استخراج یا روش آماده‌سازی گرانول برای مشاهده میکروسکوپی، ایجاد نمی‌گردند. احتمالاً این حفرات دسترسی آنزیم‌های تجزیه‌کننده نشاسته به مرکز گرانول را افزایش می‌دهند (Fannon *et al.*, 1992). نشاسته لاین KDFGS9 به‌طور محدودی دارای گرانول‌های با شکل نامنظم یا ظاهراً شکسته شده بود که مشاهده این گرانول‌ها می‌تواند ناشی از رسیدگی کمتر دانه‌های سورگوم این لاین به هنگام برداشت یا آسیب طی استخراج باشد که در سایر منابع نیز مشاهده شده است (Du *et al.*, 2014). محاسبات آماری توزیع گرانول‌های نشاسته سورگوم در جدول ۲ ارایه شده است. به‌جز لاین KDFGS9 که دارای درصد فراوانی بیشتری از گرانول‌های B است، تفاوت زیادی در توزیع اندازه گرانول نشاسته لاین های سورگوم وجود نداشت. همانطور که در ارتباط با تصاویر SEM نیز بحث شد، در نشاسته لاین KDFGS9 نسبتاً گرانول‌های کوچک‌تر بیشتری در مقایسه با سایر لاین‌ها مشاهده شد (شکل ۲) و توزیع اندازه گرانول‌ها به‌صورت کمی آن را تایید کرد. اندازه گرانول‌های نشاسته تابعی از ژنتیک، شرایط رشد و میزان رسیدگی غله است (Du *et al.*, 2014) و تنوع زیادی در گرانول‌های نشاسته منابع مختلف وجود دارد. نشاسته‌های سورگوم مورد مطالعه در این تحقیق به لحاظ اندازه گرانول و شکل مشابه با نشاسته استخراج شده از سورگوم توسط Singh و همکاران (۲۰۱۲) بود و با اطلاعات منتشر شده برای ذرت معمولی (۲۰-۵ میکرومتر) قابل مقایسه هستند

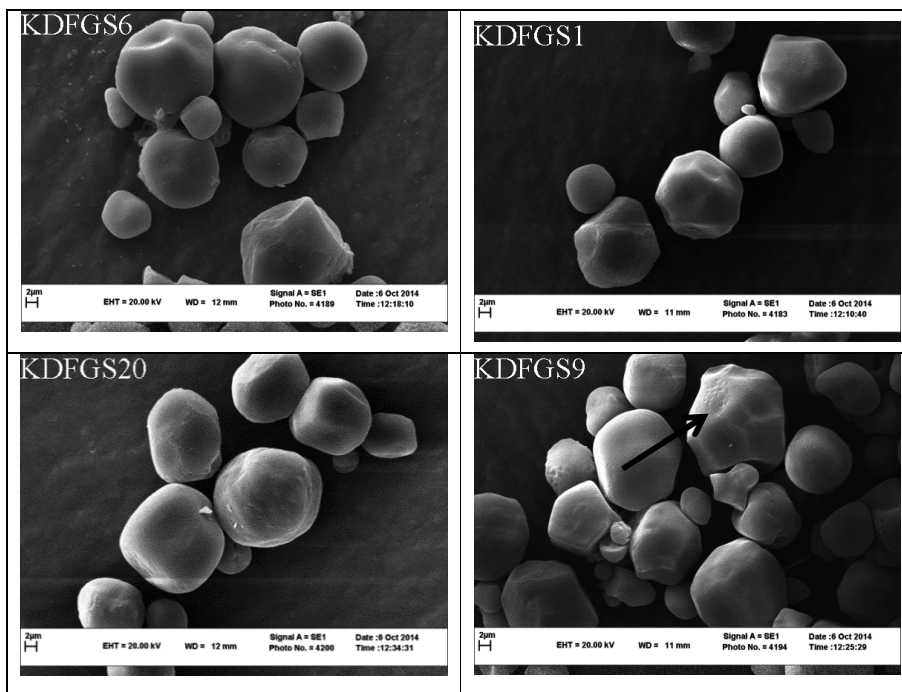


شکل ۱- تصویر میکروسکوپ نوری نشاسته‌های استخراج شده از لاین های سورگوم.

جدول ۲- شاخص‌های توزیع اندازه گرانول‌های نشاسته لاین های سورگوم

لاین سورگوم	اندازه گرانول (μm)	گرانول A (%)	گرانول B (%)	گرانول C (%)
KDFGS1	$12/07 \pm 4/86$	۲۸/۶	۶۴/۲	۷/۳
KDFGS6	$12/17 \pm 4/80$	۲۹/۵	۶۶/۸	۴/۴
KDFGS9	$11/09 \pm 4/24$	۱۹/۹	۷۳/۸	۶/۳
KDFGS20	$12/99 \pm 3/87$	۳۰/۹	۶۶/۵	۲/۶

*- گرانول نوع A ($10\mu\text{m}$ > اندازه گرانول)، گرانول نوع B ($5\mu\text{m}$ > اندازه گرانول $15\mu\text{m}$ >)، گرانول نوع C (اندازه گرانول $5\mu\text{m}$ >).



شکل ۲- تصاویر میکروسکوپ الکترونی روبشی نشاسته لاین‌های سورگوم (خط مقیاس تصویر: ۲ میکرومتر)

جدول ۳- شاخص‌های رنگ نشاسته‌های استخراج شده از لاین‌های سورگوم

شماره سورگوم	L*	a*	b*	اشباعیت (%)	زاویه فام (°)
KDFGS1	۹۵/۴۵±۰/۰۳ ^a	-۰/۵۸±۰/۰۹ ^a	۲/۴۳±۰/۱۶ ^a	۲/۴۴±۰/۰۹ ^a	۱۰۳/۳۷±۰/۹۸
KDFGS6	۹۵/۴۶±۰/۱۶ ^a	-۰/۶۰±۰/۰۹ ^a	۲/۵۲±۰/۱۳ ^a	۲/۵۹±۰/۱۵ ^a	۱۰۳/۳۵±۱/۰۴
KDFGS9	۹۵/۹۹±۰/۷۰ ^a	-۰/۵۸±۰/۰۹ ^a	۲/۴۴±۰/۲۲ ^a	۲/۵۰±۰/۲۳ ^a	۱۰۳/۲۴±۰/۶۴
KDFGS20	۹۵/۹۸±۰/۶۵ ^a	-۰/۵۹±۰/۰۸ ^a	۲/۵۰±۰/۰۶ ^a	۲/۶۳±۰/۰۱ ^a	۱۰۳/۱۲±۰/۹۷

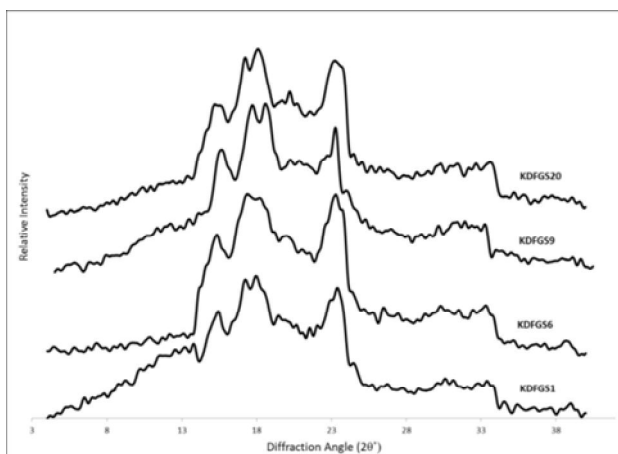
مختلف سورگوم در شکل ۳، ارایه شده است. با توجه به اینکه نقاط افزایش شدت پراش به‌طور واضحی در زاویه‌های پراش نزدیک به ۱۵، ۱۷، ۱۸ و ۲۳ درجه مشاهده شد، نتیجه‌گیری شد که نشاسته‌های مورد بررسی، حاوی کریستال‌های نوع A بودند (Lopez-Rubio et al., 2008). Singh و همکاران (۲۰۱۲) بیان کردند که نوع کریستال نشاسته سورگوم معمولی از نوع A می‌باشد. الگوی پراش نشاسته‌های سورگوم نشان داد در زاویه ۲۰ درجه، پراش به میزان محدودی افزایش یافته است که مرتبط با حضور کریستال‌های نوع V بود و در نشاسته لاین KDFGS6 نسبت به سایر لاین‌ها شدت بیشتری داشت. با توجه به درصد آمیلوز بالاتر این لاین انتظار می‌رفت با چربی درون گرانولی کمپلکس‌های بیشتری تشکیل دهد. درصد کریستالی نشاسته لاین‌های سورگوم در محدوده ۲۴/۹ تا ۳۰/۸ درصد (جدول ۴) و مشابه با محدوده درصد کریستالی گزارش شده توسط سایر محققان برای نشاسته سورگوم (Sun et al., 2014a) و ذرت در منابع (Waterschoot et al., 2015) بود. در حالی که نشاسته‌های دارای

الگوی پراش پرتو X

گرانول نشاسته به دلیل ماهیت مولکول‌های تشکیل‌دهنده آن در تشکیل پیوندهای هیدروژنی دارای ساختاری نیمه کریستالی است. در بخشی از ساختار گرانول، زنجیره‌های پلیمری ماریپیج‌هایی را تشکیل داده، با نظم خاصی در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند و با آرایش مولکول‌های آب در فضای بین این ماریپیج‌ها، الگوی کریستالی تشکیل می‌شود و بین بخش‌های کریستالی، نواحی آمورف مشاهده می‌شود (Buleon et al., 1997). بررسی شدت پراش پرتو ایکس در زاویه‌های مختلف، ابزاری برای تعیین نوع الگوی کریستالی و میزان کریستاله بودن نشاسته است. دو آرایش کریستالی A و B چندشکلی‌های اصلی آرایش ماریپیج‌های دوگانه آمیلوز و آمیلوپکتین هستند و آرایش C مخلوط آرایش‌های A و B است. کریستال نوع V برخلاف کریستال‌های ذکر شده، از آرایش ماریپیج تک زنجیر آمیلوز و ترکیب آن با چربی‌های درون گرانولی تشکیل می‌گردد (Lopez-Rubio et al., 2008). الگوی پراش پرتو X نشاسته‌های لاین‌های

طول زنجیره‌های آمیلوپکتین، مقدار ماریپچ‌های دوگانه در ساختار کریستالی و جهت‌گیری‌های متفاوت این ساختارها، ابعاد کریستال و درجه فسفوریله بودن آمیلوپکتین علاوه بر درصد آمیلوز، بر درصد کریستال نشاسته موثر هستند (Jiang *et al.*, 2015). علاوه بر تفاوت در موارد ذکر شده، محتوای بالاتر کریستال نوع V نیز می‌تواند درصد کریستال را افزایش دهد.

مقدار آمیلوز مشابه درصد کریستالی نزدیک نیز دارند، در تضاد با برخی گزارش‌ها (Chao *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2015) مبنی بر اثر کاهش‌دهنده آمیلوز بر درصد کریستالی، همبستگی مثبت یا منفی بین درصد کریستالی با مقدار آمیلوز ظاهری مشاهده نگردید اما مشاهده شد که نشاسته لاین KDFGS20 با کمترین درصد آمیلوز، فراکسیون کریستالی نسبتا بالایی داشت. عوامل متعددی مانند توزیع



شکل ۳- الگوی پراش پرتو X نشاسته‌های استخراج شده از لاین‌های سورگوم.

قرار داشت که محدوده گزارش شده برای نشاسته سورگوم معمولی بود (Sang *et al.*, 2008; Singh *et al.*, 2012; Sun *et al.*, 2014a). آنتالپی ذوب کریستال، شاخصی متفاوت با دمای ذوب کریستال‌های نشاسته، عموماً تابعی از فراوانی ماریپچ‌های دوگانه به‌عنوان اجزای کریستال‌ها و به بیان دیگر، به درصد کریستال نشاسته وابسته است (Lopez-Rubio *et al.*, 2008; Maaran *et al.*, 2014). اگرچه عوامل دیگری مانند درصد آمیلوز، اندازه و شکل گرانول، آسیب فیزیکی نشاسته و نیز شرایط آزمون مانند رطوبت و سرعت حرارت‌دهی می‌تواند بر آن موثر باشد (Chao *et al.*, 2014; Du *et al.*, 2014). بر اساس آنچه بیان شد، آنتالپی ذوب کریستال نشاسته لاین‌های KDFGS1 و KDFGS9 با درصد کریستال کمتر، آنتالپی ذوب کمتری داشت و گرمای بیشتری برای ذوب کریستال‌های نشاسته لاین KDFGS20 با درصد کریستال بالاتر، لازم بود. این در حالی بود که نشاسته لاین KDFGS6 با بیشترین مقدار درصد کریستالی، آنتالپی ذوب کمتر از انتظار داشت. در بحث الگوی پراش پرتو بیان شد که بالاتر بودن درصد کریستالی این لاین، احتمالاً مربوط به بالاتر بودن درصد آمیلوز و به تبع آن، تشکیل کریستال‌های نوع V بود.

با توجه به اینکه محدوده ذوب این نوع کریستال بالاتر از دمای ۱۰۰°C بود، در مجموع، آنتالپی محدوده ذوب ماریپچ دوگانه

کالری‌متری روبشی افتراقی

تکنیک کالری‌متری روبشی افتراقی، ابزاری مناسب برای تعیین شاخص‌های دمایی ذوب شدن بخش کریستالی نشاسته و به‌طور دقیق‌تر، ماریپچ‌های دوگانه شاخه‌های جانبی پلیمرهای خطی آلفا-گلوکان آمیلوپکتین است و همزمان گرمای ذوب این پدیده را نیز مشخص می‌سازد (Du *et al.*, 2014). نتایج این آزمون برای نشاسته‌های سورگوم مورد مطالعه در جدول ۴، ارائه شده است. دمای شروع ذوب کریستال‌ها تابع استحکام و یکپارچگی^۱ کریستال‌های آمیلوپکتین است. هرچه متوسط طول زنجیره‌های جانبی مولکول آمیلوپکتین بزرگ‌تر باشد، انتظار می‌رود کریستال‌های تشکیل شده در برابر ذوب مقاوم‌تر باشد و در مقابل، حضور زنجیره‌های کوتاه و نفوذ مولکول آمیلوز سبب نقص کریستال و کاهش دمای شروع ذوب می‌گردد (Du *et al.*, 2014)، چنین کریستال‌هایی به‌طور نسبی دامنه ذوب بالاتری نیز دارند (Maaran *et al.*, 2014). همان‌طور که انتظار می‌رود، لاین‌های KDFGS1 و KDFGS20 با کمترین T_0 ، بیشترین محدوده ذوب را نسبت به دو لاین دیگر داشت و کمترین محدوده ذوب مربوط به لاین KDFGS9 بود که بالاترین T_0 را داشت. به‌طور کلی دماهای شروع، حداکثر و پایان ذوب کریستال در چهار لاین مورد بررسی مشابه بودند و در محدوده ۶۹°C تا ۷۸°C

جدول ۴- شاخص‌های حرارتی ذوب کریستال و درصد کریستالی نشاسته سورگوم

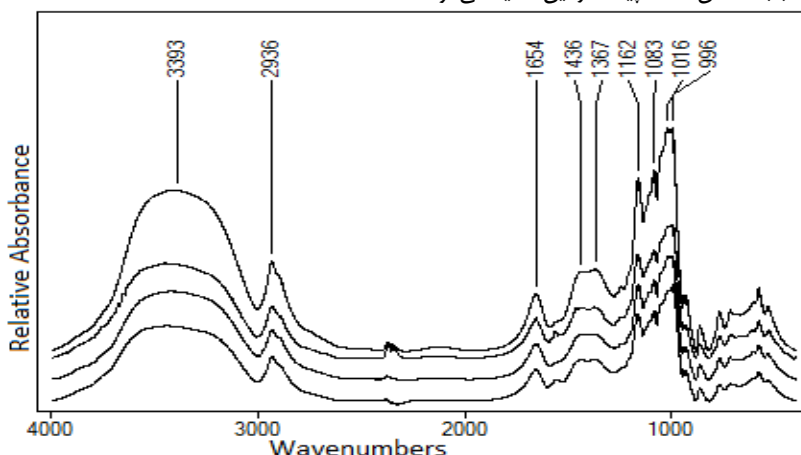
درصد کریستالی (FTIR)	درصد کریستالی (پراش پرتو X)	شاخص‌های ژلاتینه شدن				شماره سورگوم	
		$\Delta H(J/g)$	$T_c - T_o(^{\circ}C)$	$T_c(^{\circ}C)$	$T_p(^{\circ}C)$		$T_o(^{\circ}C)$
۲۳/۹	۲۵	۸/۳۳	۹	۷۸/۱۷	۷۳/۴۹	۶۹/۱۷	KDFGS1
۲۰/۵	۳۰/۸	۸/۰۹	۸/۵۱	۷۸/۷۹	۷۴/۰۱	۷۰/۲۸	KDFGS6
۲۲/۱	۲۴/۹	۸/۰۰	۷/۲۵	۷۷/۶۸	۷۳/۴۶	۷۰/۴۳	KDFGS9
۲۴	۲۹/۲	۹/۷۶	۹/۲۳	۷۸/۶۸	۷۳/۷۹	۶۹/۴۵	KDFGS20

زنجیره‌های آمیلوپکتین محاسبه نشده است، به همین دلیل آنتالپی ذوب آن مشابه با لاین‌های KDFGS1 و KDFGS9 بود.

طیف فوریه مادون قرمز

به منظور مقایسه ساختار مولکولی نشاسته‌های سورگوم مورد بررسی، طیف FTIR نمونه‌ها تهیه شد که در شکل ۴، ارایه شده است. طیف جذبی نشاسته در ناحیه مادون قرمز میانه، شامل سه ناحیه اصلی بود که البته پیک‌هایی خارج از این نواحی نیز مشاهده شد. ناحیه اصلی اول (3600 تا 3000cm^{-1})، که پیک اصلی بزرگ سمت چپ نمودار، مربوط به کشش متقارن و غیرمتقارن گروه عاملی OH بود که به دلیل فراوانی این گروه عاملی در مولکول‌های سازنده نشاسته و همچنین حضور مولکول‌های آب باند شده، جذب گسترده‌ای در این ناحیه مشاهده شد (Pelissari *et al.*, 2012). ناحیه اصلی دوم (3000 تا 2800cm^{-1}) مرتبط با کشش نامتقارن پیوند CH بود و با توجه به حضور گسترده مولکول گلوکز در ساختمان نشاسته، این پیک مشاهده شد. پیک ناحیه 1700 تا 1600cm^{-1} ناشی از کشش مولکول‌های آب جذب‌شده در ناحیه آمورف نشاسته بود. افزایش نسبت ناحیه کریستالی سبب کاهش شدت پیک در این ناحیه می‌گردد.

(Andrade-Mahecha *et al.*, 2012). ناحیه سوم (1500 تا 800cm^{-1}) که به عنوان ناحیه اثر انگشت شناخته می‌شود، از چند بخش تشکیل شده است. بخش 1500 تا 1300cm^{-1} شامل پیک‌هایی مرتبط با تا شدن پیوند CH ، خمش پیوند CH_2 و کشش پیوند $\text{C}=\text{O}$ بود (Pelissari *et al.*, 2012). محدوده 1200 تا 1000cm^{-1} تحت عنوان قله کربوهیدراتی شناخته شده و متاثر از ارتعاشات گلوکز به عنوان واحد سازنده نشاسته و آرایش زنجیره آن، مانند تشکیل ماریچ دوگانه و ناحیه کریستالی، شدت جذب در این ناحیه را تغییر می‌دهد. سه پیک اصلی در این ناحیه ناشی از ارتعاشات کششی پیوند $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ پیوند گلیکوزیدی و $\text{C}-\text{O}-\text{H}$ در مجاورت این پیوند بود (Pascoal *et al.*, 2013). همچنین پیک مشاهده شده در عدد موجی 855cm^{-1} مربوط به پیوندهای آلفای انومریک می‌باشد که پیوند اصلی در تشکیل پلیمرهای آمیلوز و آمیلوپکتین بود. بررسی طیف FTIR نشاسته‌های سورگوم نشان داد که تفاوت شاخصی در الگوها وجود ندارد و تنها در دو نمونه، پیک مربوط به آلودگی دی‌اکسید کربن هوای محیط حین نمونه‌گذاری مشاهده شد (2380cm^{-1}).



شکل ۴- طیف فوریه مادون قرمز نشاسته لاین‌های سورگوم از بالا به پایین: KDFGS6, KDFGS1, KDFGS9, KDFGS20.

ویژگی‌های شیمیایی و فیزیکی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد نشاسته‌های استخراج شده از نوع معمولی با آمیلوز ظاهری بین ۲۷ تا ۳۱ درصد بودند. گرانول‌های نشاسته سورگوم اکثراً چندضلعی و از نوع گرانول B با میانگین قطر $12\mu\text{m}$ و به لحاظ ظاهری کاملاً سفید بودند. بررسی شدت پراش پرتو X نشان داد، درصد کریستالی نشاسته‌ها بین ۲۵ تا ۳۰ درصد و الگوی پراش مشابه با کریستال نوع A و در برخی موارد همراه با کریستال V بود. ساختار کریستالی نشاسته‌های سورگوم به لحاظ آنتالپی ذوب مشابه و در محدوده 10J/g – 8 بود و تفاوت محدودی بین ویژگی‌های حرارتی نشاسته‌های مورد بررسی مشاهده شد. بررسی طیف فوریه مادون قرمز، نشانگر این است که در سطح مولکولی تفاوت بارزی بین الگوی جذبی طیف مادون قرمز وجود ندارد. به‌طور کلی نشاسته‌های مورد مطالعه به لحاظ ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی این قابلیت را دارند که به‌عنوان منبعی جدید از منابع مقاوم به خشکی، جایگزین نشاسته‌هایی مانند ذرت در صنایع مورد استفاده قرار گیرند. در ادامه این تحقیق بررسی ویژگی‌های عملکردی و ترئوگرافاسیون نشاسته سورگوم جهت مقایسه با منابع نشاسته رایج ضروری است.

نتایج محاسبه درصد کریستالی به روش ارایه شده توسط Sun و همکاران (Sun et al., 2014b) در جدول ۴، ارایه شده است. این نتایج نشان داد، در تضاد با نتایج آن محقق، اگرچه مقادیر محاسبه شده در محدوده درصد کریستالی محاسبه شده بر اساس پراش پرتو X بود، اما کاملاً منطبق بر آن نبود و از روند تغییر درصد کریستالی نیز پیروی نکرد. با این وجود بالاترین سطح کریستالی محاسبه شده با این روش مربوط به نشاسته لاین KDFGS20 بود که متناسب با بالاتر بودن آنتالپی ذوب کریستال و همچنین درصد بالای کریستالی آن، بر اساس نتایج پراش پرتو X، در مقایسه با سایر لاین‌های مورد بررسی بود. همچنین محاسبه رگرسیونی نشان داد که با کاهش درصد آمیلوز، درصد کریستالی کاهش یافت ($R^2=0.90$). با توجه به نتایج مشاهده شده در این پژوهش می‌توان اینطور نتیجه‌گیری کرد که درصد کریستالی محاسبه‌شده بر اساس این روش، شامل کریستال‌های آملیوپکتینی است و کریستال‌های نوع V را شامل نمی‌شود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، نشاسته چهار لاین سورگوم استخراج شد و

منابع

- Adkins, G.K. & Greenwood, C.T., 1966, The Isolation of Cereal Starches in the Laboratory, *Starch - Stärke*, 18(7), 213-218.
- Ali, T.M. & Hasnain, A., 2011, Functional and Morphological Characterization of Low-Substituted Acetylated White Sorghum (*Sorghum bicolor*) Starch, *International Journal of Polymer Analysis and Characterization*, 16(3), 187-198.
- Andrade-Mahecha, M.M., Tapia-Blácido, D.R. & Menegalli, F.C., 2012, Physical-chemical, thermal, and functional properties of achira (*Canna indica* L.) flour and starch from different geographical origin, *Starch - Stärke*, 64(5), 348-358.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., Wu, X., Prior, R.L. & Cisneros-Zevallos, L., 2003, Screening Methods To Measure Antioxidant Activity of Sorghum (*Sorghum bicolor*) and Sorghum Products, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6657-6662.
- Boudries, N., Belhaneche, N., Nadjemi, B., Deroanne, C., Mathlouthi, M., Roger, B. & Sindic, M., 2009, Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria, *Carbohydrate Polymers*, 78(3), 475-480.
- Buleon, A., Gallant, D.J., Bouchet, B., Mouille, G., D'Hulst, C., Kossmann, J. & Ball, S., 1997, Starches from A to C (*Chlamydomonas reinhardtii* as a Model Microbial System to Investigate the Biosynthesis of the Plant Amylopectin Crystal), *Plant Physiology*, 115(3), 949-957.
- Cai, C., Zhao, L., Huang, J., Chen, Y. & Wei, C., 2014, Morphology, structure and gelatinization properties of heterogeneous starch granules from high-amylose maize, *Carbohydrate Polymers*, 102, 606-614.
- Chao, G., Gao, J., Liu, R., Wang, L., Li, C., Wang, Y., Qu, Y. & Feng, B., 2014, Starch physicochemical properties of waxy proso millet (*Panicum Miliaceum* L.), *Starch - Stärke*, 66(11-12), 1005-1012.
- Du, S.-k., Jiang, H., Ai, Y. & Jane, J.-l., 2014, Physicochemical properties and digestibility of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) starches, *Carbohydrate Polymers*, 108, 200-205.
- Fannon, J.E., Hauber, R.J. & BeMiller, J.N., 1992, Surface pores of starch granules, *Cereal Chemistry*, 69(3), 284-288.
- Faostat. "Fao Statistics Database For The Year 2014" Food United And Agriculture Organization of The Nations Statistics Division. [On-Line]. <http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/E> [27 Jun 2016].
- Jiang, Q.-Q., Gao, W.-Y., Shi, Y.-P., Li, X. & Wang, H.-Y., 2015, Comparison of starches from five plants of Sect. *Stenophora* Uline and Sect. *Lasiophyton* Uline of *Dioscorea* grown in China, *Journal of the Science of Food and*

- Agriculture*, 95(4), 836-842.
- Li, W., Xiao, X., Zhang, W., Zheng, J., Luo, Q., Ouyang, S. & Zhang, G., 2014, Compositional, morphological, structural and physicochemical properties of starches from seven naked barley cultivars grown in China, *Food Research International*, 58(7-14).
- Lopez-Rubio, A., Flanagan, B.M., Gilbert, E.P. & Gidley, M.J., 2008, A novel approach for calculating starch crystallinity and its correlation with double helix content: A combined XRD and NMR study, *Biopolymers*, 89(9), 761-768.
- Maaran, S., Hoover, R., Donner, E. & Liu, Q., 2014, Composition, structure, morphology and physicochemical properties of lablab bean, navy bean, rice bean, tepary bean and velvet bean starches, *Food Chemistry*, 152(491-499).
- McGrance, S.J., Cornell, H.J. & Rix, C.J., 1998, A Simple and Rapid Colorimetric Method for the Determination of Amylose in Starch Products, *Starch - Stärke*, 50(4), 158-163.
- Olayinka, O.O., Adebowale, K.O. & Olu-Owolabi, I.B., 2011, Physicochemical properties, morphological and X-ray pattern of chemically modified white sorghum starch. (*Bicolor-Moench*), *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 70-77.
- Pascoal, A.M., Di-Medeiros, M.C.B., Batista, K.A., Leles, M.I.G., Lião, L.M. & Fernandes, K.F., 2013, Extraction and chemical characterization of starch from *S. lycocarpum* fruits, *Carbohydrate Polymers*, 98(2), 1304-1310.
- Pelissari, F.M., Andrade-Mahecha, M.M., Sobral, P.J.d.A. & Menegalli, F.C., 2012, Isolation and characterization of the flour and starch of plantain bananas (*Musa paradisiaca*), *Starch - Stärke*, 64(5), 382-391.
- Pérez-Pacheco, E., Moo-Huchin, V.M., Estrada-León, R.J., Ortiz-Fernández, A., May-Hernández, L.H., Ríos-Soberanis, C.R. & Betancur-Ancona, D., 2014, Isolation and characterization of starch obtained from *Brosimum alicastrum* Swartz Seeds, *Carbohydrate Polymers*, 101, 920-927.
- Sang, Y., Bean, S., Seib, P.A., Pedersen, J. & Shi, Y.-C., 2008, Structure and Functional Properties of Sorghum Starches Differing in Amylose Content, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6680-6685.
- Saravi, M.M., Shahbazi, R. & Malekian, A., 2015, Drought and water scarcity in Iran: How to cope with and prepare for it? In: *Drought: Research and Science-Policy Interfacing*, CRC Press, London, 481-484.
- Schirmer, M., Höchstötter, A., Jekle, M., Arendt, E. & Becker, T., 2013, Physicochemical and morphological characterization of different starches with variable amylose/amylopectin ratio, *Food Hydrocolloids*, 32(1), 52-63.
- Singh, H., Sodhi, N.S. & Singh, N., 2012, Structure and Functional Properties of Acetylated Sorghum Starch, *International Journal of Food Properties*, 15(2), 312-325.
- Singh, S., Singh, N., Isono, N. & Noda, T., 2010a, Relationship of Granule Size Distribution and Amylopectin Structure with Pasting, Thermal, and Retrogradation Properties in Wheat Starch, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(2), 1180-1188.
- Singh, H., Sodhi, N. S. & Singh, N., 2010b, Characterisation of starches separated from sorghum cultivars grown in India, *Food chemistry*, 119(1), 95-100.
- Sira, E.E.P. & Lares Amaiz, M., 2004, A laboratory scale method for isolation of starch from pigmented sorghum, *Journal of Food Engineering*, 64(4), 515-519.
- Sun, Q., Han, Z., Wang, L. & Xiong, L., 2014a, Physicochemical differences between sorghum starch and sorghum flour modified by heat-moisture treatment, *Food Chemistry*, 145, 756-764.
- Sun, Y., Wu, Z., Hu, B., Wang, W., Ye, H., Sun, Y., Wang, X. & Zeng, X., 2014b, A new method for determining the relative crystallinity of chickpea starch by Fourier-transform infrared spectroscopy, *Carbohydrate Polymers*, 108, 153-158.
- Tester, R.F., Karkalas, J. & Qi, X., 2004, Starch—composition, fine structure and architecture, *Journal of Cereal Science*, 39(2), 151-165.
- Waterschoot, J., Gomand, S.V., Fierens, E. & Delcour, J.A., 2015, Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches, *Starch - Stärke*, 67(1-2), 14-29.
- Wen, Y., Liu, J., Meng, X., Zhang, D. & Zhao, G., 2014, Characterization of proso millet starches from different geographical origins of China, *Food Science and Biotechnology*, 23(5), 1371-1377.

Evaluation of chemical, morphological, structural and thermal properties of white sorghum starch

A. Ehtiati¹, F. Shahidi^{2*}, A. Koocheki³, S. M. A. Razavi², M. Majzoubi⁴

Received: 2016.04.18

Accepted: 2016.09.10

Introduction: Sorghum (*Sorghum bicolor*) is a tropical plant and has the fifth ranking of world cereals production. One of the important aspects of sorghum is drought tolerance and little input need during growth which has made that suitable for cultivation in semiarid regions. Due to the presence of tannin compounds in internal part of sorghum grains and low digestion of cooked protein, sorghum flour consumption is limited. Sorghum grain contains more than 70% starch which is an important tasteless ingredient in food formulas, as the main source of energy and thickening and gelling agent. Extraction of starch from sorghum in regarding to its nutritional problems is a good solution for extension of sorghum uses in food industry. Starch is a semi crystalline structure consisted on linear amylose and branched amylopectin molecules packed in granules. Ratio of these two molecules and their molecular short order and macrostructure and size and shape of granules determine functional properties of starch in the final product. Starch properties is depended on genetic residues so that starches from tubers have distinct differences with cereal starches even obvious differences exists between cereal starches and varieties. In this study we have investigated chemical, morphological, structural and thermal properties of starches four white sorghum line.

Material and methods: White sorghum grains were prepared from local farms with line numbers KDFGS1, KDFGS6, KDFGS9 and KDFGS20. Starches were extracted sorghum lines using alkaline steeping method and further purified using toluene-water-salt solution. Chemical parameters were determined including protein by Kjeldahl digestion method, lipid by soxhlet extractor, ash by burning in furnace, moisture by oven drying and amylose content by iodine binding colorimetry. Light microscopy coupled with digital camera was used for granules shape and size determination moreover surface properties and morphology of granules was observed using scanning electron microscopy technique. Color of starches were determined with hunterlab colorimeter. To evaluate crystalline structure of sample i.e. type of crystals and degree of crystallinity, starches first were conditioned in desiccator containing saturated aqueous sodium chloride solution at 25°C for a week then X-ray diffraction of sample in diffraction angels from 4-40° was determined. Thermal properties of crystals melting or gelatinization were measured using differential scanning calorimetry of starch in deionized water in temperatures from 20-120°C with heating rate of 10°C/min. From heat flow changes over temperature, temperature of onset, peak and conclusion points of crystalline structure melting and its required enthalpy were calculated. Functional groups of starches were investigated using FTIR technique to observe.

Results & Discussion: Isolated starches had appropriate quality due to low amount of protein (<0.36%), lipid (<0.11%) and ash (<0.53%) and no significant difference was observed within starch samples about impurities, revealed that extraction method effectively separated starch granules from surrounding matrix. Since the apparent amylose contents were between 27.2-30.7%, these starches categorized as normal starches (versus waxy or high amylose starches) and starches from KDFGS6 line had significantly higher amylose content which arose from difference in genetic diversity which caused difference in starch synthetize enzyme led to different synthesizing activity to produce linear and branched alpha glucans. Starches were white with hue angle of 103° and 3% color saturation while no differences were observed with LAB color parameters. The color of starches was comparable to values reported for corn starch in literature. Light microscopy images showed that starch granules size distribution were nearly similar but starches from KDFGS9 line had more small granules (diameters lower than 15 μm). The average diameter of starches granules were in the range of 12.07-12.99 μm for different lines which is the smaller than other cereal starches like wheat starch. Scanning electron microscopy revealed that sorghum starches were more spherical or irregular shape and surface pores were also observed. X-ray diffraction analysis showed that starch crystallinity degrees were between 25-31% and all starches exhibited

2, 2 and 3. Ph. D. Candidate, Professor and Associate Professor, Department of Food Science, Ferdowsi University of Mashhad, Iran.

4. Associate Professor, Food Processing Engineering Department, Shiraz University, Shiraz, Iran.

(*Corresponding Author Email: fshahidi@um.ac.ir).

A-type diffraction pattern due to strong diffraction at diffraction angles of 15, 17, 18 and 23°, as well as V-type crystal pattern were also observed alongside A type pattern, for some starches. In cereal starches, internal lipids, mostly phospholipids present which can complex with amylose molecules due to hydrophobicity of internal part of amylose helix and aggregation of these complexes can cause diffraction pattern, called V-type crystalline. Crystal melting onset and peak temperatures were 69-70°C and 73-74°C respectively and melting enthalpies were between 8-10 J/g. It was observed that starches with lower onset temperature, had higher gelatinization range because of crystal imperfection in that starches. FTIR spectra absorption patterns were similar for all starches with minor differences in absorption values. Also new method of crystallinity calculation based on the absorbance spectra in range of 800-1300 cm⁻¹ were applied on FTIR spectra of starched which not correlation with data had obtained from X-ray diffraction spectra.

Conclusion: Overall conclusion is that starches from white sorghum lines, were slightly different in some properties and for comparison with common industrial native starches, they were similar to normal corn starch according to data published in the literature.

Keywords: DSC, FTIR, SEM, Sorghum, Starch, XRD.